

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Química



Tesis desarrollada en el
INSTITUTO DE LACTOLOGIA INDUSTRIAL
UNL – CONICET

***Desarrollo de un modelo basado en métodos estadísticos para
la predicción del tiempo de maduración de Quesos Argentinos***

por

MARÍA BELÉN RAMONDA

Director

Ing. CARLOS A. ZALAZAR

Co-directora

Lic. SUSANA M. BERNAL

Tesis presentada para optar por el grado académico de
DOCTOR EN QUÍMICA

Santa Fe

- 2009 -

Para Anselmo y Francesco

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Agencia de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), por sus aportes a la realización de la presente tesis a través de sus programas de becas doctorales.

A los jurados, por su interés en la evaluación de la presente tesis.

A mi director Carlos Zalazar y mi co-directora Susana Bernal, por haberme brindado la posibilidad de integrar su grupo de investigación en el Instituto de Lactología Industrial (INLAIN). Por su asesoramiento y formación en el tema y por la confianza depositada en mi.

A Cristina Perotti, por el tiempo que me ha dedicado, y por su gran contribución durante todo el desarrollo de la presente tesis.

A Susana Palma, por su enseñanza generosa sobre técnicas de laboratorio.

A Mario Candiotti y Verónica Fernández por sus colaboraciones en algunas determinaciones analíticas.

A todos los integrantes del INLAIN, por su amistad y compañerismo.

A las firmas Milkaut S. A. y Tregar S. A., por la donación de los quesos utilizados en la presente tesis.

A mi familia, por su apoyo incondicional.

RESUMEN



Para que un cierto tipo de queso alcance las propiedades sensoriales características de cada variedad, necesita cumplir con un determinado período de maduración que es muy variable según el producto y que implica mantener inmovilizado un importante capital. Desde este punto de vista, la determinación del tiempo de maduración reviste una singular importancia.

En el presente trabajo se desarrollaron modelos matemáticos para determinar el tiempo de maduración de tres variedades de quesos típicos argentinos:

- ✓ de alta humedad, Cremoso
- ✓ de mediana humedad, Pategrás
- ✓ de baja humedad, Reggianito

Los mismos se basaron en parámetros fisicoquímicos e índices de maduración.

Para cada variedad estudiada, se trabajó con 8 quesos provenientes de 2 industrias lácteas de la zona de Santa Fe, que se elaboraron en tres estaciones diferentes del año (otoño, invierno y primavera). Con el propósito de corroborar que estos quesos poseían las características típicas de su variedad, se determinó el contenido de proteína total (PT), de humedad, de materia grasa y la calidad sensorial al final de la maduración. Los parámetros de composición global se encontraron dentro de los valores establecidos por la legislación y los quesos presentaron una calidad sensorial satisfactoria y característica.

Para construir el modelo se tomaron muestras a lo largo de la maduración y en ellas se determinaron los distintos parámetros fisicoquímicos que se mencionan a continuación:

- ✓ *Cremoso*: se tomaron muestras a los 0, 9, 15, 22 y 30 días, sobre las cuales además se determinó humedad, pH, nitrógeno soluble a pH 4,6 (NS-pH4,6), nitrógeno soluble en ácido tricloroacético 12% (NS-TCA), nitrógeno

soluble en ácido fosfotúngstico (NS-PTA), el contenido de amonio y la relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ por electroforesis.

✓ *Pategrás*: se tomaron muestras a 0, 12, 25, 38 y 50 días en las que se determinaron las variables mencionadas anteriormente a excepción de electroforesis.

✓ *Reggianito*: se tomaron muestras a 0, 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 180 días en las cuales se determinaron las mismas variables que las mencionadas para queso Pategrás.

Con los resultados obtenidos se construyó una matriz de datos para cada tipo de queso. En primer lugar, se estudiaron las evoluciones de cada variable con el tiempo de maduración, mediante aplicación de regresión lineal simple (RLS) y se realizó el análisis de variancia de la regresión (ANOVA) para evaluar si existía una relación lineal significativa entre el tiempo de maduración y cada uno de los parámetros fisicoquímicos estudiados.

Luego la matriz completa se sometió a un análisis multivariado exploratorio, mediante aplicación de análisis por componentes principales (PCA) y análisis discriminante (DA). El objetivo de los mismos fue lograr una mejor interpretación de los datos antes de la aplicación de las técnicas de regresión de manera de observar los agrupamientos de las variables estudiadas y la influencia de las mismas en la separación de las muestras según el tiempo de maduración.

Por último sobre la matriz de datos se aplicó regresión PLS. Esta técnica de regresión multivariada en primer lugar fue aplicada a todas las muestras de quesos y mediante validación cruzada, se evaluó el número óptimo de factores. Luego esta matriz fue dividida por selección aleatoria en muestras de calibración y muestras de validación externa. Las muestras de calibración fueron usadas para obtener el modelo y las de

validación externa fueron utilizadas para evaluar la capacidad predictiva de los modelos obtenidos.

Los modelos obtenidos arrojaron buenas correlaciones (R mayores a 0,98) y bajos errores de estimación (para Cremoso $RMSEP = 2$ días con un período de maduración de 30 días; para Pategrás de 5 días con un período de maduración de 50 días y para Reggianito de 18 días con un período de maduración de 180 días), lo que demostró la buena capacidad predictiva de los mismos. Los coeficientes de regresión obtenidos indicaron que para queso Cremoso las mejores variables para estimar el tiempo de maduración resultaron las tres fracciones nitrogenadas y relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$; para Pategrás, la humedad y las tres fracciones nitrogenadas y para Reggianito, la humedad, las tres fracciones nitrogenadas y el contenido de amonio.

Por último, los modelos obtenidos se aplicaron a quesos de otras marcas comerciales, encontrándose algunos productos que no cumplieron con los tiempos mínimos establecidos por la legislación para cada variedad.

ÍNDICES



ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN

I.1. La producción quesera en la Argentina	1
I.1.1. El comienzo de la actividad	1
I.1.2. El gran desarrollo de la industria quesera nacional	2
I.1.3. La actualidad del sector	3
I.2. Variedades de quesos estudiadas	5
I.2.1. Cremoso	6
I.2.2. Pategrás	7
I.2.3. Reggianito	9
I.3. Elaboración y Maduración de quesos	10
I.3.1. Proteólisis	13
I.3.2. Lipólisis	20
I.3.3. Metabolismo de la lactosa, del lactato y del citrato	21
I.3.4. Procesos físicos	22
I.4. Fundamentos de la elección del tema de estudio	23
I.5. Métodos utilizados para evaluar el avance de la maduración del queso	25
I.5.1. Proteólisis	25
I.5.2. Lipólisis	27
I.5.3. Fermentación de la lactosa y cambios en el lactato	27
I.5.4. Cambios en el pH	28
I.5.5. Compuestos orgánicos volátiles	29
I.6. Análisis multivariado	29
I.6.1. Análisis por componentes principales (PCA)	30
I.6.2. Análisis Discriminante (DA)	31
I.6.3. Métodos de regresión	32
I.6.3.1. Métodos lineales basados en la reducción de variables: PCR y PLS.	33
I.6.3.2. Construcción de modelos de calibración multivariados	38
I.7. Antecedentes sobre el tema de estudio	39

II. OBJETIVOS

II.1. Objetivo general	47
II.2. Objetivos particulares	48

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Muestras de quesos, técnicas de muestreo y determinaciones realizadas	49
III.1.1. Quesos de calibración	50
III.1.1.1. Queso Cremoso	50
III.1.1.2. Queso Pategrás	51
III.1.1.3. Queso Reggianito	52
III.1.2. Quesos Comerciales	53
III.2. Metodologías analíticas utilizadas	53
III.2.1. Humedad	54
III.2.2. Materia grasa	55
III.2.3. Nitrógeno total	56
III.2.4. pH	57
III.2.5. Fraccionamiento de Nitrógeno	57
III.2.6. Electroforesis (Urea-PAGE)	60
III.2.7. Amonio	62
III.2.7.1. Optimización de la metodología colorimétrica	63
III.2.8. Análisis sensorial	70
III.3. Análisis estadístico	75
III.3.1. Análisis univariado	76
III.3.2. Análisis multivariado	76
III.3.2.1. Análisis por Componentes Principales	77
III.3.2.2. Análisis Discriminante	78
III.3.3. Análisis de regresión.....	79
III.3.4. Aplicación de los modelos	82

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Queso Cremoso	83
IV.1.1. Composición global y evaluación sensorial	83
IV.1.2. Evolución de las variables fisicoquímicas con el tiempo de maduración ..	85
IV.1.2.1. Humedad	86
IV.1.2.2. pH	86
IV.1.2.3. Fraccionamiento de Nitrógeno	87
IV.1.2.4. Análisis de Electroforesis (Urea-PAGE)	89
IV.1.2.5. Contenido de amonio	92
IV.1.3. Análisis Multivariado	93
IV.1.4. Obtención de los modelos por regresión multivariada	98
IV.1.5. Aplicación del modelo de predicción a quesos comerciales	103
IV.2. Queso Pategrás	104
IV.2.1. Composición global y evaluación sensorial	104
IV.2.2. Evolución de las variables fisicoquímicas con el tiempo de maduración ..	107
IV.2.2.1. Humedad	108
IV.2.2.2. pH	109
IV.2.2.3. Fraccionamiento de Nitrógeno	109
IV.2.2.4. Contenido de amonio	112
IV.2.3. Análisis Multivariado	113
IV.2.4. Obtención de los modelos por regresión multivariada	116
IV.2.5. Aplicación del modelo de predicción a quesos comerciales	122
IV.3. Queso Reggianito	124
IV.3.1. Composición global y evaluación sensorial	124
IV.3.2. Evolución de las variables fisicoquímicas con el tiempo de maduración ..	126
IV.3.2.1. Humedad	127
IV.3.2.2. pH	128
IV.3.2.3. Fraccionamiento de Nitrógeno	128
IV.3.2.4. Contenido de amonio	130
IV.3.3. Análisis Multivariado	131
IV.3.4. Obtención de los modelos por regresión multivariada	135
IV.3.5. Aplicación del modelo de predicción a quesos comerciales	140

V. CONCLUSIONES

V.1. Queso Cremoso	142
V.2. Queso Pategrás	143
V.3. Queso Reggianito	144
VI. BIBLIOGRAFÍA	146

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla III.1. Características sensoriales ideales de aroma, aspecto general, textura, sabor y sabor residual para queso Cremoso	72
Tabla III.2. Características sensoriales ideales de aroma, aspecto general, textura, sabor y sabor residual para queso Pategrás	73
Tabla III.3. Características sensoriales ideales de aroma, aspecto general, textura, sabor y sabor residual para queso Reggianito	74
Tabla IV.1. Composición global de los quesos Cremoso de calibración determinada a los 30 días de maduración	83
Tabla IV.2. Puntajes sensoriales promedios y sus desviaciones estándares obtenidos para los quesos Cremoso de calibración	85
Tabla IV.3. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Cremoso de calibración a lo largo de la maduración: Cargas factoriales del CP1, CP2 y CP3 sin rotar y rotados por el método Varimax	95
Tabla IV.4. Análisis Discriminante por tiempo de maduración de los factores obtenidos del PCA de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Cremoso de calibración: Tabla de clasificación	97
Tabla IV.5. Parámetros estadísticos para los modelos de predicción completo y reducido para queso Cremoso	99
Tabla IV.6. Tiempo de maduración real y predicho por el modelo obtenido para las muestras de validación externa de queso Cremoso	101
Tabla IV.7. Composición global y parámetros fisicoquímicos de los quesos Cremoso comerciales	103
Tabla IV.8. Tiempos de maduración predichos para los quesos Cremoso comerciales	104
Tabla IV.9. Composición global de los quesos Pategrás de calibración determinada a los 50 días de maduración	105
Tabla IV.10. Puntajes sensoriales promedios y sus desviaciones estándares obtenidos para los quesos Pategrás de calibración	107

Tabla IV.11. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Pategrás de calibración a lo largo de la maduración: Cargas factoriales del CP1 y CP2	114
Tabla IV.12. Análisis Discriminante por tiempo de maduración de los factores obtenidos del PCA de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Pategrás: Tabla de clasificación	116
Tabla IV.13. Parámetros estadísticos para los modelos de predicción completo y reducido para queso Pategrás	118
Tabla IV.14. Tiempo de maduración real y predicho por el modelo obtenido para las muestras de validación de queso Pategrás	120
Tabla IV.15. Composición global y parámetros fisicoquímicos de los quesos Pategrás comerciales	122
Tabla IV.16. Tiempos de maduración predichos para los quesos Pategrás comerciales	123
Tabla IV.17. Composición global de los quesos Reggianito de calibración determinada a los 180 días de maduración	124
Tabla IV.18. Puntajes sensoriales promedios y sus desviaciones estándares obtenidos para los quesos Reggianito de calibración	126
Tabla IV.19. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Reggianito de calibración a lo largo de la maduración: Cargas factoriales del CP1 y CP2	132
Tabla IV.20. Análisis Discriminante por tiempo de maduración de los factores obtenidos del PCA de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Reggianito: Tabla de clasificación	134
Tabla IV.21. Parámetros estadísticos para los modelos de predicción completo y reducido para queso Reggianito	136
Tabla IV.22. Tiempo de maduración real y predicho por el modelo obtenido para las muestras de validación de queso Reggianito	138
Tabla IV.23. Composición global y parámetros fisicoquímicos de los quesos Reggianito comerciales	140
Tabla IV.24. Tiempos de maduración predichos para los quesos Reggianito comerciales	141

FIGURAS

Figura I.1. Producción de quesos (en toneladas) en la Argentina desde enero a septiembre del 2007	5
Figura I.2. Esquema general de producción de quesos coagulados enzimáticamente (Fox y McSweeney, 2004)	11
Figura I.3. Esquema general del proceso de proteólisis durante la maduración de quesos	14
Figura III.1. Esquema de muestreo para queso Cremoso	50
Figura III.2. Influencia del contenido de interferencias en la reacción de Berthelot	66
Figura III.3. Curvas de calibrado para la determinación de amonio en quesos.....	68
Figura III.4. Planilla utilizada en la evaluación sensorial de las muestras de quesos	75
Figura IV.1. Gráfico de estrella de los valores promedios para los atributos sensoriales evaluados en los quesos Cremoso de calibración	84
Figura IV.2. Evolución del contenido de humedad para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración	86
Figura IV.3. Evolución del pH para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración	87
Figura IV.4. Evolución del fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración. A- %NS-pH 4,6/NT. B- %NS-TCA/NT. C- %NS-PTA/NT	88
Figura IV.5. Urea-PAGE de un queso Cremoso de calibración a lo largo de la maduración	90
Figura IV.6. Densitograma obtenido en la cuantificación de uno de los perfiles electroforéticos para queso Cremoso	90
Figura IV.7. Evolución de la relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración	91
Figura IV.8. Evolución del contenido de amonio para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración	92
Figura IV.9. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Cremoso de calibración a lo largo de la maduración: gráfico de los <i>scores</i> de las muestras (identificadas por tiempo de maduración) sobre los ejes CP1 y CP2 rotados	95

Figura IV.10. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Cremoso de calibración a lo largo de la maduración: gráfico de los <i>scores</i> de las muestras (identificadas por tiempo de maduración) sobre los ejes CP2 y CP3 rotados	96
Figura IV.11. PLS sobre matriz de calibración de queso Cremoso con validación cruzada. Número de factores versus el estadístico PRESS	98
Figura IV.12. Intervalos de predicción para la validación externa del modelo obtenido para queso Cremoso	101
Figura IV.13. Correlación entre el tiempo de maduración real y el predicho por el modelo obtenido para queso Cremoso	102
Figura IV.14. Gráfico de estrella de los valores promedios para los atributos sensoriales evaluados en los quesos Pategrás de calibración	106
Figura IV.15. Evolución del contenido de humedad para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración	108
Figura IV.16. Evolución del pH para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración	109
Figura IV.17. Evolución del fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración. A- %NS-pH 4,6/NT. B- %NS-TCA/NT. C- %NS-PTA/NT	111
Figura IV.18. Evolución del contenido de amonio para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración	112
Figura IV.19. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Pategrás de calibración a lo largo de la maduración: gráfico de los <i>scores</i> de las muestras (identificadas por tiempo de maduración) sobre los ejes CP1 y CP2	115
Figura IV.20. PLS sobre matriz de calibración de queso Pategrás con validación cruzada. Número de factores versus el estadístico PRESS	117
Figura IV.21. Intervalos de predicción para la validación externa del modelo obtenido para queso Pategrás	121
Figura IV.22. Correlación entre tiempo de maduración real y predicho por el modelo obtenido para queso Pategrás	122
Figura IV.23. Gráfico de estrella de los valores promedios para los atributos sensoriales evaluados en los quesos Reggianito de calibración	125

Figura IV.24. Evolución del contenido de humedad para los quesos Reggiano de calibración durante la maduración	127
Figura IV.25. Evolución del pH para los quesos Reggiano de calibración durante la maduración	128
Figura IV.26. Evolución del fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Reggiano de calibración durante la maduración. A- %NS-pH 4,6/NT. B- %NS-TCA/NT. C- %NS-PTA/NT	129
Figura IV.27. Evolución del contenido de amonio para los quesos Reggiano de calibración durante la maduración	130
Figura IV.28. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Reggiano de calibración a lo largo de la maduración: gráfico de los <i>scores</i> de las muestras (identificadas por tiempo de maduración) sobre los ejes CP1 y CP2	133
Figura IV.29. PLS sobre matriz de calibración de queso Reggiano con validación cruzada. Número de factores versus el estadístico PRESS	135
Figura IV.30. Intervalos de predicción para la validación externa del modelo obtenido para queso Reggiano	138
Figura IV.31. Correlación entre el tiempo de maduración real y el predicho por el modelo obtenido para queso Reggiano	139

TABLAS DEL APÉNDICE

Tabla A1. Resultados obtenidos del análisis sensorial de los quesos Cremoso de calibración al final de la maduración	1
Tabla A2. Contenido de Humedad para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración	6
Tabla A3. Valores de pH para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración	8
Tabla A4. Fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración	10
Tabla A5. Urea-PAGE para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración: áreas bajo la curva obtenidas en la cuantificación de las bandas electroforéticas y relación $CN-\alpha_{S1-I}/(CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ calculado	14
Tabla A6. Contenido de amonio para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración	16
Tabla A7. Resultados obtenidos del análisis sensorial de los quesos Pategrás de calibración al final de la maduración	23
Tabla A8. Contenido de humedad para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración	28
Tabla A9. Valores de pH para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración	30
Tabla A10. Fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración	32
Tabla A11. Contenido de amonio para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración	36
Tabla A12. Resultados obtenidos del análisis sensorial de los quesos Reggianito de calibración al final de la maduración	41
Tabla A13. Contenido de humedad para los quesos Reggianito de calibración durante la maduración	45
Tabla A14. Valores de pH para los quesos Reggianito de calibración durante la maduración	47
Tabla A15. Fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Reggianito de calibración durante la maduración	49

Tabla A16. Contenido de amonio para los quesos Reggianito de calibración durante la maduración 53

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.1. La producción quesera en la Argentina

La Argentina ocupa un lugar de privilegio en el ámbito internacional en lo que respecta a la elaboración de quesos, ubicándose hoy como el séptimo productor mundial de este alimento. Fue a mediados del siglo XIX cuando esta actividad productiva desarrolló su mayor crecimiento para alcanzar un importante protagonismo en la actualidad.

I.1.1. El comienzo de la actividad

Antes de 1850 se registran escasos datos sobre la producción quesera nacional. La alimentación de la población basada en carne era la justificación de la presencia de vacunos y ovinos en la región, ambos de escasa aptitud lechera. Se encontraron registros del año 1617 de las Cartas Anuas en donde una autoridad jesuita expresaba que "de las vacas se obtenía leche para consumo y para elaborar queso, manteca y requesón; de las cabras y ovejas, leche para quesos". Estas prácticas eran indudablemente muy rudimentarias y perseguían el objetivo de instruir a los indígenas en el consumo de lácteos y sus derivados. En 1788 aparece la actividad lechera como alternativa a la poca rentabilidad de los chacareros cercanos a la villa de Buenos Aires por la venta de carne y cuero (actividad principal de la economía rioplatense). Domingo Faustino Sarmiento describe en su "Facundo" que en 1810 existía una incipiente y casera producción de quesos. Hay además referencias que mencionan a los ranchos como los lugares donde comienzan a elaborarse los primeros quesos que se vendían en las calles, casa por casa, o en algunos negocios. Precisamente fue el queso denominado "tambero" el producto fresco o sazonado que se elaboraba allí (www.quesosargentinos.gov.ar).

1.1.2. El gran desarrollo de la industria quesera nacional

Como se citó anteriormente, recién a partir de mediados del siglo XIX se produjo un gran desarrollo de la quesería argentina, debido probablemente a una joven tradición en la elaboración de quesos, implantada por los inmigrantes europeos que aportaron sus tecnologías principalmente italianas, españolas, suizas, etc. Fueron ellos los propulsores que dejaron su impronta artística y de escuela para esta industria nacional que evolucionó hasta nuestros días. Fue en esa época cuando aparecieron los quesos Carcarañá (el más antiguo de los quesos argentinos), Tafí de Tucumán, Chubut, Goya, Peregrina, Neuquén fresco, Pategrás, Río Cuarto, Lobos, Lehmann y muchos otros con nombres autóctonos nacionales. Asimismo comenzaron a elaborarse quesos con nombres alusivos a regiones europeas de donde provenían los inmigrantes.

A partir de 1886 se produjeron importantes cambios que significaron hitos trascendentes para la expansión y mejora de la industria láctea nacional. Aquí algunos ejemplos:

- La entrada al país de la primera desnatadora centrífuga en el año 1886 y consecuentemente la aparición de numerosos establecimientos industriales para la elaboración de manteca. Esto trajo como consecuencia un gran aumento de la producción y notables volúmenes de exportación de este producto y de caseína.
- La multiplicación de "lecherías" en la ciudad de Buenos Aires en las cuales los clientes podían beber un vaso de leche y adquirir panes de manteca envuelta en papel impermeable.
- La obligatoriedad de pasteurizar la leche destinada a consumo público en todo el ámbito de la ciudad de Buenos Aires en el año 1907 (algunos años antes que en ciudades como Chicago y Nueva York).
- La implementación del embotellado de la leche en el año 1910.

Dentro de este contexto, la industria quesera comenzó a privilegiar el concepto de calidad e higiene de la leche y de sanitización de las instalaciones. El uso de pasteurizadores, tanques de acero inoxidable, envases herméticos, innovadoras prácticas tecnológicas, implementación de sistemas de calidad e inocuidad alimentaria y los controles sobre la materia prima y los ingredientes, consolidaron un gran avance en la industria quesera que perdura hasta nuestros días (www.quesosargentinos.gov.ar).

1.1.3. La actualidad del sector

Según las últimas estadísticas de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (S.A.G.P. y A.), existen hoy en el país 14.000 tambos. El 50% de la producción de leche de esos tambos se destina a la actividad quesera, el 24% se destina a leche en polvo, el 19% va a leche fluida, pasteurizada y esterilizada, y el 7% restante a otros subproductos. El sector industrial lechero está compuesto por algo más de 1.100 empresas registradas, que incluyen desde las más grandes hasta tambos fábrica (pequeños establecimientos que procesan sólo la leche que producen). Se puede establecer una división del sector industrial lácteo en tres segmentos claramente identificados:

- Un grupo de unas 10-12 empresas con una recepción de más de 250.000 litros diarios, diversificadas en sus líneas de producción, mayormente con actividad exportadora, y que procesan el 50-55% de la producción nacional.
- Un grupo de unas 90-100 empresas con una recepción de entre 20.000 y 250.000 litros diarios, desempeñando un fuerte papel en el sector quesero y con una actividad exportadora inexistente, y que procesan el 25% de la producción nacional.

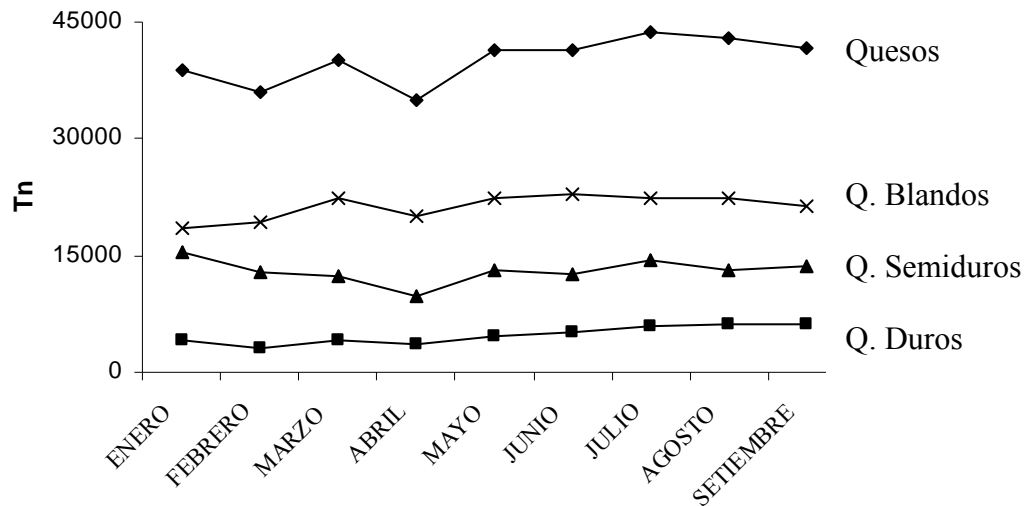
- Más de 1.000 empresas y tambos fábrica con menos de 20.000 litros diarios de recepción, que se dedican casi en forma exclusiva a la fabricación de quesos, y que procesan el 20-25% de la producción nacional.

De esta manera, comparando a la Argentina con otros países reconocidamente lecheros, nuestro país se caracteriza por tener una gran proporción de empresas lácteas, las cuales procesan la mitad de la producción nacional de leche y la transforman en quesos. Y a su vez, la mitad de esta producción quesera es desempeñada por más de mil pequeños establecimientos (www.sagpya.gov.ar).

En la Figura I.1 se presentan los datos del “*resumen mensual de productos lácteos 2007*” de la S.A.G.P. y A, sobre la producción quesera en la Argentina desde enero a septiembre de 2007. En la misma se observa que en ese año la producción de quesos en la Argentina fue en promedio de 40158,6 toneladas, correspondiendo el 50% de la misma a quesos blandos o de alta humedad, el 32,5% a quesos semiduros o de mediana humedad y el 10% a quesos duros o de baja humedad. Según este informe casi la totalidad de esta producción fue derivada al consumo interno ya que solo un 17% fue destinada para exportación (www.sagpya.gov.ar).

Además según la S.A.G.P. y A el consumo mensual de quesos promedio en la Argentina en el año 2007 fue de 0,93 Kg por habitante (siendo la población cercana a los 39.100.000 habitantes) de los cuales 0,51 Kg por habitante corresponden a quesos blandos, 0,29 Kg a quesos semiduros, 0,10 Kg a quesos duros y 0,03 a quesos fundidos.

Figura I.1. Producción de quesos (en toneladas) en la Argentina desde enero a septiembre del 2007.



I.2. Variedades de quesos estudiadas

Según el Artículo 605 - Res Conj. SPyRS y SAGPA N° 33/2006 y N° 563/2006 del CAA, se entiende por *Queso* “el producto fresco o madurado que se obtiene por separación parcial del suero de la leche o leche reconstituida (entera, parcial o totalmente descremada), o de sueros lácteos, coagulados por la acción física, del cuajo, de enzimas específicas, de bacterias específicas, de ácidos orgánicos, solos o combinados, todos de calidad apta para uso alimentario; con o sin el agregado de sustancias alimenticias y/o específicas y/o condimentos, aditivos específicamente indicados, sustancias aromatizantes y materiales colorantes”.

Se entiende por *Queso Fresco* “el que está listo para el consumo poco después de su fabricación”. Se entiende por *Queso Madurado* “el que ha experimentado los cambios bioquímicos y físicos necesarios y característicos de la variedad de queso”.

Según este artículo los quesos se clasifican:

a- De acuerdo con el contenido de materia grasa en el extracto seco, en porcentaje, en:

- Extra graso o Doble crema: cuando contengan no menos del 60%.
- Grasos: cuando contengan entre 45,0 y 59,9%.
- Semigrasos: cuando contengan entre 25,0 y 44,9%.
- Magros: cuando contengan entre 10,0 y 24,9%.
- Descremados: cuando contengan menos de 10,0%.

b- De acuerdo con el contenido de humedad, en porcentaje, en:

- Quesos de baja humedad (generalmente conocidos como de pasta dura): humedad hasta 35,9%.
- Quesos de mediana humedad (generalmente conocidos como de pasta semidura): humedad entre 36,0 y 45,9%.
- Quesos de alta humedad (generalmente conocidos como de pasta blanda o macíos): humedad entre 46,0 y 54,9%.
- Quesos de muy alta humedad (generalmente conocidos como de pasta muy blanda o mole): humedad no menor a 55%.

1.2.1. Queso Cremoso

Breve historia de su origen:

El queso Cremoso deriva de quesos italianos con características similares al Crescenza, Itálico y Bel Paese. Generalmente se lo vincula con el queso Cuartirolo; sin embargo, si bien puede tener los mismos ingredientes de base, se lo prepara de una manera diferente. Actualmente es el queso de mayor consumo en la Argentina y representa casi el 40% de la producción nacional de quesos. De su origen como

acompañante del dulce de membrillo o dulce de batata, postre típico servido en las pulperías de la Provincia de Buenos Aires, ha evolucionado a su aplicación culinaria para la elaboración de pizzas como sucedáneo de la mozzarella (www.quesosargentinos.gov.ar).

Definición:

Según el Artículo 622 – Res Conj. SPyRS y SAGPA N° 33/2006 y N° 563/2006 del CAA, con la denominación de *Queso Cremoso*, “se entiende el producto de alta y muy alta humedad, elaborado con leche entera o estandarizada, con o sin el agregado de crema, acidificada por cultivo de bacterias lácticas y coagulada por cuajo y/o enzimas específicas”.

Deberá cumplir con las siguientes exigencias:

- a) Masa: cruda, moldeada, refrigerada, salada y madurada en frío.
- b) Pasta: blanda, cerrada, algo elástica y grasosa; sabor dulce característico, ligeramente ácido; aroma suave y agradable; color blanco amarillento uniforme.
- c) Contenido de grasa en el extracto seco, mín. 50,0%.
- d) Corteza: entera, lisa o ligeramente rugosa, de consistencia adecuada.
- e) Forma: cilíndrica achatada o paralelepípeda.
- f) Tiempo de maduración y peso:
Mínimo 20 días (hormas de hasta 2,5 Kg).
Mínimo 30 días (hormas de 2,5 a 5 Kg).

1.2.2. Queso Pategrás

Breve historia de su origen:

Su origen debe buscarse sin duda en productos similares de antigua tradición en Francia y también en Italia, aunque los cambios que le han sido introducidos con el tiempo ya le han dado características típicas argentinas. En el año 1922 ya se registran antecedentes de cotizaciones de este queso categorizado como un queso de los tipos de postre. El queso Pategrás es hoy el queso de pasta semidura más popular de la Argentina. Desde sus comienzos se lo consume como queso de mesa en las tradicionales "picadas" con vermouth y acompañado con distintos dulces en la forma de postre (www.quesosargentinos.gov.ar).

Definición:

Según el Artículo 630 – Res Conj. SPyRS y SAGPA N° 33/2006 y N° 563/2006 del CAA, con la denominación de *Queso Pategrás*, “se entiende el producto de mediana humedad, graso, elaborado con leche entera o estandarizada, acidificada por cultivo de bacterias lácticas y coagulada por cuajo y/o enzimas específicas”.

Deberá cumplir con las siguientes exigencias:

- a) Masa: semicocida, moldeada, prensada, salada y madurada.
- b) Pasta: compacta, firme, de consistencia elástica, con o sin algunos ojos bien diseminados; sabor dulce característico, aroma suave, agradable bien desarrollado; color blanco-amarillento uniforme.
- c) Corteza: lisa, de consistencia adecuada.
- d) Forma: cilíndrica, caras paralelas, perfil convexo.
- e) Tamaño, peso y tiempo de maduración:
 - Grande: Más de 5 Kg y hasta 10 Kg. Maduración mínima 2 meses.
 - Mediano: 1 Kg a 5 Kg. Maduración mínima 1,5 meses.
 - Chico: Menos de 1 Kg. Maduración mínima 1 mes.

1.2.3. Reggianito

Breve historia de su origen:

Sus antecedentes son los quesos duros italianos Parmigiano Reggiano y Grana Padano. La tecnología de elaboración de este queso es una adaptación de aquella italiana incorporada al país por los inmigrantes. Es más húmedo, más graso y de tiempo de maduración más corto que los quesos de pasta dura italianos. Además, su formato de comercialización es sustancialmente menor que el de aquéllos. El queso Reggianito es el queso duro más importante elaborado en nuestro país, el más consumido y el más exportado (www.quesosargentinos.gov.ar).

Definición:

Según el Artículo 635 – Res Conj. SPyRS y SAGPA N° 33/2006 y N° 563/2006 del CAA, con el nombre de *Queso Reggianito* “se entiende el queso madurado que se obtiene por coagulación de la leche por medio del cuajo y/o enzimas coagulantes apropiadas, completada por la acción de bacterias lácticas específicas. Es un queso de baja humedad y deberá contener un contenido mínimo de 32g de materia grasa / 100g de extracto seco”.

Este queso deberá responder a las siguientes características:

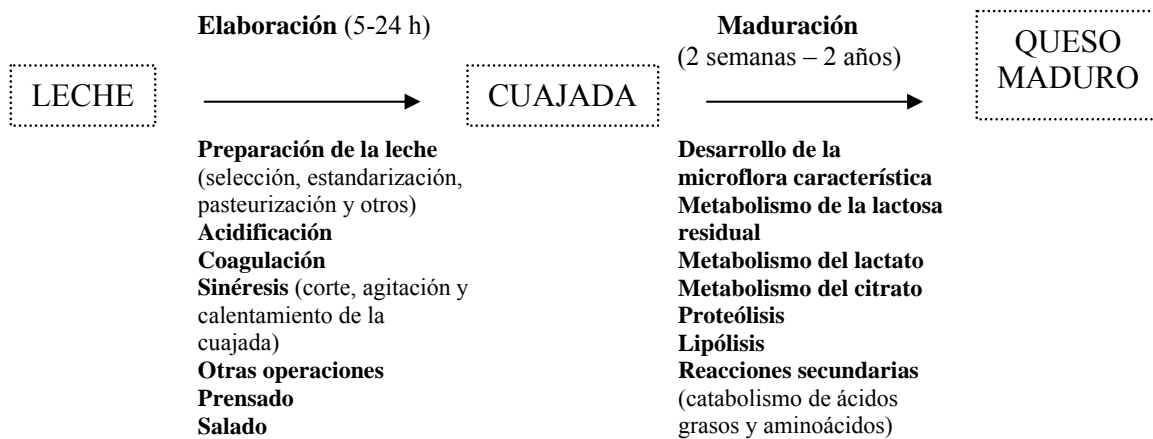
- a) Consistencia: dura.
- b) Textura: compacta, quebradiza y granulosa.
- c) Color: blanco amarillento y ligeramente amarillento.
- d) Sabor: salado, levemente picante.
- e) Olor: característico.
- f) Corteza: lisa, consistente, bien formada, cubierta con revestimientos apropiados, adheridos o no.

- g) Ojos: no posee. Eventualmente podrá presentar algunos ojos pequeños o aberturas mecánicas.
- h) Forma: cilindros de caras planas, de perfil ligeramente convexo.
- i) Peso: de 5 a 10 Kg.
- j) Estabilización y Maduración: deberá ser madurado el tiempo necesario para lograr sus características específicas. Por lo menos 6 meses para quesos de 5 a 10 Kg.

I.3. Elaboración y Maduración de quesos

La elaboración de quesos es básicamente un proceso de deshidratación, en el cual se produce una concentración (entre 6 a 12 veces) de la fracción grasa y proteica de la leche. Una de las etapas claves de este proceso es la coagulación de la caseína, que puede inducirse por acidificación, acidificación y calor o mediante enzimas coagulantes, siendo esta última la metodología más común. A diferencia de la mayoría de los quesos coagulados por acidificación, que son consumidos inmediatamente luego de su elaboración, el proceso de producción de un queso coagulado enzimáticamente involucra dos etapas: elaboración y maduración (Figura I.2).

Figura I.2. Esquema general de producción de quesos coagulados enzimáticamente (Fox y McSweeney, 2004).



La composición de la leche y las operaciones del proceso de elaboración determinan la naturaleza y calidad del producto final, pero es durante la maduración que se desarrollan las características típicas del queso (Fox y McSweeney, 2004a).

La maduración del queso es el proceso por el cual la cuajada, que tiene pobres características reológicas y sensoriales, se transforma en queso maduro, un producto muypreciado por sus buenas y diversas características de textura, aroma y sabor (Zalazar y col., 2004). Esta transformación se produce debido a que en la matriz del queso ocurren una serie muy compleja de reacciones bioquímicas, que pueden ser clasificadas como primarias y secundarias. Las primeras involucran la proteólisis, la lipólisis y el metabolismo de la lactosa residual, del citrato y del lactato, mientras que las segundas incluyen el metabolismo de los aminoácidos y de los ácidos grasos. Además de estas transformaciones enzimáticas, durante la maduración ocurren también

procesos de naturaleza física, como la difusión de la sal y la evaporación del agua (Fox y McSweeney, 2004a; Zalazar y col., 2004).

Los agentes responsables de las reacciones bioquímicas son enzimas de distinto origen (Fox y McSweeney, 2004):

- enzimas nativas de la leche,
- coagulante utilizado para la producción del queso,
- fermento primario,
- bacterias lácticas no pertenecientes al fermento o NSLAB, cuya presencia se debe a su supervivencia a la pasteurización o la contaminación posterior de la leche,
- fermento secundario o adjunto, utilizado para la producción de ciertos tipos de quesos: bacterias propiónicas en quesos suizos, y ciertos hongos tales como *Penicillium roqueforti* y *P. camemberti* en quesos azules, Camembert y Brie respectivamente. En este grupo también estarían incluidas las enzimas de fermentos lácticos adjuntos diferentes a las anteriores, utilizados para mejorar el *flavour* del producto o acelerar el proceso de maduración, y de los fermentos probióticos.

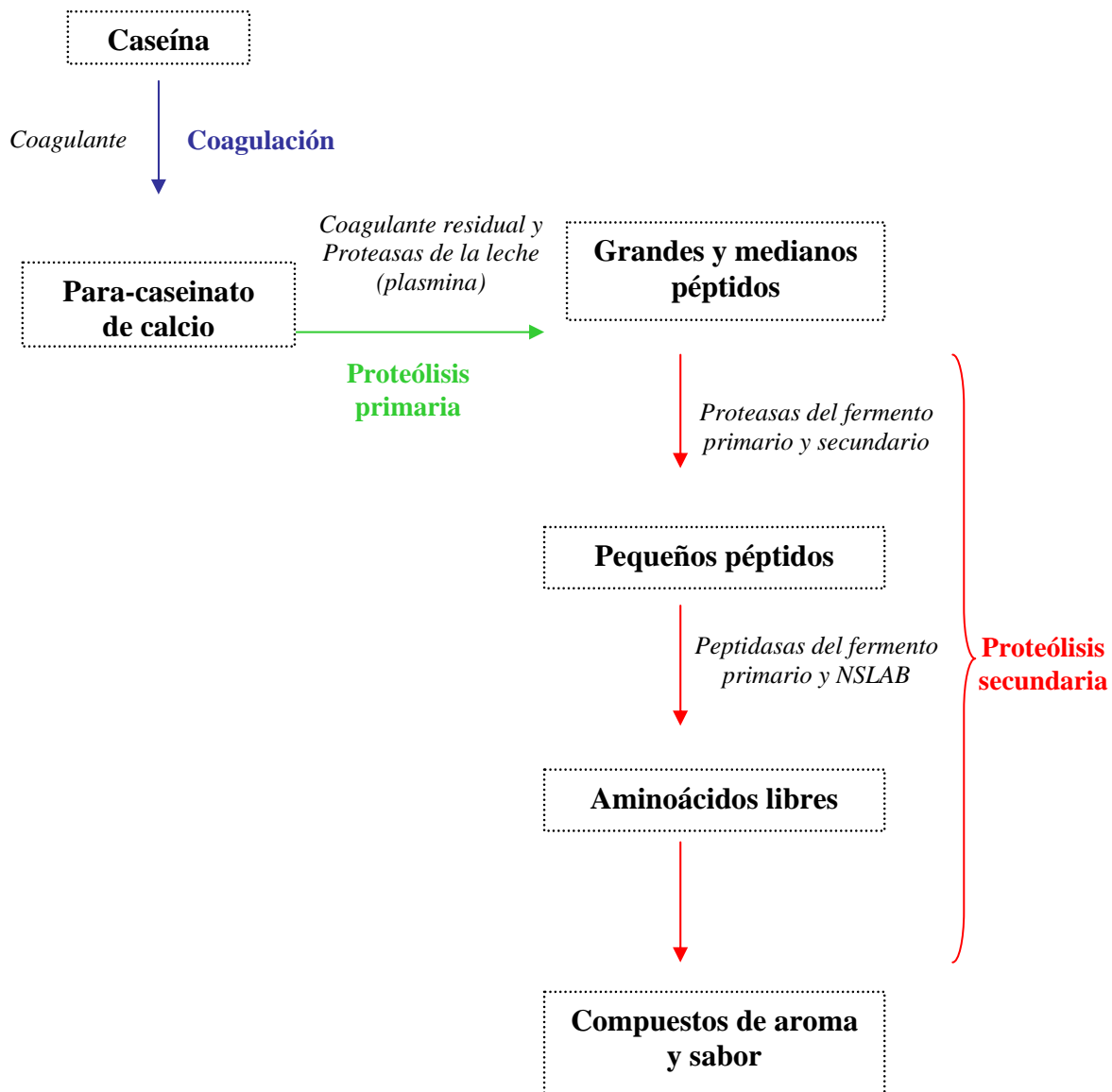
Además de los agentes nombrados, es importante destacar que los microorganismos indeseables o sus enzimas, provenientes de contaminaciones o de una mala calidad de la leche, como clostridios o bacterias psicotrofas, pueden tener una gran influencia negativa en la maduración. La influencia de cada una de estas enzimas dependerá de su concentración, y de las condiciones presentes en el medio ambiente del queso que tienen gran impacto sobre la actividad enzimática, como pH, contenido de cloruro de sodio, temperatura de maduración y contenido de agua (Walstra y col., 1999b).

1.3.1. Proteólisis

En la etapa de maduración de quesos, se denomina proteólisis al complejo conjunto de reacciones que involucran la degradación de las proteínas a péptidos de diversos tamaños y aminoácidos libres, siendo ésta la transformación bioquímica primaria más importante en la mayoría de las variedades de quesos. La importancia de la proteólisis está dada por su efecto en el desarrollo de textura y *flavour* del producto final. La degradación de la matriz proteica, y la formación de nuevos grupos amino y carboxilo (ionizados al pH del queso) determinan la interacción péptidos-agua e influyen en la textura del queso maduro. Asimismo, el aumento de pH originado por la liberación de amoníaco durante la proteólisis influye en el *flavour* e indirectamente en la textura. Por otro lado, la producción de péptidos cortos y aminoácidos libres, algunos de los cuales presentan sabor característico, son importantes en el *flavour* del producto, participando sobre todo en el sabor de fondo del queso. Recientemente, diversos estudios han demostrado que la influencia más importante de la proteólisis en el desarrollo del *flavour* del queso es indirecta y radica en la producción de aminoácidos libres, precursores por excelencia de compuestos de aroma y sabor (McSweeney, 2004b). Además, la proteólisis favorece la liberación de compuestos sápidos de la matriz del queso durante la masticación (Upadhyay y col., 2004; Fox, 2003).

La proteólisis es catalizada por proteasas y peptidasas de diverso origen: coagulante, proteasas nativas de la leche y microbianas, cuya actividad depende del tipo de queso. En términos generales, la proteólisis del queso puede ser esquematizada de la siguiente forma:

Figura I.3. Esquema general del proceso de proteólisis durante la maduración de quesos.



La coagulación enzimática de la leche, que tiene lugar durante la elaboración del queso, comprende la hidrólisis de la κ -caseína en el enlace Phe₁₀₅-Met₁₀₆ por la quimosina (enzima coagulante), con la consiguiente producción de para- κ -caseína (κ -caseína f1-105) y caseínomacropéptido (κ -caseína f106-169). Dicha reacción constituye el inicio de la proteólisis en el queso y posibilita su obtención (Hynes, 1998; Upadhyay

y col., 2004). Posteriormente, la proteólisis continúa más lentamente durante la maduración, como un proceso de cascada, actuando sucesivamente diferentes agentes proteolíticos sobre las caseínas enteras y sobre los distintos productos generados. Generalmente, el coagulante residual y las proteasas nativas de la leche actúan en primer lugar, hidrolizando las caseínas enteras en péptidos grandes e intermedios. Luego, se produce la acción de las proteasas del fermento sobre estos productos produciendo péptidos pequeños. Finalmente, estos péptidos son transformados a otros más pequeños o a aminoácidos libres por parte de las peptidasas del fermento primario o de las NSLAB (Sousa y col., 2001; Fox, 2003; McSweeney, 2004a y b).

Coagulante

La proporción de enzima coagulante que se retiene activa en la cuajada varía entre 0-30%, dependiendo del proceso de elaboración del queso (pH del desuerado, temperatura de cocción, humedad de la cuajada) y del tipo de enzima empleada. Sin embargo, se ha demostrado que esta cantidad relativamente baja es responsable de la proteólisis primaria durante la maduración de la mayoría de los quesos, excepto los de pasta cocida (McSweeney, 2004a). La acción de la quimosina, coagulante más ampliamente utilizado, sobre las distintas caseínas, ha sido estudiada tanto en solución como *in situ*. La proteína más susceptible al ataque de esta enzima es la α_{s1} -caseína, siendo el principal sitio de ataque el enlace Phe₂₃-Phe₂₄, con la consiguiente producción de los péptidos α_{s1} (f1-23) y α_{s1} -I (f24-199). El primer péptido, más pequeño y soluble en agua, se degrada rápidamente por acción de las enzimas del fermento. El segundo péptido, insoluble en agua, es nuevamente atacado por la quimosina en el enlace Leu₁₀₁-Lys₁₀₂ (Fox, 2003; McSweeney, 2004a). Además de los nombrados, existen otros sitios de corte de la quimosina sobre la caseína, que producen diversos péptidos medianos y

pequeños. La velocidad de acción de la quimosina sobre la α_{s1} -caseína depende del pH y de la fuerza iónica del medio. El pH óptimo de acción es 5 y concentraciones moderadas de sal, hasta 4%, incrementan la hidrólisis de la α_{s1} -caseína por la quimosina, mientras que concentraciones mayores disminuyen su actividad (Walstra y col., 1999b).

Con respecto a la β -caseína, si bien existen en su cadena polipeptídica en solución siete sitios de ataque por parte de la quimosina, la misma ha demostrado ser bastante resistente al ataque del coagulante en el queso (McSweeney y Fox, 1998a). La resistencia probablemente se deba a interacciones hidrofóbicas intra o intermoleculares entre residuos de aminoácidos en el extremo C-terminal de la β -caseína que se ven favorecidos en el medio ambiente del queso. Dichas interacciones podrían bloquear los sitios de ataque específicos de la quimosina, lo que no deja de constituir una ventaja, ya que los péptidos resultantes de la acción de la quimosina sobre la β -caseína son generalmente hidrofóbicos y muchos poseen sabor amargo, lo que podría influir negativamente en el *flavour* del queso (Fox, 2003).

Por otro lado, la α_{s2} -caseína es bastante resistente a la hidrólisis por la quimosina, restringiéndose los sitios de ataque a la región hidrofóbica de la molécula. Asimismo, la para- κ -caseína es resistente a esta enzima, probablemente debido a su mayor nivel de estructura secundaria (McSweeney, 2004a).

Plasmina

La plasmina constituye la enzima proteolítica nativa de la leche más importante. Es una proteasa alcalina, cuyo valor de pH y temperatura óptimos son 7,50 y 37°C, respectivamente. La plasmina, su precursor inactivo (plasminógeno) y el activador del plasminógeno se encuentran asociados a la micela de caseína y quedan mayoritariamente retenidos en la cuajada durante la elaboración del queso

(McSweeney, 2004a, Zalazar y col., 2004). Hay también inhibidores de la plasmina y del activador del plasminógeno que se disuelven en el suero. Los productos resultantes de la acción de la plasmina sobre las caseínas son péptidos grandes e intermedios. En el queso, la influencia de la plasmina se considera generalmente limitada, siendo responsable de la hidrólisis de la β -caseína en la mayoría de los quesos madurados por bacterias lácticas. Sin embargo, su actividad cobra importancia en algunos quesos, dependiendo fundamentalmente de la temperatura de cocción y del pH durante la maduración (Fox, 2003). Las tecnologías de elaboración de quesos que incluyen una etapa de calentamiento a elevada temperatura favorecen la acción de la plasmina durante la maduración. Esto se debe, por un lado, al menor impacto de la quimosina, y por otro lado, a una serie de modificaciones en el sistema plasmina-plasminógeno que se traduce en un incremento final de la actividad de la proteasa.

La especificidad de acción de esta enzima es sobre uniones del tipo Lys-X y en menor medida Arg-X y actúa preferentemente sobre las caseínas β y α_{s2} , y en menor medida sobre las α_{s1} . La κ -caseína es resistente a la acción de la plasmina. En la β -caseína existen varios sitios de corte de la plasmina, pero en quesos solamente tres enlaces son hidrolizados en forma significativa: Lys₂₈-Lys₂₉, Lys₁₀₅-His₁₀₆ y Lys₁₀₇-Glu₁₀₈. Como resultado de esta acción se producen las γ -caseínas : γ_1 -caseína (β -caseína f29-209), γ_2 -caseína (β -caseína f106-209), γ_3 -caseína (β -caseína f108-209) y componentes de la fracción proteasa-peptona (PP): PP8 rápida (β -caseína f1-28), PP8 lenta (β -caseína f29-105 y β -caseína f29-107), y PP5 (β -caseína f1-105 y β -caseína f1-107) (McSweeney, 2004a). La α_{s2} -caseína exhibe varios sitios de corte por la plasmina. La α_{s1} -caseína también es susceptible de ser hidrolizada, pero a una velocidad mucho menor que la β -caseína, siendo probablemente las λ -caseínas los productos de esta degradación.

En leche también existen otras proteasas minoritarias, siendo la catepsina D la proteasa ácida más estudiada. Su acción sobre la α_{s1} -caseína es muy similar a la del coagulante, por lo que su influencia en quesos ha sido muy difícil de elucidar. La catepsina D está presente en el suero, por lo que gran parte se pierde durante la elaboración, y además es relativamente termosensible. Por estas razones, la importancia de esta enzima en la proteólisis durante la maduración se ha relativizado especialmente en quesos donde está presente la enzima coagulante (Sousa y col., 2001).

Enzimas microbianas

Los microorganismos capaces de influir en el proceso de proteólisis incluyen los pertenecientes al fermento primario, al fermento secundario o adjunto, y a las NSLAB.

Los fermentos secundarios no lácticos utilizados en quesos suizos y azules por ejemplo, tienen una gran importancia en el proceso de proteólisis de los quesos en los que se los utiliza. Sin embargo, sus particularidades no se aplican a los quesos madurados internamente con bacterias lácticas, como los del presente trabajo, y por lo tanto no se describirán.

En la mayor parte de las variedades de quesos argentinos, las enzimas proteolíticas de origen microbiano provienen de bacterias lácticas, ya sea del fermento o NSLAB. La actividad proteolítica del fermento es considerada primordial en la proteólisis secundaria, en todos los quesos madurados sin hongos y sin flora superficial. Si bien las bacterias lácticas son consideradas poco proteolíticas comparadas con otras bacterias, tienen un sistema proteolítico bastante completo, el cual les sirve para cumplir con sus exigentes requerimientos nutricionales de aminoácidos (Sousa y col., 2001).

El sistema proteolítico de las bacterias lácticas es muy importante en el desarrollo de productos lácteos fermentados, ya que por un lado les permite crecer y

acidificar en leche y por otro, contribuir al desarrollo de las propiedades organolépticas del producto (Gripon, 1994).

En general, este sistema proteolítico está conformado por proteasas, que en su mayoría son extracelulares y se hallan unidas a la pared celular y diversas peptidasas endocelulares. Si bien el rol fisiológico de las proteasas de pared es producir oligopéptidos a partir de las caseínas intactas, en el queso estas enzimas actúan mayormente sobre los péptidos generados por la acción del coagulante y de la plasmina a partir de la α_{s1} y β -caseína produciendo compuestos nitrogenados menores, que a su vez, son sustratos de las peptidasas (McSweeney, 2004a). Posteriormente a la acción de las proteasas, actúan las peptidasas endocelulares. El contacto entre los sustratos (péptidos) y las peptidasas endocelulares puede producirse de dos maneras diferentes. Por un lado, es posible que los péptidos ingresen a la célula, ya sea por difusión, o a través de los sistemas de transporte. Este último mecanismo necesita energía, que normalmente se obtiene a partir de los hidratos de carbono, un recurso escaso en el queso (Walstra y col., 1999b). Por otro lado, existe abundante evidencia de que las peptidasas endocelulares se ponen en contacto con su sustrato principalmente luego de la muerte y lisis celular, lo cual garantiza la accesibilidad a los sustratos (Gripon, 1994). Es importante destacar que la autólisis es considerada un hecho muy importante para que los fermentos lácticos primarios o adjuntos demuestren un impacto significativo en la proteólisis secundaria. Sin embargo, se suele acordar en que un adecuado balance de células vivas, muertas y que sufrieron lisis es la mejor situación para el desarrollo de aroma y sabor en el queso.

La importancia de las bacterias lácticas en la hidrólisis de caseína y péptidos también ha sido estudiada mediante ensayos donde quesos acidificados químicamente eran comparados con quesos testigo con fermento. También existen numerosos trabajos

que estudian productos elaborados utilizando diferentes starters. Los resultados obtenidos han evidenciado que las bacterias lácticas ejercen gran influencia en la proteólisis secundaria, ya que producen mayormente compuestos nitrogenados pequeños. Esta acción se demuestra fundamentalmente por el incremento de los aminoácidos libres y en los perfiles peptídicos obtenidos por HPLC.

1.3.2. Lipólisis

La degradación de los lípidos es limitada en la mayoría de los quesos, siendo importante únicamente para dos familias de quesos: los quesos duros de pasta cocida y los quesos madurados con hongos y bacterias superficiales. Este proceso es producido principalmente por vía hidrolítica, ya que la vía oxidativa no es importante debido al bajo potencial redox del producto (McSweeney, 2004b).

Los agentes lipolíticos que pueden estar presentes en el queso son:

- las lipasas que acompañan a ciertos coagulantes,
- la lipasa nativa de la leche y
- enzimas lipolíticas microbianas.

El cuajo en pasta de cabrito o cordero, que se utiliza en la producción de los quesos italianos Pecorino y Provolone, contiene una lipasa pregástrica específica de ácidos grasos (AG) de cadena corta esterificados en posición sn-3.

En la leche, se encuentra la lipoproteína lipasa, enzima nativa muy sensible al calor y que se desnaturaliza casi por completo en la pasteurización. Por esta razón, su actividad, que es preferencial hacia AG de cadena mediana en posición sn-1 y sn-3, probablemente sólo sea importante en quesos elaborados con leche cruda, como el Parmigiano Reggiano.

Dentro de las enzimas microbianas, las lipasas de *Penicillium roqueforti* han demostrado ser muy potentes, generando una extensiva lipólisis en los quesos azules. Otros microorganismos con activas lipasas son *P. camemberti* y microorganismos presentes en los quesos madurados con bacterias en superficie como *Brevibacterium linens* y *Geotrichum candidum*.

Las bacterias lácticas poseen una actividad lipolítica débil pero cuantificable, y esta acción sobre los triglicéridos puede ser observada en algunos quesos con tiempos de maduración prolongados y con ausencia de otras lipasas más potentes (Fox, 2003; McSweeney, 2004a y b).

Los AG producidos en la lipólisis tienen una influencia directa sobre el *flavour*, sobre todo los AG volátiles de cadena corta. Además, son precursores de compuestos de *flavour*, producidos por transformaciones posteriores (esterificación, β -oxidación, decarboxilación), en las que se producen ésteres, tioésteres, lactonas, metilcetonas, aldehídos y alcoholes, entre otros (Fox, 2003).

1.3.3. Metabolismo de la lactosa, del lactato y del citrato

Durante la elaboración del queso, el fermento primario transforma la lactosa a ácido láctico, previo desdoblamiento en los monosacáridos glucosa y galactosa, lo que constituye su principal función tecnológica. Esta acidificación es esencial para la producción del queso, ya que favorece la coagulación y el desuerado, previene el crecimiento de microorganismos indeseables, e influye en la textura, modificando el grado de desmineralización de la caseína, y su susceptibilidad a las proteasas. La mayor parte de la lactosa se pierde en el suero como tal o como ácido láctico, permaneciendo solamente 1-2% de lactosa en la cuajada fresca, la cual en pocas horas es metabolizada principalmente por el fermento primario, y posiblemente también por las NSLAB

(McSweeney, 2004a y 2004b). El L-lactato es el isómero producido mayoritariamente por el fermento láctico a partir de la lactosa. Las NSLAB pueden inducir la racemización del L-lactato a D-lactato, y en menor medida, producir D-lactato directamente. El D-lactato es menos soluble que su isómero L y puede formar cristales insolubles de lactato de calcio, cuya presencia no afecta el *flavour* del queso, pero puede influir en la aceptación por parte del consumidor (McSweeney y Fox, 2004a; McSweeney, 2004b). El lactato puede constituir un sustrato importante para subsiguientes reacciones bioquímicas, como es el caso de quesos con bacterias propiónicas (Emmental, Gruyere), o con hongos (azules, Brie, Camembert) (McSweeney, 2004a).

Al igual que la lactosa, un gran porcentaje del citrato (94%) se pierde en el suero durante la elaboración. La pequeña cantidad remanente en la cuajada es metabolizada por fermentos mesófilos citrato positivos, como *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y *Leuconostoc* spp., que son utilizados en quesos tipo Dutch, como Gouda y Edam, produciendo diacetilo, acetoína, acetato y CO₂, responsables del *flavour* y los pequeños ojos característicos de estas variedades (Fox, 2003).

1.3.4. Procesos físicos

Estas transformaciones de naturaleza enzimática van acompañadas por procesos de naturaleza física, los cuales si bien no participan directamente, condicionan los cambios anteriormente mencionados. Estos procesos son: difusión de la sal y pérdida de humedad. Los quesos recién elaborados presentan concentraciones de sal muy elevadas en la superficie, pero en el centro la sal esta prácticamente ausente. Debido a este gradiente, a medida que el queso madura, se produce una difusión de la sal desde la superficie hacia el centro, es decir esas diferencias se van atenuando, hasta llegar al final

del período de maduración con una concentración de sal más o menos homogénea en toda la masa. Por lo tanto, este aumento de la concentración de sal en el interior del queso, condiciona la velocidad de los procesos enzimáticos: al aumentar la concentración de NaCl, disminuye la actividad de agua (a_w) y los procesos enzimáticos se tornan más lentos. De la misma manera, en el queso recién elaborado existe un gradiente de humedad, siendo el contenido de agua mayor en el interior con respecto a la superficie del mismo. Durante la maduración el queso pierde humedad debido a que se produce una evaporación de agua a través de la superficie. Esto provoca una disminución en su peso y un incremento también progresivo del extracto seco.

I.4. Fundamentos de la elección del tema de estudio

La maduración es la última fase de la fabricación de quesos, pudiendo durar desde apenas unos días para algunos quesos frescos, hasta meses y años para quesos duros. Por ejemplo, dentro de los quesos de alta humedad, el Cremoso se madura alrededor de 30 días, mientras que un queso duro Italiano, como el Parmigiano Reggiano requiere hasta 2 años de maduración.

Este proceso es la fase inactiva de la elaboración, es una etapa improductiva, es decir se debe mantener inmovilizado un importante capital durante un cierto período de tiempo.

En vista de la importancia que tiene el proceso de maduración y su estrecha vinculación con el tiempo, varios han sido los intentos que se han realizado a fin de encontrar una expresión que mediante la determinación de algunos parámetros se pueda establecer, para un queso determinado, el periodo durante el cual el mismo ha sido madurado. Uno de ellos es el "grado de maduración", definido como el cociente entre el nitrógeno soluble (NS) y el nitrógeno total (NT), que es de fácil determinación.

En la actualidad no existe ninguna herramienta analítica que permita determinar con una cierta exactitud el tiempo de maduración para quesos típicos argentinos. Sin embargo, su determinación a partir de la medición de ciertos parámetros fisicoquímicos incluyendo el grado de maduración, podría ser muy útil. El valor científico técnico del presente trabajo radica precisamente en la finalidad de desarrollar un modelo basado en métodos estadísticos que permita predecir con un aceptable margen de error el tiempo de maduración de distintos tipos de quesos argentinos.

Por otra parte resultaría muy útil disponer de un método que permita controlar que se cumplan los tiempos mínimos de maduración que establece el Código Alimentario Argentino para cada tipo de queso, a saber:

Dentro de los quesos de alta humedad (conocidos como de pasta blanda), para Queso Cremoso:

- Mín. 20 días para quesos menores a 2,5 Kg.
- Mín. 30 días para quesos de 2,5 a 5 Kg.

Dentro de los quesos de mediana humedad (conocidos como de pasta semi-dura), para Queso Pategrás:

- Mín. 2 meses para quesos de 5 a 10 Kg (grandes).
- Mín. 1,5 meses para quesos de 1 a 5 Kg (medianos).
- Mín. 1 mes para quesos menores a 1 Kg (chicos).

Dentro de los quesos de baja humedad (conocidos como de pasta dura), para Queso Reggianito: Mín. 6 meses.

En lo que a calidad se refiere, el conocimiento del tiempo de maduración está directamente vinculado con las características sensoriales y en consecuencia puede justificar diferentes "precios de venta".

Desde el punto de vista económico y teniendo en cuenta que la maduración es una etapa improductiva, es deseable que la misma no se extienda mas allá de lo necesario. Si se fijan las características que un determinado tipo de queso debe tener al final de su maduración con modelos de este tipo, sería posible estimar el tiempo de permanencia en cámara evitando sobremaduraciones.

I.5. Métodos utilizados para evaluar el avance de la maduración del queso

Por una amplia variedad de razones el queso es sometido a diferentes análisis químicos, como por ejemplo para determinar su composición con fines nutricionales, para asegurar su aprobación con estándares de identidad, para determinar la eficiencia de la producción o como un índice de calidad. Posiblemente el último de los mencionados, es el objetivo más ambicioso. Las características organolépticas del queso son determinadas por los cambios físicos y bioquímicos que ocurren durante la maduración y son tradicionalmente evaluadas por el análisis sensorial a partir de panelistas entrenados. Sin embargo, el análisis sensorial es subjetivo, y aunque en el presente es el mejor índice de aceptabilidad de los consumidores, provee datos que son difíciles de evaluar científicamente y de comparar entre laboratorios o estudios. En consecuencia, el análisis físico y químico de los quesos es utilizado para monitorear objetivamente la maduración y para determinar su calidad, usualmente como un complemento del análisis sensorial.

I.5.1. Proteólisis

Para la mayoría de los quesos duros y semiduros la proteólisis es el índice de maduración más ampliamente utilizado (McSweeney y Fox, 2004b).

Los compuestos nitrogenados que contribuyen al *flavour* son solubles en solventes acuosos. La metodología que evalúa el contenido de nitrógeno soluble en diversas fracciones obtenidas a partir del extracto acuoso del queso, refleja el grado de avance y la profundidad de la proteólisis. Los cientos de péptidos presentes en la muestra son fraccionados de acuerdo a su masa molecular, su hidrofobicidad y conformación en las distintas fracciones, siendo una técnica útil para comparar el grado de avance de la proteólisis entre muestras de quesos y en consecuencia como índice de maduración del queso. El contenido de Nitrógeno soluble a pH 4,6 (NS-pH 4,6), la primera de las fracciones, incluye proteínas (excluyendo las caseínas), todos los péptidos de hasta 30-35 residuos de aminoácidos, aminoácidos libres y compuestos tales como aminas, urea y amoníaco. La fracción de Nitrógeno soluble en ácido ticloroacético 12% (NS-TCA), la segunda de las fracciones, está constituida por péptidos medios y pequeños conteniendo desde 2 hasta 22 residuos de aminoácidos, aminoácidos libres y compuestos tales como aminas, urea y amoníaco. Por último, la fracción de Nitrógeno soluble en ácido fosfotúngstico 2,5% (NS-PTA) contiene compuestos con un peso molecular hasta 600 daltons, que incluyen péptidos muy pequeños, aminoácidos y compuestos nitrogenados menores, excepto aminoácidos dibásicos (lisina, arginina y ornitina) y amoníaco (Ardö, 1999).

Varios estudios informaron que la concentración de aminoácidos libres correlaciona fuertemente con la edad y la madurez del queso y podría considerarse como un índice de maduración del mismo.

La electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE) es ampliamente utilizada para monitorear la proteólisis primaria en los quesos y está principalmente relacionada a la actividad del coagulante residual y de la plasmina. Específicamente, la caseína- α 1

residual es un buen indicador del nivel general de proteólisis en quesos relativamente jóvenes (Fox, 1993).

1.5.2 Lipólisis

La extensión de la lipólisis durante la maduración varía ampliamente con la variedad del queso. En quesos tales como Cheddar, Emmental, Gruyere y tipo Gouda, el nivel de lipólisis es bajo, mientras que en quesos madurados con hongos, como los azules, y en quesos duros, se observa una extensa lipólisis. Obviamente, la concentración de ácidos grasos libres aumenta durante la maduración y tiene un importante impacto en el *flavour* del queso. Una determinada concentración de ácidos grasos libres es necesaria en el balance correcto para lograr el *flavour* óptimo, pero un exceso de los mismos o un balance incorrecto genera *off-flavours*, especialmente en variedades de quesos suaves. En general, la concentración de ácidos grasos libres se considera poco útil como indicador de la edad del queso en comparación a otros productos generados en la proteólisis y en la glicólisis.

1.5.3. Fermentación de la lactosa y cambios en el lactato

La fermentación de la lactosa a ácido láctico durante la elaboración del queso reduce el pH de la cuajada a valores que previenen el crecimiento de bacterias patógenas. La velocidad y la extensión de esta acidificación influyen fuertemente en el tipo y la calidad del queso y en consecuencia el pH es un útil índice de control. Sin embargo, el pH del queso aumenta durante la maduración y entonces al final de este proceso puede no reflejarse lo que sucedió en la cuajada fresca.

Por otro lado, aproximadamente el 98% de la lactosa de la leche es eliminada en el suero como lactosa o como ácido láctico, quedando en la cuajada solo el 0,7-1,5%

de lactosa. La concentración de lactosa residual en la cuajada depende del método de elaboración, del tipo y actividad del starter y especialmente de la concentración de sal en la fase húmeda. Además, a pesar que suceden importantes cambios en las concentraciones de lactosa y ácido láctico durante la maduración del queso, por ejemplo en queso Cheddar, la concentración de lactosa disminuye a cero en solo dos semanas, en quesos tipo Dutch, la lactosa es completamente fermentada a ácido láctico en 24 horas y en quesos de alta cocción, en los cuales es utilizado un fermento termófilo, la concentración de lactosa también disminuye a cero prácticamente en una semana, es muy raro su uso como índice de maduración.

En la mayoría de los quesos, la lactosa es metabolizada a L-ácido láctico. En queso Cheddar, Dutch y muchas otras variedades, el L-lactato es isomerizado a D-lactato por las NSLAB; entonces existe una mezcla racémica del ácido láctico cuya velocidad de racemización depende de la población de las mismas y entonces es un índice del número y actividad de estos microorganismos como también de maduración del queso. A pesar que existen pocos estudios, se puede pensar que no sea un buen índice de madurez debido a las variaciones en la población de las NSLAB.

1.5.4. Cambios en el pH

La formación de ácido láctico durante la elaboración y el metabolismo de la lactosa residual en las etapas iniciales de maduración reduce el pH del queso a 5,1-5,3, dependiendo de la variedad. Durante la maduración el pH del queso aumenta debido a la formación de compuestos alcalinos nitrogenados y/o por el catabolismo del ácido láctico. Por ejemplo, el pH de queso Cheddar aumenta solo ~0,1 unidad luego de seis meses de maduración, el pH de queso Gruyere aumenta de 5,35 a 5,95 y el de queso Gouda de 5,1 a 5,3-5,9. El pH de queso Camembert aumenta de 4,8 a 7,5, mientras que

el pH del queso azul aumenta desde 4,8 a 7. Obviamente, cambios en el pH de esta magnitud durante la maduración son útiles indicadores de la edad de los quesos, especialmente en los quesos madurados con hongos, pero en las demás variedades este parámetro es raramente utilizado como índice de madurez.

1.5.5. Compuestos orgánicos volátiles

Los compuestos orgánicos volátiles, como por ejemplo: algunos ácidos, sulfuro de hidrógeno, lactonas, metanotiol, dimetilsulfuro, etc., están presentes en quesos en concentraciones que dependen de la variedad y de las condiciones de maduración. Los mismos son responsables del aroma del queso y contribuyen tanto al sabor *de fondo* como al característico, pero su concentración en el queso es variable. McGugan y col., 1998 notaron que los compuestos volátiles obtenidos de una grasa de queso contribuyen al flavour, pero cuando los mismos fueron agregados a quesos frescos o madurados, la intensidad del flavour de los mismos no aumentó significativamente, sugiriendo que la cuantificación analítica de compuestos volátiles como un indicador de maduración puede llegar a sobreestimar la edad de los quesos. Marsili, 2000 informó que las concentraciones de alcoholes, aldehídos y cetonas fueron pobres indicadores de la edad de queso Cheddar. Sin embargo, encontró que el acetato y especialmente propionato fueron buenos índices de la edad de esta variedad de queso.

I.6. Análisis multivariado

El Análisis Multivariado consiste en un conjunto de técnicas cuya finalidad es analizar simultáneamente conjuntos de datos multivariados, es decir, datos que son el resultado de observar y registrar los valores de varias variables en cada individuo u objeto bajo estudio.

En general se lo clasifica en dos grandes grupos

1. Métodos predictivos como Regresión Lineal Múltiple (RLM), Regresión Parcial por mínimos cuadrados (PLS), Análisis Discriminante (DA), entre otros.

2. Métodos descriptivos como análisis factorial, análisis de componentes principales, análisis de correspondencias simples y múltiples, etc.

Este tipo de análisis ha avanzado mucho y hoy ocupa el corazón del análisis estadístico avanzado. La gran virtud del mismo es que sintetiza las relaciones entre las variables estudiadas (Hair y col., 1999).

1.6.1. Análisis por componentes principales (PCA)

El PCA puede encuadrarse dentro del conjunto de técnicas multivariadas conocidas como métodos factoriales (en los que se incluyen el análisis de factores y el análisis de correspondencias).

Es una técnica de reducción de datos que sirve para encontrar grupos homogéneos de variables a partir de un conjunto numeroso de variables. Esos grupos homogéneos se forman con las variables que correlacionan mucho entre sí y procurando, inicialmente, que algunos grupos sean independientes de otros.

El PCA es, por tanto, una técnica de reducción de la dimensionalidad e interpretación de los datos. Su propósito último consiste en buscar el número mínimo de dimensiones capaces de explicar el máximo de información contenida en los datos. Esto se logra mediante la transformación del grupo de variables originales observadas para las muestras, en un nuevo grupo de variables denominadas *componentes principales* o *factores*, los cuales son ortogonales entre sí (no correlacionados). Cada componente principal (CP_i) es una combinación lineal de las variables originales, y puede expresarse mediante la siguiente ecuación:

$$CP_i = a_{i1} x_1 + a_{i2} x_2 + \dots + a_{ik} x_k$$

Los coeficientes a_{ij} de cada variable en la ecuación, llamados *loading* o *carga factorial*, expresan la contribución de cada variable original (x_1, x_2, \dots, x_k) al componente principal. La suma de los cuadrados de las cargas factoriales en un dado componente se denomina autovalor (λ_i) e indica la cantidad de varianza explicada por ese componente.

La suma algebraica en cada componente principal para una muestra, es llamada el *score* o puntuación de la muestra para ese componente principal. En el PCA se obtienen tantas nuevas variables o componentes principales como número de variables originales. Sin embargo, los primeros componentes principales extraen la máxima variancia y son suficientes para la interpretación de los datos, logrando una reducción de la multidimensionalidad sin pérdida significativa de información (Hair y col., 1999).

1.6.2. Análisis Discriminante (DA)

El DA es una técnica de clasificación que se basa en el cálculo de una serie de funciones discriminantes que ayudan a predecir a la *variable de clasificación* a partir de otras variables cuantitativas. Estas funciones son utilizadas para clasificar a las observaciones en grupos predefinidos. Para “n” grupos, son calculadas n-1 funciones discriminantes. Estas funciones tienen una ecuación similar a una ecuación de regresión:

$$D = B_1X_1 + B_2X_2 + \dots + B_vX_v + B$$

donde X_v son los valores de las variables independientes y B_v son los coeficientes estimados a partir de los datos. La función discriminante con p-valor < 0.05 es estadísticamente significativa con un 95% de nivel de confianza.

A partir de esta ecuación se calcula el *score discriminante* para cada muestra y luego los individuos son clasificados en el grupo para el cual tienen el mejor puntaje.

Esto se expresa en términos del porcentaje de casos correctamente clasificados (Hair y col., 1999).

1.6.3. Métodos de regresión

La Regresión Lineal Múltiple (MLR), la Regresión por Componentes Principales (PCR) y la Regresión Parcial por Mínimos Cuadrados (PLS) son métodos estadísticos convencionales para modelar relaciones cuantitativas entre 2 grupos de variables X y Y . En estos métodos lineales de regresión, cada variable dependiente Y se obtiene como una combinación lineal de las p variables independientes, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_kX_k + e$$

donde b_i son los coeficientes de regresión y e es el error aleatorio.

La MLR encuentra el ajuste óptimo de los datos de acuerdo al criterio de mínimos cuadrados, siendo lo más conveniente que no exista multicolinealidad entre las variables X . Por el contrario, PCR y PLS pueden ser usados cuando existe multicolinealidad entre las variables del grupo de las X , o cuando el número de muestras de calibración es pequeño (Carpino y col., 2002; Hair y col., 1999).

La PCR encuentra los componentes que capturan la mayor cantidad de varianza en las variables predictoras sin usar la información de la variable dependiente (Y). Sin embargo, la PLS intenta obtener los componentes que capturan la mayor cantidad de varianza en el grupo de las X pero consiguiendo la máxima correlación con la variable dependiente (Y). Es decir, que el propósito principal de este método está en predecir la variable dependiente y no necesariamente en tratar de entender las relaciones subyacentes entre las variables predictoras (Martens y col., 1993).

1.6.3.1. Métodos lineales basados en la reducción de variables: PCR y PLS

Dentro de los métodos basados en la calibración inversa (en los cuales se utiliza a la concentración como variable dependiente y a la señal analítica como variable independiente) se encuentran los métodos de regresión sesgados como PCR y PLS, basados en la reducción de variables. Estos se caracterizan porque la información contenida en la respuesta analítica registrada puede ser concentrada o reducida en un menor número de variables, sin pérdida de la información relevante. La regresión de las respuestas no se realiza en los datos originales, sino en estas nuevas variables, simplificándose los modelos y la interpretación de los resultados. Presentan las ventajas de la calibración inversa, en la cual se puede realizar el análisis de únicamente alguno de los componentes que contribuyen a la señal de respuesta sin necesidad de conocer nada de las demás componentes o especies presentes. Por lo tanto, se los incluyen dentro de los métodos flexibles de calibración (Hair y col., 1999).

❖ *Consideraciones previas*

Los métodos de reducción de variables no se suelen aplicar directamente a los datos originales, sino que estos son centrados y/o autoescalados. Con estos tratamientos se intenta transformar matemáticamente los datos a la forma más adecuada para la obtención del modelo de calibración.

Consideremos una matriz X de datos, donde cada fila se corresponde a una muestra y cada columna a una variable medida. Si se denomina x_{ik} al elemento de la matriz que está en la fila i y en la columna k , es habitual referir todos los valores de las variables a un origen común mediante el:

-*centrado de los datos*. Se calcula el valor medio de cada variable de la matriz y se resta a cada valor puntual de la columna. El valor medio corresponde al centro del modelo, y los valores de todas las variables están ahora referidos a dicho centro.

$$x_{ik} - \bar{x}_k$$

Este tratamiento permite mantener las unidades originales y equivale a trabajar con la matriz de varianza-covarianza de las variables originales.

Si las variables originales están expresadas en unidades distintas, o cuando sus varianzas son muy diferentes, se aplica el:

-*autoescalado de los datos*. Después de centrar cada columna, se divide cada valor por la desviación estándar de la misma, S_k , de forma que la varianza de cada variable vale la unidad.

$$\frac{x_{ik} - \bar{x}_k}{S_k}$$

Este tratamiento equivale a trabajar con la matriz de correlación de las variables originales. Geométricamente equivale a cambiar la longitud de los ejes de coordenadas. De esta forma, todos los ejes tienen la misma longitud y cada variable tiene la misma influencia en el cálculo.

❖ *Regresión por componentes principales (PCR)*

Este método consta de dos etapas. En la primera se efectúa una reducción de variables mediante un análisis por componentes principales y en la segunda se realiza la regresión de estos componentes principales.

En el PCA, descrito anteriormente, la matriz de datos X (de dimensiones $m \times k$; m muestras y k variables) se descompone en el producto de dos matrices, T (matriz de

scores) y P (matriz de *loadings*), más una matriz E de residuales de X , según la siguiente expresión:

$$X = TP^T + E$$

Los primeros componentes principales describen la fuente de variación más importante de los datos, que se puede asociar a la información más relevante. Para tener una reproducción perfecta de la matriz X se necesitan k vectores *loadings* y *scores*, sin embargo, es posible representar la matriz original con un número de vectores $a < k$, de la siguiente forma:

$$X = t_1 p_1^T + t_2 p_2^T + \dots + t_a p_a^T + E$$

Puesto que la información relevante está contenida en los a primeros componentes, y los últimos sólo describen variaciones debidas al ruido, se obtiene una reducción importante del número de variables. Finalmente, el conjunto de datos X que estaba descrito por variables correlacionadas, se ha definido por un nuevo conjunto de variables, llamadas componentes principales, que son variables no correlacionadas entre sí, en un nuevo sistema de ejes ortogonales.

En la segunda etapa, se utilizan los componentes principales encontrados mediante el PCA y se realiza una regresión múltiple inversa (ILS) de la variable dependiente sobre los *scores*, en lugar de realizarla sobre los datos originales.

Ahora se puede expresar la matriz Y , que contiene la variable dependiente, según la siguiente expresión:

$$Y = T \hat{B} + E$$

donde \hat{B} es la matriz de regresores que se halla por mínimos cuadrados conociendo los valores de Y del conjunto de calibración, de la siguiente forma:

$$B = (T^T T)^{-1} T^T Y$$

donde el símbolo $\hat{}$ indica valores calculados o predichos

Una vez establecido el modelo de calibración, se pueden realizar los cálculos para predecir un conjunto de nuevas muestras. En primer lugar, la matriz de datos de muestras de predicción, X^* , se centra o autoescala. A partir de la matriz de *loadings* calculada en la calibración, para el número a de componentes principales óptimo, se calculan los *scores* de las muestras de predicción, T^* :

$$T^* = X^* P$$

y, por último, se utiliza la matriz de regresores calculada en la calibración, junto con los *scores* de estas muestras, para el cálculo de la variable dependiente en las muestras desconocidas

$$Y^* = T^* B$$

Uno de los principales problemas de PCR es que los componentes principales escogidos que mejor representan la matriz de datos X , pueden no ser los óptimos para la predicción de la variable dependiente. Por este motivo se han desarrollado otras técnicas de calibración que intentan concentrar el máximo poder predictivo en los primeros componentes principales como es el caso de la Regresión Parcial por Mínimos Cuadrados (Porcel García, 2001).

❖ *Regresión parcial por mínimos cuadrados*

El método de Regresión Parcial por Mínimos Cuadrados (PLS, *Partial Least Squares Regresión*) fue desarrollado por H. Wold en 1975. La diferencia con PCR es que se intenta que los primeros componentes contengan la mayor información para la predicción de la matriz Y . Para ello, durante la etapa de calibración, el algoritmo PLS utiliza tanto la información contenida en la matriz de datos (matriz X) como la

información contenida en la matriz de la variable dependiente (matriz Y), obteniéndose variables auxiliares llamadas variables latentes, factores o componentes que tienen gran parecido a los componentes principales que se hallan en PCR.

Antes de realizar la descomposición en factores, las matrices X e Y se centran o autoescalan y luego cada una de ellas se descompone simultáneamente en una suma de a factores, según la siguiente expresión:

$$X = TP^T + E = \sum_{i=1}^a t_i p_i^T + E$$

$$Y = UQ^T + F = \sum_{i=1}^a u_i q_i^T + F$$

donde T es la matriz de *scores*, P la de *loadings* y E la matriz de residuales para la matriz X; U es la matriz de *scores*, Q la de *loadings* y F la matriz de residuales para la matriz Y. En este caso, los *loadings* P y Q no coinciden con la dirección de la máxima variabilidad de las muestras como sucede en PCA, ya que están corregidos para obtener la máxima capacidad predictiva para la matriz Y.

La descomposición de ambas matrices no es independiente, sino que se realiza de forma simultánea, estableciéndose una relación interna entre los *scores* de los bloques X e Y de forma que para cada componente a , se cumpla que:

$$\hat{u}_a = b_a t_a$$

donde el símbolo $\hat{}$ indica que es un valor predicho y b_a es el coeficiente de regresión para cada uno de los componentes.

A partir de aquí se plantea Y utilizando la relación interna \hat{u}_a

$$Y = TBQ^T + F$$

donde B es la matriz de regresores b_a y F la matriz de los residuales de Y.

En el caso de calcular una sola variable dependiente de la matriz Y el algoritmo recibe el nombre de PLS1 y si se determinan varias variables recibe el nombre de PLS2.

Una vez establecido el modelo de calibración se puede realizar la predicción de la variable dependiente en un nuevo conjunto de muestras según la siguiente expresión:

$$y_i^T = b_0^T + x_i^T B$$

siendo x_i el vector que define la señal analítica de la muestra, y_i el vector de la variable dependiente, y b_0^T un vector que permite realizar la predicción de una muestra sin necesidad de descomponerla en matrices de *scores* y *loadings* (Porcel García, 2001).

1.6.3.2. Construcción de modelos de calibración multivariados

El objetivo de los métodos de calibración multivariados es establecer modelos que sean capaces de predecir el valor de la variable estudiada para nuevas muestras, a las que se ha registrado la señal analítica. Para que estas predicciones sean fiables, los modelos obtenidos han de ser robustos y, para ello, se deben seguir las etapas que se describen a continuación (Porcel García, 2001):

- I. *Definición de un conjunto de calibración.* De él se conoce el valor de la variable dependiente, debe ser representativo del sistema en estudio y debe permitir realizar predicciones futuras sobre un conjunto de nuevas muestras.
- II. *Registro de la información analítica.*
- III. *Pretratamiento de los datos.* En esta etapa, se minimizan las contribuciones no deseadas presentes en la señal analítica que disminuyen la reproducibilidad y pueden provocar que el sistema presente comportamientos que darían lugar a estimaciones erróneas de los parámetros deseados.
- IV. *Selección del modelo.* Establece la relación más simple posible entre la variable dependiente y la señal analítica. Esto, en muchas situaciones, implica un estudio

complejo de la matriz de datos analíticos, ya que no siempre es necesaria la utilización de toda la información registrada.

V. *Validación del modelo.* Implica su aplicación a un número de muestras de las que se conoce la variable dependiente y que no han sido utilizadas en la etapa de construcción del modelo. De esta forma se verifica que el modelo construido constituye una correcta descripción del sistema en estudio.

VI. *Predicción de nuevas muestras.* Con el modelo construido y validado, se calcula la variable dependiente en nuevas muestras a las que, previamente, se ha registrado la señal analítica.

I.7. Antecedentes sobre el tema de estudio

Durante la etapa de maduración del queso es cuando suceden los fenómenos bioquímicos más importantes. La proteólisis, glicólisis y lipólisis dirigen los cambios significativos en la composición del queso e inducen el desarrollo de las propiedades sensoriales del mismo.

Los métodos utilizados para evaluar estos procesos han sido descritos en profundidad e incluyen tanto métodos fisicoquímicos (pH, Kjeldahl, humedad, etc.) como métodos más sofisticados como la electroforesis y la cromatografía.

Existen varios trabajos publicados en los cuales se evaluaron posibles indicadores de maduración para distintas variedades de quesos:

✓ Restani y col. (1996) evaluaron la proteólisis de la β -caseína en quesos Grana Padano y encontraron que los perfiles de γ -caseínas, específicamente la relación γ_3 -caseína/ γ_1 -caseína, podrían ser considerados útiles como índices de maduración o para certificar la calidad de esta variedad de queso.

✓ Innocente, N. (1997) estudió la evolución del contenido de aminoácidos libres como posible índice de maduración en queso Montasio y encontró una gran variabilidad para quesos con el mismo tiempo de maduración, por lo que no fue posible determinar la edad de esta variedad de queso de acuerdo a su contenido en aminoácidos libres.

✓ Pizzano y col. (2000) monitorearon la maduración del queso mediante una metodología inmuno-química en la que se evaluó específicamente la apertura del enlace peptídico Lys²⁸-Lys²⁹ de la β -caseína producido por la plasmina, y encontraron que este parámetro correlacionó fuertemente con la edad del Parmigiano-Reggiano, en consecuencia podría considerarse como un indicador de la maduración de esta variedad de queso.

✓ Poveda y col. (2000) estudiaron la evolución de la concentración de ácidos grasos libres (AGL) durante la maduración de quesos Manchego elaborados en diferentes estaciones del año (otoño e invierno). El propósito fue determinar si ambas variables, tiempo de maduración y estación influyen significativamente en la concentración de AGL. Se determinó que la concentración de AGL aumentó en el curso de la maduración. El análisis por componentes principales mostró que los AGL de cadena corta fueron las variables que mejor explicaron la variabilidad del sistema y las muestras se agruparon en función a la estación del año.

✓ Mucchetti y col. (2000) demostraron que el ácido piroglutámico (pGlu), producido por bacterias ácido lácticas termófilas presentes en el starter, está presente en grandes cantidades particularmente en quesos de largos períodos de maduración. Los resultados obtenidos en este trabajo revelaron que el contenido de pGlu aumentó con el tiempo en forma lineal durante la maduración de quesos Grana Padano entre 2 y 24 meses.

✓ Rosenberg y Altemueller (2001) determinaron los efectos de cambios en las condiciones tiempo/temperatura de maduración sobre la acumulación de ácido L-glutámico libre en quesos Cheddar con cantidades normales y reducidas en materia grasa. Los resultados demostraron que la acumulación de ácido L-glutámico libre en estos quesos fue extremadamente sensible a las condiciones tiempo/temperatura de maduración. Además este parámetro correlacionó bien con los índices de maduración comúnmente utilizados y con la edad de los quesos, en consecuencia el mismo podría ser considerado como un índice de maduración para quesos Cheddar.

✓ Tavaría y col. (2004) estudiaron el perfil de AGL de quesos Serra da Estrela durante la maduración y determinaron los compuestos que exhiben el mayor impacto en el aroma del queso. Los resultados mostraron que los AGL, principalmente los de cadena corta, juegan un rol muy importante en el desarrollo del aroma de estos quesos, por lo que podrían ser usados satisfactoriamente como indicadores de maduración y como una ayuda para establecer el tiempo óptimo de maduración de esta variedad de queso.

✓ Kalit y col. (2005) monitorearon la proteólisis durante la maduración de queso Tounj y determinaron el tiempo óptimo de maduración del mismo mediante un panel de consumidores. Los parámetros determinados fueron la degradación de la α_{s1} y de la β -caseína por electroforesis y las fracciones de nitrógeno soluble en agua y en ácido tricloroacético al 12% por el método de Kjeldahl. Con estos parámetros medidos se obtuvieron modelos de regresión simple (ecuaciones lineales y/o cuadráticas) para correlacionar cada uno de ellos con el tiempo de maduración, encontrándose que las dos fracciones nitrogenadas y la degradación de la α_{s1} -caseína resultaron buenos indicadores de la maduración de esta variedad de queso.

Además existen también varios trabajos publicados en los cuales se avanzó un poco más en el tema, ya que en los mismos se aplicaron métodos estadísticos que permitieron clasificar a los quesos según su tiempo de maduración:

✓ Pham y Nakai (1984) aplicaron Análisis Discriminante Stepwise a extractos acuosos de queso Cheddar analizados por HPLC lo que permitió clasificarlos de acuerdo a su tiempo de maduración.

✓ Santa María y Ramos (1986) aplicaron Análisis Discriminante sobre diferentes índices de proteólisis para clasificar a quesos Manchego según su tiempo de maduración. Los parámetros de proteólisis evaluados fueron: nitrógeno total (NT), nitrógeno soluble (NS), nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno peptídico (NP), nitrógeno de aminoácidos (N-NH₂), tirosina , triptofano y distintas fracciones de caseína. Se encontraron dos funciones discriminantes que clasificaron correctamente a los quesos como frescos, medianamente maduros o maduros.

✓ García-Palmer y col., (1997) estudiaron la evolución del contenido de aminoácidos libres como posible índice de maduración de queso Mahón y encontraron que la relación entre la mayoría de los aminoácidos estudiados y la edad del queso fue lineal y con una alta correlación. Además mediante un análisis discriminante de estos datos pudieron clasificar a los quesos no sólo de acuerdo a su edad sino también según el tipo de queso (elaborado con leche cruda o pasteurizada).

Por último, existen varias publicaciones en las cuales se obtuvieron modelos multivariados para predecir el tiempo de maduración de una determinada variedad de queso mediante la evaluación de distintos parámetros de maduración:

✓ García-Ruiz y col. (1998) aplicaron diferentes técnicas de regresión multivariadas, tales como regresión lineal múltiple (MLR), regresión por componentes

principales (PCR), y regresión parcial por mínimos cuadrados (PLS), a parámetros fisicoquímicos y de proteólisis para calcular el tiempo de maduración en quesos Manchego. Encontraron que los tres métodos estadísticos condujeron a buenas correlaciones (valores de R^2 mayores a 0,96) entre los tiempos de maduración calculados y los observados. Sin embargo, la regresión PLS fue la que produjo las mejores predicciones y por esta razón se la utilizó para predecir el tiempo de maduración de quesos Manchego comerciales.

✓ Lues y Bekker (2002) evaluaron el contenido de ácidos orgánicos en queso Cheddar a distintos tiempos durante la maduración y mediante regresiones lineales y no lineales definieron la evolución de los mismos. Aunque algunos ácidos orgánicos resultaron indicadores de maduración más precisos, se encontró una fórmula que utiliza la información de todos los ácidos orgánicos, debido a que la misma debería brindar una estimación más precisa de la extensión de la maduración.

✓ Akalin y col. (2002) analizaron nueve ácidos orgánicos durante la maduración de queso blanco salado (Pickled white cheese) mediante HPLC de fase reversa. Se aplicó análisis discriminante sobre los datos obtenidos lo que permitió clasificar a los quesos de acuerdo a su edad. Mediante Regresión lineal múltiple Stepwise se correlacionó el contenido de ácidos orgánicos con el tiempo de maduración y se encontró una ecuación para estimar el tiempo de maduración de esta variedad de queso con una alta correlación ($R^2 = 0,998$) siendo las variables predictoras el contenido de ácido butírico, propiónico, orótico y fórmico.

✓ Poveda, y col. (2004) usaron la regresión PLS para predecir el tiempo de maduración de quesos Manchego, basándose en algunos parámetros fisicoquímicos e índices de proteólisis secundaria, trabajando con quesos elaborados en distintas estaciones del año (otoño, invierno y primavera). Se demostró que las variables que más

contribuían para predecir el tiempo de maduración de los quesos fueron la actividad de agua (a_w), pH y materia seca. El modelo obtenido mostró buenos resultados para la predicción de los tiempos de maduración de quesos Manchego comerciales elaborados en la misma fábrica que los quesos estándares. Además, el modelo fue también bueno para la predicción de los tiempos de maduración de quesos Manchego comerciales elaborados en fábricas diferentes.

✓ Fallico y col. (2004) evaluaron la proteólisis durante la maduración en quesos Ragusano con denominación de origen protegida (DPO), por aplicación de análisis quimimétrico a perfiles peptídicos y de aminoácidos libres. Ocho de los 11 parámetros fisicoquímicos analizados tuvieron una relación lineal significativa con el tiempo de maduración. Tanto el porcentaje de humedad y de proteína disminuyeron significativamente con el tiempo de maduración, mientras que los porcentajes de sal, sal en la humedad y todas las medidas de proteólisis se incrementaron significativamente al avanzar la maduración. Se aplicaron análisis por componentes principales y análisis cluster a los perfiles peptídicos y de aminoácidos libres. Se encontró que los perfiles peptídicos fueron más útiles al diferenciar los quesos por edad que los datos de aminoácidos libres. Los mejores modelos de PLS para predecir las edades de los quesos se obtuvieron al combinar los datos de aminoácidos libres y péptidos ($R^2 = 0.976$). Con los perfiles peptídicos solamente, se llegó a un modelo con una precisión de predicción similar ($R^2 = 0.961$), siendo los más importantes las fracciones de péptidos solubles e insolubles en medios hidrofóbicos.

✓ Pinho y col. (2004). Los objetivos de este trabajo fueron: 1) controlar los cambios en las características sensoriales (color y textura) y fisicoquímicas (humedad, acidez, pH, y a_w) de quesos Terrincho durante 60 días de maduración; 2) determinar las correlaciones entre los parámetros de textura y color y el tiempo de maduración de los

quesos para poder estimar el tiempo de maduración de los mismos sobre la base de dichos parámetros; 3) realizar una comparación entre variedades de quesos Terrincho de 5 plantas lácteas diferentes, de acuerdo a sus características sensoriales, físicas y químicas. Se estimó el tiempo de maduración usando 2 parámetros de textura y 4 de color, con un error estándar de 4,2 días. La estimación del tiempo de maduración es importante para este tipo de queso porque los mismos son elaborados con leche cruda de oveja, y por razones de seguridad alimentaria no deberían ser vendidos antes de los 30 días de maduración.

✓ Albillos y col. (2005) evaluaron la proteólisis de quesos elaborados con mezcla de leche (vaca y oveja), por electroforesis capilar de la fracción insoluble a pH 4,6. Luego se aplicó PLS y PCR al perfil electroforético obtenido encontrándose modelos para predecir el tiempo de maduración de este tipo de queso con un RMSEP < 7,8 días.

✓ Downey y col. (2005) desarrollaron modelos de predicción de atributos sensoriales y de la edad de queso Cheddar por aplicación de regresión PLS sobre los espectros de infrarrojo cercano obtenidos a distintos tiempos de maduración. Estos autores encontraron un modelo para predecir el tiempo de maduración de queso Cheddar con un RMSECV de 0,61 meses, considerándolo con este error, suficientemente útil para ser usado industrialmente.

✓ Martín-del-Campo y col. (2007) evaluaron el potencial de la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) para monitorear la maduración de quesos madurados con hongos tipo Camembert. Las evoluciones espectrales fueron discriminadas por análisis de la varianza (ANOVA) y análisis por componentes principales (PCA) y las correlaciones entre los espectros obtenidos y el

tiempo de maduración fueron investigadas por regresión PLS, obteniéndose modelos de predicción con un error de aproximadamente 1 día.

Con respecto a variedades de quesos Argentinos, no se encontró en la bibliografía trabajos publicados en los cuales se estime el tiempo de maduración de los mismos mediante la determinación de parámetros fisicoquímicos.

OBJETIVOS



II. OBJETIVOS

II.1. Objetivo general

El Código Alimentario Argentino define a cada variedad de queso con un tiempo mínimo de maduración. Ello implica que para alcanzar sus características fisicoquímicas y sensoriales, se necesita mantener inmovilizado un importante capital durante un período reglamentario. Por tal motivo, los quesos disponibles en el mercado frecuentemente presentan tiempos de maduración significativamente menores al establecido.

En la actualidad no existe ninguna herramienta analítica que permita establecer con cierta exactitud el tiempo de maduración para quesos típicos argentinos. En vista de la importancia que tiene el proceso de maduración sobre la calidad final del queso, obtener información sobre este aspecto resultaría muy útil para la industria láctea. Generalmente, la determinación del nivel de maduración y consecuentemente la evaluación de la calidad total del queso implica el uso de paneles sensoriales entrenados. Este recurso requiere tiempo y por lo tanto resulta muy costoso. Por este motivo existe un interés considerable en desarrollar técnicas instrumentales que brinden análisis más objetivos, rápidos y menos costosos.

En este trabajo se plantea la obtención de modelos matemáticos basados en parámetros fisicoquímicos para estimar el tiempo de maduración de tres quesos típicos Argentinos: Cremoso, Pategrás y Reggianito. Los beneficios que tales modelos pueden brindar, pueden verse no sólo desde el punto de vista científico, sino también desde el punto de vista de la calidad comercial del producto.

II.2. Objetivos particulares

- ❖ Actualizar exhaustivamente la información existente sobre el tema de estudio.
- ❖ Determinar diferentes parámetros fisicoquímicos sobre las muestras de quesos de las tres variedades estudiadas a distintos tiempos de maduración. Analizar su evolución a lo largo del mismo en forma univariada y multivariada. Las variables a determinar fueron: contenido de humedad, pH, fraccionamiento de nitrógeno, análisis electroforético y contenido de amonio.
- ❖ Optimizar la técnica colorimétrica para determinar el contenido de amonio en quesos.
- ❖ Aplicar técnicas estadísticas de regresión sobre los datos obtenidos para obtener modelos de predicción.
- ❖ Verificar la aplicabilidad de los modelos obtenidos sobre muestras del comercio.

MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Muestras de quesos, técnicas de muestreo y determinaciones realizadas

Para el desarrollo del presente trabajo de tesis, se utilizaron quesos de tres variedades definidas por el Código Alimentario Argentino (www.anmat.gov.ar/CAA, 2008): de alta humedad, Cremoso; de mediana humedad, Pategrás y de baja humedad, Reggianito.

Los quesos empleados para la obtención de los modelos matemáticos, denominados *quesos de calibración*, fueron provistos por dos industrias lácteas de primera línea de la zona de Santa Fe y elaborados en tres estaciones diferentes del año: otoño, invierno y primavera. Se recibieron un total de 8 quesos para cada variedad estudiada, de los cuales 4 correspondieron a elaboraciones de primavera y 4 a elaboraciones de otoño e invierno (2 para cada estación). Los quesos recién elaborados se trasladaron refrigerados al Instituto, y se colocaron en cámara de maduración para ser estacionados en las condiciones de humedad y temperatura establecidas para cada tipo. Durante el período de maduración se tomaron muestras a distintos intervalos de tiempo dependiendo de la variedad y se sometieron a diferentes determinaciones tal como se detalla a continuación.

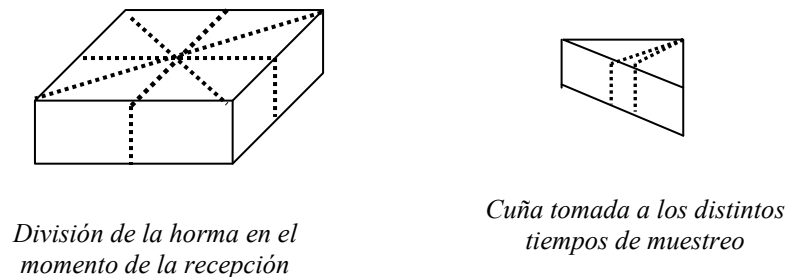
Con el fin de aplicar los modelos de predicción obtenidos se obtuvieron muestras de quesos de distintas marcas comerciales de las tres variedades estudiadas: 3 muestras de queso Cremoso, 7 de queso Pategrás y 6 para la variedad Reggianito. Estos quesos fueron denominados *quesos comerciales*.

III.1.1 Quesos de calibración

III.1.1.1. Queso Cremoso

De acuerdo al diseño del presente trabajo, la misma unidad experimental (queso) se muestreó durante todo el período de maduración. Por esta razón y para permitir la conservación y la continuación de la maduración sin que ella se vea afectada por la contribución de microorganismos no lácticos indeseables, cada horma de queso fue dividida en el momento de la recepción en 8 porciones como se muestra en la Figura III.1, que se envasaron al vacío en bolsas apropiadas para este fin y se maduraron a 7°C y 80% de humedad relativa durante un período de 30 días.

Figura III.1. Esquema de muestreo para queso Cremoso.



Durante este período se tomaron muestras inmediatamente de recibido el queso (tiempo 0) y a los 9, 15, 22 y 30 días de maduración obteniéndose un total de 28 muestras (cada unidad experimental se muestreó por lo menos a tres tiempos de maduración). La toma de muestra se realizó según Norma 50C de la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF, 1995). Para ello, en cada día de muestreo, de una de las porciones envasadas se tomó en condiciones asépticas una cuña de queso de aproximadamente 100 g (Figura III.1), la cual se disgregó mediante una prensa manual provista de orificios, se homogeneizó rápidamente para evitar la pérdida de humedad, y

se fraccionó en recipientes adecuados para los diferentes análisis fisicoquímicos. Las muestras se conservaron a -18°C hasta su análisis.

En las muestras obtenidas a los distintos tiempos de maduración, se determinaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: contenido de humedad, pH, estudio de la degradación de proteínas (proteólisis) mediante el fraccionamiento de nitrógeno, análisis por electroforesis y contenido de amonio.

En las muestras obtenidas al final de la maduración (30 días) se determinó el contenido de nitrógeno total y de materia grasa. Además, sobre estas muestras fue llevada a cabo una evaluación sensorial del tipo descriptiva, analizando las características de aroma, sabor, textura, aspecto general y sabor residual.

III.1.1.2. Queso Pategrás

Debido a que en este caso por las características del queso y para no alterar su proceso normal de maduración, resultaba imposible fraccionar la horma como en el caso anterior, la misma unidad (queso) se muestreó durante todo el período de maduración. Para permitir la conservación del mismo y la continuación de la maduración sin que se vea afectada por la contribución de microorganismos no lácticos indeseables, luego de la toma de muestra, los orificios se rellenaron con parafina en condiciones asépticas.

Las hormas se maduraron en cámara a 12°C y 80% de humedad relativa durante 50 días. Durante este período se tomaron muestras inmediatamente de recibido el queso (tiempo 0) y a los 12, 25, 38 y 50 días de maduración obteniéndose un total de 27 muestras (cada unidad experimental fue muestreada por lo menos a tres tiempos de maduración). El muestreo de los quesos se realizó de acuerdo a la norma 50C de la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF, 1995). El mismo se realizó limpiando la superficie de los quesos y tomando en condiciones asépticas con un calador estéril 6

cuñas aproximadamente cilíndricas de las cuales se descartó la parte exterior, resultando una muestra de aproximadamente 100 g de queso. La muestra se trituró mediante una prensa manual provista de orificios, se homogeneizó rápidamente para evitar la pérdida de humedad, y se fraccionó en recipientes adecuados para los diferentes análisis fisicoquímicos. Las muestras se conservaron a -18°C hasta su análisis.

En las muestras obtenidas a los distintos tiempos de maduración, se determinaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: contenido de humedad, pH, estudio de la degradación de proteínas (proteólisis) mediante el fraccionamiento de nitrógeno y contenido de amonio.

En las muestras obtenidas al final de la maduración (50 días) se determinó el contenido de nitrógeno total y de materia grasa, y también se llevó a cabo una evaluación sensorial del tipo descriptiva, analizando las características de aroma, sabor, textura, aspecto general y sabor residual.

III.1.1.3. Queso Reggianito

El procedimiento de muestreo y de conservación de las muestras fue el mismo que el descrito anteriormente para queso Pategrás.

Las hormas de queso de Reggianito se maduraron en cámara a 12°C y 80% de humedad relativa durante 180 días. Durante este período se tomaron muestras inmediatamente de recibido el queso (tiempo 0) y a los 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 180 días de maduración obteniéndose un total de 34 muestras (cada unidad experimental fue muestreada por lo menos a tres tiempos de maduración). El muestreo de los quesos se realizó de acuerdo a la Norma 50C de la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF, 1995).

En las muestras obtenidas a los tiempos de maduración mencionados anteriormente, se determinaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: contenido de humedad, pH, estudio de la degradación de proteínas (proteólisis) mediante el fraccionamiento de nitrógeno y contenido de amonio.

En las muestras obtenidas al final de la maduración (180 días) se determinó el contenido de nitrógeno total y de materia grasa, y se llevó a cabo una evaluación sensorial del tipo descriptiva, analizando las características de aroma, sabor, textura, aspecto general y sabor residual.

III.1.2. Quesos Comerciales

El muestreo de estos quesos se realizó en el momento de recepción descartando la parte exterior y tomando una cuña de aproximadamente 100 g de queso. La muestra obtenida se trituró mediante una prensa manual provista de orificios, se homogeneizó rápidamente para evitar la pérdida de humedad y se fraccionó en recipientes adecuados para los diferentes análisis que se conservaron a -18°C hasta la realización del análisis. Para cada variedad se realizaron las mismas determinaciones fisicoquímicas y de composición que las citadas para los *quesos de calibración*.

III.2. Metodologías analíticas utilizadas

A continuación se brindan en forma detallada las metodologías analíticas empleadas para determinar los distintos parámetros fisicoquímicos de los quesos.

III.2.1. Humedad

Se determinó por secado de la muestra en estufa a $102 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta pesada constante, de acuerdo a la metodología de la Federación Internacional de Lechería (Norma 4A, FIL-IDF, 1982).

En primer lugar, se colocó aproximadamente 25 g de arena y una varilla de vidrio (para mezclar) en un cristizador de vidrio, el que se colocó en estufa a $102 \pm 1^\circ\text{C}$ por 1 hora y se pesó. Luego, se agregó rápidamente una muestra de aproximadamente 3 g de queso y se pesó nuevamente (peso exacto). La misma se disgregó con ayuda de la varilla y se colocó nuevamente en estufa a $102 \pm 1^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 2 h y luego se pesó. El procedimiento se repitió 1 hora más y luego hasta pesada constante (diferencia entre dos pesadas sucesivas no mayor a 0,5 mg). Finalmente, se registró el peso del cristizador con la muestra seca, y se calculó el contenido de humedad de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% \text{Humedad (p/p)} = \frac{m1 - m2}{m1 - m0} \times 100$$

$m0$: peso (g) del cristizador con arena y varilla.

$m1$: peso (g) del cristizador con arena, varilla y muestra húmeda.

$m2$: peso (g) del cristizador con arena, varilla y muestra luego del secado.

El contenido de extracto seco se calcula de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% \text{Extracto seco (p/p)} = \frac{m2 - m0}{m1 - m0} \times 100$$

III.2.2. Materia grasa

El contenido de materia grasa en el queso se determinó por el método butirométrico de Gerber-Van Gulik (ISO 3433, 1975), empleando el butirómetro para queso según van Gulik.

Se colocó 15 ml de ácido d °1,52 en el butirómetro, que debe estar cerrado en el extremo de la escala. Se pesó a continuación aproximadamente 3 g de queso (peso exacto) en la copita de vidrio perforado y se introdujo en el butirómetro. El butirómetro cerrado se colocó en un baño maría a 70-80°C con la escala hacia arriba y se agitó hasta que el queso quede completamente disuelto. Después se añadió 1 ml de alcohol amílico a través de la abertura de la escala y ácido sulfúrico aproximadamente hasta la marca del 15% de la escala. Se cerró, se mezcló y se reguló la temperatura durante 5 minutos en el baño maría a 65 °C, se centrifugó durante 5 minutos, se llevó nuevamente a 65 °C y se realizó la lectura del contenido en grasa en el extremo inferior del menisco. Este valor se utilizó para el cálculo de la materia grasa en el extracto seco del queso, según la siguiente formula:

$$\% \text{Materia grasa en el extracto seco (p/p)} = \frac{[(L \times 3)/m] \times 100}{ES}$$

L: lectura del butirómetro.

3: peso (g) de queso para el cual está graduado el butirómetro para dar el %.

m: peso (g) de muestra (~ 3g).

ES: contenido de extracto seco del queso.

III.2.3. Nitrógeno total

El contenido de Nitrógeno total se determinó mediante el método de Kjeldahl de acuerdo a la Federación Internacional de Lechería (Norma 20B, FIL-IDF, 1993).

Se pesó aproximadamente 0,3 g de queso (peso exacto) y se colocaron en un tubo de digestión. Se adicionó aproximadamente 3,5 g de sulfato de potasio, 105 mg de dióxido de titanio y 10 ml de ácido sulfúrico concentrado. Para la mineralización de la muestra, se utilizó una unidad digestora para seis tubos, con sistema de aspiración de humos (Digestión System 6 - 1007 Digester, Tekator, Suecia). La muestra se digirió hasta que el líquido se tornó transparente y límpido. Luego se procedió a la destilación en un destilador automático (BÜCHI, Distillation Unit B-324, Suiza). A la muestra digerida se le adicionaron gotas de fenoftaleína (1% p/v en alcohol etílico 96%: agua 1:1) y se colocó en el destilador. Se agregaron automáticamente 70 mL de hidróxido de sodio (40% p/v) para alcalinizar el medio y se inició la destilación por arrastre con vapor. El destilado se recogió en un erlemeyer conteniendo 50 mL de ácido bórico (4% p/v) y gotas de un indicador compuesto por azul de metileno (0,1% p/v) y rojo de metilo (0,15% p/v) en alcohol etílico 96% (viraje a pH 4,65). Finalmente, se realizó la titulación en forma manual del borato de amonio formado, con una solución valorada de ácido sulfúrico 0,1 N hasta viraje del indicador.

El contenido de nitrógeno total (NT) y de proteína total (PT) en las muestras, expresados como porcentajes, se calcularon mediante las siguientes expresiones:

$$\% \text{Nitrógeno total (p/p)} = V_{\text{ácido}} \times N_{\text{ácido}} \times 0,014 \text{ Nitrógeno} \times 100$$

$$\% \text{Proteína total (p/p)} = f \times \text{NT}$$

Vácido: volumen (ml) de la solución de ácido sulfúrico 0,1 *N* gastado en la titulación.

Nácido: normalidad de la solución de ácido sulfúrico.

0,014: peso equivalente de Nitrógeno (g/meq).

m: peso (g) de la muestra de queso utilizado en el análisis.

f: 6,38, para convertir %Nitrógeno en %Proteína.

III.2.4. pH

Para la determinación de pH en las muestras de queso se utilizó un peachímetro Orion (Orion Research Incorporated, Estados Unidos), provisto con un electrodo combinado (vidrio y calomel). Se preparó una suspensión de 10g de queso y 10 mL de agua destilada y se realizó la lectura por inmersión del electrodo en dicha suspensión (Fox y McSweeney, 2004b).

III.2.5. Fraccionamiento de Nitrógeno

La técnica se basa en la utilización de distintos agentes precipitantes de manera de realizar un fraccionamiento de los compuestos nitrogenados, a partir de un extracto crudo del queso en agua o solución tamponada, determinándose luego el nitrógeno en cada fracción mediante el método de Kjeldahl antes descrito (Gripon y col., 1975, Bernal y col., 2001).

Se realizó una suspensión del queso en citrato de sodio. Para ello, se tomó aproximadamente 10 g (peso exacto) de la muestra y se homogeneizó en mortero con 20 ml de solución de citrato de sodio 0,5 *M*. La suspensión se trasvasó a un vaso de precipitado adicionando agua destilada hasta completar un volumen de aproximadamente 90 mL, se agregó gota a gota una solución de HCl (20% v/v) bajo agitación magnética hasta alcanzar un pH de 4,6. Luego, se centrifugó a 900 rpm

durante 10 minutos, con lo que se obtuvieron dos fracciones, una soluble y otra insoluble.

La fracción insoluble se destinó al análisis de electroforesis, reservándose este residuo a -18°C hasta el momento de su realización.

La fracción soluble se trasvasó a un matraz de 100 mL, se diluyó hasta dicho volumen y se homogeneizó.

a) *Nitrógeno soluble a pH 4,6 (NS-pH 4,6)*: se tomó una alícuota de 10 mL de la fracción soluble para determinar el contenido de nitrógeno por el método de Kjeldahl, realizando la digestión, destilación y titulación de forma similar a lo detallado en el análisis de nitrógeno total.

Para el cálculo del porcentaje de NS-pH 4,6 en las muestras se utilizó la siguiente expresión:

$$\%NS-pH4,6 (p/p) = \frac{V_{ácido} \times N_{ácido} \times 0,014 \times 100}{Valícuota} \times \frac{100}{m}$$

Vácido: volumen (mL) de la solución de ácido sulfúrico gastada en la titulación.

Nácido: normalidad de la solución de ácido sulfúrico.

0,014: peso equivalente de nitrógeno (g/meq).

Valícuota: volumen de fracción soluble utilizado para la digestión = 10 mL.

m: peso (g) de muestra.

b) *Nitrógeno soluble en ácido tricloroacético (NS-TCA)*: para la determinación de esta fracción se tomó una alícuota de 15 mL de la fracción soluble, se colocó en un vaso de precipitado y se adicionaron lentamente y bajo agitación 15 mL de ácido

tricloroacético (TCA) al 24%. Se dejó en reposo durante 30 minutos y se filtró sobre papel Whatman N° 42. Finalmente, se tomaron 20 mL para la determinación del contenido de nitrógeno por el método de Kjeldahl.

Para el cálculo del porcentaje de NS-TCA en las muestras se utilizó la siguiente expresión:

$$\%NS-TCA (p/p) = \frac{V_{ácido} \times N_{ácido} \times 0,014 N \times V_{total} \times 100 \times 100}{V_{alícuota} \times V_t \times m}$$

V_{total}: volumen total obtenido al mezclar una alícuota de la suspensión del queso y la solución de TCA 24% (30 mL).

V_{alícuota}: volumen utilizado para la digestión (20 mL).

V_t: volumen de la fracción soluble utilizado para la precipitación con TCA (15 mL).

c) Nitrógeno soluble en ácido fosfotúngstico 2,5% (NS-PTA): esta es la última fracción que se analizó, para lo cual se tomó una alícuota de 25 mL de la fracción soluble a pH 4,6 que se colocó en un tubo de 50 mL de capacidad, se adicionaron 12,5 mL de ácido sulfúrico 25% v/v, y se agitó. Luego se adicionaron 12,5 mL de ácido fosfotúngstico (PTA) 10% p/v, se volvió a agitar, y se dejó en reposo durante 24 h en heladera (5°C). Posteriormente, se filtró y se tomaron 30 mL del filtrado para la determinación del contenido de nitrógeno por Kjeldahl.

Para el cálculo del porcentaje de NS-PTA en las muestras se utilizó la siguiente expresión:

$$\%NS\text{-PTA (p/p)} = \frac{V_{\text{ácido}} \times N_{\text{ácido}} \times 0,014N \times V_{\text{total}} \times 100 \times 100}{V_{\text{alícuota}} \times V_t \times m}$$

V_{total}: volumen total obtenido al mezclar una alícuota de la fracción soluble y la solución de ácido sulfúrico y PTA (50 mL).

V_{alícuota}: volumen utilizado para la digestión (30 mL).

V_t: volumen de fracción soluble utilizado para la precipitación con PTA (25 mL).

Las tres fracciones de Nitrógeno obtenidas en las muestras de queso fueron expresadas como porcentaje del Nitrógeno total.

III.2.6. Electroforesis (Urea-PAGE)

El residuo insoluble a pH 4,6 se analizó por electroforesis. Esta fracción está compuesta principalmente por las caseínas nativas sin degradar y los grandes péptidos producidos por la actividad proteolítica del coagulante y la plasmina (Ardö, 1999, Zalazar y col., 2004). En consecuencia, esta técnica es ampliamente utilizada para monitorear la proteólisis primaria en los quesos. Específicamente, la caseína- α s1 residual es un buen indicador del nivel general de proteólisis en quesos relativamente jóvenes (Fox, 1993).

En este trabajo, por lo mencionado anteriormente, se determinó la relación $CN\text{-}\alpha_{S1}\text{-I}/(CN\text{-}\alpha_{S1} + CN\text{-}\alpha_{S1}\text{-I})$ en las muestras de queso Cremoso, ya que es la única variedad estudiada con período de maduración relativamente corto.

La electroforesis se realizó en geles de poliacrilamida con agregado de urea (Urea-PAGE por sus siglas en inglés), ya que esta adición disocia las distintas caseínas de la micela, permitiendo la separación de las mismas según su carga y masa (Upadhyay

y col., 2004). El ensayo se realizó en una cuba vertical Mini-Protean II (BioRad Laboratorios, California, Estados Unidos), utilizando un sistema de gel discontinuo (Andrews, 1983). Se utilizó una concentración del gel de apilamiento (o concentrador) igual a la descrita por Andrews (1983) (4% p/v), mientras que la concentración del gel separador utilizada fue 7,5% menor que la propuesta por dicho autor para el análisis de leche (12% p/v), debido a que en quesos la concentración de proteínas de suero es despreciable (Ng-Kwi-Hang y Kroeker, 1984). Los geles de apilamiento y de separación se prepararon mezclando una solución madre de acrilamida-bisacrilamida 30,8% p/v con buffer Tris-HCl 0,5 M de pH 6,8 y con buffer Tris-HCl pH 8,8 y urea (concentración en el gel 7,5 M), respectivamente. Se utilizó una solución de persulfato de amonio al 10% p/v, preparada inmediatamente antes de su uso, y N, N, N', N'-tetrametiletilendiamina (TEMED) como iniciador y catalizador, respectivamente, de la reacción de polimerización del gel de acrilamida-bisacrilamida.

Se sembraron 15 μ L de muestra que se preparó disolviendo 9-10 mg del residuo insoluble a pH 4,6 en 1 mL de buffer compuesto por Tris 0,5 M pH 6,8, urea (concentración final en el buffer: 7,5 M) y una punta de espátula de azul de bromofenol.

Las corridas electroforéticas se realizaron en medio alcalino, utilizando como buffer de corrida Tris-glicina pH 8,3, con voltaje constante de 150 Volt, intensidad máxima de 45 mA y potencia de 6,75 Watt. La finalización de la corrida se determinó por la llegada del frente de avance al final de la placa, lo que se evidencia por el colorante azul de bromofenol agregado a la muestra.

Para el revelado de las bandas de proteínas, los geles se sumergieron durante 1 hora en una solución de colorante Coomassie Blue G-250 0,2% p/v en ácido acético, etanol y agua (1,6:4:4). Luego se procedió a eluir el exceso de colorante mediante

repetidos lavados con solución decolorante, compuesta por ácido acético, etanol y agua (1:2,5:6,5), hasta obtener una clara resolución.

Los geles de electroforesis se cuantificaron mediante un densitómetro Minidensit (SEAC[®], Italia) a 632 nm. Por cada banda electroforética se obtuvo una curva y se consideró lineal la relación entre el área bajo la curva y la concentración de la banda. Con los resultados de esta cuantificación se calculó la siguiente relación:

$$\frac{CN-\alpha_{SI-I}}{(CN-\alpha_{SI} + CN-\alpha_{SI-I})}$$

$CN-\alpha_{SI-I}$: concentración de la banda electroforética correspondiente a la $CN-\alpha_{SI-I}$.

$CN-\alpha_{SI}$: concentración de la banda electroforética correspondiente a la $CN-\alpha_{SI}$.

III.2.7. Amonio

El amonio se produce principalmente en las últimas etapas del proceso de maduración de un queso. Es generado por diferentes vías a partir de la degradación de proteínas del queso, por el catabolismo de aminoácidos como producto de sus reacciones de desaminación, por lo que puede ser un parámetro adicional para controlar la maduración de quesos. Está presente en mayor cantidad en quesos con períodos de maduración prolongados, como los correspondientes a los quesos duros y en otros como los madurados con hongos (Fox, 2003).

Para determinar el contenido de amonio en las muestras de quesos se utilizó un método colorimétrico. El mismo se basa en la clásica reacción de Berthelot en la cual el amonio reacciona con fenol e hipoclorito de sodio para dar azul de indofenol, siendo la absorbancia de este colorante proporcional a la concentración de amonio. Con este

propósito se utilizaron los reactivos provistos por el equipo comercial de Wiener Lab. para la determinación de uremia en análisis clínicos (Wiener Laboratorios S.A.I.C., Rosario, Argentina), que se seleccionó por su bajo costo, fácil preparación y alta estabilidad.

III.2.7.1. Optimización de la metodología colorimétrica

Para la aplicación de la reacción de Berthelot a muestras de quesos se adaptaron las condiciones empleadas para otros alimentos (Bernal y col., 2000a y 2000b; Bernal y Perotti, 1998; Perotti y Bernal, 2003).

Esta reacción se desarrolla en medio alcalino y es altamente influenciada por el pH aún en ese medio, siendo su rango de pH óptimo 11,2 – 12. Para muestras con ausencia de materia orgánica, la temperatura y el tiempo con la que se obtienen los máximos valores de absorbancia son de 37°C/1 h y de 55°C/15 min, siendo más apropiado trabajar en estas últimas condiciones para acortar los tiempos de reacción (Bernal y col., 2000a y 2000b). Sin embargo, para muestras con sustancias orgánicas se observó que a mayor temperatura se formaba el producto coloreado y luego desaparecía, o que directamente no se formaba (sustancias reductoras del azul de indofenol), por lo que fue necesario realizar la reacción a menor temperatura y mayor tiempo por la presencia de estas interferencias. Por este motivo, para el análisis de este tipo de muestras se eligió como combinación de temperatura-tiempo de reacción 25°C/1 h y realizar la lectura espectrofotométrica dentro de los 30 minutos posteriores, ya que dichas condiciones logran minimizar el efecto de las interferencias (Bernal y Perotti, 1998).

Para aplicar esta metodología colorimétrica a muestras de quesos se debe realizar una suspensión acuosa del mismo y su posterior clarificación, de manera de

lograr un extracto límpido en el cual el amonio a analizar se encuentre en solución. Los reactivos clarificantes seleccionados fueron sulfato de zinc e hidróxido de sodio, dado que no interfieren en esta reacción (Bernal y Perotti, 1998).

Para comprobar la existencia de sustancias orgánicas en las muestras de quesos y la incidencia de las mismas en la reacción, se realizó la siguiente experiencia. Se trabajó con una muestra de queso duro de largo tiempo de maduración, y por lo tanto con mayor contenido de sustancias orgánicas solubles. Para el tratamiento de muestra se pesó aproximadamente 5 g de queso, se agregó 30 mL de agua destilada a 50°C y se disgregó totalmente con la ayuda de una varilla de vidrio. Se agregaron 2,5 mL de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (12g/100 ml), se agitó y se dejó en reposo unos minutos, y se adicionaron 5 mL de NaOH (1,25 g/100 ml), se agitó y se dejó en reposo. Se agregó agua destilada hasta completar un volumen de 100 mL, se homogeneizó y luego de unos minutos se filtró con papel. De esta manera se consiguió eliminar las proteínas y la materia grasa, quedando en solución el amonio a analizar junto a otros compuestos solubles. Con este extracto se procedió a realizar la reacción de la siguiente manera:

En tubos de ensayo se adicionaron cantidades crecientes del extracto de queso (de manera de aumentar la concentración de sustancias posiblemente interferentes) a un volumen constante de solución estándar de amonio. Se completó el volumen a 10 ml con agua destilada y se homogeneizó. Se agregó 1 mL de reactivo 1, se agitó y luego 1 mL de reactivo 2 y se agitó nuevamente. Se dejó reaccionar a 25°C durante 1 hora, y dentro de los 30 minutos posteriores se realizó la lectura en espectrofotómetro a 630 nm, contra blanco de reactivos.

El diseño de la experiencia y los valores obtenidos se observan en el siguiente cuadro.

Diseño de la experiencia 1 y resultados obtenidos

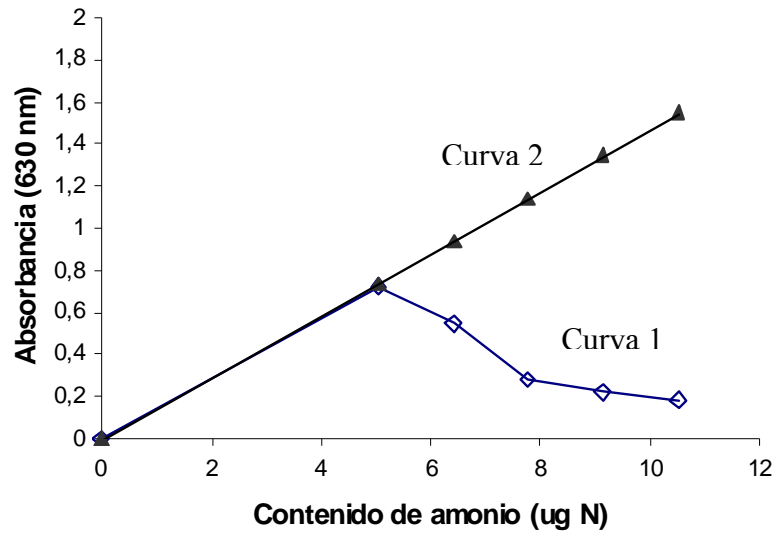
	Ensayos						
	1	2	3	4	5	6	7
Volumen (ml) de solución estándar de amonio (7,39 ug/ml)	0,5	---	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Volumen (ml) de muestra (extracto de queso)	---	0,2	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Absorbancia leída	0,531	0,204	0,720	0,550	0,282	0,220	0,182
Absorbancia prevista	---	---	0,735	0,939	1,143	1,347	1,551
Contenido de N (ugN)	3,695	1,415	5,110	6,524	7,939	9,354	10,765

Los valores de absorbancia previstos se calcularon teniendo en cuenta la absorbancia de la solución estándar para 0,5 ml (Ensayo 1, Abs. = 0,531), a la que se le adicionó la absorbancia correspondiente a la cantidad de extracto agregado en cada ensayo, teniendo en cuenta el valor obtenido para 0,2 ml (Ensayo 2, Abs. = 0,204). La cantidad de amonio se calculó adicionando al valor de la solución estándar de 3,695 ugN, el valor correspondiente a la cantidad de extracto empleado en cada ensayo, teniendo en cuenta el valor calculado para 0,2 ml del mismo. Este valor se calculó con las absorbancias obtenidas para los Ensayos 1 y 2 según la siguiente expresión, suponiendo la ausencia o mínima presencia de interferencias para 0,2 ml:

$$\text{ug N para 0,2 ml de extracto} = \frac{3,695 \text{ ugN} \times \text{Abs. del extracto (para 0,2 ml)}}{\text{Abs. solución estándar (para 0,5 ml)}}$$

En la Figura III.2 se presentan los valores de absorbancia obtenidos experimentalmente (Curva 1) y los valores teóricos previstos (Curva 2), en función del contenido de amonio.

Figura III.2. Influencia del contenido de interferencias en la reacción de Berthelot.



Como se observa en la figura, la curva experimental no coincidió con la teórica, ya que al incrementarse la cantidad de muestra disminuyó la concentración de azul de indofenol. De esta manera se verifica no sólo la existencia de interferencias, sino también se observa la necesidad de realizar la reacción con baja cantidad de muestra para disminuir la incidencia de las mismas.

Por otro lado, se realizaron dos curvas de calibrado con solución estándar de amonio, y a una de ellas se le adicionó un volumen constante del extracto de queso utilizado en la experiencia anterior, para el que se eligió la menor cantidad ensayada (0,2 ml). La reacción se realizó de la misma manera que como se detalló anteriormente. El diseño de la experiencia y los valores obtenidos se observan en el siguiente cuadro.

Diseño de la experiencia 2 y resultados obtenidos

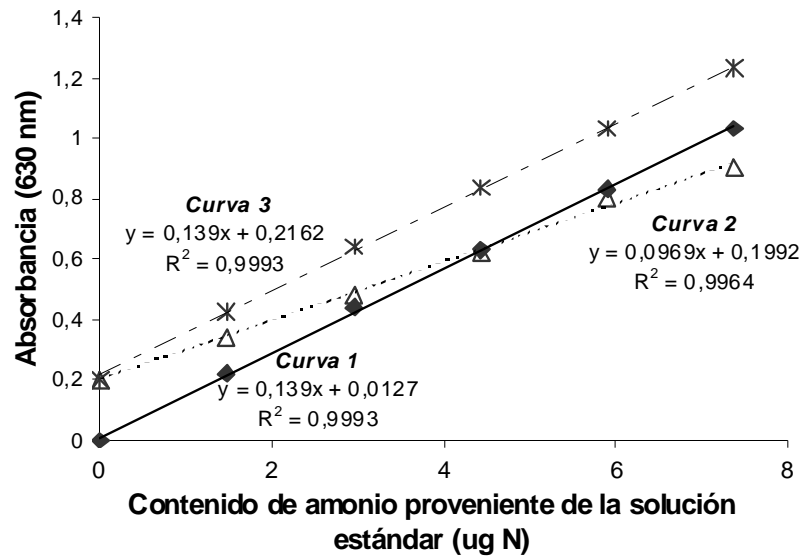
	Ensayos					
	1	2	3	4	5	6
Volumen (ml) de solución estándar de amonio (7,39 ug/ml) (*)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Volumen (ml) de muestra (extracto de queso) (**)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Absorbancia leída (Curva 1)	---	0,221	0,439	0,633	0,831	1,033
Absorbancia leída (Curva 2)	0,204	0,338	0,482	0,619	0,802	0,900
Absorbancia prevista (Curva 3)	0,204	0,425	0,643	0,837	1,035	1,237
Contenido de N presente en la solución estándar(ugN)	0	1,478	2,956	4,434	5,912	7,390

(*) solución utilizada para la realización de las curvas de calibrado 1 y 2.

(**) solución de extracto de queso adicionado a la solución estándar para la realización de la curva de calibrado 2.

Los valores de absorbancia previstos se calcularon teniendo en cuenta la absorbancia del extracto para 0,2 ml (Ensayo 1 de la curva 2, Abs. = 0,204), a la que se le adicionó la absorbancia correspondiente a la cantidad de solución estándar agregada en cada ensayo de la curva 1.

En la Figura III.3 se presentan los valores de absorbancia obtenidos experimentalmente (Curvas 1 y 2) y los valores teóricos previstos (Curva 3), en función del contenido de amonio proveniente de la solución estándar.

Figura III.3. Curvas de calibrado para la determinación de amonio en quesos.

- (—): Curva de calibrado 1
 (---): Curva de calibrado con adición de extracto de queso obtenida experimentalmente (Curva 2)
 (-·-·-): Curva de calibrado con adición de extracto de queso calculada teóricamente (Curva 3)

Como se observa en la Figura III.3 las curvas 1 y 2 presentaron buena correlación. Sin embargo, a pesar de que se utilizó en la realización de la curva 2 una baja cantidad de extracto, aún se detectó presencia de interferencias, lo que se observó en la disminución de la pendiente. Por lo tanto, para el cálculo de la concentración de amonio en las muestras de quesos debido a que la matriz interfiere en la detección, no se puede emplear la curva de calibrado (calibración externa), sino que se debe trabajar con adición estándar (Miller, 2002).

Por otro lado, es de destacar que al incrementarse la maduración en los quesos aumentan las interferencias, por lo que es conveniente realizar la reacción colorimétrica con la menor cantidad de extracto. Esto es posible debido a que se incrementa la concentración de amonio durante el período de maduración, permitiendo de esta manera reducir el tamaño de muestra. Para las variedades Cremoso y Pategrás utilizadas en este

trabajo se empleó 200 ul del extracto, y para la variedad Reggianito se utilizó menor cantidad, 100 ul.

A continuación se describe la técnica analítica con adición estándar, que se empleó para determinar el contenido de amonio de los quesos.

Técnica de análisis y expresión de resultados

Tratamiento de muestra: se pesó aproximadamente 5 g de queso, se agregó 30 mL de agua destilada a 50°C y se disgregó totalmente con la ayuda de una varilla de vidrio. Se agregaron 2,5 mL de ZnSO₄.7 H₂O (12g/100 ml), se agitó y se dejó en reposo unos minutos, y se adicionaron 5 mL de NaOH (1,25 g/100 ml), se agitó y se dejó en reposo. Se agregó agua destilada hasta completar un volumen de 100 mL, se homogeneizó y luego de unos minutos se filtró con papel.

Reacción colorimétrica: En un tubo de ensayo se colocaron 100 ó 200 µL del filtrado y en paralelo en otro tubo se agregó el mismo volumen de filtrado y 200 µL de una solución estándar de NH₄Cl (aprox.1,5 µgN). Se completó a 10 mL con agua destilada, se agregó 1 mL de reactivo 1, se agitó y luego 1 mL de reactivo 2 y se agitó nuevamente. Se dejó reaccionar a 25°C durante 1 hora y se realizó la lectura en espectrofotómetro a 630 nm contra blanco de reactivos, dentro de los 30 minutos posteriores al tiempo de reacción.

Para el cálculo de las ppm de amonio presente en las muestras se utilizó la siguiente expresión:

$$\text{ppm NH}_4 \text{ (como N)} = \frac{A_i \times X_p \times V}{\Delta A \times V_f \times P}$$

A_i : Absorbancia de la muestra.

X_p : cantidad de N en μg en el volumen de solución estándar adicionada ($\sim 1,5$).

V : volumen en mL de solución clarificada, 100.

ΔA : diferencia de absorbancias entre la muestra y la muestra con adición estándar.

V_f : volumen en mL de extracto usado en la reacción colorimétrica, 0,1 ó 0,2.

P : peso de muestra en g.

El contenido de NH_4 en las muestras de queso fue expresado como porcentaje del Nitrógeno total.

III.2.8. Análisis sensorial

Se llevó a cabo una evaluación sensorial al final de la maduración de los *quesos de calibración* para establecer si sus características organolépticas generales correspondían a las típicas de su variedad de acuerdo a las regulaciones (Curso Taller evaluación sensorial, 2007).

Se realizó una prueba sensorial del tipo descriptiva con un panel no entrenado. En la misma se evaluaron los siguientes atributos sensoriales: aroma, textura, sabor, sabor residual y aspecto general.

En cada sesión de evaluación se entregó a los panelistas las muestras de quesos a analizar en forma de cuña, de manera que esté contemplado el centro y la zona más periférica del mismo, junto con una cartilla en la cual se definieron los atributos sensoriales de la variedad de queso estudiada. Es decir que para cada atributo a analizar, se indicó cual sería la situación ideal o de referencia. En las Tablas III.1, III.2 y III.3 se presentan las cartillas entregadas a los panelistas con las características sensoriales ideales para queso Cremoso, Pategrás y Reggianito, respectivamente. Además se entregó una planilla por muestra, en la cual los evaluadores debieron indicar el resultado

de la evaluación para cada atributo en una escala numerada de 1 a 10, siendo 10 el puntaje máximo (correspondiente a la referencia). En la Figura III.5 se muestra la planilla utilizada para la evaluación de las muestras.

Luego se procedió a medir la calificación dada por el evaluador en cm y se calculó el puntaje sensorial total con la siguiente expresión (Perez Villarreal y col., 2000):

$$\text{Puntaje total} = \sum n_j \times B_j$$

n_j : ponderación del j-ésimo atributo

B_j : puntaje obtenido en la escala numerada para el j-ésimo atributo.

La ponderación de cada atributo fue determinada de acuerdo a la importancia del mismo en la calidad sensorial global de cada variedad de queso.

* Para queso **Cre moso**: $n_j= 1$ para *aroma y sabor residual*, 2 para *aspecto general* y 3 para *textura y sabor*; resultando para la referencia un puntaje sensorial total =100.

* Para queso **Pategrás**: $n_j= 1$ para *aroma y sabor residual*, 2 para *textura* y 3 para *aspecto general y sabor*; resultando para la referencia un puntaje sensorial total =100.

* Para queso **Reggianito**: $n_j= 2$ para *aspecto general, textura y sabor residual*, 3 para *aroma y sabor*, resultando para la referencia un puntaje sensorial total =120.

Se consideró aceptable para ser considerado como queso típico de cada variedad, cuando se obtuvo un puntaje sensorial total ≥ 50 para las variedades Cre moso y Pategrás y ≥ 60 para la variedad Reggianito (Perez Villarreal y col., 2000).

Tabla III.1. Características sensoriales ideales de aroma, aspecto general, textura, sabor y sabor residual para queso Cremoso.

<i>Atributo</i>	<i>Característica ideal (puntaje 10)</i>
Aroma (olfato)	<ul style="list-style-type: none"> • a crema/manteca/leche/diacetilo • ligeramente ácido • no muy penetrante • ausencia de aroma a hongos (pan) y levaduras (frutado) • ausencia de aromas extraños
Aspecto gral. (visual)	<ul style="list-style-type: none"> • elástico • blando • cremoso • color blanco o ligeramente amarillento, uniforme • ausencia total de ojos • sin expulsión de suero
Textura (visual y al tacto)	<ul style="list-style-type: none"> • blanda al corte, a la presión y a la masticación • cremosa • ausencia <u>total</u> de textura rígida, granulosa o quebradiza
Sabor	<ul style="list-style-type: none"> • a crema/manteca/leche/diacetilo • salado intermedio • ligeramente ácido • limpio (ausencia de gustos raros) y consistente
Sabor residual	<ul style="list-style-type: none"> • agradable • no muy persistente • suave

Tabla III.2. Características sensoriales ideales de aroma, aspecto general, textura, sabor y sabor residual para queso Pategrás.

<i>Atributo</i>	<i>Característica ideal (puntaje 10)</i>
Aroma (olfato)	<ul style="list-style-type: none"> • a crema/manteca/leche/diacetilo • a ac. propiónico • muy suave • limpio (ausencia de aromas extraños)
Aspecto gral. (visual)	<ul style="list-style-type: none"> • color amarillo/amarillento, uniforme • ausencia de quebraduras y defectos mecánicos
Textura (visual y al tacto)	<ul style="list-style-type: none"> • firme pero elástica • lisa
Sabor	<ul style="list-style-type: none"> • dulce • ligeramente picante • salado medio
Sabor residual	<ul style="list-style-type: none"> • agradable-suave • no muy intenso • ligeramente pastoso • no granuloso

Tabla III.3. Características sensoriales ideales de aroma, aspecto general, textura, sabor y sabor residual para queso Reggianito.

<i>Atributo</i>	<i>Característica ideal (puntaje 10)</i>
Aroma (olfato)	<ul style="list-style-type: none"> • genuino a queso duro, no a Pategrás, no a Cremoso, con personalidad • suave aroma a lipólisis • ligeramente picante
Aspecto gral. (visual)	<ul style="list-style-type: none"> • color ligeramente amarillento, uniforme • ausencia de grietas, rajaduras y ojos • apariencia granulosa
Textura (visual y al tacto)	<ul style="list-style-type: none"> • granulosa • quebradiza • granulosa al corte desgarrante
Sabor	<ul style="list-style-type: none"> • ligeramente picante • medianamente salado • sabor granuloso con probable presencia de cristales
Sabor residual	<ul style="list-style-type: none"> • persistente • agradable

Figura III.4. Planilla utilizada en la evaluación sensorial de las muestras de quesos.

Fecha:/...../.....
Panelista:
Muestra:
AROMA	_____
0	10
ASPECTO GENERAL	_____
0	10
TEXTURA	_____
0	10
SABOR	_____
0	10
SABOR RESIDUAL	_____
0	10

III.3. Análisis estadístico

Los datos obtenidos del análisis de los *quesos de calibración* se organizaron en forma matricial compuesta por n filas y p columnas, siendo n el número de muestras de calibración y p el número de variables o parámetros fisicoquímicos y de composición. Esta matriz se sometió a un análisis exploratorio preliminar univariado y multivariado y

luego se aplicó regresión multivariada para obtener los modelos de predicción para cada variedad de queso.

III.3.1. Análisis univariado

En primer lugar, los resultados obtenidos para los *quesos de calibración* se analizaron en forma univariada. Se estudiaron las evoluciones de cada variable (parámetros fisicoquímicos) con el tiempo de maduración, mediante aplicación de regresión lineal simple (RLS) y se realizó el análisis de variancia de la regresión (ANOVA) para evaluar si existía una relación lineal significativa entre el tiempo de maduración y cada uno de los parámetros fisicoquímicos estudiados. Una relación lineal significativa indicaría la apropiada utilización de dicha variable como predictora del tiempo de maduración en el modelo buscado. Este análisis permitió observar además la presencia de datos anormales o atípicos.

Este análisis estadístico se realizó usando el software Statgraphics Plus 3.0 (Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA).

III.3.2. Análisis multivariado

La matriz completa fue analizada con técnicas estadísticas multivariadas exploratorias, mediante aplicación de análisis por componentes principales (PCA) y análisis discriminante (DA). El objetivo de estos análisis fue una mejor interpretación de los datos antes de la aplicación de las técnicas de regresión.

III.3.2.1. Análisis por Componentes Principales (PCA)

Este análisis se realizó con el objetivo de observar si las variables estudiadas generaron la separación de las muestras según el tiempo de maduración y determinar cuales de estas variables influyeron en la misma. Además permite observar como se relacionan las variables entre sí y la presencia de datos anormales o atípicos.

El PCA consta de cuatro etapas características: el cálculo de la matriz de correlaciones (R) entre pares de variables y su análisis, la extracción de los factores, la rotación de la solución para facilitar la interpretación de los mismos y la estimación de las puntuaciones de las muestras en las nuevas dimensiones.

Uno de los requisitos que debe cumplirse para que resulte adecuado aplicar este análisis sobre la matriz de datos es que las variables estén altamente correlacionadas. En consecuencia, la primera etapa fue calcular la matriz de correlaciones entre las variables consideradas, compuesta por los coeficientes de correlación de Pearson entre cada par de variables, la que sería deseable que tenga elevados coeficientes. Luego, la misma fue examinada para comprobar que sus características son adecuadas para realizar este tipo de análisis. Además se realizaron otros métodos para comprobar el grado de asociación entre las variables, como el cálculo del determinante de la matriz de correlaciones, el test de esfericidad de Bartlett, el índice KMO de Kaiser-Meyer-Olkin y el cálculo de las correlaciones parciales.

En la segunda etapa del análisis, denominada fase de extracción de los factores, se decidió en qué matriz de datos basar el análisis (matriz de varianzas-covarianzas o matriz de correlaciones), qué modelo factorial utilizar y cuántos factores deben extraerse. El análisis se basó en la matriz de correlaciones, que estandariza las variables a media cero y desviación estándar uno, lo cual es indicado cuando las variables tienen distintas escalas de medición como es lo que sucede en este trabajo (Borgognone y col.,

2001). Con respecto al modelo factorial a utilizar, se eligió componentes principales, el cual descompone directamente la matriz de correlaciones re-escalada en autovalores y autovectores. El número de factores extraídos fue de acuerdo a la regla de Kaiser (se extraen los factores cuyos autovalores son mayores que la unidad), pero también se tuvo en cuenta las comunalidades obtenidas con esta extracción. Es decir, si el número de factores obtenidos es suficiente para explicar la mayor proporción de varianza de cada variable incluida en el análisis.

Luego se obtuvo una solución factorial rotada de manera de obtener una *estructura factorial más simple*: variables que *carguen*, a ser posible, en un único factor de manera de facilitar la interpretación de los resultados.

Por último, una vez alcanzada la solución factorial final, se calcularon las puntuaciones de las muestras en cada uno de los componentes extraídos. Con estas se obtuvieron los *gráficos de scores* y se observó si se generaron agrupamiento de las muestras según el tiempo de maduración. Además se analizaron las cargas factoriales de manera de encontrar los grupos de variables homogéneos formados (variables que carguen alto en un mismo factor) y relacionar los agrupamientos encontrados en las nuevas dimensiones con las variables originales.

Este análisis estadístico fue realizado usando el software SPSS 10.0 (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos).

III.3.2.2. Análisis Discriminante (DA)

Se aplicó análisis discriminante con el objetivo de validar los agrupamientos observados visualmente en el PCA.

El DA se basa en el cálculo de funciones discriminantes que ayudan a predecir a la *variable de clasificación* a partir de otras variables cuantitativas. En este caso las

variables independientes fueron los factores extraídos en el PCA y el tiempo de maduración el factor de clasificación. Estas funciones fueron utilizadas para clasificar a las muestras en grupos predefinidos de acuerdo a su tiempo de maduración. La función discriminante con p -valor < 0.05 es estadísticamente significativa con un 95% de nivel de confianza.

A partir de esta ecuación se calcula el *score discriminante* para cada muestra y luego los individuos son clasificados en el grupo para el cual tienen el mejor puntaje. Esto se expresa en términos del porcentaje de casos correctamente clasificados.

Este análisis estadístico fue realizado usando el software Statgraphics Plus 3.0 (Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA).

III.3.3. Análisis de regresión

Debido a que las variables medidas en el presente trabajo presentan multicolinealidad y el propósito esencial radica en obtener modelos matemáticos para predecir la variable respuesta (tiempo de maduración), la regresión PLS fue el método estadístico elegido para obtener dichos modelos de predicción.

Se aplicó regresión PLS sobre la matriz de datos obtenida para los *quesos de calibración* con el objeto de obtener un modelo matemático que sirva para predecir el tiempo de maduración para cada variedad de queso estudiada.

Esta técnica de regresión multivariada en primer lugar fue aplicada a todas las muestras de quesos y mediante validación cruzada, un método de validación interna, se evaluó el número óptimo de factores.

Luego la matriz de datos fue dividida por selección aleatoria en muestras de calibración y muestras de validación externa. Las muestras de calibración fueron usadas

para estudiar la relación entre el tiempo de maduración y los parámetros fisicoquímicos con el objetivo de obtener el modelo de predicción, utilizando la siguiente ecuación:

$$t = b_0 + \sum_{j=1}^n b_j x_j$$

donde t fue el tiempo de maduración, x_j fueron los parámetros fisicoquímicos, y b_0 y b_j los coeficientes de regresión en el modelo que se estiman en la etapa de calibración.

La regresión PLS utiliza un método iterativo para la determinación de la mayor cantidad posible de varianza en la variable respuesta por cada factor calculado. En este método, es necesario determinar el número de factores para el cual se logra el mejor modelo. Una forma muy utilizada para determinarlo, es fijar el número de factores significativos como aquel para el cual se produce un mínimo en el error de predicción de la suma de cuadrados (PRESS) (Lipp, 1996).

Las muestras de validación externa fueron utilizadas para evaluar la capacidad predictiva de los modelos obtenidos. La calidad de los modelos de regresión fue evaluada mediante el coeficiente de regresión (R) y la raíz del error cuadrado medio de predicción (RMSEP).

Este análisis se realizó aplicando el software Unscrambler 7.6, Camo, ASA, USA.

Definiciones:

**Coeficiente de correlación múltiple (R):* en la Regresión lineal simple no es otra cosa que el valor absoluto del coeficiente de correlación de Pearson (r) entre esas dos variables, es decir que es el que indica el grado de relación lineal existente entre dos variables cuantitativas y se obtiene con la siguiente fórmula:

$$r_{xy} = \frac{\sum x_i y_i}{n S_x S_y}$$

(x_i e y_i se refieren a las puntuaciones diferenciales de cada par; n al número de casos y S_x y S_y a las desviaciones típicas de cada variable).

En la Regresión lineal múltiple, R indica la bondad de ajuste de la ecuación de regresión obtenida. Toma valores entre 1 y -1: un valor de 1 indica una relación lineal perfecta positiva; un valor de -1 indica relación lineal perfecta negativa (en ambos casos los puntos se encuentran dispuestos en una línea recta). Su cuadrado (R^2) es el coeficiente de determinación:

$$R^2 = 1 - \frac{\text{Suma de cuadrados de los residuos}}{\text{Suma de cuadrados total}}$$

(los residuos son las diferencias existentes entre las puntuaciones observadas y los pronósticos obtenidos de la recta). R^2 expresa el porcentaje de varianza de la variable dependiente que esta explicada por la ecuación de regresión.

**Cuadrado de la suma del error residual de predicción (PRESS):*

$$\text{PRESS} = (\sum(\hat{y}_i - y_i)^2)$$

donde y_i es el valor real y \hat{y}_i es el valor predicho de la variable dependiente en futuras muestras

**Raíz del error cuadrado medio de predicción (RMSEP):*

$$\text{RMSEP} = (\sum(\hat{y}_i - y_i)^2 / n)^{1/2}$$

donde, n el numero de muestras de quesos del set de validación.

* *Intervalo de predicción puntual:*

$\pm t_{(1-\alpha; n-k-1)}$ * Error estándar de predicción puntual (ESP)

donde, $\alpha= 0,05$; n= número de muestras de calibración; k= número de variables

**Coefficientes de regresión no estandarizados:* son los coeficientes de regresión que contiene la ecuación de regresión en puntuaciones directas.

**Coefficientes de regresión estandarizados (coeficientes β):* son los coeficientes que definen la ecuación de regresión cuando esta se obtiene tras estandarizar las variables originales, es decir tras convertir las puntuaciones directas en típicas. Permiten valorar la importancia relativa de cada variable independiente dentro de la ecuación. En general, una variable tiene tanto más peso (importancia) en la ecuación cuanto mayor (en valor absoluto) es su coeficiente de regresión estandarizado.

III.3.4. Aplicación de los modelos

Los modelos obtenidos para cada variedad de queso se aplicaron a los *quesos comerciales* correspondientes. De esta manera, se obtuvieron tiempos de maduración predichos para dichas muestras con tiempos de maduración desconocidos.

Estos valores fueron comparados con los tiempos de maduración mínimos establecidos por la legislación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Queso Cremoso

IV.1.1. Composición global y evaluación sensorial

Como ya se indicó en la sección de materiales y métodos, sobre los *quesos de calibración* se determinó la composición global y la calidad sensorial al final de la maduración con el propósito de corroborar que los mismos poseían las características típicas de su variedad y de esta forma justificar su uso para la obtención de los modelos matemáticos.

La composición global de los quesos Cremoso de calibración determinada a los 30 días de maduración se presenta en la Tabla IV.1. También se presentan los rangos normales de estos parámetros establecidos por el CAA para esta variedad (www.anmat.gov.ar/CAA, 2008).

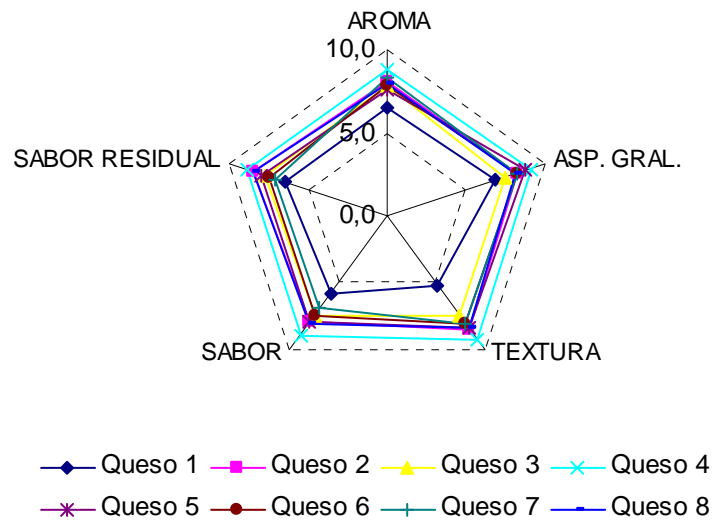
Tabla IV.1. Composición global de los quesos Cremoso de calibración determinada a los 30 días de maduración.

Queso	%humedad	%Materia grasa en el extracto seco	%Proteína total
1	47,3	50,0	22,2
2	50,5	51,1	20,9
3	48,2	50,1	19,9
4	49,9	51,8	20,1
5	48,1	50,0	21,6
6	46,8	51,9	21,9
7	49,1	50,0	19,7
8	48,5	53,5	18,6
Valores normales establecidos por la legislación (CAA)	entre 46 y 55%	mínimo 50 %	-

Como se puede observar, los quesos de calibración se encontraron dentro de los rangos reglamentarios establecidos para esta variedad.

El número de panelistas que realizaron la evaluación sensorial varió entre 11 y 18 según la sesión de evaluación. En la Tabla A1 del Apéndice se presentan los resultados del análisis sensorial para todos los panelistas y todos los atributos evaluados. En la Figura IV.1 se presentan los valores promedios de todos los evaluadores para los atributos sensoriales evaluados.

Figura IV.1. Gráfico de estrella de los valores promedios para los atributos sensoriales evaluados en los quesos Cremoso de calibración.



Como se puede observar el puntaje promedio obtenido para cada atributo se encontró en la zona aceptable (>5) para todos los quesos de calibración.

En la Tabla IV.2 se presentan los valores promedios obtenidos de todos los evaluadores para los puntajes sensoriales totales y sus desviaciones estándares.

Tabla IV.2. Puntajes sensoriales promedios y sus desviaciones estándares obtenidos para los quesos Cremoso de calibración.

<i>Queso</i>	<i>Puntaje sensorial total</i>
1	59,6 ± 8,2
2	81,9 ± 13,1
3	75,3 ± 16,8
4	90,3 ± 4,5
5	82,0 ± 12,4
6	78,5 ± 16,1
7	79,6 ± 17,8
8	81,7 ± 8,1

Como se puede observar, todos los quesos presentaron un puntaje sensorial total ≥ 50 , fijado en este trabajo como valor mínimo para esta variedad de queso.

Por lo tanto, debido a que la composición global y la calidad sensorial de estos quesos se encontraron dentro de los rangos reglamentarios, se consideran a estos quesos aptos para obtener el modelo de predicción buscado.

IV.1.2 Evolución de las variables fisicoquímicas con el tiempo de maduración

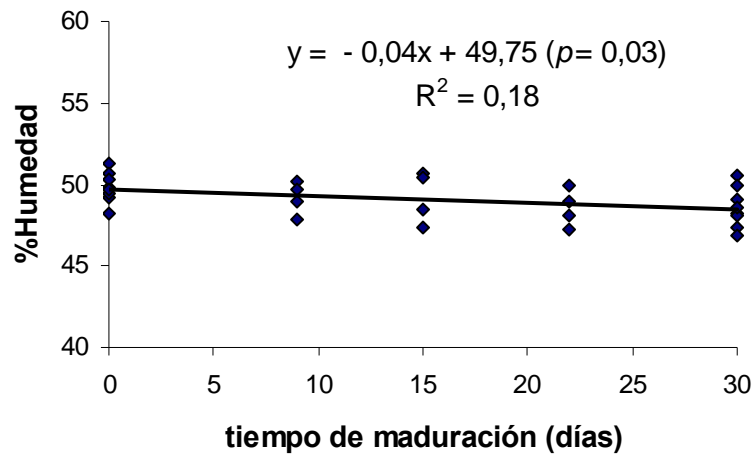
Los datos obtenidos para los *quesos de calibración* se organizaron en forma de matriz, la cual está compuesta por 28 muestras o filas y 7 variables o columnas (%Humedad, pH, %NS-pH 4,6/NT, %NS-TCA/NT, %NS-PTA/NT, relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ y contenido de amonio).

En primer lugar se analizó cada variable en forma individual como se detalla a continuación.

IV.1.2.1. Humedad

En la Tabla A2 del Apéndice se presentan los valores individuales (n=28) del contenido de humedad para los quesos de calibración a lo largo de la maduración. La Figura IV.2 muestra la evolución de este parámetro durante la maduración y la aplicación de la regresión lineal simple (RLS).

Figura IV.2. Evolución del contenido de humedad para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración.

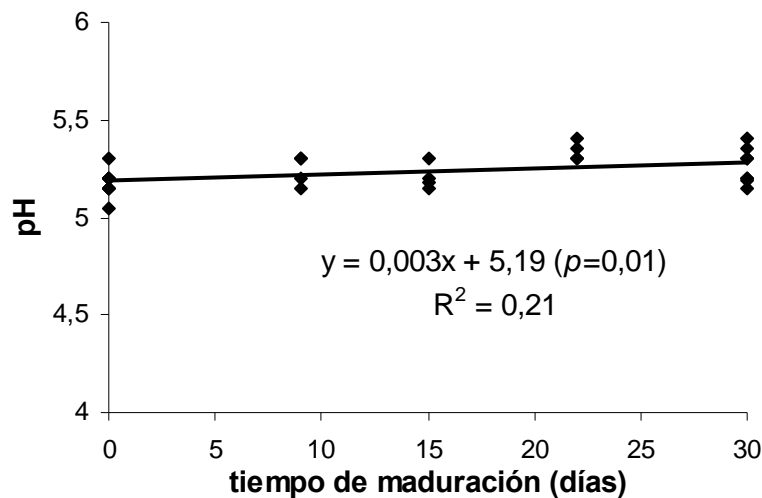


Se puede observar una débil disminución del %humedad con el tiempo, lo cual es acorde con uno de los procesos de naturaleza física que ocurre en este período, la evaporación del agua (Zalazar y col., 2004). El muy bajo coeficiente de determinación obtenido ($R^2 = 0,18$) señala una correlación muy pobre entre esta variable y el tiempo de maduración, indicando que la misma no resultaría una buena variable predictora en el modelo buscado. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 7 del Apéndice.

IV.1.2.2. pH

En la Tabla A3 del Apéndice se presentan los valores individuales de pH obtenidos para los quesos de calibración a lo largo de la maduración. En la Figura IV.3 se presenta la evolución de este parámetro durante la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV.3. Evolución del pH para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración.

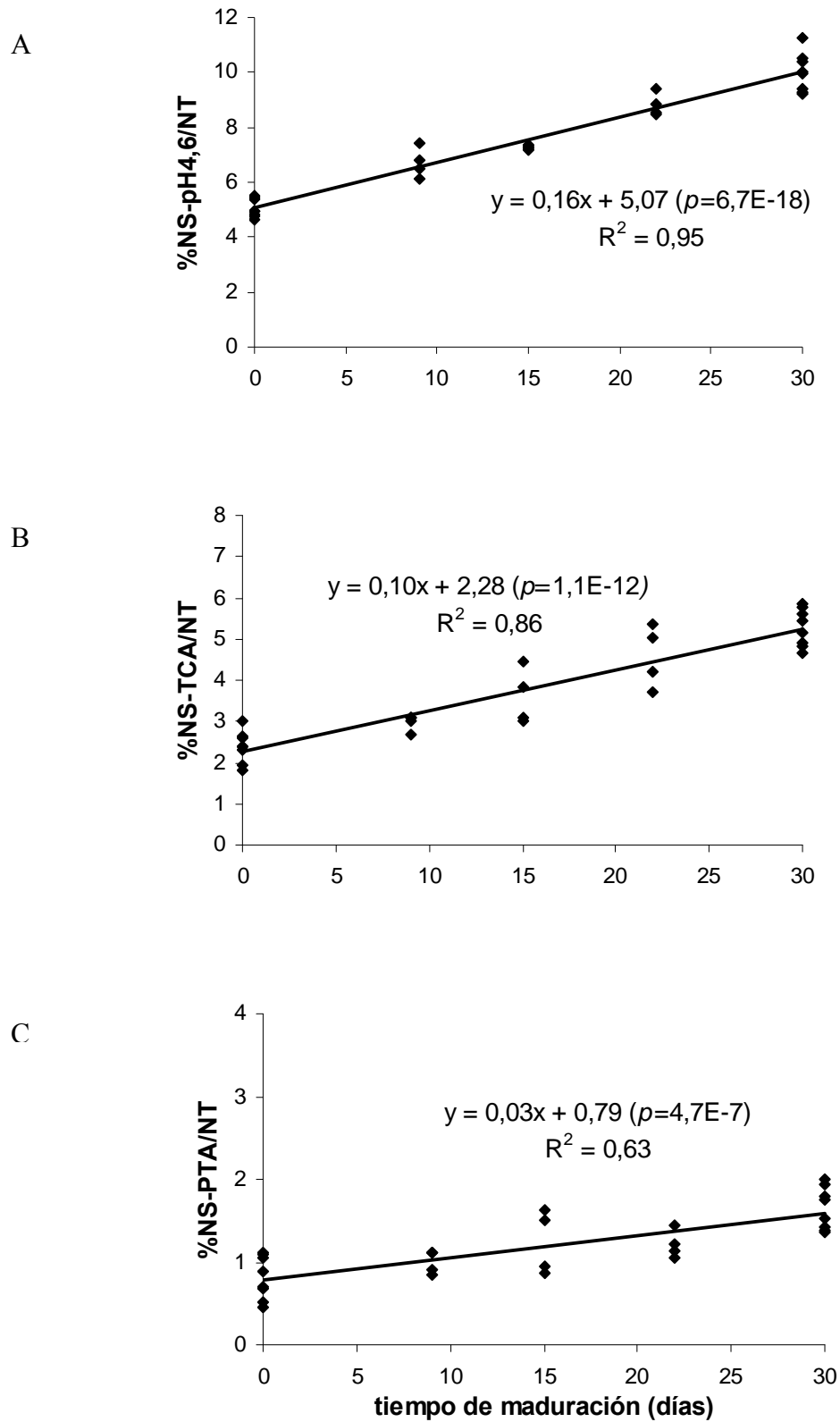


En dicho gráfico se puede observar que los valores permanecen prácticamente constantes. El muy bajo coeficiente de determinación obtenido ($R^2 = 0,21$) señala una correlación muy pobre entre esta variable y el tiempo de maduración, indicando que la misma no resultaría una buena variable predictora en el modelo buscado. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 9 del Apéndice.

IV.1.2.3. Fraccionamiento de Nitrógeno

En la Tabla A4 de Apéndice se presentan los valores individuales de las tres fracciones nitrogenadas expresadas como porcentaje del nitrógeno total obtenidos en los quesos de calibración a lo largo de la maduración. En las Figuras IV.4 (A, B y C) se presenta la evolución durante la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV.4. Evolución del fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración. A- %NS-pH 4,6/NT. B- %NS-TCA/NT. C- %NS-PTA/NT.



Las tres fracciones aumentaron durante el período estudiado, lo cual era lo esperado debido a que estas fracciones son índices de proteólisis primaria y secundaria (Fox, 1993). Estas tres variables presentaron una relación lineal significativa con el tiempo ($p < 0,05$), siendo los R^2 obtenidos muy importantes para las dos primeras (0,95 y 0,86, respectivamente) y de menor importancia para la última (0,63), por lo que en consecuencia las mismas resultarían buenas variables predictoras para el modelo buscado. El menor valor de R^2 obtenido para el %NS-PTA/NT está en concordancia con el hecho de que la proteólisis no es tan avanzada en quesos con períodos de maduración cortos. Las salidas del software del ANOVA de la regresión se presentan en las páginas 11, 12 y 13 del Apéndice.

IV.1.2.4. Análisis de Electroforesis (Urea-PAGE)

En la Tabla A5 del Apéndice se presentan los valores del área bajo la curva obtenidos en la cuantificación de las bandas electroforéticas, para los quesos de calibración a lo largo de la maduración junto con el valor calculado de la relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$.

La proteólisis primaria evidenciada demostró ser muy similar para todos los quesos analizados. A manera de ejemplo, en la Figura IV.5 se presentan los perfiles electroforéticos obtenidos a lo largo de la maduración correspondiente a uno de los quesos Cremoso, y en la Figura IV.6 la densitometría obtenida en la cuantificación de uno de los perfiles. Los electroforetogramas de los demás quesos resultaron muy similares.

Figura IV.5. Urea-PAGE de un queso Cremoso de calibración a lo largo de la maduración.

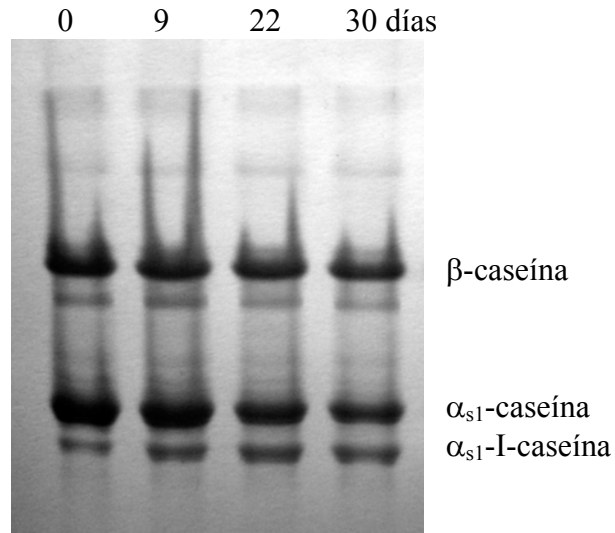
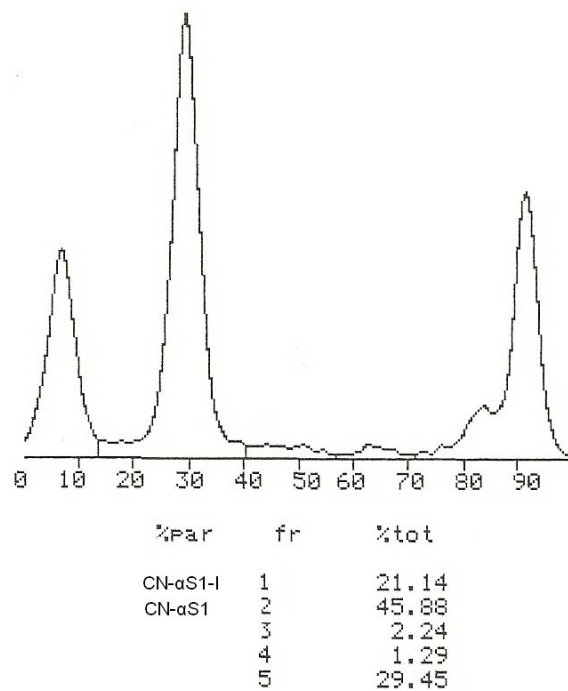
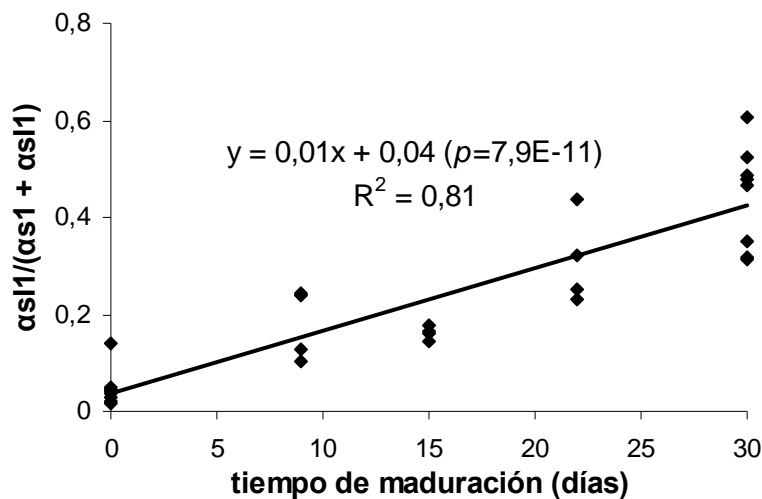


Figura IV.6. Densitograma obtenido en la cuantificación de uno de los perfiles electroforéticos para queso Cremoso.



La degradación de la CN- α_{S1} fue considerable y se observa un importante aumento de la fracción CN- α_{S1} -I, un péptido resultante de la degradación de la caseína por acción del coagulante residual. Por esta razón, resulta razonable que la relación CN- α_{S1} -I / (CN- α_{S1} + CN- α_{S1} -I) aumente significativamente con el tiempo de maduración del queso. En la Figura IV.7 se presenta la evolución de esta relación calculada para los quesos de calibración a lo largo de la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV.7. Evolución de la relación CN- α_{S1} -I/(CN- α_{S1} + CN- α_{S1} -I) para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración.



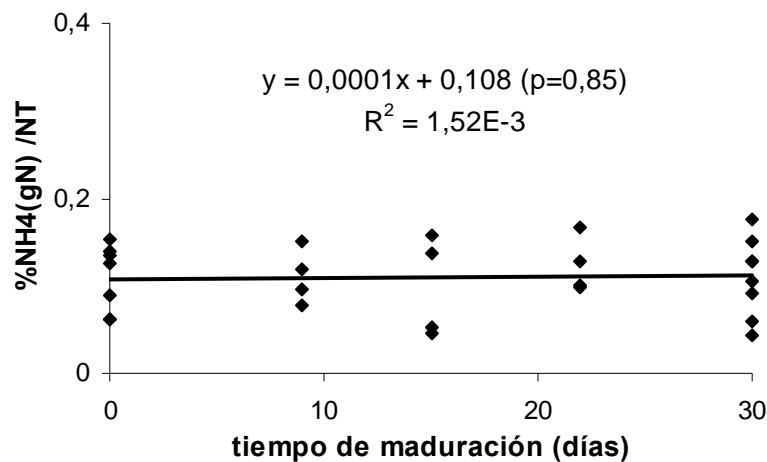
En dicho gráfico se puede observar un aumento muy claro de la misma a lo largo del período de maduración estudiado. Esta evolución concuerda con el hecho que la hidrólisis de la CN- α_{S1} en el enlace Phe₂₃-Phe₂₄ es la transformación más importante en esta variedad de queso y en consecuencia la misma aumenta con el tiempo (Fox, 1993). Esta variable presentó una relación lineal significativa con el tiempo ($p < 0,05$) y el significativo R^2 obtenido (0,81) indica una importante correlación con el tiempo de maduración y en consecuencia la misma resultaría una buena variable predictora en el

modelo buscado. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 15 del Anexo.

IV.1.2.5. Contenido de amonio

En la Tabla A6 del Apéndice se presentan los valores individuales del contenido de amonio obtenidos en los quesos de calibración a lo largo de la maduración. En la Figura IV.8 se presenta la evolución de este parámetro con el tiempo y la aplicación de RLS.

Figura IV.8. Evolución del contenido de amonio para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración.



En dicho gráfico se puede observar que los valores permanecen prácticamente constantes y el muy bajo coeficiente de determinación obtenido ($R^2 = 0,002$) señala la falta de correlación entre esta variable y el tiempo de maduración, indicando que la misma no resultaría una buena variable predictora en el modelo buscado. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 17 del Anexo.

IV.1.3. Análisis Multivariado

La matriz completa conformada por los resultados obtenidos para los *quesos de calibración* fue sometida a un análisis exploratorio de datos con técnicas estadísticas multivariadas: PCA y DA.

Análisis por componentes principales

Como primer paso del PCA, se verificó por diferentes métodos la existencia de altas correlaciones entre las variables, un requisito para este análisis. Para ello, se examinó la matriz de correlaciones, donde se observaron correlaciones de Pearson significativas entre las variables ($> 0,5$). El determinante de la matriz de correlaciones obtenido fue muy bajo ($1,7E-3$) indicando también altas correlaciones. Además, el test de esfericidad de Bartlett y el índice KMO obtenido ($0,78$) señalaron que fue adecuado factorizar la matriz de datos. Por último, por inspección de la matriz de correlación anti-imagen se observaron pocos coeficientes de correlación parcial altos lo que indicó que fue razonable aplicar el análisis factorial.

El número de factores a extraer de acuerdo a la regla de Kaiser (se extraen los factores cuyos autovalores son mayores que la unidad) fueron dos CP, pero al tener en cuenta las comunalidades obtenidas con esta extracción, se tuvo que incluir el tercer componente para explicar un mayor porcentaje de varianza para todas variables. Los tres componentes principales extraídos explicaron el 89,2% de la varianza del sistema: CP1: 57,6%, CP2: 18,0% y CP3: 13,6%.

Debido a que en la solución factorial inicial obtenida, las variables originales *cargan* en varios factores a la vez, se obtuvo la solución factorial rotada aplicando rotación VARIMAX de manera de lograr una estructura factorial más simple y facilitar la interpretación de los resultados. Aunque con la rotación cambie la matriz factorial, las

comunalidades y la varianza total explicada no se alteran, sin embargo, cambia la varianza explicada por cada factor, es decir se redistribuye la varianza explicada por los factores extraídos, teniéndose los siguientes porcentajes de varianza explicada para los ejes rotados: CP1: 49,0%, CP2: 22,5% y CP3: 17,7%.

En la Tabla IV.3 se presentan las soluciones factoriales sin rotar y rotada, las cuales contienen las *cargas factoriales* de cada variable original en los componentes principales.

Tabla IV.3. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Cremoso de calibración a lo largo de la maduración: Cargas factoriales del CP1, CP2 y CP3 sin rotar y rotados por el método Varimax.

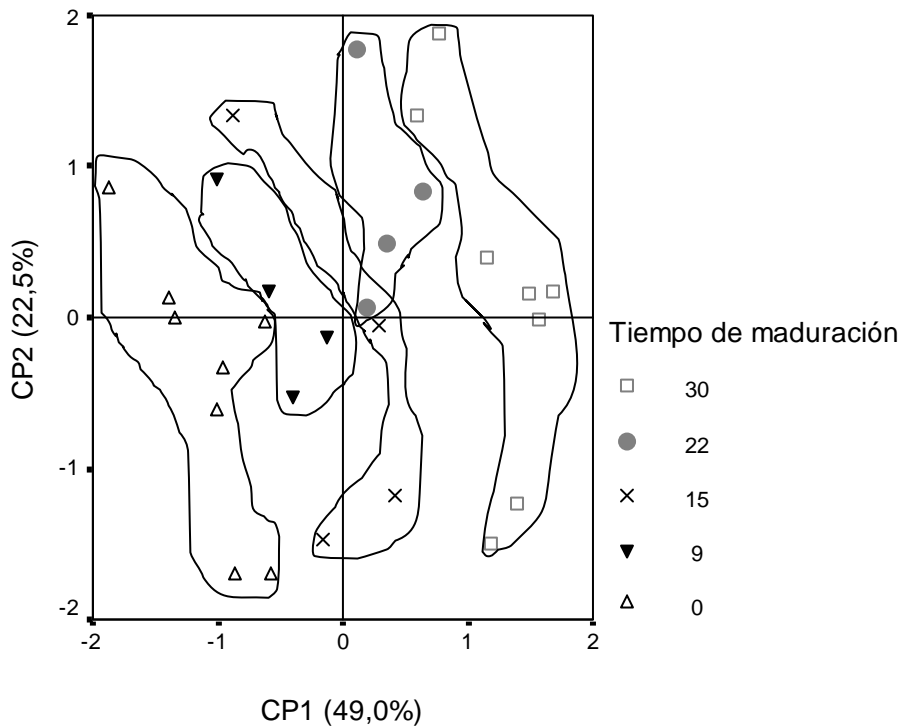
<i>Variables originales</i>	<i>Solución factorial sin rotar</i>			<i>Solución factorial rotada</i>		
	CP1 (57,6%)	CP2 (18,0%)	CP3 (13,6%)	CP1 (49,0%)	CP2 (22,5%)	CP3 (17,7%)
%Humedad	-0,57	0,06	0,77	-0,18	-0,93	-0,14
pH	0,54	-0,65	-0,18	0,33	0,55	-0,59
%NS-pH 4,6/NT	0,94	-0,03	0,24	0,94	0,21	-0,09
%NS-TCA/NT	0,97	0,09	0,108	0,92	0,32	0,05
%NS-PTA/NT	0,82	0,26	0,39	0,93	-0,03	0,14
CN- α S1-I/ (CN- α S1+CN- α S1-I)	0,94	-0,07	-0,05	0,81	0,48	-0,05
%NH ₄ (gN) /NT	0,20	0,87	-0,32	0,15	0,16	0,92

Como se puede observar, al aplicar el método de rotación se logró que todas las variables originales, excepto el pH, *carguen* en un sólo factor. Si se observan los componentes rotados, en el CP1 se ubican las tres fracciones nitrogenadas y la relación CN- α S1-I/(CN- α S1 + CN- α S1-I), en consecuencia podemos decir que en este componente

se encuentra la información sobre el proceso de proteólisis que ocurre durante la maduración del queso. En el CP2, el %Humedad es la variable con carga factorial significativa y en el CP3 las variables restantes, pH y contenido de amonio.

En la Figura IV.9 se muestra el gráfico de *scores*, definido por CP1 y CP2 rotados, en el cual las muestras están identificadas por el tiempo de maduración.

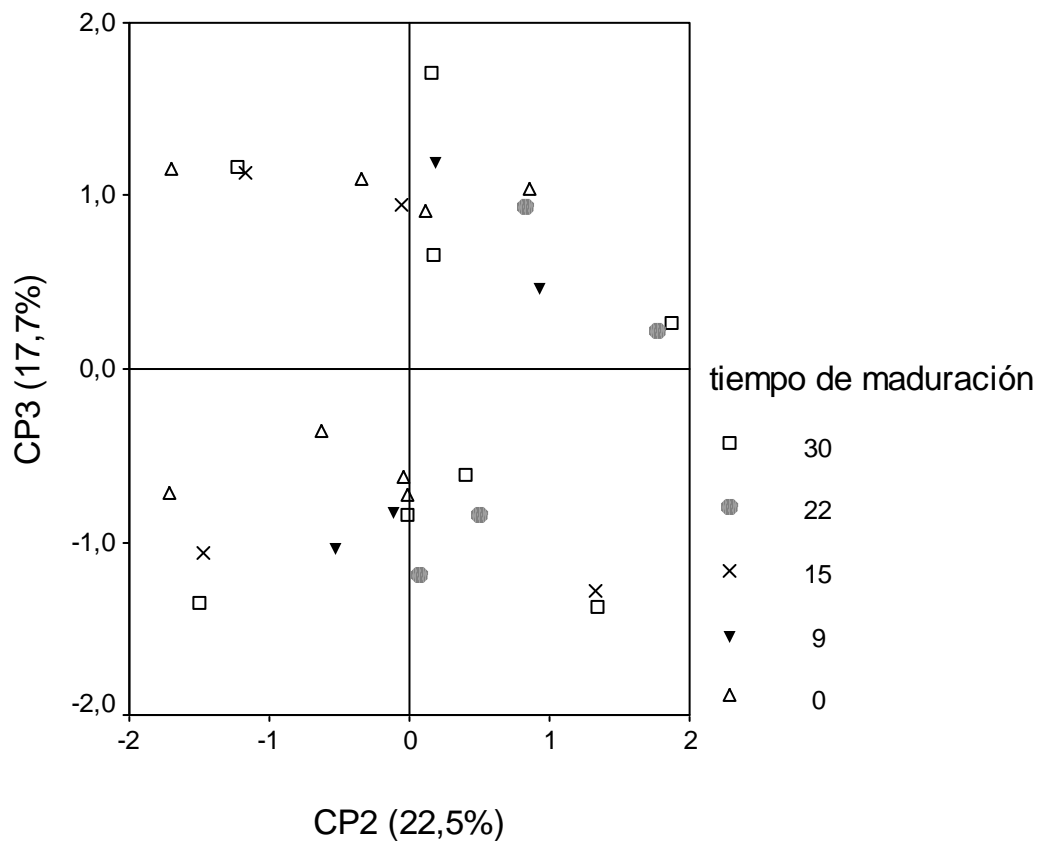
Figura IV.9. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Cremoso de calibración a lo largo de la maduración: gráfico de los *scores* de las muestras (identificadas por tiempo de maduración) sobre los ejes CP1 y CP2 rotados.



En el mismo se detectó una separación de las muestras según el tiempo principalmente a lo largo de CP1, el cual resume la información del proceso de proteólisis.

En la Figura IV.10 se muestra el gráfico de *scores*, definido por CP2 y CP3 rotados, en el cual las muestras están identificadas por el tiempo de maduración. En el mismo no se detectó una separación de las muestras según el tiempo.

Figura IV.10. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Cremoso de calibración a lo largo de la maduración: gráfico de los *scores* de las muestras (identificadas por tiempo de maduración) sobre los ejes CP2 y CP3 rotados.



En resumen, se observó agrupamientos de las muestras según el tiempo de maduración solamente en el CP1, en el cual se encuentra la información de las tres fracciones nitrogenadas y de la relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$. En el CP2 y el CP3, en los cuales se encuentra la información del %Humedad, el pH y el contenido de amonio no se observó separación de las muestras de acuerdo al tiempo, en consecuencia

estas variables no resultarían buenas predictoras en el modelo buscado. Las salidas del software del PCA se presentan en las páginas 18 a 21 del Apéndice.

Análisis discriminante

Con el propósito de validar las conclusiones previas basadas en la observación visual de los gráficos de *scores* obtenidos del PCA, se aplicó DA sobre los tres factores rotados. El tiempo de maduración fue utilizado como factor de clasificación. Se halló una función discriminante significativa ($p < 0,05$), lo que permitió clasificar a las muestras en los 5 grupos predefinidos: 0, 9, 15, 22 y 30 días de maduración, con un 86% de muestras correctamente clasificadas. La Tabla IV.4 muestra la tabla de clasificación obtenida.

Tabla IV.4. Análisis Discriminante por tiempo de maduración de los factores obtenidos del PCA de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Cremoso de calibración: Tabla de clasificación.

<i>Tiempo real</i>	<i>Tamaño de grupo</i>	<i>Tiempo predicho</i>				
		0	9	15	22	30
0	8	7 (87,5%)	1	0	0	0
9	4	0	3 (75%)	1	0	0
15	4	0	2	2 (50%)	0	0
22	4	0	0	0	4 (100%)	0
30	8	0	0	0	0	8 (100%)

Las salidas del software del AD se presentan en la página 22 del Apéndice.

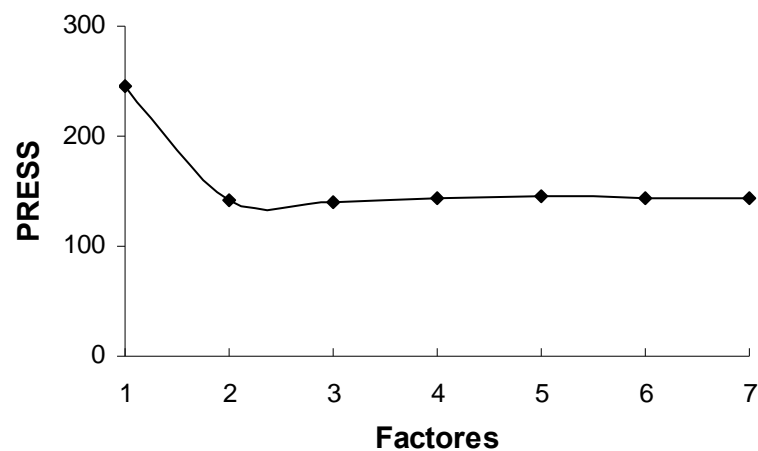
En resumen, el análisis exploratorio multivariado permitió observar que las muestras se agrupan por su tiempo de maduración y seleccionar las variables apropiadas

para la posterior aplicación de métodos de regresión, que fueron las tres fracciones nitrogenadas y la relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$.

IV.1.4. Obtención de los modelos por regresión multivariada

Luego se aplicó PLS sobre la matriz de datos (28 filas x 7 columnas) para obtener el modelo para predecir el tiempo de maduración de queso Cremoso. En primer lugar, se aplicó este método a las muestras que componen la matriz de calibración y mediante validación cruzada se determinó el número de factores óptimos. En la Figura IV.11 se presenta el gráfico del número de factores versus el estadístico PRESS.

Figura IV.11. PLS sobre matriz de calibración de queso Cremoso con validación cruzada. Número de factores versus el estadístico PRESS.



Se eligió 2 como el número de factores significativos, correspondiente al mínimo del estadístico PRESS, con el cual se obtiene el mejor modelo de predicción.

Luego la matriz de datos fue dividida por selección aleatoria en muestras de calibración (n=19) y muestras de validación externa (n=9). PLS fue aplicado al set de calibración para obtener el modelo. El % humedad, pH, %NS-pH 4,6/NT, %NS-TCA/NT, %NS-PTA/NT, la relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ y el contenido de

amonio fueron utilizadas como variables predictoras para obtener el modelo completo, a pesar de la observación mostrada en el PCA y en el análisis univariado. Además, se obtuvo un modelo reducido con las variables elegidas anteriormente. Luego estos modelos fueron aplicados al set de validación externa para determinar su capacidad predictiva.

La Tabla IV.5 muestra los parámetros estadísticos de los modelos de regresión obtenidos. Se incluyen la ordenada al origen (b_0), los coeficientes de regresión no estandarizados (b_j), los coeficientes de regresión estandarizados (β_j), el coeficiente de correlación (R) y la raíz del error cuadrado medio de predicción (RMSEP).

Tabla IV.5. Parámetros estadísticos para los modelos de predicción completo y reducido para queso Cremoso.

	b_j (β_j)							
	b_0	1	2	3	4	5	6	7
Modelo completo R= 0,99 RMSEP = 2,0	-56,67	-0,33 (-0,41)	11,06 (1,03)	2,00 (3,90)	1,95 (2,57)	5,85 (2,29)	17,26 (2,90)	-32,99 (-1,29)
Modelo reducido R= 0,99 RMSEP = 2,2	-18,38	-	-	1,65 (3,22)	2,30 (3,03)	6,69 (2,63)	17,85 (3,00)	-

b_0 : ordenada al origen; b_j : coeficientes de regresión no estandarizados; β_j : coeficientes de regresión estandarizados (siendo 1: %Humedad; 2: pH; 3: %NS-pH 4,6/NT; 4: %NS-TCA/NT, 5: %NS-PTA/NT, 6: CN- α S1-I/(CN- α S1+CN- α S1-I) y 7: %NH₄/NT); R: coeficiente de correlación; RMSEP: raíz del error cuadrado medio de predicción.

Los modelos de regresión obtenidos arrojaron buenas correlaciones ($R \geq 0,99$) y bajos errores de estimación (RMSEP ~ 2 días para un período de maduración de 30 días), lo que demostró la buena capacidad predictiva de los mismos. Si se comparan

ambos modelos, se ve que la incorporación del %humedad, el pH y el contenido de amonio como variables predictoras no modificó significativamente el error de predicción. Entonces, se consideró como más adecuado el modelo reducido debido a que estas variables no aportan información relevante en la predicción de la edad de esta variedad de queso. Este resultado está en concordancia con el PCA en el que las tres fracciones nitrogenadas y la relación $CN-\alpha_{S1-I}/(CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ fueron las que agruparon a las muestras de quesos según el tiempo de maduración.

Por lo tanto el modelo usado en la predicción se representa de la siguiente manera:

$$\text{tiempo de maduración (días)} = -18,38 + 1,65 * \%NS-pH + 4,6/NT + 2,30 * \%NS-TCA/NT + 6,69 * \%NS-PTA/NT + 17,85 * CN-\alpha_{S1-I}/(CN-\alpha_{S1}+CN-\alpha_{S1-I})$$

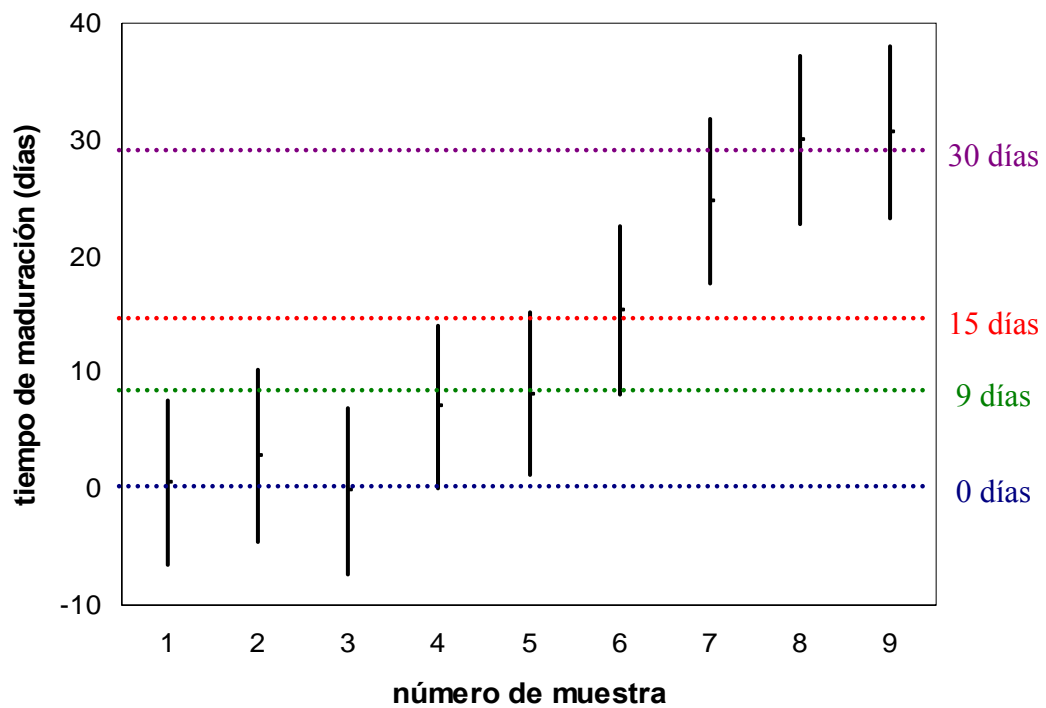
Para realizar la validación externa del modelo, se aplicó éste a la matriz de validación. Los resultados puntuales obtenidos se observan en la Tabla IV.6, junto con el error estándar de predicción puntual y el intervalo de predicción calculado a partir de éste.

También se graficaron los intervalos de predicción, los que se muestran en la Figura IV.12. En la misma se indicó con líneas discontinuas el tiempo de maduración real de las muestras para corroborar que dicho valor fue incluido por el intervalo calculado.

Tabla IV.6. Tiempo de maduración real y predicho por el modelo obtenido para las muestras de validación externa de queso Cremoso.

Tiempo de maduración real (días)	Tiempo de maduración predicho (días)	Error estándar de predicción (ESP)	$\pm t_{(1-\alpha; n-k-1)}^* \text{ ESP}$ ($\alpha=0,05; n=19; k=4$)
0	0,53	3,30	$\pm 7,08$
0	2,85	3,45	$\pm 7,40$
0	-0,21	3,36	$\pm 7,20$
9	7,03	3,24	$\pm 6,96$
9	8,14	3,25	$\pm 6,96$
15	15,33	3,38	$\pm 7,24$
30	24,69	3,27	$\pm 7,01$
30	29,96	3,37	$\pm 7,24$
30	30,62	3,42	$\pm 7,34$

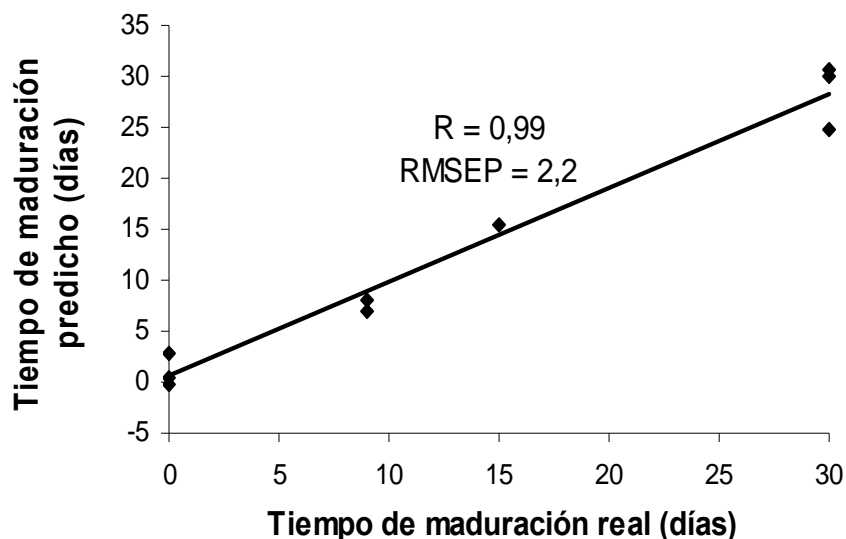
Figura IV.12. Intervalos de predicción para la validación externa del modelo obtenido para queso Cremoso.



En la gráfica se observa que los intervalos de predicción comprendieron en todas las muestras al tiempo de maduración real correspondiente.

En la Figura IV.13 se presenta la correlación entre el tiempo de maduración real de las muestras de quesos y el predicho por el modelo. En la misma se observa una alta correlación entre el tiempo de maduración real y el predicho por el modelo obtenido ($R = 0,99$).

Figura IV.13. Correlación entre el tiempo de maduración real y el predicho por el modelo obtenido para queso Cremoso.



En el modelo reducido, el %NS-pH 4,6-NT, el %NS-TCA/NT y la relación $CN-\alpha_{S1-I}/(CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ fueron las variables con los mayores coeficientes de regresión estandarizados. Es decir, estas variables fueron las de mayor importancia en la predicción del tiempo de maduración de queso Cremoso, en concordancia con el hecho de que las mismas son indicadores de una proteólisis no tan avanzada como la que ocurre en este tipo de queso. Luego le sigue en importancia el %NS-PTA-NT, la cual

contiene péptidos de pequeño tamaño y aminoácidos libres, los cuales son productos de la proteólisis secundaria y aparecen más notoriamente en quesos con períodos de maduración más prolongados.

IV.1.5. Aplicación del modelo de predicción a quesos comerciales

El modelo se aplicó a tres quesos del mercado de distintas marcas comerciales. La composición global y los parámetros fisicoquímicos determinados en los mismos se presentan en la Tabla IV.7.

Tabla IV.7. Composición global y parámetros fisicoquímicos de los quesos Cremoso comerciales.

Muestras	M1	M2	M3
%humedad	48,9	49,0	55,2
%Materia grasa en el Extracto Seco	50,6	54,9	54,7
%PT	23,6	22,6	18,3
%NS-pH4,6/NT	10,5	9,7	10,6
%NS-TCA/NT	3,2	4,1	3,9
%NS-PTA/NT	0,5	0,9	0,7
CN-α_{S1}-I/ (CN-α_{S1} + CN-α_{S1}-I)	0,5	0,6	0,2

En la Tabla IV.8 se presentan los tiempos de maduración predichos por el modelo multivariado junto con el intervalo de confianza de la predicción ($2 \cdot \text{RMSEP}$).

Tabla IV.8. Tiempos de maduración predichos para los quesos Cremoso comerciales.

Muestras	Tiempo predicho (± 4 días)
M1	19
M2	26
M3	16

Si comparamos los tiempos predichos con el mínimo establecido por la legislación para esta variedad (30 días para hormas de 2,5 a 5 Kg) se encontró que las muestras M1 y M3 presentaron tiempos de maduración por debajo del mínimo. Si se observan los valores de los parámetros fisicoquímicos incluidos en el modelo se puede notar que las muestras presentan similares valores de %NS-pH_{4,6}/NT, por lo que se podría inferir una maduración similar, sin embargo las diferencias en las otras variables determinan los distintos tiempos de maduración. Estos resultados no son sorprendentes ya que se conoce que en el mercado se encuentran quesos cremosos con tiempos de maduración menores al establecido.

IV.2. Queso Pategrás

IV.2.1. Composición global y evaluación sensorial

Como ya se indicó en la sección de materiales y métodos, sobre los *quesos de calibración* se determinó la composición global y la calidad sensorial al final de la maduración con el propósito de corroborar que los mismos poseían las características típicas de su variedad y de esta forma justificar su uso para la obtención de los modelos matemáticos.

La composición global de los quesos Pategrás de calibración determinada a los 50 días de maduración se presenta en la Tabla IV.9. También se presentan los rangos

normales de estos parámetros establecidos por el CAA para esta variedad (www.anmat.gov.ar /CAA, 2008).

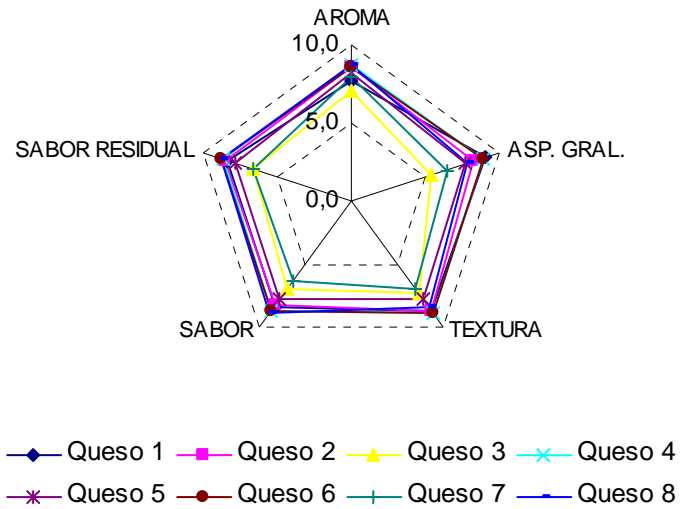
Tabla IV.9. Composición global de los quesos Pategrás de calibración determinada a los 50 días de maduración.

<i>Queso</i>	<i>%humedad</i>	<i>%Materia grasa en el extracto seco</i>	<i>%Proteína total</i>
1	39,1	48,3	27,6
2	39,6	46,0	26,3
3	39,7	45,8	25,6
4	37,8	45,1	28,5
5	38,4	46,6	27,6
6	38,1	45,2	28,7
7	36,8	46,8	28,6
8	38,2	45,0	27,4
<i>Valores normales establecidos por la legislación (CAA)</i>	entre 36 y 45,9%	entre 45 y 59,9%	-

Como se puede observar, los quesos de calibración se encontraron dentro de los rangos reglamentarios establecidos para esta variedad.

El número de panelistas que realizaron la evaluación sensorial varió entre 11 y 16 según la sesión de evaluación. En la Tabla A7 del Apéndice se presentan los resultados del análisis sensorial para todos los panelistas y todos los atributos evaluados. En la Figura IV.14 se presentan los valores promedios de todos los evaluadores para los atributos sensoriales evaluados.

Figura IV.14. Gráfico de estrella de los valores promedios para los atributos sensoriales evaluados en los quesos Pategrás de calibración.



Como se puede observar el puntaje promedio obtenido para cada atributo se encontró en la zona aceptable (>5) para todos los quesos de calibración.

En la Tabla IV.10 se presentan los valores promedios obtenidos de todos los evaluadores para los puntajes sensoriales totales y sus desviaciones estándares.

Tabla IV.10. Puntajes sensoriales promedios y sus desviaciones estándares obtenidos para los quesos Pategrás de calibración.

<i>Queso</i>	<i>Puntaje sensorial total</i>
1	85,3 ± 8,3
2	83,8 ± 9,6
3	65,7 ± 12,7
4	87,6 ± 5,6
5	78,4 ± 9,9
6	87,7 ± 9,2
7	66,7 ± 6,1
8	84,3 ± 6,8

Como se puede observar, todos los quesos presentaron un puntaje sensorial total ≥ 50 , fijado en este trabajo como valor mínimo para esta variedad de queso.

Por lo tanto, debido a que la composición global y la calidad sensorial de estos quesos se encontraron dentro de los rangos reglamentarios, se consideran a estos quesos aptos para obtener el modelo de predicción buscado.

IV.2.2 Evolución de las variables fisicoquímicas con el tiempo de maduración

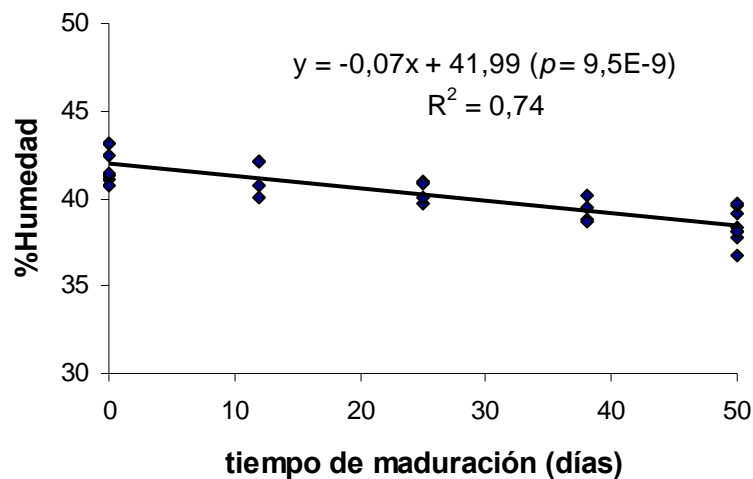
Los datos obtenidos para los *quesos de calibración* se organizaron en forma de matriz, la cual está compuesta por 27 muestras o filas y 6 variables o columnas (%Humedad, pH, %NS-pH 4,6/NT, %NS-TCA/NT, %NS-PTA/NT y contenido de amonio).

En primer lugar se analizó cada variable en forma individual como se detalla a continuación.

IV.2.2.1. Humedad

En la Tabla A8 del Apéndice se presentan los valores individuales ($n=27$) del contenido de humedad obtenidos para los quesos de calibración a lo largo de la maduración. La Figura IV.15 muestra la evolución de este parámetro durante la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV15. Evolución del contenido de humedad para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración.

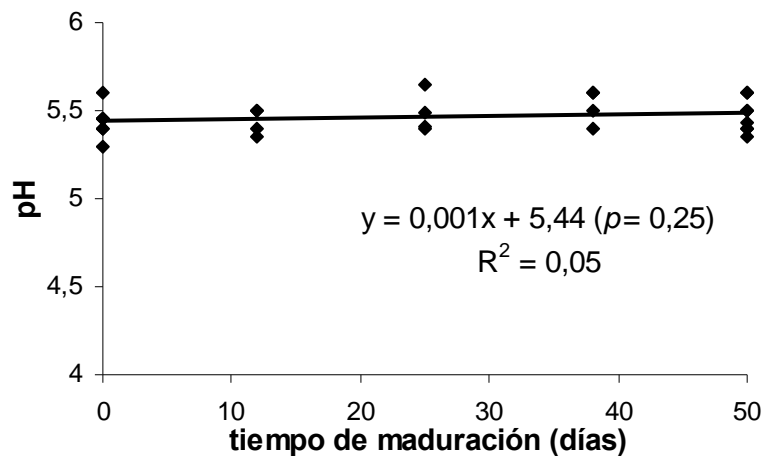


Se puede observar una disminución del % humedad con el tiempo, lo cual es acorde con uno de los procesos de naturaleza física que ocurre en este período, la evaporación del agua (Zalazar y col., 2004). Esta variable presentó una relación lineal significativa con el tiempo ($p < 0,05$) y el coeficiente de determinación obtenido ($R^2 = 0,74$) señalan una fuerte correlación entre esta variable y el tiempo de maduración, indicando que la misma resultaría una buena variable predictora en el modelo buscado. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 29 del Apéndice.

IV.2.2.2. pH

En la Tabla A9 del Apéndice se presentan los valores individuales de pH obtenidos para los quesos de calibración a lo largo de la maduración. En la Figura IV.16 se presenta la evolución de este parámetro a lo largo de la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV.16. Evolución del pH para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración.



Esta variable no presentó una relación lineal significativa con el tiempo ($p > 0,05$), en consecuencia la misma no resultaría una buena variable predictora para el modelo. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 31 del Apéndice.

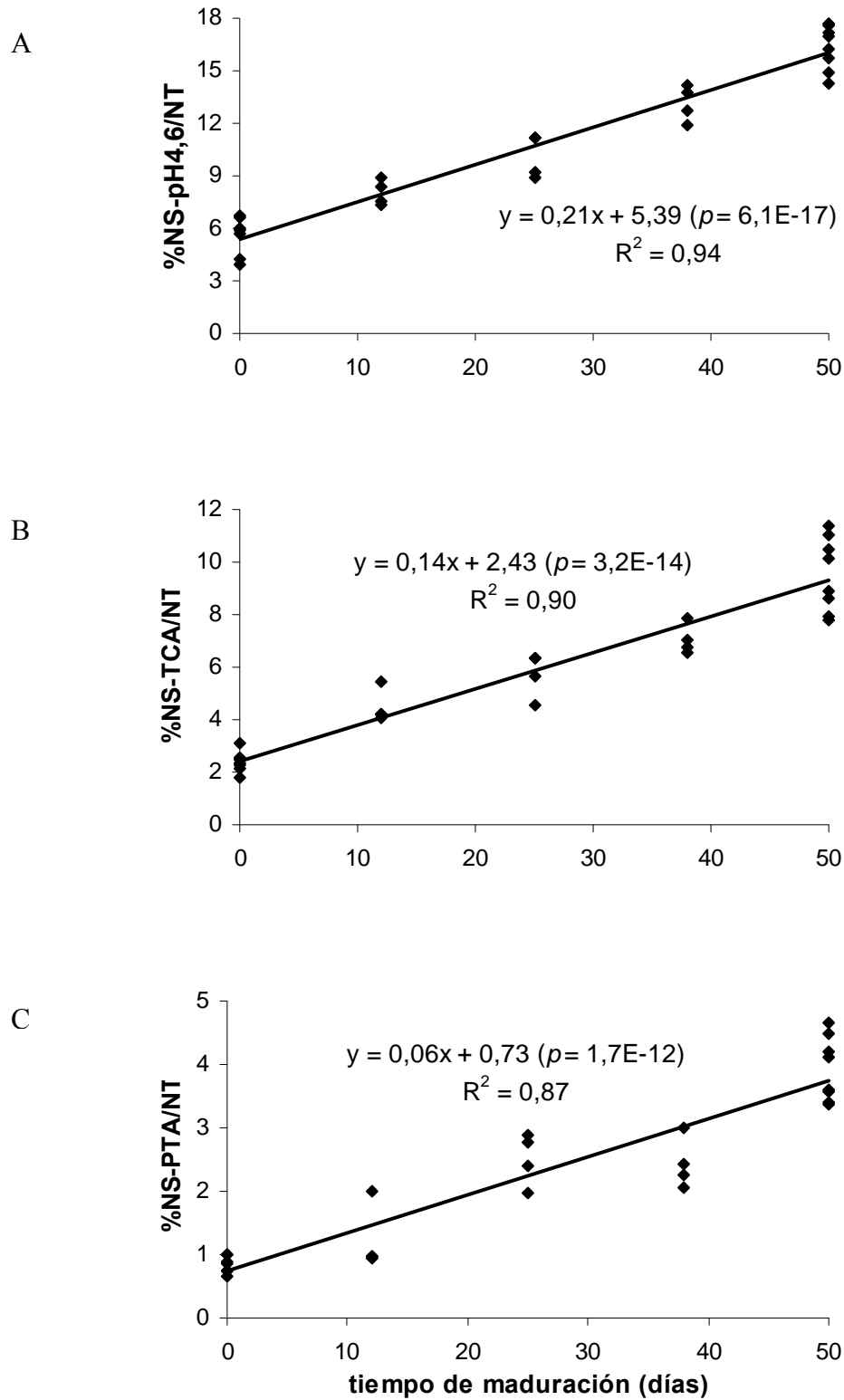
IV.2.2.3. Fraccionamiento de Nitrógeno

En la Tabla A10 del Apéndice se presentan los valores individuales de las tres fracciones nitrogenadas, expresados como porcentajes del nitrógeno total, obtenidos en

los quesos de calibración a lo largo de la maduración. En las Figuras IV.17 (A, B y C) se presenta la evolución durante la maduración y la aplicación de la RLS.

Las tres fracciones aumentaron durante el período estudiado, lo cual era lo esperado debido a que estas fracciones son índices de proteólisis primaria y secundaria (Fox, 1993). Estas tres variables presentaron una relación lineal significativa con el tiempo ($p < 0,05$), siendo los R^2 obtenidos muy importantes para las tres fracciones (0,94, 0,90 y 0,86 respectivamente). A diferencia de lo sucedido para queso Cremoso, en este caso las tres fracciones presentaron una fuerte correlación con el tiempo de maduración, lo que está en concordancia con el hecho de que en esta variedad la proteólisis es más pronunciada. En consecuencia estas tres variables resultarían buenas predictoras para el modelo buscado. Las salidas del software del ANOVA de la regresión se presentan en las páginas 33, 34 y 35 del Apéndice.

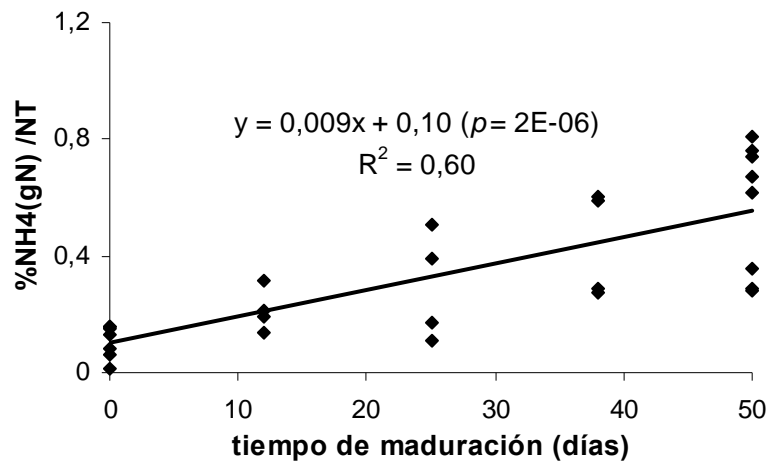
Figura IV.17. Evolución del fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración. A- %NS-pH 4,6/NT. B- %NS-TCA/NT. C- %NS-PTA/NT.



IV.2.2.4. Contenido de amonio

En la Tabla A11 del Apéndice se presentan los valores individuales del contenido de amonio obtenidos en los quesos de calibración durante la maduración. En la Figura IV.18 se presenta la evolución de este parámetro a lo largo de la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV.18. Evolución del contenido de amonio para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración.



Se puede observar un aumento muy claro a lo largo de todo el período de maduración estudiado. Esta variable presentó una relación lineal significativa con el tiempo de maduración ($p < 0,05$) y el R^2 obtenido (0,60) indica la existencia de correlación entre estas variables, indicando que el contenido de amonio resultaría una buena variable predictora para el modelo. El moderado valor de R^2 obtenido está en concordancia con el hecho de que este compuesto aparece en las últimas etapas de la maduración requiriendo períodos más prolongados para su aparición. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 37 del Anexo.

IV.2.3. Análisis Multivariado

La matriz completa conformada con los resultados obtenidos para los *quesos de calibración* fue sometida a un análisis exploratorio con técnicas estadísticas multivariadas: PCA y DA.

Análisis por componentes principales

Como primer paso del PCA, se verificó por diferentes métodos la existencia de altas correlaciones entre las variables, un requisito para este análisis. Para ello, se examinó la matriz de correlaciones, donde se observaron correlaciones de Pearson significativas entre las variables ($> 0,5$). El determinante de la matriz de correlaciones obtenido fue muy bajo ($2,6E-4$) indicando también altas correlaciones. Además, el test de esfericidad de Bartlett y el índice KMO obtenido ($0,83$) señalaron que fue adecuado factorizar la matriz de datos. Por último, por inspección de la matriz de correlación anti-imagen se observaron pocos coeficientes de correlación parcial altos lo que indicó que fue razonable aplicar el análisis factorial.

El número de factores a extraer de acuerdo a la regla de Kaiser fue dos CP. Con este número de factores las comunalidades obtenidas fueron $>0,85$, de manera que con esta extracción se explicó un porcentaje de varianza elevado para todas las variables. Se extrajeron dos componentes principales que explicaron el 91,7% de la varianza total del sistema: CP1: 73,4% y CP2: 18,3%.

Debido a que la solución factorial inicial presentó una estructura simple, no fue necesario obtener la solución factorial rotada. En la Tabla IV.11 se presenta la solución factorial obtenida, la cual contiene las *cargas factoriales* de cada variable original en los componentes principales extraídos.

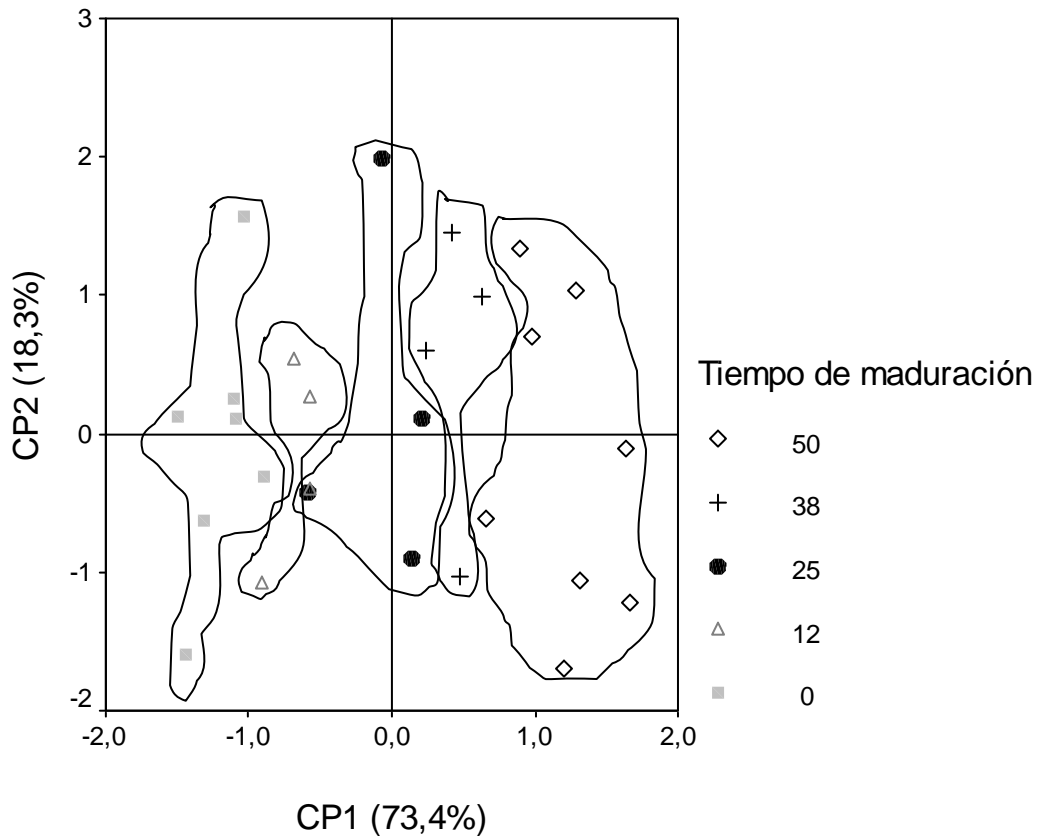
Tabla IV.11. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Pategrás de calibración a lo largo de la maduración: Cargas factoriales del CP1 y CP2.

<i>Variables originales</i>	<i>CP1 (73,4%)</i>	<i>CP2 (18,3%)</i>
%Humedad	-0,87	-0,30
pH	0,25	0,95
%NS-pH 4,6/NT	0,98	-0,04
%NS-TCA/NT	0,98	-0,13
%NS-PTA/NT	0,95	-0,08
%NH ₄ /NT	0,88	-0,29

Como se puede observar en dicha tabla, en el CP1 se encuentran el %humedad, las tres fracciones nitrogenadas y el contenido de amonio, en consecuencia podemos decir que en este componente se encuentra la información sobre el proceso de evaporación de agua y de proteólisis que ocurren durante la maduración del queso. En el CP2, el pH es la variable con carga factorial alta.

En la Figura IV.19 se muestra el gráfico de *scores*, definido por CP1 y CP2, en el cual las muestras están identificadas por el tiempo de maduración.

Figura IV.19. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Pategrás de calibración a lo largo de la maduración: gráfico de los *scores* de las muestras (identificadas por tiempo de maduración) sobre los ejes CP1 y CP2.



Se observó agrupamiento de las muestras según el tiempo de maduración solamente en el CP1, en el cual se encuentra la información del %humedad, de las tres fracciones nitrogenadas y del contenido de amonio. En el CP2 en el cual se encuentra la información del pH, no se observó separación de las muestras de acuerdo al tiempo, en consecuencia esta variable no resultaría buena predictora para el modelo. Las salidas del software del PCA se presentan en las páginas 38 a 39 del Apéndice.

Análisis discriminante

Con el propósito de validar las conclusiones previas basadas en la observación visual de los gráficos de *scores* obtenidos del PCA, se aplicó DA sobre los dos factores

extraídos. El tiempo de maduración fue utilizado como factor de clasificación. Se halló una función discriminante significativa ($p < 0,05$), lo que permitió clasificar a las muestras en los 5 grupos predefinidos: 0, 12, 25, 38 y 50 días de maduración, con un 82% de muestras correctamente clasificadas. La Tabla IV.12 muestra la tabla de clasificación obtenida. Las salidas del software del DA se presentan en las páginas 40 del Apéndice.

Tabla IV.12. Análisis Discriminante por tiempo de maduración de los factores obtenidos del PCA de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Pategrás: Tabla de clasificación.

<i>Tiempo real</i>	<i>Tamaño de grupo</i>	<i>Tiempo predicho</i>				
		0	12	25	38	50
0	7	6 (87,5%)	1	0	0	0
12	4	0	4 (100%)	0	0	0
25	4	0	1	2 (50%)	1	0
38	4	0	0	0	4 (100%)	0
50	8	0	0	0	2	6 (75%)

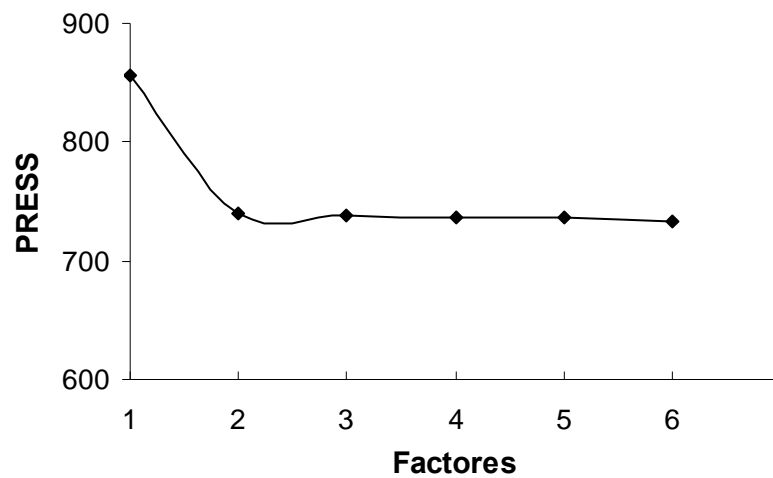
El análisis multivariado exploratorio permitió observar que las muestras se agrupan por su tiempo de maduración y seleccionar las variables apropiadas para la posterior aplicación de métodos de regresión, que fueron el %humedad, las tres fracciones nitrogenadas y el contenido de amonio.

IV.2.4. Obtención de los modelos por regresión multivariada

Luego se aplicó PLS sobre la matriz de datos (27 filas x 6 columnas) para obtener el modelo para predecir el tiempo de maduración de queso Pategrás. En primer

lugar, se aplicó este método a las muestras que componen la matriz de calibración y mediante validación cruzada se determinó el número de factores óptimos. En la Figura IV.20 se presenta el gráfico del número de factores versus el estadístico PRESS.

Figura IV.20. PLS sobre matriz de calibración de queso Pategrás con validación cruzada. Número de factores versus el estadístico PRESS.



Se eligió 2 como el número de factores significativos, correspondiente al mínimo del estadístico PRESS, con el cual se obtiene el mejor modelo de predicción.

Luego la matriz de datos fue dividida por selección aleatoria en muestras de calibración ($n=18$) y muestras de validación externa ($n=9$). PLS fue aplicado al set de calibración para obtener un modelo de predicción del tiempo de maduración. El % humedad, pH, %NS-pH 4,6/NT, %NS-TCA/NT, %NS-PTA/NT y el contenido de amonio fueron utilizadas como variables predictoras para obtener el modelo completo, a pesar de la observación mostrada en el PCA. Además, se obtuvieron dos modelos reducidos. Luego estos modelos fueron aplicados al set de validación externa para determinar la capacidad predictiva de los mismos mediante el cálculo del estadístico RMSEP.

La Tabla IV.13 muestra los parámetros estadísticos de los modelos de regresión obtenidos. Se incluyen la ordenada al origen (b_0), los coeficientes de regresión no estandarizados (b_j), los coeficientes de regresión estandarizados (β_j), el coeficiente de correlación (R) y la raíz del error cuadrado medio de predicción (RMSEP).

Tabla IV.13. Parámetros estadísticos para los modelos de predicción completo y reducido para queso Pategrás.

	b_j (β_j)							R	RMSEP
	b_0	1	2	3	4	5	6		
Modelo completo	160,59	-3,27 (-4,63)	-7,03 (-0,67)	1,39 (6,01)	1,87 (5,18)	4,93 (6,52)	-7,53 (-1,68)	0,98	5,0
Modelo reducido I	134,44	-3,55 (-5,03)	-	1,33 (5,75)	1,76 (4,88)	4,71 (6,23)	-5,41 (-1,21)	0,98	5,1
Modelo reducido II	121,94	-3,25 (-4,61)	-	1,27 (5,47)	1,95 (5,40)	4,06 (5,37)	-	0,98	5,4

b_0 : ordenada al origen; b_j : coeficientes de regresión no estandarizados; β_j : coeficientes de regresión estandarizados (siendo 1: %Humedad; 2: pH; 3: %NS-pH 4,6/NT; 4: %NS-TCA/NT, 5: %NS-PTA/NT y 6: %NH₄/NT); R: coeficiente de correlación; RMSEP: raíz del error cuadrado medio de predicción.

Los modelos de regresión obtenidos arrojaron buenas correlaciones ($R \geq 0,98$) y bajos errores de estimación (RMSEP ~ 5 días para un período de maduración de 50 días), lo que demostró la buena capacidad predictiva de los mismos. Si se compara el modelo completo con el modelo reducido I (el cual contiene las variables elegidas según el PCA), se ve que la eliminación del pH como variable predictora no modifica significativamente el RMSEP. Entonces, se consideró como más adecuado este último debido a que esta variable no aporta información relevante en la predicción de la edad de esta variedad de queso.

Por otro lado, si se observan los coeficientes de regresión estandarizados (β_j), el % Humedad y las tres fracciones nitrogenadas presentaron los mayores coeficientes, es decir, estas variables fueron las de mayor peso en la predicción del tiempo de maduración de queso Pategrás, en concordancia con el hecho de que estas variables son indicadoras de dos procesos muy importantes que ocurren en quesos con períodos de maduración moderados: la evaporación de agua y la proteólisis primaria y secundaria. Para el contenido de amonio, se obtuvo un coeficiente de regresión inferior, señalando una menor importancia de la misma como variable predictora del tiempo de maduración para queso Pategrás. Este hecho coincidió con la menor correlación encontrada en el análisis univariado. En consecuencia, se obtuvo el modelo reducido II eliminando al contenido de amonio como variable predictora. Si se compara este modelo con el modelo reducido I, se ve que la eliminación del contenido de amonio como variable predictora sólo aumenta ligeramente el RMSEP. Entonces, se consideró como más adecuado este último debido a que esta variable no aporta información relevante en la predicción de la edad de esta variedad de queso.

El modelo usado en la predicción se representa de la siguiente manera:

$$\text{tiempo de maduración (días)} = 121,94 - 3,25 * \%humedad + 1,27 * \%NS-pH\ 4,6/NT + 1,95 * \%NS-TCA/NT + 4,06 * \%NS-PTA/NT$$

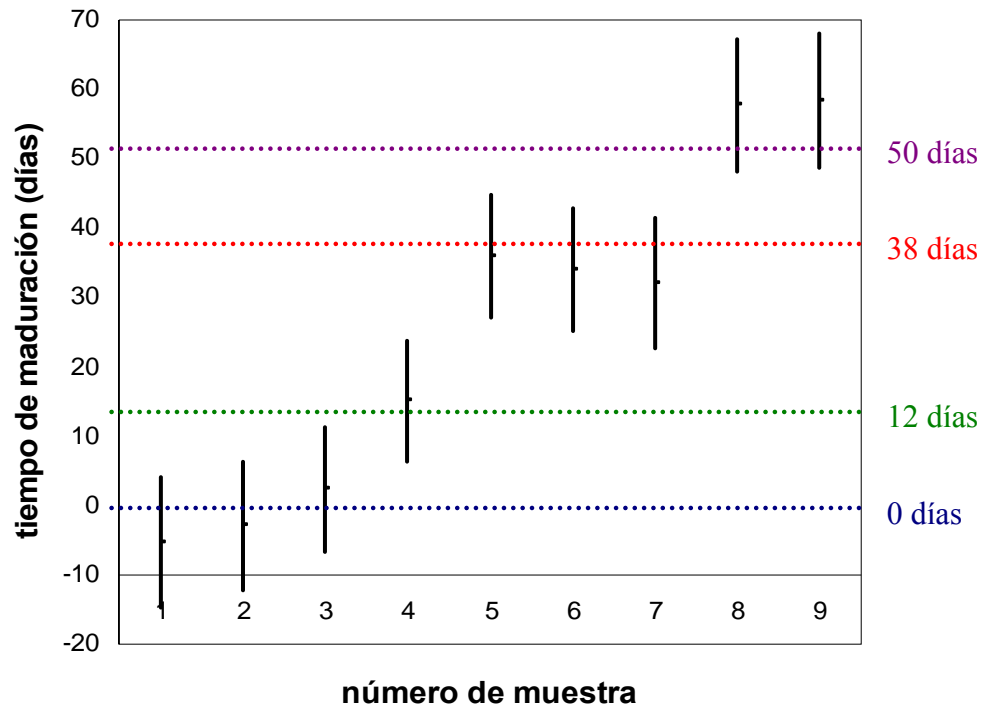
Para realizar la validación externa del modelo, se aplicó éste a la matriz de validación. Los resultados puntuales obtenidos se observan en la Tabla IV.14, junto con el error estándar de predicción puntual y el intervalo de predicción calculado a partir de éste.

Tabla IV.14. Tiempo de maduración real y predicho por el modelo obtenido para las muestras de validación de queso Pategrás.

Tiempo de maduración real (días)	Tiempo de maduración predicho (días)	Error estándar de predicción (ESP)	$\pm t_{(1-\alpha; n-k-1)}^* \text{ ESP}$ ($\alpha= 0,05; n=18; k=4$)
0	-5,35	4,34	$\pm 9,37$
0	-2,90	4,26	$\pm 9,21$
0	2,32	4,17	$\pm 9,01$
12	15,05	4,06	$\pm 8,78$
38	35,83	4,11	$\pm 8,87$
38	34,05	4,08	$\pm 8,81$
38	32,12	4,32	$\pm 9,34$
50	57,71	4,42	$\pm 9,54$
50	58,38	4,52	$\pm 9,75$

También se graficaron los intervalos de predicción, los que se muestran en la Figura IV.21. En la misma se indicó con líneas discontinuas el tiempo de maduración real de las muestras para corroborar que dicho valor fue incluido por el intervalo calculado.

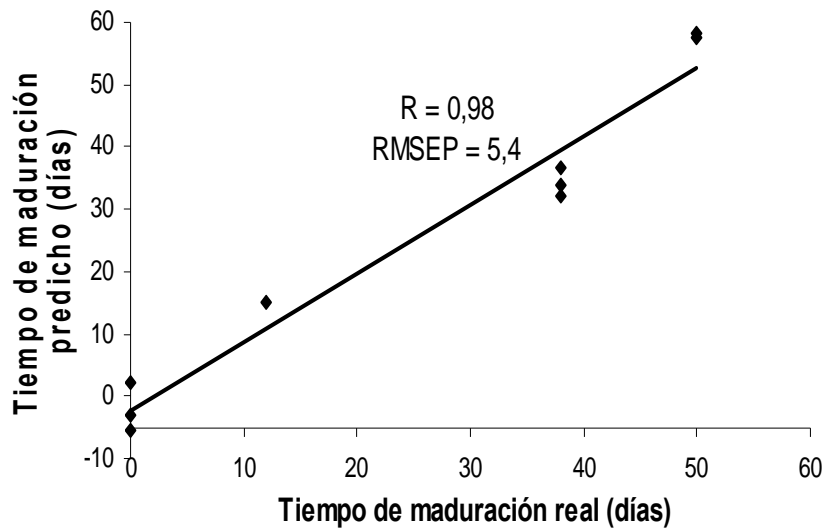
Figura IV.21. Intervalos de predicción para la validación externa del modelo obtenido para queso Pategrás.



En la gráfica se observa que los intervalos de predicción comprendieron en todas las muestras al tiempo de maduración real correspondiente.

En la Figura IV.22 se presenta la correlación entre el tiempo de maduración real de las muestras de quesos y el predicho por el modelo. En el mismo se observa una alta correlación entre el tiempo de maduración real y el predicho por el modelo obtenido ($R= 0,98$).

Figura IV.22. Correlación entre el tiempo de maduración real y el predicho por el modelo obtenido para queso Pategrás.



IV.2.5. Aplicación del modelo de predicción a quesos comerciales

El modelo se aplicó a siete quesos del mercado de distintas marcas comerciales. La composición global y los parámetros fisicoquímicos determinados en los mismos se presentan en la Tabla IV.15.

Tabla IV.15. Composición global y parámetros fisicoquímicos de los quesos Pategrás comerciales.

Muestras	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
%Materia grasa en el Extracto Seco	45,2	44,1	45,1	46,9	45,3	46,6	45,4
%PT	28,5	26,2	29,2	24,6	29,2	28,3	26,3
%humedad	38,9	36,0	36,2	36,0	35,9	39,3	36,8
%NS-pH4,6/NT	28,7	22,9	24,6	15,1	20,6	27,1	14,2
%NS-TCA/NT	15,8	14,5	16,0	7,4	15,1	15,5	7,36
%NS-PTA/NT	4,5	5,2	9,7	2,5	8,5	3,7	1,62

En la Tabla IV.16 se presentan los tiempos de maduración predichos por el modelo multivariado junto con el intervalo de confianza de la predicción ($2 \times \text{RMSEP}$).

Tabla IV.16. Tiempos de maduración predichos para los quesos Pategrás comerciales.

Muestras	Tiempo predicho (± 11 días)
M1	81
M2	83
M3	106
M4	49
M5	95
M6	74
M7	41

Se puede observar que todas las muestras se encontraron dentro de los rangos reglamentarios en cuanto a su composición global y al tiempo de maduración mínimo establecido por la legislación para esta variedad (50 días para hormas de 1 a 5 Kg). El tiempo de maduración obtenido para las muestras M4 y M7 fueron los más cercanos al mínimo establecido, lo cual está en concordancia con el hecho de que las mismas no presentaron ojos en su masa, al igual que las muestras de calibración. En cambio, para las restantes los tiempos de maduración superaron el mínimo establecido. Este hecho puede ser debido a que estas muestras presentaron ojos producidos por bacterias propiónicas, las cuales son frecuentemente agregadas en la elaboración de esta variedad de queso como fermento adjunto produciendo de esta manera una proteólisis acentuada, lo cual se observó claramente en los mayores valores de fraccionamiento de nitrógeno obtenidos para estos quesos en comparación con los obtenidos para los quesos de calibración.

IV.3. Queso Reggiano

IV.3.1. Composición global y evaluación sensorial

Como ya se indicó en la sección de materiales y métodos, sobre los *quesos de calibración* se determinó la composición global y la calidad sensorial al final de la maduración con el propósito de corroborar que los mismos poseían las características típicas de su variedad y de esta forma justificar su uso para la obtención de los modelos matemáticos.

La composición global de los quesos Reggiano de calibración determinada a los 180 días de maduración se presenta en la Tabla IV.17. También se presentan los rangos normales de estos parámetros establecidos por el CAA para esta variedad ([www.anmat.gov.ar /CAA](http://www.anmat.gov.ar/CAA), 2008).

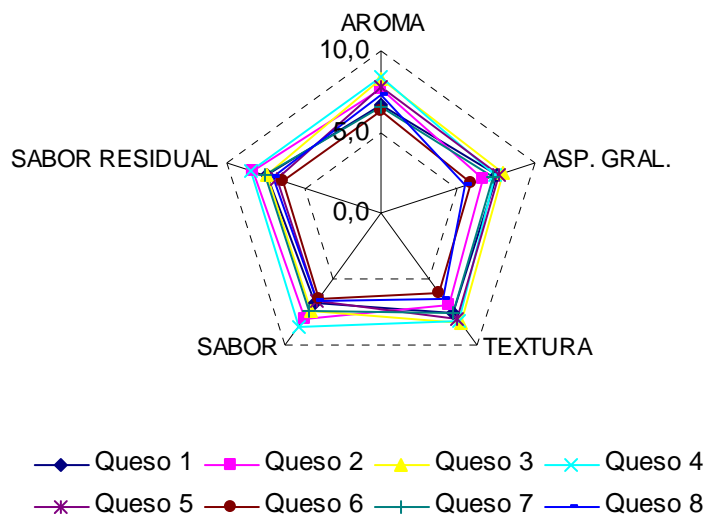
Tabla IV.17. Composición global de los quesos Reggiano de calibración determinada a los 180 días de maduración.

<i>Queso</i>	<i>%humedad</i>	<i>%Materia grasa en el extracto seco</i>	<i>%Proteína total</i>
1	35,3	37,1	32,1
2	33,5	42,3	30,4
3	33,3	39,1	31,6
4	34,0	36,2	33,7
5	33,3	36,3	31,3
6	31,9	41,0	34,1
7	32,6	38,4	32,2
8	32,6	38,7	31,6
<i>Valores normales establecidos por CAA</i>	hasta 35,9%	mínimo 32%	-

Como se puede observar, los quesos de calibración se encontraron dentro de los rangos reglamentarios establecidos para esta variedad.

El número de panelistas que realizaron la evaluación sensorial varió entre 8 y 15 según la sesión de evaluación. En la Tabla A12 del Apéndice se presentan los resultados del análisis sensorial realizado para todos los panelistas y todos los atributos evaluados. En la figura IV.23 se presentan los valores promedios de todos los evaluadores para los atributos sensoriales evaluados.

Figura IV.23. Gráfico de estrella de los valores promedios para los atributos sensoriales evaluados en los quesos Reggianito de calibración.



Como se puede observar el puntaje promedio obtenido para cada atributo se encontró en la zona aceptable (>5) para todos los quesos de calibración.

En la Tabla IV.18 se presentan los valores promedios obtenidos de todos los evaluadores para los puntajes sensoriales totales y sus desviaciones estándares.

Tabla IV.18. Puntajes sensoriales promedios y sus desviaciones estándares obtenidos para los quesos Reggianito de calibración.

<i>Queso</i>	<i>Puntaje sensorial total</i>
1	85,9 ± 16,0
2	90,9 ± 11,3
3	94,4 ± 12,0
4	99,4 ± 11,6
5	88,3 ± 11,6
6	75,1 ± 13,9
7	87,2 ± 10,7
8	80,2 ± 16,1

Como se puede observar, todos los quesos presentaron un puntaje sensorial total ≥ 60 , fijado en este trabajo como valor mínimo para esta variedad de queso.

Por lo tanto, debido a que la composición global y la calidad sensorial de estos quesos se encontraron dentro de los rangos reglamentarios, se consideran a estos quesos aptos para obtener el modelo de predicción buscado.

IV.3.2. Evolución de las variables fisicoquímicas con el tiempo de maduración

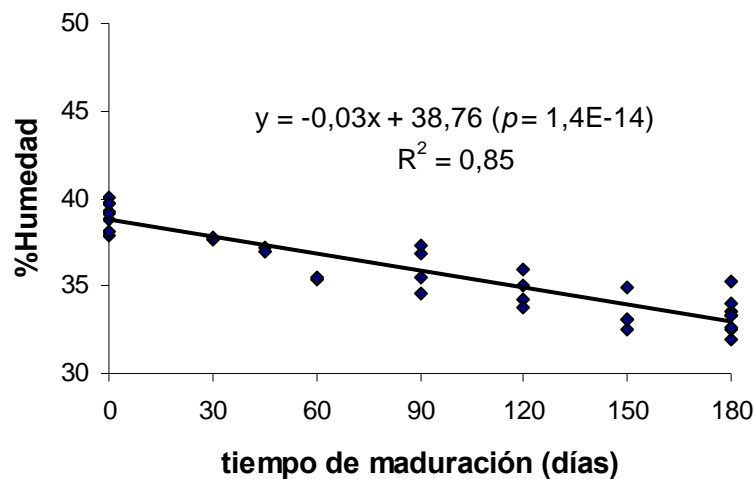
Los datos obtenidos para los *quesos de calibración* se organizaron en forma de matriz, la cual está compuesta por 34 muestras o filas y 6 variables o columnas (%Humedad, pH, %NS-pH 4,6/NT, %NS-TCA/NT, %NS-PTA/NT y contenido de amonio).

En primer lugar se analizó cada variable en forma individual como se detalla a continuación.

IV.3.2.1. Humedad

En la Tabla A13 del Apéndice se presentan los valores individuales (n=34) del contenido de humedad obtenidos para los quesos de calibración a lo largo de la maduración. La Figura IV.24 muestra la evolución de este parámetro durante la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV.24. Evolución del contenido de humedad para los quesos Reggiano de calibración durante la maduración.

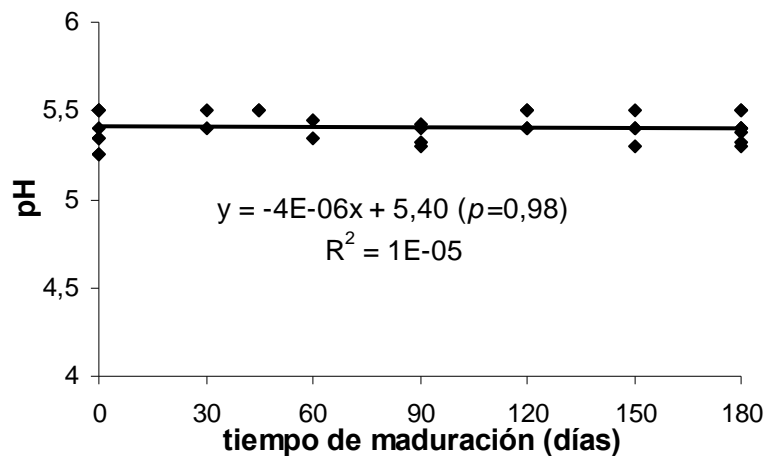


Se puede observar una disminución del % humedad con el tiempo, lo cual es acorde con uno de los procesos de naturaleza física que ocurre en este período, la evaporación del agua (Zalazar y col., 2004). Esta variable presentó una relación lineal significativa con el tiempo ($p < 0,05$) y el coeficiente de determinación obtenido ($R^2 = 0,85$) señalan una fuerte correlación entre esta variable y el tiempo de maduración, indicando que la misma resultaría una buena variable predictora en el modelo buscado. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 46 del Apéndice.

IV.3.2.2. pH

En la Tabla A14 del Apéndice se presentan los valores individuales de pH obtenidos para los quesos de calibración a lo largo de la maduración. En la Figura IV.25 se presenta la evolución de este parámetro durante la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV.25. Evolución del pH para los quesos Reggianito de calibración durante la maduración.

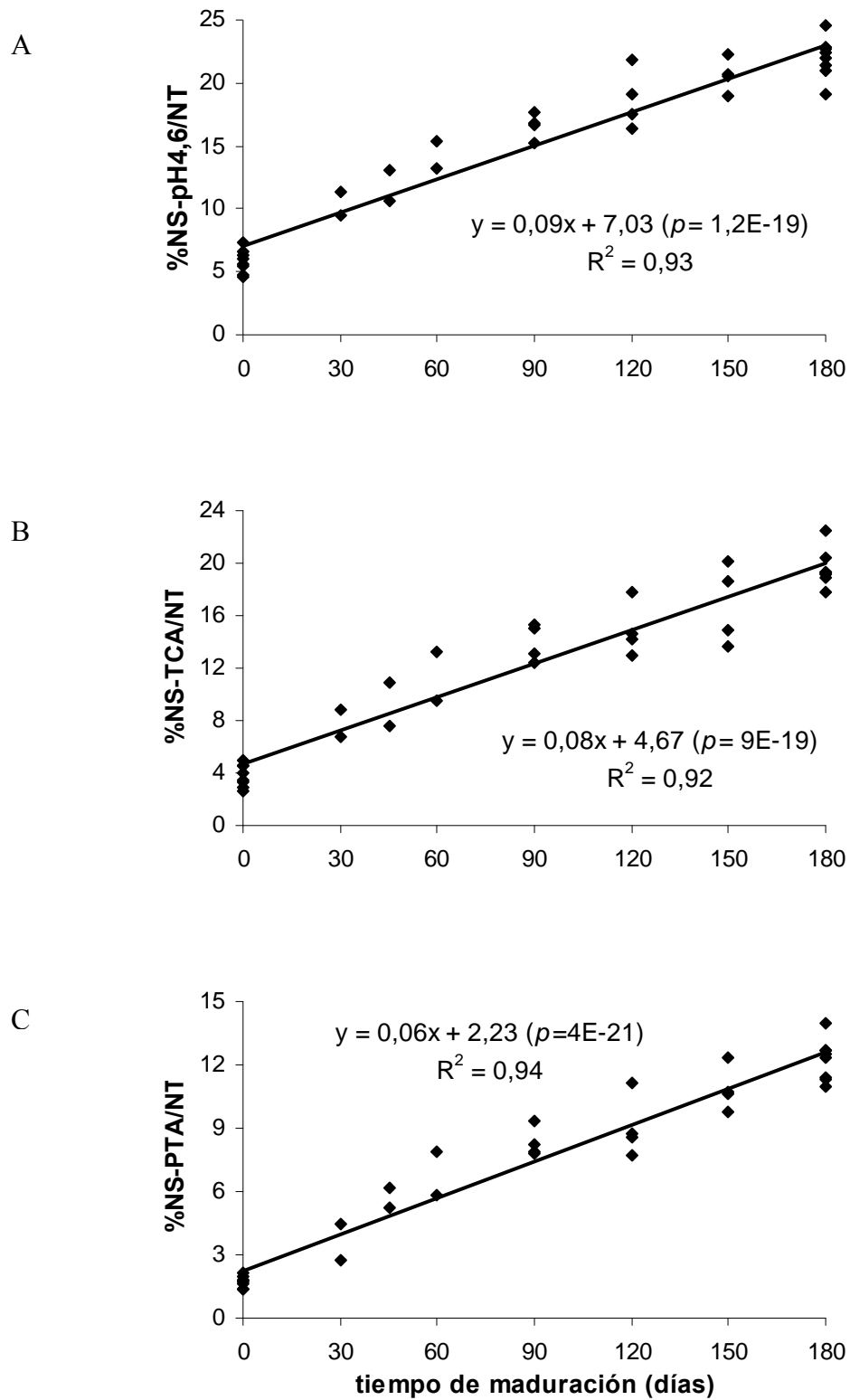


Esta variable no presentó una relación lineal significativa con el tiempo ($p > 0,05$), en consecuencia la misma no resultaría una buena variable predictora en el modelo buscado. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 48 del Apéndice.

IV.3.2.3. Fraccionamiento de Nitrógeno

En la Tabla A15 del Apéndice se presentan los valores individuales de las tres fracciones nitrogenadas, expresados como porcentajes del nitrógeno total, obtenidos en los quesos de calibración a lo largo de la maduración. En las Figuras IV.26 (A, B y C) se presenta la evolución de las mismas durante la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV.26. Evolución del fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Reggianito de calibración durante la maduración. A- %NS-pH4,6/NT. B- %NS-TCA/NT. C- %NS-PTA/NT.

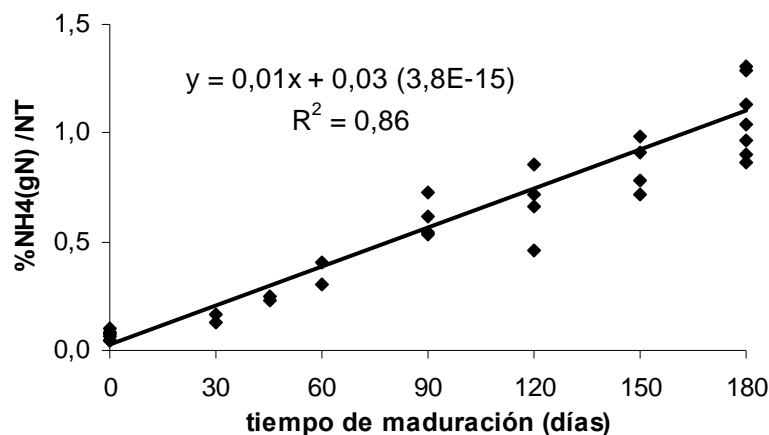


Las tres fracciones nitrogenadas aumentaron durante el período estudiado, lo cual era lo esperado debido a que estas fracciones son índices de proteólisis primaria y secundaria (Fox, 1993). Las tres variables presentaron una relación lineal significativa con el tiempo ($p < 0,05$), siendo los R^2 obtenidos muy importantes para las tres fracciones (0,93, 0,92 y 0,94, respectivamente) y en consecuencia las mismas resultarían buenas variables predictoras en el modelo buscado. Las salidas del software del ANOVA de la regresión se presentan en las páginas 50, 51 y 52 del Apéndice.

IV.3.2.4. Contenido de amonio

En la Tabla A16 del Apéndice se presentan los valores individuales del contenido de amonio obtenidos en los quesos de calibración a lo largo de la maduración. En la Figura IV.27 se presenta la evolución de este parámetro durante la maduración y la aplicación de la RLS.

Figura IV.27. Evolución del contenido de amonio para los quesos Reggiano de calibración durante la maduración.



Se puede observar un aumento muy claro a lo largo de todo el período de maduración estudiado. Esta variable presentó una relación lineal significativa con el tiempo de maduración ($p < 0,05$) y el R^2 obtenido (0,86) indica la existencia de una fuerte correlación entre estas variables, indicando que el contenido de amonio resultaría una buena variable predictora en el modelo. La salida del software del ANOVA de la regresión se presenta en la página 54 del Apéndice.

IV.3.3. Análisis Multivariado

La matriz completa conformada por los resultados obtenidos para los *quesos de calibración* fue sometida a un análisis exploratorio con técnicas estadísticas multivariadas: PCA y DA.

Análisis por componentes principales

Como primer paso del PCA, se verificó por diferentes métodos la existencia de altas correlaciones entre las variables, un requisito para este análisis. Para ello, se examinó la matriz de correlaciones, donde se observaron correlaciones de Pearson significativas entre las variables ($> 0,5$). El determinante de la matriz de correlaciones obtenido fue muy bajo ($1,1E-5$) indicando también altas correlaciones. Además, el test de esfericidad de Bartlett y el índice KMO obtenido (0,89) señalaron que fue adecuado factorizar la matriz de datos. Por último, por inspección de la matriz de correlación anti-imagen se observaron pocos coeficientes de correlación parcial altos lo que indicó que fue razonable aplicar el análisis factorial.

El número de factores a extraer de acuerdo a la regla de Kaiser fue dos CP. Con este número de factores las comunalidades obtenidas fueron $>0,88$, de manera que con esta extracción se explicó un porcentaje de varianza elevado para todas las variables. Se

extrajeron dos componentes principales que explicaron el 95,0% de la varianza total del sistema: CP1: 78,1% y CP2: 16,9%.

Debido a que en la solución factorial inicial presentó una estructura simple, no fue necesario obtener la solución factorial rotada. En la Tabla IV.19 se presenta la solución factorial obtenida, la cual contiene las *cargas factoriales* de cada variable original en las componentes principales extraídas.

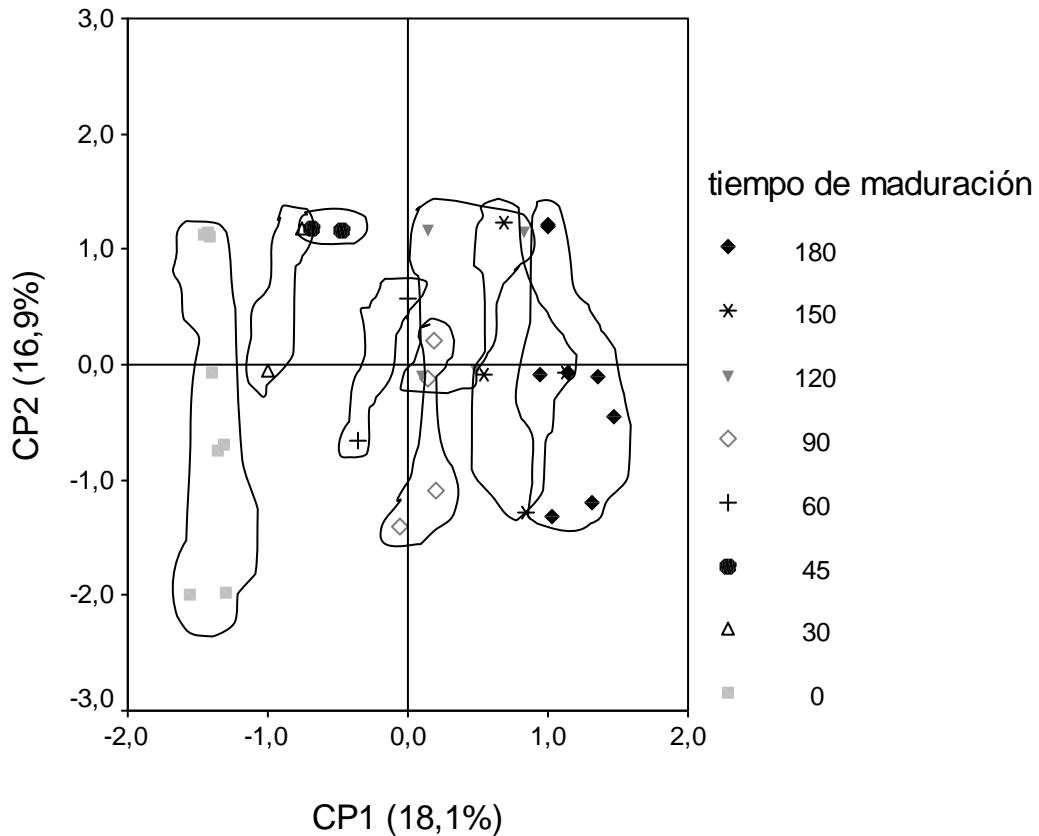
Tabla IV.19. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Reggiano de calibración a lo largo de la maduración: Cargas factoriales del CP1 y CP2.

<i>Variables originales</i>	<i>CP1 (78,1%)</i>	<i>CP2 (16,9%)</i>
%Humedad	-0,93	-0,09
pH	-2,8E-3	0,99
%NS-pH 4,6/NT	0,99	7,1E-4
%NS-TCA/NT	0,99	-0,03
%NS-PTA/NT	0,99	5,7E-3
%NH ₄ /NT	0,94	-0,06

Como se puede observar en dicha tabla, en el CP1 se encuentran el %humedad, las tres fracciones nitrogenadas y el contenido de amonio, en consecuencia podemos decir que en este componente se encuentra la información sobre el proceso de evaporación de agua y el de proteólisis que ocurren durante la maduración del queso. En el CP2, el pH es la variable con carga factorial alta.

En la Figura IV.28 se muestra el gráfico de *scores*, definido por CP1 y CP2, en el cual las muestras están identificadas por el tiempo de maduración.

Figura IV.28. Análisis por Componentes Principales de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Reggianito de calibración a lo largo de la maduración: gráfico de los *scores* de las muestras (identificadas por tiempo de maduración) sobre los ejes CP1 y CP2.



Se observó agrupamientos de las muestras según el tiempo de maduración solamente en el CP1, en el cual se encuentra la información del %humedad, de las tres fracciones nitrogenadas y del contenido de amonio. En el CP2 en el cual se encuentra la información del pH, no se observó separación de las muestras de acuerdo al tiempo, en consecuencia esta variable no resultaría buena predictora para el modelo. Las salidas del software del PCA se presentan en las páginas 55 y 56 del Apéndice.

Análisis discriminante

Con el propósito de validar las conclusiones previas basadas en la observación visual de los gráficos de *scores* obtenidos del PCA, se aplicó DA sobre los dos factores extraídos. El tiempo de maduración fue utilizado como factor de clasificación. Se halló una función discriminante significativa ($p < 0,05$), lo que permitió clasificar a las muestras en los 8 grupos predefinidos: 0, 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 180 días de maduración, con un 82,4% de muestras correctamente clasificadas. La Tabla IV.20 muestra la tabla de clasificación obtenida. Las salidas del software del AD se presentan en las páginas 57 del Apéndice.

Tabla IV.20. Análisis Discriminante por tiempo de maduración de los factores obtenidos del PCA de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los quesos Reggiano: Tabla de clasificación.

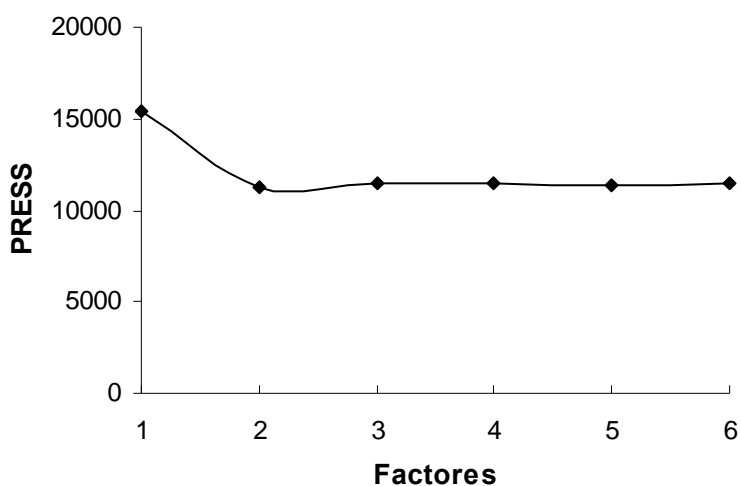
<i>Tiempo real</i>	<i>Tamaño de grupo</i>	<i>Tiempo predicho</i>							
		0	30	45	60	90	120	150	180
0	8	8 (100%)	0	0	0	0	0	0	0
30	2	0	1 (50%)	1 (50%)	0	0	0	0	0
45	2	0	0	2 (100%)	0	0	0	0	0
60	2	0	0	0	2 (100%)	0	0	0	0
90	4	0	0	0	0	4 (100%)	0	0	0
120	4	0	0	0	0	1 (25%)	2 (50%)	1 (25%)	0
150	4	0	0	0	0	0	1 (25%)	2 (50%)	1 (25%)
180	8	0	0	0	0	0	0	1 (12,5%)	7 (87,5%)

El análisis exploratorio multivariado permitió observar que las muestras se agrupan por su tiempo de maduración y seleccionar las variables apropiadas para la posterior aplicación de métodos de regresión, que fueron el %humedad, las tres fracciones nitrogenadas y el contenido de amonio.

IV.3.4. Obtención de los modelos por regresión multivariada

Luego se aplicó PLS sobre la matriz de datos (34 filas x 6 columnas) para obtener el modelo para predecir el tiempo de maduración para queso Reggiano. En primer lugar, se aplicó este método a las muestras que componen la matriz de calibración y mediante validación cruzada se determinó el número de factores óptimos. En la Figura IV.29 se presenta el gráfico del número de factores versus el estadístico PRESS.

Figura IV.29. PLS sobre matriz de calibración de queso Reggiano con validación cruzada. Número de factores versus el estadístico PRESS.



Se eligió 2 como el número de factores significativos, correspondiente al mínimo del estadístico PRESS, con el cual se obtiene el mejor modelo de predicción.

Luego la matriz de datos fue dividida por selección aleatoria en muestras de calibración ($n=23$) y muestras de validación externa ($n=11$). PLS fue aplicado al set de calibración para obtener el modelo. El % humedad, pH, %NS-pH 4,6/NT, %NS-TCA/NT, %NS-PTA/NT y el contenido de amonio fueron utilizadas como variables predictoras para obtener el modelo completo, a pesar de la observación mostrada en el PCA y en el análisis univariado. Además, se obtuvo un modelo reducido con las variables elegidas anteriormente. Luego estos modelos fueron aplicados al set de validación externa para determinar su capacidad predictiva.

La Tabla IV.21 muestra los parámetros estadísticos de los modelos de regresión obtenidos. Se incluyen la ordenada al origen (b_0), los coeficientes de regresión no estandarizados (b_j), los coeficientes de regresión estandarizados (β_j), el coeficiente de correlación (R) y la raíz del error cuadrado medio de predicción (RMSEP).

Tabla IV.21. Parámetros estadísticos para los modelos de predicción completo y reducido para queso Reggianito.

	b_j (β_j)						
	b_0	1	2	3	4	5	6
Modelo completo R=0,98 RMSEP= 18,0	291,70	-5,74 (-13,95)	-19,16 (-1,51)	2,26 (14,91)	2,35 (14,75)	3,55 (14,91)	35,78 (14,75)
Modelo reducido R=0,98 RMSEP= 18,3	188,46	-5,76 (-14,00)	-	2,26 (14,96)	2,35 (14,80)	3,56 (14,96)	35,90 (14,80)

b_0 : ordenada al origen; b_j : coeficientes de regresión no estandarizados; β_j : coeficientes de regresión estandarizados (siendo 1: %Humedad; 2: pH; 3: %NS-pH 4,6/NT; 4: %NS-TCA/NT, 5: %NS-PTA/NT y 6: %NH₄/NT); R : coeficiente de correlación; RMSEP: raíz del error cuadrado medio de predicción.

Los modelos de regresión obtenidos arrojaron buenas correlaciones ($R \geq 0,98$) y bajos errores de estimación (RMSEP= 18 días para un período de maduración de 180 días), lo que demostró la buena capacidad predictiva de los mismos. Si se comparan ambos modelos, se ve que la eliminación del pH como variable predictora no modifica significativamente el error de predicción. Entonces, se consideró como más adecuado el modelo reducido debido a que esta variable no aporta información relevante en la predicción de la edad de esta variedad de queso. Este resultado está en concordancia con el PCA en el que el %humedad, las tres fracciones nitrogenadas y el contenido de amonio fueron las que agruparon a las muestras de quesos según el tiempo de maduración.

Por lo tanto el modelo usado en la predicción se representa de la siguiente manera:

$$\text{tiempo de maduración (días)} = 188,46 - 5,76 * \%humedad + 2,26 * \%NS\text{-}pH\ 4,6/NT + 2,35 * \%NS\text{-}TCA/NT + 3,56 * \%NS\text{-}PTA/NT + 35,90 * \%NH_4\ (gN)/NT$$

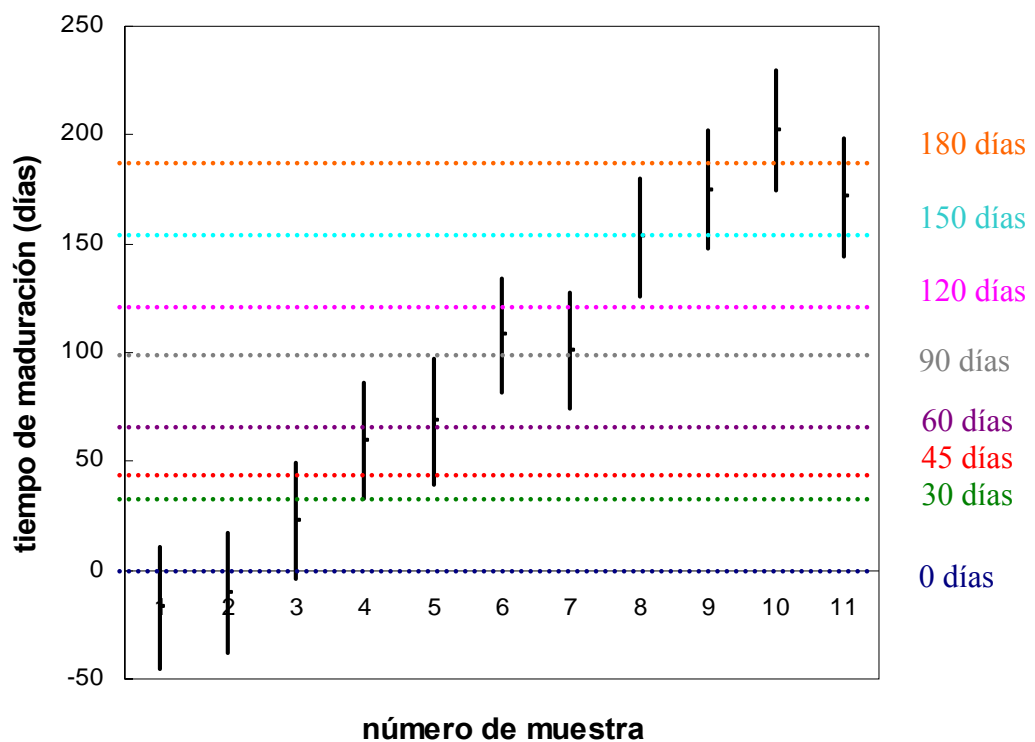
Para realizar la validación externa del modelo, se aplicó éste a la matriz de validación. Los resultados puntuales obtenidos se observan en la Tabla IV.22, junto con el error estándar de predicción puntual y el intervalo de predicción calculado a partir de éste.

También se graficaron los intervalos de predicción, los que se muestran en la Figura IV.30. En la misma se indicó con líneas discontinuas el tiempo de maduración real de las muestras para corroborar que dicho valor fue incluido por el intervalo calculado.

Tabla IV.22. Tiempo de maduración real y predicho por el modelo obtenido para las muestras de validación de queso Reggianito.

Tiempo de maduración real (días)	Tiempo de maduración predicho (días)	Error estándar de predicción (ESP)	$\pm t_{(1-\alpha; n-k-1)}^* \text{ ESP}$ ($\alpha=0,05; n=23; k=5$)
0	-17,20	13,21	$\pm 27,74$
0	-10,04	13,13	$\pm 27,58$
30	22,62	12,83	$\pm 26,95$
45	59,62	12,62	$\pm 26,51$
60	68,26	13,59	$\pm 28,55$
90	107,95	12,56	$\pm 26,39$
120	100,98	12,56	$\pm 26,38$
120	152,98	12,74	$\pm 26,76$
150	174,91	12,89	$\pm 27,09$
180	202,36	13,16	$\pm 27,65$
180	171,60	12,87	$\pm 27,03$

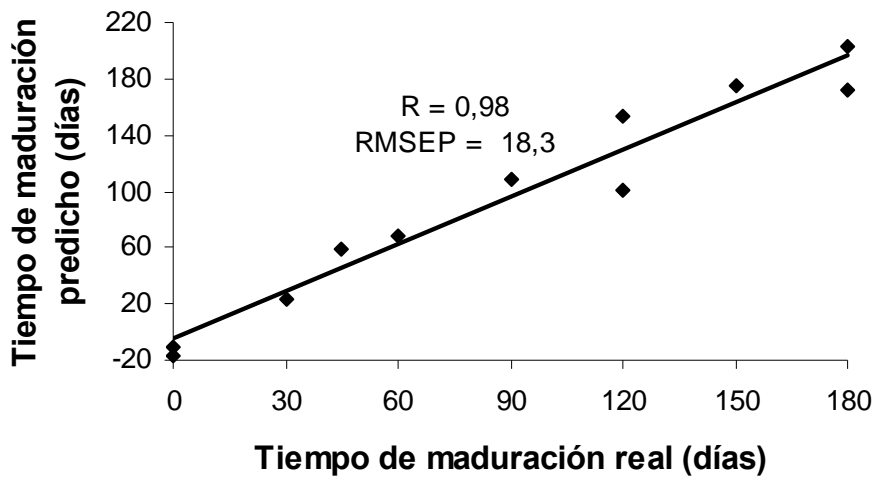
Figura IV.30. Intervalos de predicción para la validación externa del modelo obtenido para queso Reggianito.



En la gráfica se observa que los intervalos de predicción comprendieron en todas las muestras al tiempo de maduración real correspondiente.

En la Figura IV.31 se presenta la correlación entre el tiempo de maduración real de las muestras de quesos y el predicho por el modelo. En el mismo se observa una alta correlación entre el tiempo de maduración real y el predicho por el modelo obtenido ($R = 0,98$).

Figura IV.31. Correlación entre el tiempo de maduración real y el predicho por el modelo obtenido para queso Reggiano.



En el modelo reducido todas las variables presentaron coeficientes de regresión estandarizados (β_j) de igual importancia, es decir, todas estas variables tuvieron la misma importancia en la predicción del tiempo de maduración de queso Reggiano. Las mismas son indicadores de dos procesos muy importantes que ocurren en este tipo de queso: la evaporación de agua representada por el %humedad y una proteólisis profunda representada por las tres fracciones nitrogenadas y por el contenido de amonio. A

diferencia de los quesos con períodos de maduración menores estudiados anteriormente, en esta variedad de queso fueron importantes también las últimas fracciones de nitrógeno y el contenido de amonio debido a que su extensa etapa de maduración permite la aparición de estos compuestos.

IV.3.5. Aplicación del modelo de predicción a quesos comerciales

El modelo se aplicó a seis quesos del mercado de distintas marcas comerciales. La composición global y los parámetros fisicoquímicos determinados en los mismos se presentan en la Tabla IV.23.

Tabla IV.23. Composición global y parámetros fisicoquímicos de los quesos Reggiano comerciales.

Muestras	M1	M2	M3	M4	M5	M6
%Materia grasa en el Extracto Seco	37,23	38,56	33,77	36,96	34,72	43,13
%PT	30,88	30,39	32,15	32,41	31,46	29,09
%humedad	34,59	32,55	36,57	34,80	39,28	35,33
%NS-pH4,6/NT	21,57	17,41	13,67	21,83	12,02	19,89
%NS-TCA/NT	19,04	14,74	10,98	18,81	10,10	17,22
%NS-PTA/NT	12,05	5,15	4,54	12,06	4,12	11,30
%NH₄/NT	0,90	0,71	0,48	0,91	0,37	0,82

En la Tabla IV.24 se presentan los tiempos de maduración predichos por el modelo multivariado junto con el intervalo de confianza de la predicción (2x RMSEP).

Tabla IV.24. Tiempos de maduración predichos para los quesos Reggianito comerciales.

Muestras	Tiempo predicho (± 37 días)
M1	158
M2	119
M3	68
M4	157
M5	41
M6	140

Se puede observar que todas las muestras se encontraron dentro de los rangos reglamentarios en cuanto a su composición global a excepción de M3 y M5 que presentaron un %humedad ligeramente superior al máximo establecido (35,9%). Si comparamos los tiempos predichos con el mínimo establecido por la legislación para esta variedad (180 días para hormas de 4 a 10 Kg) se encontró que las muestras mencionadas presentaron un tiempo de maduración significativamente inferior al mínimo. Al desconocerse la tecnología utilizada en estos quesos y los insumos utilizados en su elaboración resulta difícil hacer un pronóstico de cual es la causa de este tan bajo tiempo de maduración, haciendo notar que estos quesos pertenecen a una marca de segunda línea. Las muestras M1 y M4 presentaron un tiempo de acuerdo al valor reglamentario y para las restantes muestras (M2 y M6) los valores calculados están ligeramente por debajo del establecido. Para esta variedad de queso, tampoco resulta sorprendente encontrar que la mayoría de muestras no respondan a los valores reglamentarios ya que es muy común encontrar en el mercado quesos que no respondan a la calidad de un queso bien maduro.

CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

V.1. Queso Cremoso

Se consideraron a los quesos de calibración aptos para obtener el modelo de predicción buscado debido a que la composición global y la calidad sensorial de los mismos se encontraron dentro de los rangos normales.

El análisis univariado permitió notar que para esta variedad de queso, las variables que presentaron una relación lineal significativa con el tiempo de maduración fueron: las tres fracciones nitrogenadas expresadas como porcentaje del nitrógeno total y la relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ determinada por electroforesis, quedando descartadas la humedad, el pH y el contenido de amonio.

El análisis exploratorio multivariado permitió observar que las muestras se agruparon por su tiempo de maduración y además seleccionar las variables apropiadas para la posterior aplicación de métodos de regresión, que fueron las tres fracciones nitrogenadas y la relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$, en forma coincidente a lo hallado en el análisis univariado.

Mediante aplicación de PLS se obtuvo un modelo de regresión con las variables elegidas anteriormente. El mismo presentó una alta correlación ($R = 0,99$) y un bajo error de estimación ($RMSEP \sim 2$ días para un período de maduración de 30 días) y el $\%NS-pH\ 4,6/NT$, el $\%NS-TCA/NT$ y la relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ fueron las variables con los mayores coeficientes de regresión estandarizados. Es decir, estas variables fueron las de mayor importancia en la predicción del tiempo de maduración de queso Cremoso, en concordancia con el hecho de que las mismas son indicadores de una proteólisis no tan avanzada como la que ocurre en este tipo de queso. Luego le siguió en importancia el $\%NS-PTA-NT$, la cual contiene productos de la proteólisis

secundaria que aparecen más notoriamente en quesos con períodos de maduración más prolongados.

El modelo obtenido se aplicó a quesos de distintas marcas comerciales encontrándose algunas muestras con tiempos de maduración predichos menores al mínimo establecido por el CAA.

V.2. Queso Pategrás

Se consideraron a los quesos de calibración aptos para obtener el modelo de predicción buscado debido a que su composición global y calidad sensorial se encontraron dentro de los rangos reglamentarios.

El análisis univariado permitió notar que para esta variedad de queso, las variables que presentaron una relación lineal significativa con el tiempo de maduración fueron: la humedad y las tres fracciones nitrogenadas expresadas como porcentaje del nitrógeno total, quedando descartados el pH y el contenido de amonio.

El análisis exploratorio multivariado permitió observar que las muestras se agruparon por su tiempo de maduración y además seleccionar las variables apropiadas para la posterior aplicación de métodos de regresión, que fueron la humedad, las tres fracciones nitrogenadas y el contenido de amonio.

Mediante aplicación de PLS se obtuvo un modelo con las variables elegidas anteriormente. El mismo presentó una alta correlación ($R = 0,98$) y un bajo error de estimación ($RMSEP \sim 5$ días para un período de maduración de 50 días). Debido a que para el contenido de amonio se obtuvo un coeficiente de regresión algo inferior, señalando una menor importancia del mismo como variable predictora, hecho que coincidió con la menor correlación encontrada en el análisis univariado, se obtuvo un modelo reducido eliminándola como variable predictora. Si se comparan estos modelos,

se observó que la eliminación del contenido de amonio sólo aumenta ligeramente el RMSEP. Por lo tanto, se consideró como más adecuado el modelo reducido debido a que esta variable no aporta información relevante en la predicción de la edad de esta variedad de queso.

El modelo obtenido se aplicó a quesos de distintas marcas comerciales encontrándose valores normales para este tipo de queso.

V.3. Queso Reggianito

Se consideraron a los quesos de calibración aptos para obtener el modelo de predicción buscado debido a que su composición global y calidad sensorial de los mismos se encontraron dentro de los rangos reglamentarios.

El análisis univariado permitió notar que para esta variedad de queso, las variables que presentaron una relación lineal significativa con el tiempo de maduración fueron: la humedad, las tres fracciones nitrogenadas expresadas como porcentaje del nitrógeno total y el contenido de amonio, quedando descartado el pH.

El análisis exploratorio multivariado permitió observar que las muestras se agruparon por su tiempo de maduración y además seleccionar las variables apropiadas para la posterior aplicación de métodos de regresión, que fueron la humedad, las tres fracciones nitrogenadas y el contenido de amonio.

Mediante aplicación de PLS se obtuvo un modelo de regresión con las variables seleccionadas anteriormente. El mismo presentó una alta correlación ($R = 0,98$) y un bajo error de estimación (RMSEP ~ 18 días para un período de maduración de 180 días). En este modelo, todas las variables presentaron coeficientes de regresión estandarizados similares, es decir, todas estas variables tuvieron la misma importancia

en la predicción del tiempo de maduración de queso Reggianito. Las mismas son indicadoras de dos procesos muy importantes que ocurren en este tipo de queso: la evaporación de agua representada por el contenido de humedad y una proteólisis profunda representada por las tres fracciones nitrogenadas y por el contenido de amonio.

El modelo obtenido se aplicó a quesos de distintas marcas comerciales encontrándose a la mayoría de muestras por debajo del tiempo de maduración mínimo establecido por el CAA para esta variedad.

BIBLIOGRAFÍA



VI. BIBLIOGRAFÍA

Akalín, A.S.; Gönc, S. y Akbast, Y. (2002). Variation in Organic Acids Content during ripening of Pickled white cheese. *Journal of Dairy Science*, 85, 1670-1676.

Albillos, S. M.; Busto, M. D.; Perez-Mateos, M. y Ortega, N. (2005). Chemometrical análisis of capillary electrophoresis casein fractions for predicting ripening times of milk mixture cheese. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53, 6094-6099.

Andrews, A. T. (1983). Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *Journal of Dairy Research*, 50, 45-55.

Ardö, Y. (1999). Bulletin IDF 337: Chemical methods for evaluating proteólisis in cheese maturation (Part 2); Cap. 2: Evaluating proteolysis by analyzing the N content of cheese fraction (Ed.: Ardö, Y.). International Dairy Federation, Bruselas, Bélgica, pág. 4-9.

Bernal, S. M.; Palma, S. y Perotti, M. C. (2000a). Metodología rápida y precisa para la determinación de proteína en leche y productos lácteos. *Revista Argentina de Lactología*, 19, 23 – 42.

Bernal, S. M.; Palma, S.; Hynes E. R. y Perotti M. C. (2000b). Determinación de fracciones nitrogenadas para el seguimiento de la maduración de quesos. *Revista Argentina de Lactología*, 20, 10 – 18.

Bernal S. y Perotti M. C. (1998). Determinación del contenido de amonio en jugos y cremogenados de frutas. *III Encuentro Bromatológico Latinoamericano*, Córdoba, 22 al 24 de abril. Presentación de trabajo en formato póster y resumen.

Borgognone, M. G.; Bussi, j. y Hough, G. (2001). Principal component analysis in sensory analysis: covariance or correlation matrix? *Food Quality and Preference*, 12, 323-326.

Carpino, S.; Acree, T.; Barbano, D. M.; Licitra, G. y Siebert, K. (2002). Chemometric análisis of Ragusano cheese flavor. *J. Agric. Food Chem.* 50, 1143-1149.

Coker, C.; Crawford, R.; Johnston, K.; Singh, H.; Creamer, L. (2005). Towards the classification of cheese variety and maturity on the basis of statistical analysis of proteolysis data – a review. *International Dairy Journal* 15, 631-643.

Curso Taller de evaluación sensorial de alimentos. Dictado por el Departamento de evaluación sensorial de alimentos (ISETA). Buenos Aires, julio de 2007.

Downey, G.; Sheehan, E.; Delahunty, C.; O`Callaghan, D.; Guinee T. y Howard, V. (2005). Prediction of maturity and sensory attributes of Cheddar cheese using near-infrared spectroscopy. *International Dairy Journal*, 15, 701-709.

Fallico, V.; McSweeney, P. L. H.; Siebert, K. J.; Horne, J., Carpino, S. y Licitra, G. (2004). Chemometric Analysis of Proteolysis During Ripening of Ragusano Cheese. *Journal of Dairy Science*, 87, 3138-3152.

FIL-IDF (1982). Formaggio e formaggio fuso. Determinazione della materia secca. Metodo di riferimento. N° 4A. Internacional Dairy Federation, Bruselas, Bélgica, pág. 184-188.

FIL-IDF (1993). Latte. Determinazione del tenore in azoto. Metodo di riferimento. N° 20B. Internacional Dairy Federation, Bruselas, Bélgica, pág. 74-107.

FIL-IDF (1995). Lait et produits laitiers. Guide de L'Echantillonnage. Metodo di riferimento. N° 50C. Internacional Dairy Federation, Bruselas, Bélgica, pág. 11-19.

Fox P. F. (1993). "Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology" (Vol. 1). 2nd Edition. Chapman & Hall. London.

Fox, P. F. (2003). *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 1: Cheese-Biochemistry of cheese ripening (Ed.: Roginsky, H.; Fuquay, J.; Fox, P. F.). Academic Press, Reino Unido, pág. 320-326.

Fox, P. F. y McSweeney, P. H. L. (2004a). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1: General Aspects; Cap. 1: Cheese: an overview (Ed.: Fox, P. F., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T.). Academic Press, Estados Unidos, pág. 1-18.

Fox, P. F. y McSweeney, P. H. L. (2004b). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1: General Aspects; Cap. 9: Cheese: Methods of Chemical Analysis (Ed.: McSweeney, P. L. H., Fox, P. F.). Academic Press, Estados Unidos, pág. 341-382.

García-Ruiz, A.; Cabezas, L.; Martín-Alvarez, P. J. y Cabezudo, M. D. (1998). Prediction of the ripening times of Manchego cheese using multivariate statistical analyse: a preliminary study. *Zeitschrift Lebensmittel Untersuchung Forschung*, 206, 382-386.

García-Palmer, F.; Serra, N., Palou, A. y Gianotti, M. (1997). Free Amino Acids as indices of Mahón cheese ripening. *Journal of dairy science*, 80, 1908-1917.

Gripon, J-C.; Dezmazeaud, M. J.; Le Bars, D. y Bergere, J. L. (1975). Etude du role des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II.- Influence de la pressure commerciale. *Le Lait*, 55, 502-516.

Gripon, J-C. (1994). Enzimas proteolíticas de bacterias lácticas. Propiedades y rol tecnológico. *Revista Argentina de Lactología*, 9, 19-29.

Hair, J. F.; Anderson, R. E.; Tatham, R. L. y Black, W. C. (1999). Análisis Multivariante; Cap. 3: Análisis Factorial y Cap. 5: Regresión lineal múltiple. Prentice Hall Iberia, Madrid, España, pág. 79-123.

Hynes, E. (1998). Estudio de la proteólisis durante la maduración de quesos blandos. Cremoso Argentino. Tesis de Doctorado en Química, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral.

Inocente, N. (1997). Free amino acids and water-soluble nitrogen as ripening indices in Montasio cheese. *Lait*, 77, 359-369.

Kalit, S.; Lukac Havranek, L.; Kaps, M.; Perko, B. y Cubric Curik, V. (2005). Proteolysis and the optimal ripening time of Tounj cheese. *International Dairy Journal*, 15, 619-624.

Lipp, M. (1996). Determination of the adulteration of butter fat by its triglyceride composition obtained by GC. A comparison of the suitability of PLS and neural networks. *Food Chemistry*, 55, 389-395.

Lues, J. F. y Bekker, A. C. (2002). Mathematical expressions for organic acids in early ripening of a cheddar cheese. *Journal of Food Composition and analysis*, 15, 11-7.

Martens, H. y Naes, T. (1993). *Multivariate calibration*. (Ed. Wiley), Chichester.

Martin-del-Campo, S.T.; Picque, D.; Cosío-Ramirez, R. y Corrieu, G. (2007). Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-type cheeses. *International Dairy Journal*, 17, 835-846.

McSweeney, P. H. L. (2004a). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57 (2/3), 127-144.

McSweeney, P. H. L. (2004b). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1: General Aspects; Cap. 14.1: Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview (Ed.: Fox, P. F., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T.). Academic Press, Estados Unidos, pág. 347-360.

McSweeney, P. H. L. y Fox, P. F. (2004a). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1: General Aspects; Cap. 14.2: Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate: introduction and overview (Ed.: Fox, P. F., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T.). Academic Press, Estados Unidos, pág. 361-371.

McSweeney, P. H. L. y Fox, P. F. (2004b). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1: General Aspects; Cap. 9: Cheese: Methods of Chemical Analysis (Ed.: Fox, P. F., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T.). Academic Press, Estados Unidos, pág. 341-381.

Miller, J. y Miller, J. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica* (4ed). (Ed. Pearson).

Mucchetti, G.; Locci, F.; Gatti, M.; Neviani, E.; Addeo, F.; Dossena, A. y Marchelli, R. (2000). Pyroglutamic acid in cheese: presence, origin, and correlation with ripening time of Grana Padano Cheese. *Journal of Dairy Science*, 83, 659-665.

Ng-Kwai-Hang, K. y Kroeker, E. M. (1984). Rapid separation and quantification of major caseins and whey proteins of bovine milk by polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 67, 3052-3056.

Perez Villarreal, B.; Angulo, Y. B.; Perez de Calleja, A.; Perez Elortondo, P. y Torrontegui, M. (2000). "Idiazabal. The Taster's Handbook". 2nd Edition. Vitoria-Gasteiz.

Perotti M. C. y Bernal S. M. (2003). Aplicación de las clásicas reacciones de Berthelot y Devarda en el análisis de alimentos. "V Simposio y Exposición de la Sección de América Latina y el Caribe de AOAC Internacional. Desafíos analíticos para revalorizar los productos naturales", Lima (Perú), 22 al 26 de noviembre. Artículo versión completa

Pham, A. M. y Nakai, S. (1984). Application of Stepwise discriminant analysis to high pressure liquid chromatography profiles of water extracts for judging ripening Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 67, 1390-1396.

Pinho, O.; Mendes, E.; Alves, M. y Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2004). Chemical, Physical, and Sensorial Characteristics of "Terrincho" Ewe Cheese: Changes During Ripening and Intravarietal Comparison. *Journal of Dairy Science*, 87, 249-257.

Pizzano, R.; Nicolai, M. A.; Padovano, P.; Ferranti, P.; Barone, F. y Addeo, F. (2000). Immunochemical evaluation of bovine β -casein and its 1-28 phosphopeptide in cheese during ripening. *Journal Agric Food Chem.*, 48, 4555-4560.

Porcel García, M. (2001). Aplicación de técnicas quimiométricas para el desarrollo de nuevos métodos cinético-espectrofotométricos de análisis. Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Barcelona.

Poveda, J. M.; Pérez-Coello, M. S. y Cabezas, L. (2000). Seasonal variations in the free fatty acid composition of Manchego cheese and changes during ripening. *Eur Food Res Technol*, 210, 314-317.

Poveda, J. M.; García, A.; Martín-Alvarez, P.J. y Cabezas, L. (2004). Application of partial least squares regression to predict the ripening time of Manchego cheese. *Food Chemistry*, 84, 29-33.

Restani, P.; Velonia, T.; Carpen, A.; Duranti, M. y Galli, C. L. (1996). γ -casein as a marker of ripening and/or quality of Grana Padano cheese. *Journal of Agric. Food Chem.*, 44, 2026-2029.

Rosenberg, M. y Altemueller, A. (2001). Accumulation of Free L-Glutamic Acid in Full- and Reduced-fat Cheddar Cheese Ripened at Different Time/temperature Conditions. *Lebensm – Wiss. U.-Technol.*, 34, 279-287.

Santa María, G. y Ramos, M. (1986). Application of linear Discriminant Analysis to Different Proteolysis Parameters for Assessing the Ripening of Manchego Cheese. *Food Chemistry*, 19, 225-234.

Sousa, M. J.; Ardö, Y. y McSweeney, P. H. L. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11, 327-345.

Tavaria, F. K.; Silva Ferreira; A. y Xavier Malcata, F. (2004). Volatile Free Fatty Acids as Ripening Indicators for Serra da Estrela Cheese. *Journal of Dairy Science*, 87, 4064-4072.

Upadhyay, V. K.; McSweeney, P. L. H.; Magboul, A. y Fox, P. F. (2004). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1: General Aspects; Cap. 14.4: Proteolysis in cheese during ripening (Ed: Fox, P. F., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T.). Academic Press, Estados Unidos, pág. 391-433.

Verdini, R. A.; Zorrila, S.E. y Rubiolo, A.C. (2004). Characterisation of soft cheese proteolysis by RP-HPLC análisis of its nitrogenous fractions. Effect of ripening time and sampling zone. *International Dairy Journal*, 14, 445-454.

Walstra, P.; Geurts, T.; Noomen, A.; Jellema, A. y Van Boekel, M. (1999a). *Dairy Technology. Principles of Milk Properties and Processes*; Cap. 2: Milk Components. Marcel Dekker, Inc.; Nueva York, Estados Unidos, pág. 27-105.

Walstra, P.; Geurts, T.; Noomen, A.; Jellema, A. y Van Boekel, M. (1999b). *Dairy Technology. Principles of Milk Properties and Processes*; Cap. 23: Cheese ripening and properties. Marcel Dekker, Inc.; Nueva York, Estados Unidos, pág. 601-638.

Zalazar, C. A.; Candiotti, M. C.; Bergamini, C. V.; Mercanti, D. J. y Meinardi, C. A. (2004). Avances en Microbiología, Bioquímica y Tecnología de Quesos. Sección V – Cap. 1: Maduración de quesos y su control (Reinheimer, J. A.; Zalazar, C. A.). Ediciones UNL, Santa Fe, Argentina, pág. 56-65.

www.anmat.gov.ar/ Código Alimentario Argentino, 2008. Res. Mercosur (Res. Conj. SPyRS y SAGPA N° 33/2006 y N° 563/2006).

www.sagpya.gov.ar

www.quesosargentinos.gov.ar

APÉNDICE



Tabla A1. Resultados obtenidos del análisis sensorial de los quesos Cremoso de calibración al final de la maduración.

Queso	Panelista	Atributo					Puntaje total
		Aroma	Aspecto gral.	Textura	Sabor	Sabor residual	
1	1	5,7	7,7	3,1	4,3	6,1	49,4
	2	9,0	9,0	9,0	8,0	9,0	87,0
	3	2,2	4,3	3,2	4,7	4,1	38,6
	4	5,7	6,7	6,6	6,6	7,7	66,4
	5	9,0	8,0	7,0	9,0	10,0	83,0
	6	5,1	5,0	4,8	1,3	0,7	34,1
	7	9,0	8,8	5,0	8,8	9,7	77,7
	8	6,0	8,0	6,0	6,0	8,0	66,0
	9	7,7	6,5	6,9	6,5	7,6	68,5
	10	3,0	3,5	1,2	3,4	3,8	27,6
	11	2,5	7,0	4,0	3,1	3,1	40,9
	12	8,9	8,7	2,2	3,5	2,0	45,4
	13	8,0	7,8	7,3	7,7	8,7	77,3
	14	6,5	5,4	4,0	6,3	8,4	56,6
	15	9,0	8,0	8,0	8,0	8,0	81,0
	16	7,0	6,0	5,1	7,5	6,9	63,7
	17	3,9	7,2	4,7	8,1	8,3	65,0
	18	8,5	6,0	4,1	2,0	5,3	44,1
2	1	10,0	9,1	10,0	10,0	10,0	98,2
	2	9,0	8,0	8,0	9,0	9,0	85,0
	3	6,8	7,2	7,7	7,8	7,9	75,6

2	4	7,0	7,3	8,1	7,5	8,1	76,5	
	5	9,0	9,0	8,0	9,0	10,0	88,0	
	6	9,3	9,0	5,6	4,5	4,8	62,4	
	7	9,0	9,7	9,8	9,8	8,8	96,0	
	8	10,0	8,0	8,0	8,0	10,0	84,0	
	9	7,7	9,0	9,6	9,7	9,8	93,4	
	10	7,5	8,0	9,2	8,0	7,1	82,2	
	11	7,4	8,6	8,6	8,5	8,3	84,2	
	12	7,8	8,7	8,4	8,4	8,8	84,4	
	13	6,7	8,2	8,2	8,5	8,7	81,9	
	14	7,8	8,0	7,8	8,0	9,2	80,4	
	15	10,0	9,0	9,0	10,0	10,0	95,0	
	16	5,3	2,6	6,7	2,1	4,7	41,6	
	17	8,5	8,6	9,2	7,0	7,0	81,3	
	18	6,9	8,5	9,0	8,0	9,2	84,1	
	3	1	7,2	8,5	8,5	6,7	6,7	76,5
		2	9,3	7,3	7,1	8,3	9,3	79,4
		3	9,6	7,8	7,6	9,5	9,6	86,1
4		3,2	2,5	3,2	2,9	2,3	28,8	
5		9,5	8,4	7,1	7,5	9,0	79,1	
6		9,1	8,1	8,3	9,4	9,6	88,0	
7		7,2	7,8	6,6	7,3	7,4	71,9	
8		7,1	8,2	9,0	6,5	5,3	75,3	
9		8,0	8,5	7,6	8,0	8,7	80,5	
10		6,0	7,0	7,0	8,0	8,0	73,0	

	11	8,0	7,0	7,0	6,0	6,0	67,0
	12	10,0	9,0	10	10,0	10,0	98,0
4	1	7,2	8,5	8,5	8,0	8,0	81,7
	2	7,4	9,2	9,6	8,2	8,1	87,3
	3	8,3	9,0	9,6	8,5	8,4	89,0
	4	9,4	9,0	9,4	8,9	9,0	91,3
	5	9,8	9,8	9,6	9,7	9,5	96,8
	6	9,4	9,3	9,0	9,9	9,8	94,5
	7	8,6	8,8	8,9	8,9	8,9	88,5
	8	8,9	8,3	8,8	9,0	9,2	88,1
	9	9,3	9,8	9,8	9,2	9,8	95,7
	10	9,0	9,0	9,0	8,0	8,0	86,0
	11	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	90,0
	12	9,0	10,0	10,0	9,0	9,0	95,0
5	1	6,2	8,0	8,0	7,7	7,5	76,8
	2	6,4	8,4	8,8	7,2	8,6	79,8
	3	9,8	9,8	9,6	9,8	9,8	97,4
	4	3,2	8,0	4,9	4,6	3,0	50,7
	5	9,1	9,8	8,8	8,0	7,0	86,1
	6	7,0	8,7	9,2	8,5	9,0	86,5
	7	6,2	8,2	7,6	6,5	6,5	71,4
	8	9,5	9,6	9,6	9,6	9,2	95,5
	9	9,3	9,5	9,5	9,5	9,6	94,9
	10	8,2	9,1	8,4	8,3	8,3	84,8
	11	6,5	7,3	7,2	6,2	6,4	67,7

	12	9,3	7,8	8,4	8,9	8,4	85,2
	13	8,4	9,2	7,8	9,0	9,2	86,4
	14	8,0	9,0	9,0	8,0	8,0	85,0
6	1	5,6	7,6	7,1	8,3	8,6	75,6
	2	8,1	9,5	9,6	8,5	9,0	90,4
	3	9,9	8,0	9,8	9,4	8,9	92,4
	4	1,8	7,2	2,4	2,0	2,5	31,9
	5	8,5	7,5	7,8	8,7	7,6	80,6
	6	8,9	9,2	7,0	8,9	8,7	83,7
	7	8,4	8,5	8,9	9,0	8,9	88,0
	8	8,3	9,6	10,0	8,1	8,6	90,4
	9	7,7	7,5	8,5	6,0	8,4	74,6
	10	9,2	7,8	9,0	7,2	6,8	80,2
	11	7,8	9,0	7,9	9,1	8,2	85,0
	12	7,3	6,1	7,2	4,7	3,0	58,2
	13	9,4	8,4	8,9	6,3	7,0	78,8
	14	8,0	9,0	9,0	9,0	9,0	89,0
7	1	8,2	8,3	8,4	8,2	7,8	82,4
	2	6,5	7,5	8,0	4,6	4,2	63,5
	3	9,6	9,7	8,6	9,7	9,7	93,6
	4	9,2	9,3	9,0	7,7	8,4	86,3
	5	8,7	9,3	9,7	8,8	8,5	91,3
	6	9,3	9,3	9,2	7,8	8,5	87,4
	7	8,6	8,1	8,1	7,2	7,5	78,2
	8	9,5	8,0	8,2	6,8	7,0	77,5

	9	2,4	3,9	3,9	2,4	2,0	31,1
	10	9,4	7,6	8,1	9	8,8	84,7
	11	9,4	9,4	7,8	3,2	5,3	66,5
8	1	7,8	8,2	8,3	9,1	9,2	85,6
	2	7,0	7,2	7,6	8,0	8,2	76,4
	3	8,6	8,5	8,7	8,9	8,9	87,3
	4	7,7	8,0	9,5	7,1	8,6	82,1
	5	7,4	9,3	9,5	7,6	7,8	85,1
	6	6,7	7,0	7,6	7,5	8,4	74,4
	7	8,2	8,4	8,7	8,5	8,7	85,3
	8	8,7	8,9	9,2	7,6	8,8	85,7
	9	7,9	6,5	5,4	6,1	6,2	61,6
	10	8,0	8,1	8,6	8,9	9,0	85,7
	11	9,3	8,5	8,5	9,5	9,5	89,8

Tabla A2. Contenido de humedad para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	%humedad
0	49,16
0	51,28
0	49,39
0	50,70
0	49,82
0	48,19
0	50,28
0	49,72
9	48,97
9	47,82
9	50,18
9	49,70
15	47,40
15	50,70
15	48,52
15	50,46
22	48,10
22	47,21
22	49,97
22	48,95
30	47,34
30	50,51
30	48,22
30	49,99
30	48,11
30	46,81
30	49,05
30	48,54

Resumen Regresión %Humedad vs tiempo Cremoso

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0,42
Coeficiente de determinación R ²	0,18
R ² ajustado	0,14
Error típico	1,12
Observaciones	28,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>		
Regresión	1,00	7,03	7,03	5,56	0,03		
Residuos	26,00	32,85	1,26				
Total	27,00	39,88					

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
Intercepción	49,75	0,34	144,41	2,68E-39	49,04	50,46	49,04
Variable X 1	-0,04	0,02	-2,36	0,03	-0,08	-0,01	-0,08

Tabla A3. Valores de pH para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	pH
0	5,20
0	5,15
0	5,15
0	5,05
0	5,20
0	5,15
0	5,20
0	5,30
9	5,15
9	5,20
9	5,30
9	5,30
15	5,30
15	5,15
15	5,20
15	5,18
22	5,30
22	5,30
22	5,40
22	5,35
30	5,35
30	5,20
30	5,19
30	5,15
30	5,20
30	5,30
30	5,40
30	5,30

Resumen Regresión pH vs tiempo Cremoso

Estadísticas de la regresión

Coeficiente de correlación múltiple	0,46
Coeficiente de determinación R ²	0,21
R ² ajustado	0,18
Error típico	0,08
Observaciones	28,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	0,04	0,04	7,05	0,01
Residuos	26,00	0,16	0,01		
Total	27,00	0,21			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	5,19	0,02	214,42	9,30E-44	5,14	5,24
Variable X 1	0,00	0,00	2,66	0,01	0,00	0,01

Tabla A4. Fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	%NS pH 4,6 /NT	%NS TCA /NT	%NS PTA /NT
0	4,83	2,39	0,70
0	4,95	1,95	0,88
0	4,79	2,30	1,10
0	5,42	2,39	1,11
0	4,97	2,59	0,46
0	4,61	1,82	0,51
0	5,51	2,62	0,67
0	5,41	3,00	1,05
9	6,47	3,01	0,92
9	6,82	2,67	0,85
9	6,15	3,09	1,11
9	7,44	3,09	1,12
15	7,36	3,01	0,87
15	7,27	3,07	0,95
15	7,16	4,44	1,63
15	7,24	3,82	1,50
22	9,39	5,37	1,44
22	8,47	5,02	1,05
22	8,54	3,71	1,13
22	8,83	4,21	1,22
30	9,27	4,66	1,43
30	10,41	4,84	1,35
30	9,96	5,46	1,93
30	10,01	4,89	1,75
30	11,23	5,87	1,79
30	9,25	5,61	1,39
30	10,54	5,14	2,01
30	9,38	5,79	1,53

Resumen Regresión %NSpH4,6/NT vs tiempo Cremoso

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,97
Coefficiente de determinación R ²	0,95
R ² ajustado	0,94
Error típico	0,49
Observaciones	28,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	106,86	106,86	446,81	6,69E-18
Residuos	26,00	6,22	0,24		
Total	27,00	113,08			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
Intercepción	5,07	0,15	33,80	5,12E-23	4,76	5,37	4,76
Variable X 1	0,16	0,01	21,14	6,69E-18	0,15	0,18	0,15

Resumen Regresión %NS-TCA/NT vs tiempo Cremoso

Estadísticas de la regresión

Coeficiente de correlación múltiple	0,93
Coeficiente de determinación R ²	0,86
R ² ajustado	0,86
Error típico	0,49
Observaciones	28,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	38,62	38,62	162,85	1,06E-12
Residuos	26,00	6,17	0,24		
Total	27,00	44,79			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
Intercepción	2,28	0,15	15,28	1,66E-14	1,97	2,59	1,97
Variable X 1	0,10	0,01	12,76	1,06E-12	0,08	0,11	0,08

Resumen Regresión %NS-PTA/NT vs tiempo
Cremoso

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,79
Coefficiente de determinación R ²	0,63
R ² ajustado	0,62
Error típico	0,25
Observaciones	28,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1,00	2,84	2,84	44,23	4,70E-07
Residuos	26,00	1,67	0,06		
Total	27,00	4,51			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95,0%
Intercepción	0,79	0,08	10,15	1,54E-10	0,63	0,95	0,63
tiempo	0,03	0,00	6,65	4,70E-07	0,02	0,04	0,02

Tabla A5. Urea-PAGE para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración: áreas bajo la curva obtenidas en la cuantificación de las bandas electroforéticas y relación $CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$ calculado.

Tiempo de maduración (días)	Area de la banda $CN-\alpha_{S1}$	Area de la banda $CN-\alpha_{S1-I}$	$CN-\alpha_{S1-I} / (CN-\alpha_{S1} + CN-\alpha_{S1-I})$
0	72,36	2,99	0,040
0	61,37	1,30	0,021
0	74,66	2,91	0,038
0	65,29	1,08	0,016
0	63,88	3,40	0,051
0	68,59	1,91	0,027
0	60,08	2,72	0,043
0	53,25	8,81	0,142
9	51,81	16,26	0,239
9	50,52	7,48	0,129
9	62,38	7,10	0,102
9	47,29	15,16	0,243
15	51,10	10,99	0,177
15	37,16	7,29	0,164
15	54,54	9,28	0,145
15	32,00	6,14	0,161
22	59,15	19,81	0,251
22	33,57	26,23	0,439
22	47,90	14,54	0,233
22	43,87	20,80	0,322
30	30,75	29,12	0,486
30	45,88	21,14	0,315
30	34,46	30,16	0,467
30	45,97	21,42	0,318
30	33,64	36,78	0,522
30	22,45	35,37	0,607
30	32,40	17,57	0,352
30	28,04	25,58	0,477

Resumen Regresión Electroforesis vs tiempo
Cremoso

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,90
Coefficiente de determinación R ²	0,81
R ² ajustado	0,80
Error típico	0,08
Observaciones	28,00

ANÁLISIS DE
VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	0,66	0,66	109,86	7,89E-11
Residuos	26,00	0,16	0,01		
Total	27,00	0,82			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
Intercepción	0,04	0,02	1,56	0,13	-0,01	0,09	-0,01
Variable X 1	0,01	0,00	10,48	7,89E-11	0,01	0,02	0,01

Tabla A6. Contenido de amonio para los quesos Cremoso de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	ppm NH ₄	%NH ₄ (gN)/NT
0	21,4	0,061
0	20,3	0,062
0	43,7	0,140
0	39,7	0,126
0	52,0	0,154
0	46,4	0,135
0	27,8	0,090
0	27,8	0,095
9	50,8	0,150
9	40,6	0,118
9	24,1	0,078
15	18,2	0,052
15	15,0	0,045
15	42,7	0,137
15	49,7	0,158
22	56,5	0,167
22	44,2	0,129
22	31,3	0,101
22	28,6	0,098
30	20,4	0,059
30	14,5	0,044
30	55,3	0,177
30	47,7	0,152
30	43,5	0,129
30	43,6	0,127
30	32,6	0,106
30	26,6	0,091

Resumen Regresión %NH4(gN) /NT vs tiempo

Estadísticas de la regresión

Coeficiente de correlación múltiple	0,04
Coeficiente de determinación R ²	1,52E-03
R ² ajustado	-0,04
Error típico	0,04
Observaciones	27,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1,00	6,13E-05	6,13E-05	0,04	0,85
Residuos	25,00	0,04	1,61E-03		
Total	26,00	0,04			

	Coefficient es	Error típico	Estadístic o t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95,0%
Intercepción	0,11	0,01	8,38	1,00E-08	0,08	0,14	0,08
Variable X 1	1,29E-04	6,60E-04	0,19	0,85	-1,23E-03	1,49E-03	-1,23E-03

PCA Cremoso (3 CP solución no rotada)

Correlation Matrix^a

	HUMEDAD	PH	NSPH4.6	NSTCA	NSPTA	ELECTROF	NH4
Correlation HUMEDAD	1,000	-,384	-,362	-,461	-,183	-,584	-,224
PH	-,384	1,000	,444	,428	,251	,472	-,241
NSPH4.6	-,362	,444	1,000	,923	,811	,870	,078
NSTCA	-,461	,428	,923	1,000	,827	,901	,230
NSPTA	-,183	,251	,811	,827	1,000	,677	,272
ELECTROF	-,584	,472	,870	,901	,677	1,000	,105
NH4	-,224	-,241	,078	,230	,272	,105	1,000

a. Determinant = 1,672E-03

KMO and Bartlett's Test

Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy.		,781
Bartlett's Test of Sphericity	Approx. Chi-Square	152,382
	df	21
	Sig.	,000

Anti-image Matrices

	HUMEDAD	PH	NSPH4.6	NSTCA	NSPTA	ELECTROF	NH4
Anti-image Covariance HUMEDAD	,465	,141	-3,73E-02	1,117E-02	-8,91E-02	,108	,175
PH	,141	,623	-1,82E-02	-2,67E-02	1,934E-02	1,006E-02	,230
NSPH4.6	-3,734E-02	-1,82E-02	,107	-4,19E-02	-4,56E-02	-3,345E-02	6,729E-02
NSTCA	1,117E-02	-2,67E-02	-4,19E-02	7,422E-02	-4,95E-02	-4,550E-02	-6,64E-02
NSPTA	-8,912E-02	1,934E-02	-4,56E-02	-4,95E-02	,231	2,245E-02	-8,59E-02
ELECTROF	,108	1,006E-02	-3,35E-02	-4,55E-02	2,245E-02	,123	5,561E-02
NH4	,175	,230	6,729E-02	-6,64E-02	-8,59E-02	5,561E-02	,616
Anti-image Correlation HUMEDAD	,654 ^a	,262	-,167	6,012E-02	-,272	,451	,327
PH	,262	,791 ^a	-7,05E-02	-,124	5,096E-02	3,631E-02	,371
NSPH4.6	-,167	-7,05E-02	,841 ^a	-,471	-,290	-,291	,262
NSTCA	6,012E-02	-,124	-4,71	,798 ^a	-,378	-,476	-,311
NSPTA	-,272	5,096E-02	-,290	-,378	,841 ^a	,133	-,228
ELECTROF	,451	3,631E-02	-,291	-,476	,133	,819 ^a	,202
NH4	,327	,371	,262	-,311	-,228	,202	,334 ^a

a. Measures of Sampling Adequacy(MSA)

Communalities

	Initial	Extraction
HUMEDAD	1,000	,924
PH	1,000	,756
NSPH4.6	1,000	,936
NSTCA	1,000	,954
NSPTA	1,000	,893
ELECTROF	1,000	,891
NH4	1,000	,891

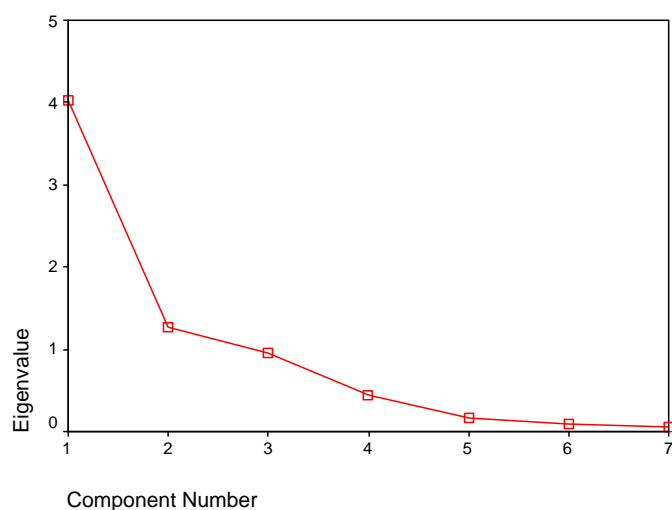
Extraction Method: Principal Component Analysis.

Total Variance Explained

Component	Initial Eigenvalues			Extraction Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
1	4,035	57,642	57,642	4,035	57,642	57,642
2	1,261	18,018	75,660	1,261	18,018	75,660
3	,949	13,562	89,222	,949	13,562	89,222
4	,443	6,333	95,555			
5	,174	2,489	98,044			
6	8,276E-02	1,182	99,227			
7	5,414E-02	,773	100,000			

Extraction Method: Principal Component Analysis.

Scree Plot



Component Matrix^a

	Component		
	1	2	3
HUMEDAD	-,573	6,098E-02	,769
PH	,544	-,653	-,183
NSPH4.6	,936	-2,64E-02	,243
NSTCA	,967	9,027E-02	,108
NSPTA	,821	,262	,388
ELECTROF	,940	-6,66E-02	-4,86E-02
NH4	,202	,866	-,317

Extraction Method: Principal Component Analysis.

a. 3 components extracted.

PCA Cremoso (3 CP solución rotada)

Communalities

	Initial	Extraction
HUMEDAD	1,000	,924
PH	1,000	,756
NSPH4.6	1,000	,936
NSTCA	1,000	,954
NSPTA	1,000	,893
ELECTROF	1,000	,891
NH4	1,000	,891

Extraction Method: Principal Component Analysis.

Total Variance Explained

Component	Initial Eigenvalues			Extraction Sums of Squared Loadings			Rotation Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
1	4,035	57,642	57,642	4,035	57,642	57,642	3,430	48,999	48,999
2	1,261	18,018	75,660	1,261	18,018	75,660	1,576	22,515	71,514
3	,949	13,562	89,222	,949	13,562	89,222	1,240	17,708	89,222
4	,443	6,333	95,555						
5	,174	2,489	98,044						
6	3,276E-02	1,182	99,227						
7	5,414E-02	,773	100,000						

Extraction Method: Principal Component Analysis.

Rotated Component Matrix^a

	Component		
	1	2	3
HUMEDAD	-,177	-,934	-,141
PH	,328	,553	-,585
NSPH4.6	,939	,212	-9,60E-02
NSTCA	,923	,315	5,188E-02
NSPTA	,934	-3,15E-02	,144
ELECTROF	,813	,476	-5,77E-02
NH4	,153	,162	,918

Extraction Method: Principal Component Analysis.
 Rotation Method: Varimax with Kaiser Normalization.

a. Rotation converged in 5 iterations.

Component Transformation Matrix

Component	1	2	3
1	,896	,444	-,007
2	,123	-,234	,964
3	,427	-,865	-,264

Extraction Method: Principal Component Analysis.
 Rotation Method: Varimax with Kaiser Normalization.

ANÁLISIS DISCRIMINANTE CREMOSO

Classification variable: tiempo

Independent variables: Electroforesis, humedad, pH, NspH46, NsPTA, NsTCA

Number of complete cases: 28

Number of groups: 5

Discriminant Function	Eigenvalue	Relative Percentage	Canonical Correlation
-----------------------	------------	---------------------	-----------------------

1	28,1908	97,13	0,98272
2	0,573387	1,98	0,60368
3	0,16954	0,58	0,38074
4	0,0912914	0,31	0,28923

Functions Derived	Wilks Lambda	Chi-Square	DF	P-Value
-------------------	--------------	------------	----	---------

1	0,0170594	87,5277	24	0,0000
2	0,497976	14,9899	15	0,4521
3	0,78351	5,2454	8	0,7311
4	0,916346	1,8783	3	0,5980

Classification Table

Actual tiempo	Group Size	Predicted tiempo					
		0	9	15	22	30	
0	8	8 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	(0,00%)
9	4	0 (0,00%)	4 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	(0,00%)
15	4	0 (0,00%)	2 (50,00%)	2 (50,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	(0,00%)
22	4	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	4 (100,00%)	0 (0,00%)	(0,00%)
30	8	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	8 (100,00%)	(100,00%)

Percent of cases correctly classified: 92,86%

Tabla A7. Resultados obtenidos del análisis sensorial de los quesos Pategrás de calibración al final de la maduración.

Queso	Panelista	Atributo					Puntaje total
		Aroma	Aspecto general	Textura	Sabor	Sabor residual	
1	1	9,2	9,4	9,3	8,5	9,2	90,7
	2	6,5	8,3	7,9	6,2	6,5	72,3
	3	5,3	9,0	7,1	8,5	6,5	78,5
	4	7,9	9,6	9,4	7,9	7,9	87,1
	5	7,5	8,2	8,5	7,3	7,4	78,4
	6	9,7	9,8	9,0	9,6	9,7	95,6
	7	6,8	8,4	9,0	9,0	9,0	86,0
	8	9,3	9,0	9,1	8,1	8,7	87,5
	9	6,8	7,3	6,8	7,9	8,0	74,0
	10	8,9	9,5	9,6	9,0	9,0	92,6
	11	6,5	10,0	10,0	9,8	9,6	95,5
2	1	9,6	8,2	9,3	9,2	7,4	87,8
	2	8,7	9,4	9,4	8,9	9,1	91,5
	3	9,2	9,1	9,2	7,7	9,3	87,3
	4	8,2	9,5	9,5	9,2	9,4	92,7
	5	8,3	7,3	8,5	8,5	8,6	81,3
	6	9,0	8,0	9,5	8,9	8,8	87,5
	7	8,4	8,5	7,3	8,4	8,6	82,3
	8	7,1	6,6	6,4	4,3	5,6	58,2
	9	8,4	8,3	8,1	9,0	8,6	85,1
	10	9,8	9,7	9,1	8,4	7,7	90,0

	11	8,1	5,6	9,6	8,1	9,5	77,9
3	1	6,0	5,0	6,0	7,0	7,0	61,0
	2	9,4	7,1	8,6	9,3	7,4	83,2
	3	9,0	7,0	8,0	8,0	7,0	77,0
	4	9,3	3,5	7,2	9,1	7,4	68,9
	5	7,0	6,0	9,0	7,0	7,0	71,0
	6	7,6	9,1	8,9	7,1	6,3	80,3
	7	1,8	1,5	1,9	3,3	2,7	22,7
	8	6,6	4,2	7,6	9,3	9,3	71,6
	9	7,6	6,5	8,2	9,6	8,4	80,7
	10	8,1	6,0	5,9	7,6	7,6	68,3
	11	9,0	6,8	8,6	8,6	8,8	81,2
	12	5,8	2,1	7,5	2,1	1,7	35,1
	13	6,4	5,3	5,6	6,2	5,1	57,2
	14	5,6	4,7	9,8	5,1	7,4	62,0
4	1	8,0	9,0	9,0	9,0	9,0	89,0
	2	8,8	8,8	7,6	8,6	8,9	85,1
	3	8,0	8,0	9,0	9,0	9,0	86,0
	4	9,2	9,2	9,3	9,1	9,1	91,8
	5	8,0	7,0	9,0	9,0	9,0	83,0
	6	9,3	9,4	8,2	8,3	6,3	85,1
	7	9,9	9,9	10,0	10,0	9,9	99,5
	8	9,2	8,8	9,1	6,6	6,8	80,4
	9	8,7	8,9	9,3	9,8	9,6	93,0
	10	8,1	8,5	8,3	8,0	8,3	82,5

	11	8,0	8,8	8,3	8,7	8,9	86,0
	12	8,5	8,9	8,3	7,9	7,9	83,4
	13	8,1	9,2	8,8	7,9	8,8	85,8
	14	9,7	9,7	9,6	9,6	9,6	96,4
5	1	9,0	9,6	8,4	9,5	9,9	93,0
	2	9,0	5,0	6,0	7,0	6,0	63,0
	3	8,2	7,2	8,3	8,2	6,9	77,9
	4	8,0	9,2	9,0	8,8	9,2	89,2
	5	6,4	8,1	7,9	7,7	7,9	77,5
	6	7,3	7,1	7,0	5,0	5,2	62,8
	7	8,1	8,7	8,6	8,8	8,8	86,6
	8	8,0	7,5	5,5	7,8	7,0	71,9
	9	7,0	4,8	8,6	7,0	7,0	66,6
	10	9,0	8,8	9,2	9,9	10,0	93,5
	11	9,4	10,0	6,9	7,9	6,0	82,9
	12	9,2	7,6	7,4	7,4	8,3	77,3
	13	7,1	6,0	6,8	6,8	8,1	67,2
	14	8,6	8,4	8,0	7,4	7,4	79,4
	15	9,6	9,0	9,8	6,8	8,8	85,4
	16	8,2	6,3	8,7	9,0	9,0	80,5
6	1	10,0	10,0	10,0	10,0	9,4	99,4
	2	9,0	8,0	8,0	9,0	9,0	85,0
	3	10,0	9,2	10,0	9,4	7,9	93,7
	4	9,5	9,4	8,2	9,5	9,4	92,0
	5	8,5	6,5	7,6	7,8	8,2	74,8

6	6	8,0	9,0	9,2	9,5	9,1	91,0	
	7	8,4	8,6	8,7	9,0	8,6	87,2	
	8	9,8	9,8	9,9	9,9	10,0	98,7	
	9	5,2	9,4	6,8	5,0	5,2	67,2	
	10	10,0	10,0	9,8	9,8	9,7	98,7	
	11	6,6	6,6	10,0	8,6	9,4	81,6	
	12	7,0	8,9	8,0	9,0	9,0	85,7	
	13	8,5	9,4	8,9	8,7	9,0	89,6	
	14	7,9	8,8	8,6	6,8	7,2	79,1	
	15	9,8	9,8	9,7	9,9	9,0	97,3	
	16	8,9	7,7	8,7	8,0	8,9	82,3	
	7	1	9,1	6,6	8,0	7,2	8,0	74,5
		2	7,0	7,0	8,0	8,0	8,0	76,0
		3	8,3	4,4	4,1	6,0	5,7	53,4
		4	8,3	6,1	6,6	5,9	5,9	63,4
		5	7,0	6,5	6,0	6,5	7,2	65,2
6		8,0	7,0	7,6	3,4	6,3	60,7	
7		8,9	7,8	7,9	8,1	6,4	78,8	
8		9,4	6,7	8,2	6,0	7,4	71,3	
9		8,0	7,0	7,0	7,0	7,0	71,0	
10		6,1	6,2	6,2	5,5	5,5	59,1	
11		6,7	5,2	7,0	5,9	5,9	59,9	
8	1	9,1	7,8	9,5	9,6	8,8	89,1	
	2	9,0	6,0	7,0	9,0	9,0	77,0	
	3	6,8	7,1	7	7,6	7,6	72,5	

8	4	8,5	6,4	7,7	8,3	8,6	76,6
	5	7,9	7,6	7,9	8,2	8,3	79,4
	6	8,8	8,2	8,8	8,8	9,4	86,8
	7	9,0	9,0	8,9	9,1	9,0	90,1
	8	8,9	7,8	8,8	8,5	8,4	83,8
	9	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	90,0
	10	9,1	8,4	9,2	9,2	9,0	89,3
	11	9,3	8,8	9,4	9,5	9,5	92,5

Tabla A8. Contenido de humedad para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	%humedad
0	42,50
0	41,09
0	43,14
0	40,71
0	43,13
0	41,37
0	41,42
12	42,06
12	40,70
12	42,15
12	40,03
25	40,98
25	39,73
25	40,89
25	40,05
38	38,84
38	39,43
38	38,66
38	40,13
50	39,12
50	39,58
50	39,70
50	37,77
50	38,37
50	38,13
50	36,80
50	38,15

Resumen Regresión Humedad vs tiempo Pategrás

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,86
Coefficiente de determinación R ²	0,74
R ² ajustado	0,73
Error típico	0,86
Observaciones	27,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1,00	52,58	52,58	70,63	9,4602E-09
Residuos	25,00	18,61	0,74		
Total	26,00	71,20			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95,0%
Intercepción	41,99	0,27	154,01	9,5153E-39	41,43	42,55	41,43
Variable X 1	-0,07	0,01	-8,40	9,4602E-09	-0,09	-0,05	-0,09

Tabla A9. Valores de pH para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	pH
0	5,45
0	5,45
0	5,30
0	5,40
0	5,40
0	5,45
0	5,60
12	5,35
12	5,50
12	5,50
12	5,40
25	5,40
25	5,65
25	5,41
25	5,49
38	5,60
38	5,60
38	5,50
38	5,40
50	5,40
50	5,35
50	5,43
50	5,50
50	5,60
50	5,60
50	5,50
50	5,40

Resumen Regresión pH vs tiempo Pategrás

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,23
Coefficiente de determinación R ²	0,05
R ² ajustado	0,01
Error típico	0,09
Observaciones	27,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	0,01	0,01	1,38	0,25
Residuos	25,00	0,21	0,01		
Total	26,00	0,22			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
Intercepción	5,44	0,03	188,54	6,0829E-41	5,38	5,50	5,38
Variable X 1	0,00	0,00	1,18	0,25	-7,81E-04	2,86E-03	-7,81E-04

Tabla A10. Fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	%NS pH 4,6 /NT	%NS TCA /NT	%NS PTA /NT
0	3,88	1,81	0,66
0	5,98	2,32	0,85
0	4,23	2,17	0,99
0	6,59	3,11	0,99
0	6,68	2,26	0,74
0	5,64	2,55	0,73
0	5,86	2,49	0,88
12	8,42	4,18	0,95
12	7,36	4,17	0,96
12	8,94	5,44	2,00
12	7,54	4,10	0,97
25	8,91	4,54	1,98
25	9,25	5,65	2,40
25	11,20	6,37	2,77
25	11,17	6,36	2,88
38	13,80	6,79	2,42
38	11,92	7,06	2,99
38	12,76	6,54	2,06
38	14,16	7,87	2,25
50	14,23	7,92	4,19
50	17,56	11,05	3,58
50	15,77	10,12	4,64
50	17,68	10,47	4,12
50	16,21	7,81	3,40
50	17,14	8,63	3,60
50	14,90	8,89	3,38
50	16,93	11,35	4,49

Resumen Regresión %NS-pH 4,6/NT vs tiempo Pategrás

Estadísticas de la regresión

Coeficiente de correlación múltiple	0,97
Coeficiente de determinación R ²	0,94
R ² ajustado	0,94
Error típico	1,10
Observaciones	27,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1,00	486,01	486,01	403,49	6,1056E-17
Residuos	25,00	30,11	1,20		
Total	26,00	516,12			

	Coeficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95,0%
Intercepción	5,39	0,35	15,54	2,3384E-14	4,68	6,10	4,68
Variable X 1	0,21	0,01	20,09	6,1056E-17	0,19	0,23	0,19

Resumen Regresión NS-TCA/NT vs tiempo Pategrás

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,95
Coefficiente de determinación R ²	0,90
R ² ajustado	0,90
Error típico	0,93
Observaciones	27,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1,00	202,70	202,70	235,12	3,19E-14
Residuos	25,00	21,55	0,86		
Total	26,00	224,25			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95,0%
Intercepción	2,43	0,29	8,29	1,21E-08	1,83	3,04	1,83
Variable X 1	0,14	0,01	15,33	3,19E-14	0,12	0,16	0,12

Resumen Regresión NS-PTA vs tiempo Pategrás

Estadísticas de la regresión

Coeficiente de correlación múltiple	0,93
Coeficiente de determinación R ²	0,87
R ² ajustado	0,86
Error típico	0,48
Observaciones	27,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1,00	38,77	38,77	164,91	1,66E-12
Residuos	25,00	5,88	0,24		
Total	26,00	44,65			

	Coeficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95,0%
Intercepción	0,73	0,15	4,77	6,77E-05	0,42	1,05	0,42
Variable X 1	0,06	0,00	12,84	1,66E-12	0,05	0,07	0,05

Tabla A11. Contenido de amonio para los quesos Pategrás de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	ppm NH₄	%NH₄ (gN)/NT
0	5,16	0,01
0	25,71	0,06
0	64,41	0,16
0	71,20	0,16
0	57,31	0,13
0	69,11	0,15
0	36,39	0,08
12	81,50	0,19
12	96,00	0,21
12	62,41	0,14
12	134,78	0,31
25	47,59	0,11
25	70,15	0,17
25	203,96	0,51
25	176,27	0,39
38	123,72	0,29
38	265,19	0,59
38	122,01	0,27
38	259,20	0,60
50	122,51	0,28
50	275,69	0,67
50	296,71	0,74
50	339,94	0,76
50	154,99	0,36
50	279,30	0,62
50	130,67	0,29
50	348,36	0,81

Resumen Regresión %NH4(gN) /NT vs tiempo Pategrás

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,78
Coefficiente de determinación R ²	0,60
R ² ajustado	0,59
Error típico	0,15
Observaciones	27,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	0,89	0,89	37,73	2,02E-06
Residuos	25,00	0,59	0,02		
Total	26,00	1,48			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
Intercepción	0,10	0,05	2,06	0,05	2,01E-04	0,20	2,01E-04
Variable X 1	0,01	1,48E-03	6,14	2,02E-06	0,01	0,01	0,01

PCA Pategrás - 2 CP (solución no rotada)

Correlation Matrix^a

		NSPH4.6	NSTCA	NSPTA	HUMEDAD	PH	NH4
Correlation	NSPH4.6	1,000	,970	,918	-,836	,200	,834
	NSTCA	,970	1,000	,943	-,802	,119	,878
	NSPTA	,918	,943	1,000	-,761	,168	,810
	HUMEDAD	-,836	-,802	-,761	1,000	-,424	-,614
	PH	,200	,119	,168	-,424	1,000	-,006
	NH4	,834	,878	,810	-,614	-,006	1,000

a. Determinant = 2,577E-04

KMO and Bartlett's Test

Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy.		,831
Bartlett's Test of Sphericity	Approx. Chi-Square	191,440
	df	15
	Sig.	,000

Anti-image Matrices

		NSPH4.6	NSTCA	NSPTA	HUMEDAD	PH	NH4
Anti-image Covariance	NSPH4.6	4,834E-02	-2,50E-02	-2,01E-04	2,619E-02	-2,86E-02	1,607E-03
	NSTCA	-2,50E-02	2,862E-02	-3,00E-02	1,665E-02	4,062E-02	-3,48E-02
	NSPTA	-2,01E-04	-3,00E-02	,107	-1,496E-02	-4,59E-02	1,453E-02
	HUMEDAD	2,619E-02	1,665E-02	-1,50E-02	,217	,172	-4,74E-02
	PH	-2,86E-02	4,062E-02	-4,59E-02	,172	,640	1,817E-02
	NH4	1,607E-03	-3,48E-02	1,453E-02	-4,741E-02	1,817E-02	,203
	Anti-image Correlation	NSPH4.6	,856 ^a	-,672	-2,79E-03	,256	-,163
NSTCA		-,672	,749 ^a	-,543	,211	,300	-,457
NSPTA		-2,79E-03	-,543	,897 ^a	-9,834E-02	-,176	9,885E-02
HUMEDAD		,256	,211	-9,83E-02	,866 ^a	,462	-,226
PH		-,163	,300	-,176	,462	,419 ^a	5,043E-02
NH4		1,623E-02	-,457	9,885E-02	-,226	5,043E-02	,902 ^a

a. Measures of Sampling Adequacy(MSA)

Communalities

	Initial	Extraction
NSPH4.6	1,000	,958
NSTCA	1,000	,979
NSPTA	1,000	,908
HUMEDAD	1,000	,848
PH	1,000	,959
NH4	1,000	,852

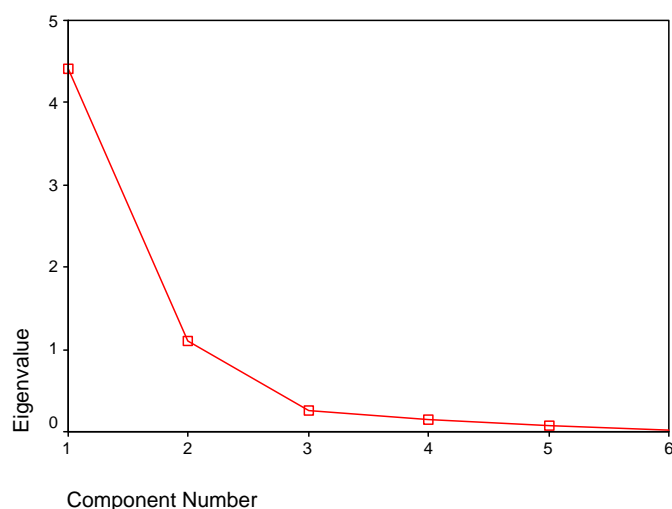
Extraction Method: Principal Component Analysis.

Total Variance Explained

Component	Initial Eigenvalues			Extraction Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
1	4,406	73,427	73,427	4,406	73,427	73,427
2	1,098	18,299	91,725	1,098	18,299	91,725
3	,253	4,222	95,947			
4	,156	2,601	98,549			
5	6,696E-02	1,116	99,665			
6	2,013E-02	,335	100,000			

Extraction Method: Principal Component Analysis.

Scree Plot



Component Matrix^a

	Component	
	1	2
NSPH4.6	,978	-3,52E-02
NSTCA	,981	-,131
NSPTA	,950	-7,62E-02
HUMEDAD	-,871	-,298
PH	,246	,948
NH4	,875	-,294

Extraction Method: Principal Component Analysis.

a. 2 components extracted.

ANALISIS DISCRIMINANTE PATEGRAS

Classification variable: tiempo

Independent variables:

CP1

CP2

Number of complete cases: 27

Number of groups: 5

Discriminant Function	Eigenvalue	Relative Percentage	Canonical Correlation
1	14,3837	99,53	0,96695
2	0,0683302	0,47	0,25290

Functions Derived	Wilks Lambda	Chi-Square	DF	P-Value
1	0,0608463	62,9866	8	0,0000
2	0,93604	1,4872	3	0,6852

Classification Table

Actual tiempo	Group Size	Predicted tiempo				
		0	12	25	38	50
0	7	6 (85,71%)	1 (14,29%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
12	4	0 (0,00%)	4 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
25	4	0 (0,00%)	1 (25,00%)	2 (50,00%)	1 (25,00%)	0 (0,00%)
38	4	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	4 (100,00%)	0 (0,00%)
50	8	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (25,00%)	6 (75,00%)

Percent of cases correctly classified: 81,48%

Tabla A12. Resultados obtenidos del análisis sensorial de los quesos Reggianito de calibración al final de la maduración.

Queso	Panelista	Atributo					Puntaje total
		Aroma	Aspecto general	Textura	Sabor	Sabor residual	
1	1	5,6	7,6	7,1	6,0	6,8	77,8
	2	3,0	6,0	7,8	2,6	5,4	55,2
	3	6,9	4,6	5,3	6,3	5,4	70,2
	4	7,6	6,6	3,8	7,9	8,1	83,5
	5	7,7	8,9	9,6	9,7	9,8	108,8
	6	9,4	9,3	9,3	9,0	9,4	111,2
	7	6,1	6,5	4,7	4,7	6,4	67,6
	8	7,6	7,3	8,4	8,0	7,5	93,2
	9	3,4	7,9	9,1	6,3	7,1	77,3
	10	4,9	9,5	9,0	4,3	3,5	71,6
	11	7,2	7,6	8,5	6,4	7,0	87
	12	7,0	8,0	9,0	7,0	7,0	90
	13	7,2	8,5	8,8	9,0	9,2	101,6
	14	7,8	6,9	8,7	8,5	8,8	97,7
	15	8,0	8,3	5,9	8,3	9,0	95,3
2	1	9,1	8,0	8,0	9,3	9,1	105,4
	2	7,2	3,3	6,6	8,8	9,0	85,8
	3	4,7	6,4	5,5	7,8	8,8	78,9
	4	7,4	5,0	4,9	7,6	8,0	80,8
	5	4,7	7,3	9,5	8,9	9,8	94
	6	8,3	8,7	8,7	9,3	9,4	106,4

	7	8,4	5,6	4,0	7,3	7,8	81,9
	8	6,3	5,3	5,4	6,1	6,2	71,0
	9	9,3	8,6	8,0	9,6	9,2	108,3
	10	8,5	9,2	7,8	8,7	7,7	101,0
	11	8,8	7,1	8,1	7,5	8,0	95,3
	12	9,0	7,0	7,0	8,0	9,0	97,0
	13	6,3	6,2	9,0	6,4	6,6	81,7
	14	8,2	5,0	6,7	7,1	7,8	84,9
	15	8,2	7,0	5,6	8,7	7,6	91,1
3	1	9,9	7,5	9,8	9,0	9,2	109,7
	2	7,7	6,8	7,7	8,4	8,5	94,3
	3	9,0	8,7	9,0	8,4	8,2	104,0
	4	8,1	8,0	9,2	7,4	7,4	95,7
	5	6,5	8,6	7,1	5,6	5,4	78,5
	6	6,6	6,7	5,9	5,9	6,9	76,5
	7	9,0	8,1	8,6	8,7	8,8	104,1
	8	9,6	8,4	9,5	5,9	5,0	92,3
4	1	8,8	5,9	9,1	9,3	9,1	102,5
	2	6,2	6,4	7,6	6,4	5,9	77,6
	3	8,5	8,0	9,4	9,4	9,3	107,1
	4	9,8	9,2	9,5	9,5	9,0	113,3
	5	8,0	8,6	7,1	8,0	7,9	95,2
	6	8,4	5,4	8,0	10,0	8,5	99,0
	7	9,0	6,6	6,6	6,9	8,1	90,3
	8	8,9	9,2	8,9	9,4	9,4	109,9

5	1	6,4	7,8	8,0	3,6	3,2	68,0
	2	8,6	6,9	6,3	6,5	6,9	85,5
	3	6,3	6,6	7,4	7,8	7,9	86,1
	4	7,8	6,7	8,1	7,5	6,6	88,7
	5	9,6	9,1	9,0	5,8	5,8	94
	6	4,6	8,8	7,9	4,0	3,8	66,8
	7	7,8	8,9	8,1	6,3	8,1	92,5
	8	8,0	6,0	8,0	8,0	8,0	92,0
	9	8,3	7,9	8,0	7,4	8,3	95,5
	10	8,0	7,0	8,0	9,0	8,0	97,0
	11	10,0	7,9	9,0	8,1	8,4	104,9
6	1	8,2	4,8	4,5	8,9	9,2	88,3
	2	2,5	1,9	4,4	2,4	2,1	31,5
	3	6,2	7,4	6,4	7,6	7,8	84,6
	4	6,3	7,0	6,3	6,4	5,8	76,3
	5	3,1	7,3	8,6	7,5	4,6	72,8
	6	9,1	6,7	9,0	7,6	9,4	100,3
	7	8,8	8,1	8,5	9,5	9,3	106,7
	8	9,0	7,0	8,0	8,0	9,0	99,0
	9	6,9	5,1	3,8	3,6	2,2	53,7
	10	6,0	6,0	6,0	5,0	5,0	67,0
	11	3,0	2,8	3,0	5,3	4,9	46,3
7	1	2,0	2,0	8,7	7,2	6,8	62,6
	2	7,0	9,5	9,3	8,0	8,5	99,6
	3	4,0	4,2	3,4	3,2	2,3	41,4

	4	5,0	4,8	3,5	7,0	7,4	67,4
	5	8,4	9,3	8,3	7,9	8,4	100,9
	6	6,3	8,1	7,2	7,8	7,2	87,3
	7	8,6	8,4	8,4	9,2	9,1	105,2
	8	9,0	8,0	9,0	7,0	8,0	98,0
	9	6,7	8,4	9,0	8,8	8,8	98,9
	10	7,9	8,4	8,5	8,5	8,3	99,6
	11	7,6	9,4	8,8	8,0	7,5	98,2
8	1	9,0	4,4	4,4	6,7	7,1	78,9
	2	8,3	6,8	7,8	8,7	8,6	97,4
	3	7,2	3,9	4,5	4,0	3,2	56,8
	4	6,2	4,7	6,4	7,1	7,2	76,5
	5	3,8	2,8	5	3,2	4,7	46
	6	7,5	7,4	7,3	8,2	7,8	92,1
	7	9,0	6,4	7,6	8,2	8,0	95,6
	8	9,0	7,0	9,0	8,0	9,0	101,0
	9	6,4	6,2	6,6	6,0	7,8	78,4
	10	6,0	3,6	6,6	7,2	8,0	76,0
	11	7,4	6,8	7,0	7,4	5,5	83,0

Tabla A13. Contenido de humedad para los quesos Reggiano de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	%humedad
0	40,05
0	39,74
0	38,79
0	37,83
0	39,29
0	38,10
0	39,71
0	39,16
30	37,62
30	37,76
45	37,16
45	36,97
60	35,37
60	35,44
90	36,85
90	37,26
90	35,49
90	34,57
120	36,00
120	35,08
120	34,26
120	33,72
150	34,93
150	32,52
150	33,06
150	33,09
180	35,31
180	33,49
180	33,34
180	33,95
180	33,29
180	31,90
180	32,56
180	32,61

Resumen Regresión humedad vs tiempo Reggianito

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,92
Coefficiente de determinación R ²	0,85
R ² ajustado	0,84
Error típico	0,97
Observaciones	34,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	166,92	166,92	177,21	1,3575E-14
Residuos	32,00	30,14	0,94		
Total	33,00	197,06			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
Intercepción	38,76	0,28	138,70	4,69E-46	38,19	39,33	38,19
Variable X 1	-0,03	2,42E-03	-13,31	1,36E-14	-0,04	-0,03	-0,04

Tabla A14. Valores de pH para los quesos Reggiano de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	pH
0	5,50
0	5,25
0	5,25
0	5,35
0	5,35
0	5,40
0	5,50
0	5,50
30	5,50
30	5,40
45	5,50
45	5,50
60	5,45
60	5,35
90	5,40
90	5,30
90	5,32
90	5,42
120	5,40
120	5,50
120	5,50
120	5,40
150	5,40
150	5,50
150	5,40
150	5,30
180	5,32
180	5,38
180	5,30
180	5,40
180	5,50
180	5,50
180	5,40
180	5,40

Resumen Regresión pH vs tiempo Reggianito

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	3,49E-03
Coefficiente de determinación R ²	1,22E-05
R ² ajustado	-0,03
Error típico	0,08
Observaciones	34,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	2,52E-06	2,52E-06	3,89E-04	0,98
Residuos	32,00	0,21	0,01		
Total	33,00	0,21			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	5,41	0,02	233,53	2,74E-53	5,36	5,45
Variable X 1	-3,96E-06	2,01E-04	-0,02	0,98	-4,13E-04	4,05E-04

Tabla A15. Fraccionamiento de Nitrógeno para los quesos Reggiano de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	%NS pH 4,6 /NT	%NS TCA /NT	%NS PTA /NT
0	6,27	4,62	2,11
0	4,74	2,57	1,35
0	6,58	4,91	2,01
0	5,43	3,37	1,78
0	7,35	4,50	1,71
0	4,53	2,88	1,37
0	6,01	3,39	1,80
0	5,65	3,98	1,64
30	11,38	8,81	4,47
30	9,50	6,79	2,75
45	13,05	10,84	6,16
45	10,64	7,55	5,20
60	15,37	13,25	7,90
60	13,21	9,55	5,84
90	17,63	15,07	9,38
90	15,29	12,38	7,79
90	16,67	15,34	7,91
90	16,88	13,17	8,24
120	17,58	14,15	8,57
120	16,31	12,92	7,68
120	21,89	17,78	11,18
120	19,15	14,69	8,73
150	20,50	14,96	10,71
150	18,95	13,67	9,73
150	22,33	20,11	12,30
150	20,64	18,66	10,61
180	24,53	22,48	13,94
180	22,79	19,12	12,64
180	21,40	18,95	12,35
180	22,38	19,17	11,41
180	20,95	19,34	12,55
180	19,10	17,74	10,96
180	22,73	20,41	12,65
180	21,94	19,26	11,31

Resumen Regresión NS- pH4,6/NT vs tiempo Reggianito

Estadísticas de la regresión

Coefficiente de correlación múltiple	0,96
Coefficiente de determinación R ²	0,93
R ² ajustado	0,92
Error típico	1,78
Observaciones	34,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	1270,72	1270,72	400,10	1,19E-19
Residuos	32,00	101,63	3,18		
Total	33,00	1372,35			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	7,03	0,51	13,70	6,23E-15	5,98	8,07
Variable X 1	0,09	4,45E-03	20,00	1,19E-19	0,08	0,10

Resumen Regresión NS-TCA vs tiempo Reggianito

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,96
Coefficiente de determinación R ²	0,92
R ² ajustado	0,91
Error típico	1,83
Observaciones	34,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	1155,47	1155,47	346,64	9,88E-19
Residuos	32,00	106,67	3,33		
Total	33,00	1262,13			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	4,68	0,53	8,90	3,64E-10	3,61	5,75
Variable X 1	0,08	4,56E-03	18,62	9,88E-19	0,08	0,09

Resumen Regresión NS-PTA/NT vs tiempo Reggianito

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0,97
Coeficiente de determinación R ²	0,94
R ² ajustado	0,94
Error típico	1,03
Observaciones	34,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	529,29	529,29	498,79	4,39E-21
Residuos	32,00	33,96	1,06		
Total	33,00	563,25			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	2,23	0,30	7,52	1,48E-08	1,63	2,83
Variable X 1	0,06	2,57E-03	22,33	4,39E-21	0,05	0,06

Tabla A16. Contenido de amonio para los quesos Reggianito de calibración durante la maduración.

Tiempo de maduración (días)	ppm NH₄	%NH₄ (gN)/NT
0	35,56	0,07
0	24,08	0,05
0	39,16	0,08
0	46,16	0,09
0	22,25	0,05
0	56,13	0,11
0	33,49	0,07
0	24,93	0,05
30	82,83	0,16
30	62,48	0,13
45	114,45	0,23
45	132,31	0,25
60	206,22	0,41
60	150,11	0,30
90	272,63	0,54
90	344,92	0,72
90	303,79	0,61
90	283,58	0,54
120	224,00	0,46
120	356,22	0,67
120	432,55	0,86
120	355,19	0,72
150	351,02	0,72
150	486,21	0,91
150	495,80	0,98
150	386,59	0,78
180	649,34	1,29
180	868,09	1,82
180	480,09	0,97
180	478,14	0,91
180	424,25	0,87
180	554,59	1,04
180	656,50	1,30
180	558,06	1,13

Resumen Regresión NH4/NT vs tiempo Reggianito

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,93
Coefficiente de determinación R ²	0,86
R ² ajustado	0,85
Error típico	0,17
Observaciones	34,00

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1,00	5,74	5,74	194,61	3,76E-15
Residuos	32,00	0,94	0,03		
Total	33,00	6,69			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>
Intercepción	0,03	0,05	0,60	0,55	-0,07
Variable X 1	0,01	4,29E-04	13,95	3,76E-15	0,01

ACP Reggianito - 2 CP (solución no rotada)

Correlation Matrix^a

		HUMEDAD	PH	NSPH4.6	NSTCA	NSPTA	NH4
Correlation	HUMEDAD	1,000	-,073	-,897	-,886	-,895	-,844
	PH	-,073	1,000	-,001	-,026	,005	-,059
	NSPH4.6	-,897	-,001	1,000	,987	,989	,904
	NSTCA	-,886	-,026	,987	1,000	,988	,903
	NSPTA	-,895	,005	,989	,988	1,000	,918
	NH4	-,844	-,059	,904	,903	,918	1,000

a. Determinant = 1,089E-05

KMO and Bartlett's Test

Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy.		,891
Bartlett's Test of Sphericity	Approx. Chi-Square	344,739
	df	15
	Sig.	,000

Anti-image Matrices

		HUMEDAD	PH	NSPH4.6	NSTCA	NSPTA	NH4
Anti-image Covariance	HUMEDAD	,182	7,470E-02	1,075E-02	-7,59E-04	1,610E-03	2,821E-02
	PH	7,470E-02	,897	-5,25E-04	2,627E-02	-2,00E-02	7,315E-02
	NSPH4.6	1,075E-02	-5,25E-04	1,661E-02	-7,40E-03	-7,67E-03	3,672E-03
	NSTCA	-7,593E-04	2,627E-02	-7,40E-03	1,845E-02	-7,83E-03	3,743E-03
	NSPTA	1,610E-03	-2,00E-02	-7,67E-03	-7,83E-03	1,363E-02	-1,63E-02
	NH4	2,821E-02	7,315E-02	3,672E-03	3,743E-03	-1,63E-02	,147
	Anti-image Correlation	HUMEDAD	,968 ^a	,185	,196	-1,31E-02	3,234E-02
PH		,185	5,961E-02 ^a	-4,30E-03	,204	-,181	,202
NSPH4.6		,196	-4,30E-03	,881 ^a	-,423	-,510	7,434E-02
NSTCA		-1,310E-02	,204	-,423	,883 ^a	-,494	7,188E-02
NSPTA		3,234E-02	-,181	-,510	-,494	,843 ^a	-,365
NH4		,173	,202	7,434E-02	7,188E-02	-,365	,937 ^a

a. Measures of Sampling Adequacy(MSA)

Communalities

	Initial	Extraction
HUMEDAD	1,000	,878
PH	1,000	,998
NSPH4.6	1,000	,976
NSTCA	1,000	,971
NSPTA	1,000	,981
NH4	1,000	,894

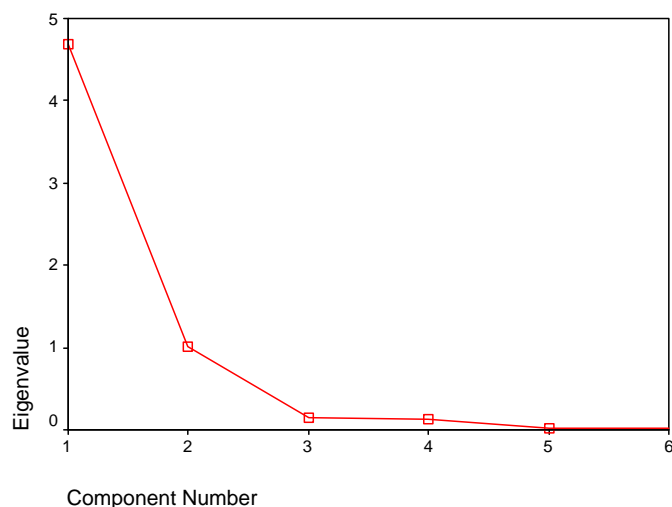
Extraction Method: Principal Component Analysis.

Total Variance Explained

Component	Initial Eigenvalues			Extraction Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
1	4,687	78,117	78,117	4,687	78,117	78,117
2	1,011	16,850	94,967	1,011	16,850	94,967
3	,152	2,530	97,497			
4	,128	2,138	99,635			
5	1,234E-02	,206	99,841			
6	9,560E-03	,159	100,000			

Extraction Method: Principal Component Analysis.

Scree Plot



Component Matrix^a

	Component	
	1	2
HUMEDAD	-,933	-8,88E-02
PH	-2,81E-03	,999
NSPH4.6	,988	7,147E-04
NSTCA	,985	-2,48E-02
NSPTA	,990	5,677E-03
NH4	,943	-6,56E-02

Extraction Method: Principal Component Analysis.

a. 2 components extracted.

ANALISIS DISCRIMINANTE REGGIANITO

Classification variable: tiempo

Independent variables:

PC1

PC2

Number of complete cases: 34

Number of groups: 8

Discriminant Function	Eigenvalue	Relative Percentage	Canonical Correlation
-----------------------	------------	---------------------	-----------------------

1	31,6532	99,20	0,98457
2	0,253718	0,80	0,44986

Functions Derived	Wilks Lambda	Chi-Square	DF	P-Value
-------------------	--------------	------------	----	---------

1	0,0244272	103,9376	14	0,0000
2	0,797628	6,3312	6	0,3871

Classification Table

Actual tiempo	Group Size	Predicted tiempo					
		0	120	150	180	30	45
0	8	8 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
120	4	0 (0,00%)	2 (50,00%)	1 (25,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
150	4	0 (0,00%)	1 (25,00%)	2 (50,00%)	1 (25,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
180	8	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (12,50%)	7 (87,50%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
30	2	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (50,00%)	1 (50,00%)
45	2	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (100,00%)
60	2	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
90	4	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)

Actual tiempo	Group Size	Predicted tiempo	
		60	90
0	8	0 (0,00%)	0 (0,00%)
120	4	0 (0,00%)	1 (25,00%)
150	4	0 (0,00%)	0 (0,00%)
180	8	0 (0,00%)	0 (0,00%)

30	2	0	0
		(0,00%)	(0,00%)
45	2	0	0
		(0,00%)	(0,00%)
60	2	2	0
		(100,00%)	(0,00%)
90	4	0	4
		(0,00%)	(100,00%)

Percent of cases correctly classified: 82,35%