



Universitat Autònoma de Barcelona



**APTITUD QUESERA DE LA LECHE DE OVEJA GUIRRA
Y EFECTO DE LA DIETA SOBRE LAS
CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE LA LECHE Y
DEL MADURADO DEL QUESO**

DIANA PAMELA JARAMILLO BUSTOS



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Ciència Animal i dels Aliments
Facultat de Veterinària
Universitat Autònoma de Barcelona

**APTITUD QUESERA DE LA LECHE DE OVEJA GUIRRA Y EFECTO DE LA
DIETA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE LA LECHE
Y DEL MADURADO DEL QUESO**

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

DIANA PAMELA JARAMILLO BUSTOS

Bellatera (Cerdanyola del Vallès), 2007

Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA)



Membre de:



ANTONIO JOSÉ TRUJILLO MESA, Profesor Titular de Tecnología de los Alimentos de la Universitat Autònoma de Barcelona,

HACE CONSTAR: Que la Ingeniera en Agroindustria Diana Pamela Jaramillo Bustos ha realizado, bajo su dirección, el trabajo titulado “**Aptitud quesera de la leche de oveja Guirra y efecto de la dieta sobre las características tecnológicas de la leche y del madurado del queso**” que presenta para optar al grado de Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Y para que así conste, firmo el presente documento en Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), el 15 de octubre de 2007,

Dr. Antonio José Trujillo Mesa

FINANCIACIÓN

Este trabajo se ha realizado gracias a la financiación aportada por:

EL Proyecto INIA CAL 03-089 (2004-2007) titulado: “Desarrollo sostenible y su influencia sobre la aptitud quesera del ganado ovino autóctono de la Comunidad Valenciana”.

La Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI, 2002-2004) y el Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA, 2005-2007) a través de la financiación otorgada al autor para realizar los estudios de posgrado dentro del Programa de Doctorado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

AGRADECIMIENTOS

A Toni por ofrecerme la oportunidad de trabajar bajo su tutela, por su apoyo y asesoría durante la realización de esta tesis y por la opción de involucrarme en otras áreas de investigación.

A Ventura Guamis por proporcionarme la oportunidad de pertenecer al Departamento de T.A. y por financiarme para realizar este trabajo.

A Martín Rodríguez, catedrático de la UPV y a sus colaboradores que han tenido la responsabilidad de enviarnos la materia prima, por los datos e información proporcionados y los contados encuentros en congresos.

A todo el personal del CERPTA, especialmente a Joan Miquel por estar siempre disponible y ofrecer su ayuda durante las producciones en planta y a Ramón G. por su guía para desempeñarnos mejor en los laboratorios y hacernos más responsables.

Al personal de secretaría por la ayuda para realizar todos los papeleos durante estos años

A Martín B. por su ayuda logística, por las conversaciones amenas, por los cafés, por ser un excelente amigo y compañero de oficina, por su ayuda y enseñanza de técnicas y por colaborar con parte de los análisis experimentales de esta tesis.

A Tere G. por su amistad y compañerismo durante su estancia en el departamento y por su importante colaboración en esta tesis.

A Sonia Ll. por su ayuda y asistencia para tener siempre los recursos y los materiales necesarios. Y a Bibiana J. por su ayuda en el aprendizaje de técnicas y resolverme dudas en cualquier momento.

A Nelly por su disponibilidad para conversar y escuchar y por todas las ricas comidas mexicanas! A July por su incondicional ayuda y apoyo, por ser la fotógrafa oficial, por su generosidad y por ser muy eficiente para conseguir información.

A Bego por su linda amistad y ser tan buena organizando eventos! A Dora y Betty por estos años compartidos. A Diana, Ibrahima, Belkys, Anto, Tomás, Mar, Anna, y en general a todos los compañeros de doctorado que están ahora y los que ya partieron por su amistad y por compartir muchas vivencias y conversaciones.

A todos los amigos ajenos a la UAB que tuve oportunidad de conocer, en especial a Claudia, Emilio, Edwin, Rolando, Inés, Alfonso, Martina, Nico, gracias por su amistad y por todos los momentos compartidos.

A mis padres por apoyarme en mis decisiones, tener tanta paciencia, ser siempre incondicionales y por estar presentes desde lejos durante todos estos años.

A mi esposo Wladir, por ser mi fuente de energía y motivación, por su paciencia y apoyo, por darme esa paz y amor inagotable y por saber sobrellevar la distancia y hacerme sentir siempre en su compañía.

1. ANTECEDENTES, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	1
1.1. ANTECEDENTES	1
1.2. OBJETIVOS	6
1.3. PLAN DE TRABAJO	7
2. INTRODUCCIÓN	11
2.1. CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE DE OVEJA	12
<i>2.1.1. COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE OVEJA</i>	12
<i>2.1.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA LECHE DE OVEJA</i>	15
<i>2.1.3. CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS</i>	15
2.2. FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE LA COMPOSICIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE	16
<i>2.2.1. FACTORES INTRÍNSECOS</i>	16
<i>2.2.2. FACTORES EXTRÍNSECOS</i>	18
2.3. INFLUENCIA DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE EL CONTENIDO DE GRASA Y PROTEÍNA DE LA LECHE	20
2.4. UTILIZACIÓN DE RESIDUOS Y SUBPRODUCTOS AGRÍCOLAS EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES MENORES	22
2.5. INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE SOBRE LOS PARÁMETROS TECNOLÓGICOS.	30
2.6. PROCESO DE TRANSFORMACIÓN DE LECHE EN QUESO	34
<i>2.6.1. ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DE LA MICELA DE CASEÍNA</i>	34
<i>2.6.2. LA FABRICACIÓN DE QUESO</i>	35
2.7. CAMBIOS BIOQUÍMICOS DURANTE LA MADURACIÓN DEL QUESO	39
<i>2.7.1. METABOLISMO DE LACTOSA RESIDUAL, LACTATO Y CITRATO</i>	39
<i>2.7.2. PROTEOLISIS</i>	39
<i>2.7.3. LIPOLISIS</i>	41
2.8. INFLUENCIA DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS	43
3. MATERIALES Y MÉTODOS	50
3.1. EVALUACIÓN DE LECHE INDIVIDUALES Y DE TANQUE	50
<i>3.1.1. ANIMALES Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE LECHE</i>	50
<i>3.1.2. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS Y RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS</i>	53
<i>3.1.3. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE COAGULACIÓN, RENDIMIENTO Y DESUERADO</i>	53

3.2. ELABORACIÓN DE QUESOS TIPO MANCHEGO	54
3.3. EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y FÍSICO-QUÍMICA DE LOS QUESOS	55
3.3.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	55
3.3.2. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	56
3.3.3. DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS LIBRES Y NITRÓGENO SOLUBLE	57
3.3.4. DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES	57
3.3.5. ANÁLISIS INSTRUMENTAL DEL COLOR	58
3.3.6. ANÁLISIS INSTRUMENTAL DE LA TEXTURA	58
3.4. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LOS QUESOS	59
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	59
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
4.1. APTITUD QUESERA DE LA LECHE DE OVEJA GUIRRA Y MANCHEGA Y CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS MADURADOS	61
4.1.1. PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y DE COAGULACIÓN DE LAS LECHE INDIVIDUALES	61
4.1.2. EFECTO DEL NÚMERO DE LACTACIÓN Y EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y TECNOLÓGICOS	63
4.1.3. RELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y TECNOLÓGICOS	68
4.1.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS	71
4.1.4.1. Composición físico-química	71
4.1.4.2. Evolución del nitrógeno soluble y aminoácidos libres	73
4.2. EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE CÍTRICOS EN LA DIETA	75
4.2.1. CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE	75
4.2.1.1. Características microbiológicas	75
4.2.1.2. Leches pasterizadas	76
4.2.1.3. Características físico-químicas	77
4.2.1.4. Parámetros de coagulación	79
4.2.1.5. Evaluación del color	80
4.2.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS	81
4.2.2.1. Características microbiológicas	81
4.2.2.2. Características físico-químicas	84
4.2.2.3. Evolución de nitrógeno soluble y aminoácidos libres	87
4.2.2.4. Evolución de los ácidos grasos libres	89
4.2.2.5. Evaluación de color	94
4.2.2.6. Evaluación de la textura	96
4.2.2.7. Evaluación sensorial	98
4.3. EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE ENSILADO DE ALCACHOFA EN LA DIETA	100
4.3.1. CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE	100
4.3.1.1. Características físico-químicas	100
4.3.1.2. Parámetros de coagulación	102
4.3.1.3. Evaluación del color	103
4.4.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS	104
4.4.1.1. Características físico-químicas	104

<i>4.4.1.2. Evolución de nitrógeno soluble y aminoácidos libres</i>	107
<i>4.4.1.3. Evolución de los ácidos grasos libres</i>	109
<i>4.4.1.4. Evaluación de color</i>	114
<i>4.4.1.5. Evaluación de la textura</i>	116
<i>4.4.1.6. Evaluación sensorial</i>	118

5. CONCLUSIONES	120
------------------------	------------

6. BIBLIOGRAFÍA	123
------------------------	------------

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Plan de trabajo para la caracterización de la leche de oveja Guirra	9
Figura 2. Plan de trabajo para la evaluación de las dietas con inclusión de cítricos de destribo y residuos de alcachofa	10
Figura 3. Producción de quesos de vaca, cabra, oveja y mezcla en España durante el año 2006	11
Figura 4. Curvas de producción de leche, contenido de proteína y de grasa durante la lactación de ovejas lecheras del Valle del Belice	18
Figura 5. Diagrama de flujo de las mini fabricaciones de quesos elaborados a partir de leche de tanque	54
Figura 6. Evolución de la composición de la leche de oveja Guirra y Manchega durante la lactación	66
Figura 7. Evolución de las propiedades tecnológicas de la leche de oveja Guirra y Manchega durante la lactación	67
Figura 8. Evolución del nitrógeno soluble y de los aminoácidos libres durante la maduración de los quesos elaborados a partir de leche de oveja Guirra y Manchega	74
Figura 9. Evolución de los recuentos microbiológicos (Log ufc/g) de los quesos control, Q1, Q2 y Q3, durante la maduración (cítricos)	82
Figura 10. Evolución del nitrógeno soluble y del contenido de aminoácidos libres durante el madurado de los quesos control, Q1, Q2 y Q3 (cítricos)	87
Figura 11. Contenido de ácidos grasos libres individuales (mg/kg queso) en los quesos control, Q1, Q2 y Q3 a los días 15, 30 y 60 de maduración (cítricos)	90
Figura 12. Parámetros de color L, a y b durante el madurado de los quesos control, Q1, Q2 y Q3 (cítricos)	95
Figura 13. Evolución del nitrógeno soluble y del contenido de aminoácidos libres durante el madurado de los quesos control, Q1, Q2 y Q3 (alcachofa)	107
Figura 14. Contenido de los ácidos grasos libres individuales en los quesos control, Q1, Q2 y Q3 al día 15, 30 y 60 de maduración (alcachofa)	109
Figura 15. Parámetros de color L, a y b durante el madurado de los quesos control, Q1, Q2 y Q3 (alcachofa)	114

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición media de la leche de oveja, cabra y vaca	13
Tabla 2. Empleo de diferentes subproductos agrícolas en la alimentación de pequeños rumiantes	24
Tabla 3. Relación entre las características físico-químicas y los parámetros de coagulación enzimática de la leche de vaca, cabra y oveja.	31
Tabla 4. Composición de las dietas control y experimentales durante la evaluación de inclusión de cítrico de destriero en las raciones de las ovejas	51
Tabla 5. Composición de las dietas control y experimentales durante la evaluación de inclusión de alcachofa ensilada en las raciones de las ovejas	51
Tabla 6. Composición físico-química y parámetros tecnológicos de las muestras individuales de leche. Significancia de los factores fijos	61
Tabla 7. Coeficientes de correlación entre los parámetros físico-químicos y tecnológicos	69
Tabla 8. Coeficientes de los componentes rotados	70
Tabla 9. Efecto de la raza y lactación sobre los factores rotados	70
Tabla 10. Parámetros físico-químicos y tecnológicos de las leches de tanque Guirra y Manchega	71
Tabla 11. Características físico-químicas de los quesos elaborados a partir de las leches de tanque Guirra y Manchega	72
Tabla 12. Recuentos microbiológicos expresados en Log ufc/mL de las leches crudas correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos	76
Tabla 13. Recuentos microbiológicos expresados en Log ufc/mL de las leches pasteurizadas correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos	77
Tabla 14. Parámetros físico-químicos y recuentos de células somáticas de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos	78
Tabla 15. Parámetros de coagulación y rendimiento quesero de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos	79
Tabla 16. Parámetros de color de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos	81
Tabla 17. Características físico-químicas de los quesos correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos	86
Tabla 18. Valores medios de los ácidos grasos libres de cadena corta, media y larga de los quesos con 15, 30 y 60 días de maduración correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos	93
Tabla 19. Diferencia total de color de los quesos correspondientes a las dietas con inclusión de cítricos Q1, Q2 y Q3 respecto al control durante la maduración	96
Tabla 20. Evolución de los parámetros de textura durante la maduración de los quesos correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos	97
Tabla 21. Resultados de la valoración sensorial de los quesos con 60 días de maduración correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos	99
Tabla 22. Parámetros físico-químicos y recuento de células somáticas de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa	100
Tabla 23. Parámetros de coagulación y rendimiento quesero de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa	102
Tabla 24. Parámetros de color de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa	103
Tabla 25. Características físico-químicas de los quesos correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa	106

Tabla 26. Valores medios de los ácidos grasos libres de cadena corta, media y larga de los quesos con 15, 30 y 60 días de maduración correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa	113
Tabla 27. Diferencia total de color de los quesos correspondientes a las dietas con inclusión de ensilado de alcachofa Q1, Q2 y Q3 respecto a los quesos control durante la maduración	115
Tabla 28. Evolución de los parámetros de textura durante la maduración de los quesos correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa	116
Tabla 29. Resultados de la valoración sensorial de los quesos con 60 días de maduración correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa	118

LISTADO DE ABREVIATURAS

AA	aminoácidos libres
AGL	ácidos grasos libres
AGLC	ácidos grasos libres de cadena corta
AGLL	ácidos grasos libres de cadena larga
AGLM	ácidos grasos libres de cadena media
CSN	caseína
d.e	desviación estándar
DES	capacidad de desuerado
ES	extracto seco
F30	firmeza del gel
G	grasa
L	lactosa
NS	nitrógeno soluble
NT	nitrógeno total
PT	proteína total
PV	proteína verdadera
RCA	velocidad de agregación
RCS	recuento de células somáticas
RCT	tiempo de coagulación
RTO	rendimiento quesero
T ^a	temperatura
ufc	unidades formadoras de colonias
ϵ_f	deformabilidad
σ_f	fracturabilidad
ΔE	Diferencia total de color
vs.	<i>versus</i>

RESUMEN

Los objetivos de este trabajo fueron caracterizar la aptitud tecnológica de la leche de oveja Guirra, una raza autóctona de la Comunidad Valenciana, comparándola con otra raza española típicamente lechera como la Manchega, y determinar el efecto del empleo de subproductos del cultivo de cítricos y de la industria conservera de alcachofa en la dieta de ovejas lactantes sobre la aptitud quesera de la leche y las características de los quesos madurados.

Para el primer objetivo se tomaron muestras de leches individuales y se determinaron la composición, los parámetros de coagulación, rendimiento quesero potencial y capacidad de desuerado a nivel de laboratorio y se evaluó la aptitud quesera de leche de tanque a nivel de planta piloto así como también se determinaron las características generales de los quesos obtenidos durante la maduración. Paralelamente se determinó el efecto de la semana de lactación y el número de lactaciones sobre los parámetros descritos. Los resultados demostraron que la aptitud quesera de la leche de oveja Guirra es comparable con la observada en la raza Manchega. La leche de las dos razas ovinas coagula en tiempo corto, presenta una buena velocidad de agregación y forma geles firmes; las diferencias en composición entre razas fueron significativas para el contenido de grasa y lactosa. Por otro lado, los factores que más influyeron sobre las características físico-químicas de la leche fueron la semana de lactación y en menor grado el número de lactaciones. La leche experimenta un detrimento de las propiedades de coagulación y un incremento del contenido de proteína y grasa y del pH conforme avanza el periodo de lactación. Los rendimientos queseros determinados en laboratorio y el estimado en planta piloto fueron mayores a los descritos en la literatura para ovejas de otras razas locales como Latxa y Merino. De igual forma es evidente el mayor contenido de grasa y proteína de las razas evaluadas en comparación con razas foráneas. Esta característica de la leche favorece la obtención de altos rendimientos queseros, pero el elevado contenido de proteína y grasa dificulta la formación de la cuajada según lo indican las correlaciones negativas observadas entre estos componentes y los parámetros de velocidad de agregación y firmeza del gel.

Para la evaluación de las dietas experimentales (cítricos de destrío y ensilado de alcachofa) se emplearon leches de tanque y fabricaciones de quesos en planta piloto. Se determinaron las características físico-químicas de las leches y de los quesos durante la maduración y se obtuvieron los parámetros de coagulación y rendimiento quesero durante la fabricación de los

quesos. La incorporación de cítricos enteros en la dieta de las ovejas lactantes redujo el contenido de grasa y sólidos totales en la leche lo que también se refleja en el menor contenido de grasa de los quesos con mayor inclusión de cítrico en la dieta. La leche de tanque correspondiente a la dieta con alcachofa ensilada no mostraron diferencias en su composición ni parámetros de coagulación, sin embargo los quesos con mayor inclusión de alcachofa en la dieta presentaron el menor contenido de grasa.

El efecto de las dietas experimentales sobre la proteólisis de los quesos fue significativo sólo para el contenido de aminoácidos libres en los quesos correspondientes a las dietas con inclusión de alcachofa ensilada. Por otro lado las dietas experimentales no modificaron el perfil de ácidos grasos libres, aunque en el caso de la alcachofa se produjo una reducción del contenido total de ácidos grasos libres conforme aumentó el uso de este residuo en la dieta (20 y 30%). A pesar de estas diferencias y de acuerdo con la evaluación sensorial realizada por los catadores, se observó que la inclusión de cítricos de destrío y residuos ensilados de alcachofa en la dieta no afectó negativamente el sabor, aroma e impresión global de los quesos. De la misma forma no se observó un efecto significativo de la dieta sobre las parámetros de textura evaluados aunque sí fue apreciable un efecto significativo de la dieta sobre el color de la leche y de los quesos frescos y madurados.

ABSTRACT

The aims of this work were to characterize the technological aptitude of the Guirra ewes' milk, an autochthonous breed from the Valencian Community, by comparing it with other traditional Spanish dairy breeds such as the Manchega, and to evaluate the effect of the utilization of whole citrus and ensiled residues from the artichoke canning industry in the diet of lactating dairy ewes on the cheesemaking aptitude of milk and the ripened cheese characteristics.

For the former aim, individual milk samples were taken from ewes with one or more births during the whole lactation period. These samples were analyzed to determine milk chemical composition, coagulation parameters, potential cheese yield and curd draining capacity in the laboratory. The cheesemaking aptitude was also evaluated using bulk milk throughout mini-cheese production performed at pilot plant scale. The general characteristics of cheese during ripening were also studied. The results obtained demonstrated that the cheesemaking aptitude of the Guirra ewe milk was comparable to that of Manchega. Milk from both breeds had short coagulation times, a good rate of curd aggregation and formed firm gels. The differences in composition between both breeds were significant only for fat and lactose content. Milk composition was mainly influenced by the lactation period followed by the number of births. During the evolution of the coagulation parameters it was possible to observe a detrimental effect of the lactation time over these characteristics while the milk protein, fat and pH value increased during this period. Laboratory and pilot plant cheese yields were higher than those reported in the literature for other local dairy ewes such as Latxa and Merino. Furthermore it was evident the higher protein and fat content of the evaluated breeds in comparison to foreign breeds. This characteristic contributes with the higher cheese yields, however the high protein and fat content of these milks impairs the curd formation as is reflected by the negative correlations between milk components and the parameters of curd aggregation and curd firmness.

For the evaluation of the experimental diets (whole citrus and artichoke silage) bulk milk samples were used for cheese production at the pilot plant level. Milk and cheese physico-chemical characteristics were also evaluated. Coagulation parameters and cheese yield were recorded during milk processing and cheeses were evaluated throughout the ripening period. The inclusion of whole citrus in the diet of lactating ewes reduced the content of milk fat and

total solids, this effect was reflected in the lower fat content in cheeses corresponded to the diet with higher percentage of citrus. Bulk milk from artichoke silage in the diet did not differ in composition and showed similar coagulation parameters, however the fat content in cheese was lower in those corresponding to diets with high percentage of artichoke silage.

The effect of the experimental diets on cheese proteolysis was only significant for the free aminoacids content of cheeses corresponding to artichoke silage diets. In contrast, the experimental diets (citrus and artichoke) did not affect the cheese's free fatty acids profiles, but reduced the total content of free fatty acids in cheeses with artichoke silage in the diet (20 and 30%). Despite these effects and according to the sensory evaluation performed by the panellists, the inclusion of whole citrus and artichoke silage in the diet did not negatively affect the cheese taste, aroma and global impression. Cheese texture was not significantly affected by diet but fresh and ripened cheese color was influenced by both, citrus and artichoke experimental diets.

ANTECEDENTES, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

1. ANTECEDENTES, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

1.1. ANTECEDENTES

La oveja Guirra es una raza autóctona de la Comunidad Valenciana que se concentra en las comarcas de Vall d'Albaida, Marina Alta y Marina Baixa. Está considerada dentro de las razas de protección oficial según el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España ya que cuenta con un censo oficial aproximado de tan solo 4000 cabezas que se dividen en explotaciones de pequeño tamaño.

La Guirra es una oveja de tamaño medio, de apariencia longuilínea con perfil convexo o ultraconvexo y de orejas medianas horizontales; su piel tiene una coloración roja y la lana es de color marrón. Los machos pesan entre 65 y 70 kg mientras que las hembras tienen un peso entre 40 y 50 kg. Es una raza considerada de triple propósito: carne, leche y lana. No obstante presenta una aptitud lechera interesante ya que tiene una elevada precocidad sexual (primer parto entre los 15–17 meses de vida), un comportamiento dócil durante el ordeño y una curva de lactación persistente (> 6 meses). De acuerdo al estudio comparativo realizado por Rodríguez *et al.* (2002), sobre la producción y composición de la leche de oveja Guirra y Manchega, la producción de la primera fue menor en aproximadamente 238 mL de leche por día (860 mL/día para Guirra y 1098 mL/día para Manchega) bajo las mismas condiciones de manejo. No obstante también fue evidente el mayor contenido de proteína bruta y caseína de la leche de la raza Valenciana frente a la Manchega ($6,4 \pm 0,05\%$ y $4,9 \pm 0,04\%$, respectivamente). Aparte de estas características, la oveja Guirra es un animal que se adapta muy bien a zonas áridas y de pocos recursos pastoriles que constituye una reserva genética de alto valor, que la Asociación Nacional de Criadores de Raza Guirra (ANGUIRRA) desea recuperar y a su vez mejorar en su rendimiento lechero para producir quesos tradicionales que lleguen a ser reconocidos con Denominación de Origen.

Por otra parte, la oveja Manchega es originaria de la comarca natural de La Mancha que abarca también Albacete, Ciudad Real, Cuenca y Toledo. Actualmente su censo se encuentra distribuido ampliamente por toda España, ya que es una raza con reconocida aptitud productiva y de elevada rusticidad (Torres y Gallego, 1994). La Manchega es la raza autóctona con mayor representación dentro del censo total de ovejas lecheras de España mientras que la mayoría son cruces de razas autóctonas y foráneas (Ugarte *et al.*, 2001). Las

características raciales de esta oveja están descritas en detalle en la Reglamentación Específica del libro Genealógico de Raza Manchega (Anónimo, 2004): es una oveja que presenta un perfil convexo destacado en los machos y más suave en las hembras, cabeza de línea fronto-nasal convexa y desprovista de lana, orejas grandes ligeramente caídas y de tronco largo y costillares amplios. Existen dos variedades, la blanca que presenta una piel despigmentada y de lana blanca y la variedad negra que es de piel oscura con algunas manchas blancas en la frente o cola y lana de color negro uniforme. Además de su alta rusticidad y adaptabilidad, es un animal dócil, de una alta precocidad sexual (primer parto a los 17,6 meses de edad) que tiene partos fáciles y un gran instinto maternal.

Debido al interés de mantener una diversidad genética y evitar la desaparición de estos recursos, algunas instituciones de carácter gubernamental y no gubernamental han tomado una serie de medidas de apoyo para salvar de la desaparición a varias razas autóctonas. Este es el caso de la oveja Guirra, que a través de proyectos impulsados por la Asociación de Queseros de la Comunidad Valenciana y ANGUIRRA, en colaboración con el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV) y el Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA) de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) ha podido ser caracterizada con el fin de fomentar su explotación.

A través del proyecto AGL 2000-0335-P4-04 denominado “Recuperación y optimización de quesos tradicionales de la Comunidad Valenciana” del Plan Nacional de Investigación (2001-2004), ha sido posible describir las características de la leche de esta raza de oveja que se destaca por la gran consistencia de la cuajada y la posibilidad de elaborar quesos con características propias y personalizadas. Esto es muy importante ya que actualmente el mercado de quesos tiende a estandarizarse y a reducir la oferta de la gran variedad de quesos que existen. Según ANGUIRRA, los productos que anteriormente se obtenían de leche de oveja Guirra eran los quesos frescos de “Casoleta” y “Servilleta” que están siendo rescatados para su elaboración exclusivamente con leche de esta raza que incluso el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, ha premiado en la categoría de “Quesos frescos artesanos”. También existe un queso curado, poco conocido, de aroma láctico penetrante y con un paladar agradable y potente que se elabora en la zona central de la Comunidad Valenciana.

Con el objetivo de fomentar alternativas para un desarrollo sostenible del ganado autóctono, la Comunidad Valenciana otorgó el apoyo financiero para llevar a cabo el Proyecto GV-111/93 titulado “Estudio sobre la utilización de subproductos agrícolas y agroindustriales autóctonos Valencianos para la alimentación animal” (1994-1996). Las observaciones obtenidas de este estudio permitieron comprobar que los residuos más utilizados provenían de los cultivos leñosos, restos de podas y destríos, particularmente de los cítricos. De los cultivos hortícolas destaca el empleo de destríos de comercialización en la industria alimentaria. Estos subproductos en general son infrautilizados o empleados de forma indiscriminada. La mayoría de explotaciones que aprovecharon estos recursos fueron las de ganado ovino.

Los cítricos producidos durante la campaña 2006/2007 en la Comunidad Valenciana fue de 4 millones de toneladas (Conselleria d’Agricultura, Pesca y Alimentació, 2007a). Un porcentaje de esta producción tiene que ser retirada del mercado principalmente debido a una baja calidad de la fruta (piezas dañadas, malformadas o enfermas) o para la regularización de los precios del mercado. Este cítrico que no se comercializa se conoce como cítrico de destrío y genera serios problemas ambientales al ser desechado en vertederos al aire libre. Los residuos generados de esta práctica agrícola en la Comunidad Valenciana incluyen mayoritariamente naranjas, mandarinas y en menor cantidad limones y pomelos. De acuerdo a la caracterización nutritiva realiza por Piquer *et al.* (2006a), los cítricos de retirada de la Comunidad Valenciana (naranjas y mandarinas) son una fuente importante de azúcares (48,7%), aportan un 10,9% de fibra neutro detergente y un 6,6% de proteína cruda, no obstante la desventaja de este subproducto es que su composición tiene alta variabilidad y difiere de otros cítricos de retirada como los limones.

En relación a los residuos hortícolas derivados de la agroindustria se destaca la utilización de alcachofa para alimentación de animales. De acuerdo a la Conselleria d’Agricultura, Pesca y Alimentació (2007b), la Comunidad Valenciana generó un estimado de 56 mil toneladas de alcachofa en la campaña del 2006, ocupando después de Murcia el segundo lugar en producción de alcachofa en España. En total se producen 289 mil toneladas de esta hortaliza de las que aproximadamente un 35% se destina a su transformación en conserva. El procesamiento de los corazones de alcachofa conlleva la extracción mecánica de los pedúnculos y brácteas de la flor, que junto con los corazones dañados o demasiado pequeños, se convierten en un subproducto que generalmente se desecha. No obstante, una parte de estos residuos se aprovechan durante el invierno para la alimentación de vacas lecheras (Martínez-

Teruel *et al.*, 1998) en forma de ensilado. Este proceso de conservación permite preservar durante más tiempo el alimento mediante la fermentación y la reducción del pH. El producto del ensilaje de los residuos de alcachofa cruda es un alimento con un olor agradable y de buenas características visuales; después de la primera semana de ensilaje alcanza un pH estable de 4,9 y en general presenta una buena calidad nutricional y microbiológica (Meneses *et al.*, 2007).

El proyecto INIA CAL 03-089 (2004-2007) denominado “Desarrollo sostenible y su influencia sobre la aptitud quesera del ganado ovino autóctono de la Comunidad Valenciana”, tiene como objetivo general garantizar la calidad de los productos tradicionales obtenidos con la leche de oveja Guirra utilizando como base de la alimentación los subproductos agrícolas y agroindustriales de la región. Este proyecto tiene como objetivos específicos:

1. Evaluar las características de composición y aptitud tecnológica de la leche de oveja Guirra y compararlas con otra raza autóctona tradicional como la Manchega, la cual se concentra en zonas geográficamente similares a las de la oveja Valenciana.
2. Estudiar la composición físico-química de los cítricos de destrío y residuos de la industria conservera de alcachofa y determinar su digestibilidad, variabilidad nutritiva y aptitud al ensilaje (en el caso de la alcachofa).
3. Evaluar la inclusión de estos subproductos en diferentes proporciones en la dieta de ovejas lactantes y analizar su efecto sobre la producción, composición y aptitud tecnológica de la leche para determinar el nivel óptimo de utilización de estos alimentos en las raciones de las ovejas sin provocar efectos negativos sobre la leche y la producción de queso.
4. Comparar y valorar el efecto de la inclusión de estos subproductos en la dieta de los animales sobre la aptitud quesera de la leche, los rendimientos queseros, la evolución de los quesos madurados y las características sensoriales del producto final.
5. Valorar el aprovechamiento del lactosuero obtenido de la producción de quesos para su consumo humano debido a su valor nutritivo y sus características sensoriales. Este objetivo tiene la finalidad de reducir o evitar vertidos de la industria quesera con perjuicio del medio ambiente.

El presente trabajo de investigación abarca los objetivos 1, 3 y 4 del proyecto INIA CAL 03-089 descritos anteriormente y fueron ejecutados en colaboración con los investigadores de la UPV, quienes han realizado los análisis de composición y el valor nutritivo de las dietas

experimentales, al igual que el efecto de las dietas experimentales sobre la producción y composición de la leche.

1.2. OBJETIVOS

Los objetivos generales y específicos planteados en este trabajo de investigación fueron los siguientes:

OBJETIVOS GENERALES

- Evaluar la aptitud tecnológica (propiedades de coagulación, desuerado y rendimiento potencial quesero) de la leche de oveja Guirra en comparación a la leche de oveja de raza Manchega durante la lactación.
- Evaluar el efecto de la inclusión de cítricos de destrío y residuos de alcachofa en la dieta de ovejas lecheras sobre las propiedades de coagulación y rendimiento quesero de la leche y las características de los quesos madurados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los parámetros de coagulación, desuerado y rendimiento potencial quesero de leches individuales de oveja Guirra y compararlos con la raza Manchega.
- Evaluar los cambios de los parámetros fisico-químicos y tecnológicos de las leches individuales con el avance de la lactación.
- Evaluar la aptitud quesera de las leches de tanque procedente de ovejas de raza Guirra y Manchega mediante la producción de quesos de pequeño formato, y determinar las características fisico-químicas de los quesos durante la maduración.
- Evaluar el efecto de las dietas experimentales sobre las propiedades de coagulación de la leche de tanque.
- Determinar la influencia de la dieta sobre las características fisico-químicas de los quesos durante la maduración.
- Estudiar el efecto de la dieta sobre la proteólisis y lipólisis de los quesos durante la maduración.

- Determinar la influencia de la dieta sobre los parámetros instrumentales de textura y color durante la maduración y sobre las características sensoriales de los quesos madurados.

1.3. PLAN DE TRABAJO

Los ensayos experimentales de este trabajo se dividen en tres secciones; la primera, consistió en la caracterización de la leche de oveja Guirra en relación a su aptitud quesera (Figura 1). Durante esta etapa se evaluaron las muestras de leche individuales obtenidas de 30 ovejas Guirra y 13 Manchegas desde la novena semana de lactación hasta la semana 21 (semanas 10 a 20 en el caso de Manchegas). La composición físico-química y los recuentos de células somáticas de las leches fueron realizadas por los investigadores de la UPV, mientras que los ensayos en laboratorio para determinar los parámetros de coagulación (Gelograph[®]-NT), rendimiento y desuerado fueron realizados en las instalaciones del CERPTA. La evaluación a nivel de planta piloto, consistió en la elaboración de quesos de pequeño formato a partir de 7 kg de leche cruda de tanque (3 producciones para cada raza evaluada), la determinación de los parámetros de coagulación directamente en la cuba de mini-quesería y posteriormente el cálculo del rendimiento quesero. Por último también se determinó la composición físico-química de los quesos durante la maduración (45 días) así como los parámetros generales de la proteólisis desarrollada.

La segunda y tercera etapa consistió en la evaluación de la aptitud tecnológica de la leche de tanque y de los quesos elaborados a partir de las ovejas (12 por grupo) alimentadas a base de cítricos de destrío y ensilado de alcachofa. Para estos dos experimentos se siguió un mismo plan de trabajo (Figura 2). Las raciones ofrecidas a los animales contuvieron niveles crecientes del subproducto evaluado (0, 10, 20 y 30% de la ración expresado en materia seca). Se obtuvieron tres muestras de leche de tanque (10 kg) de cada grupo experimental (denominadas Control, L1, L2 y L3 en correspondencia con el nivel de subproducto en la dieta: 0, 10, 20 y 30%) comprendidas entre las semanas 13 a 17 de lactación que fueron pasterizadas (65 °C, 30 min) para la elaboración de quesos tipo Manchego (denominados Control, Q1, Q2 y Q3) de pequeño formato (3 producciones por cada dieta evaluada). Se realizó el análisis microbiológico (cítricos de destrío) de las leches crudas y después de la pasterización. Los parámetros de coagulación fueron medidos directamente en la cuba de mini-quesería y se realizaron los análisis microbiológicos, composición físico-química,

proteolisis, lipolisis, textura y color de los quesos durante la maduración (60 días). Al término de este periodo se realizó la evaluación sensorial con un panel de catadores familiarizados con quesos de oveja. En el caso de las dietas con ensilado de alcachofa no se realizaron análisis microbiológicos de la leche y queso.

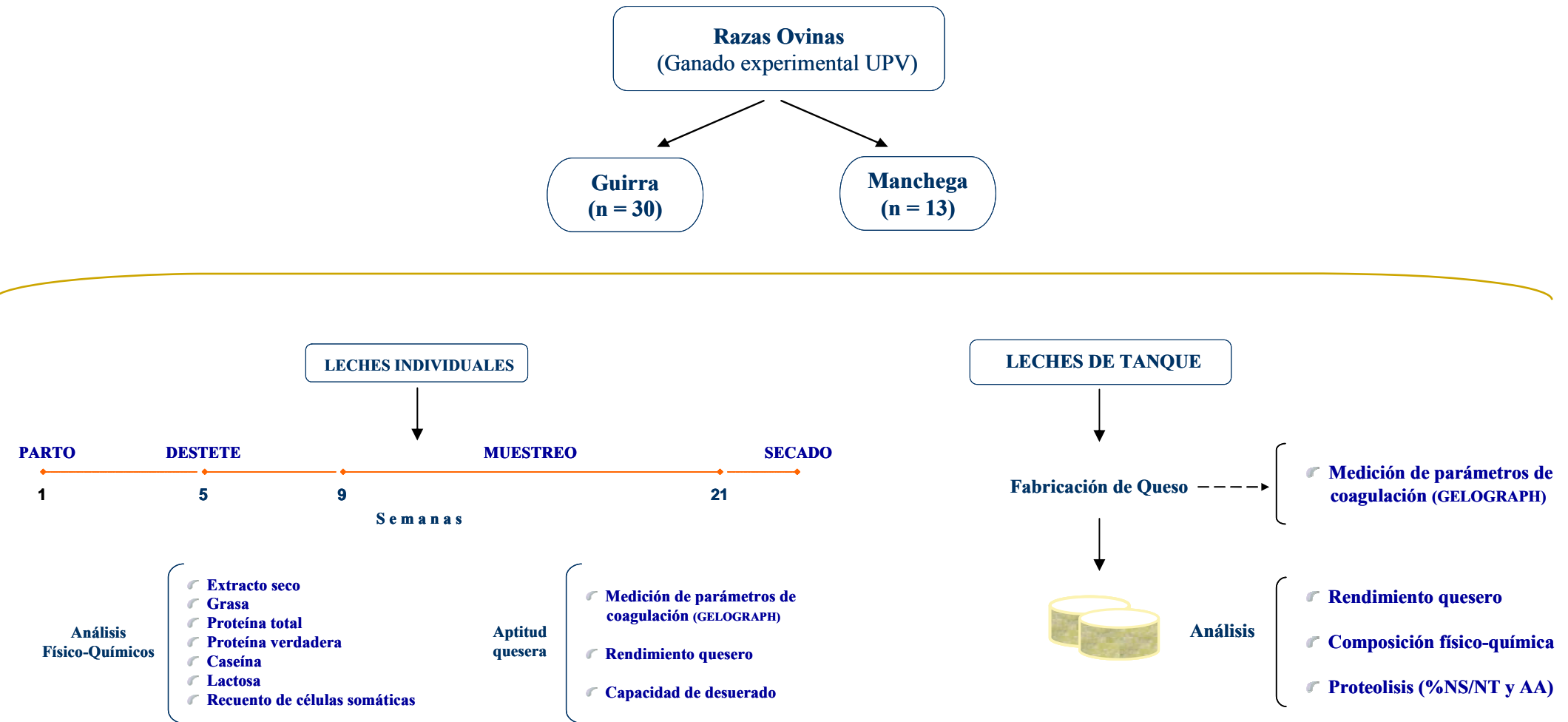


Figura 1. Plan de trabajo para la caracterización de la leche de oveja Guirra

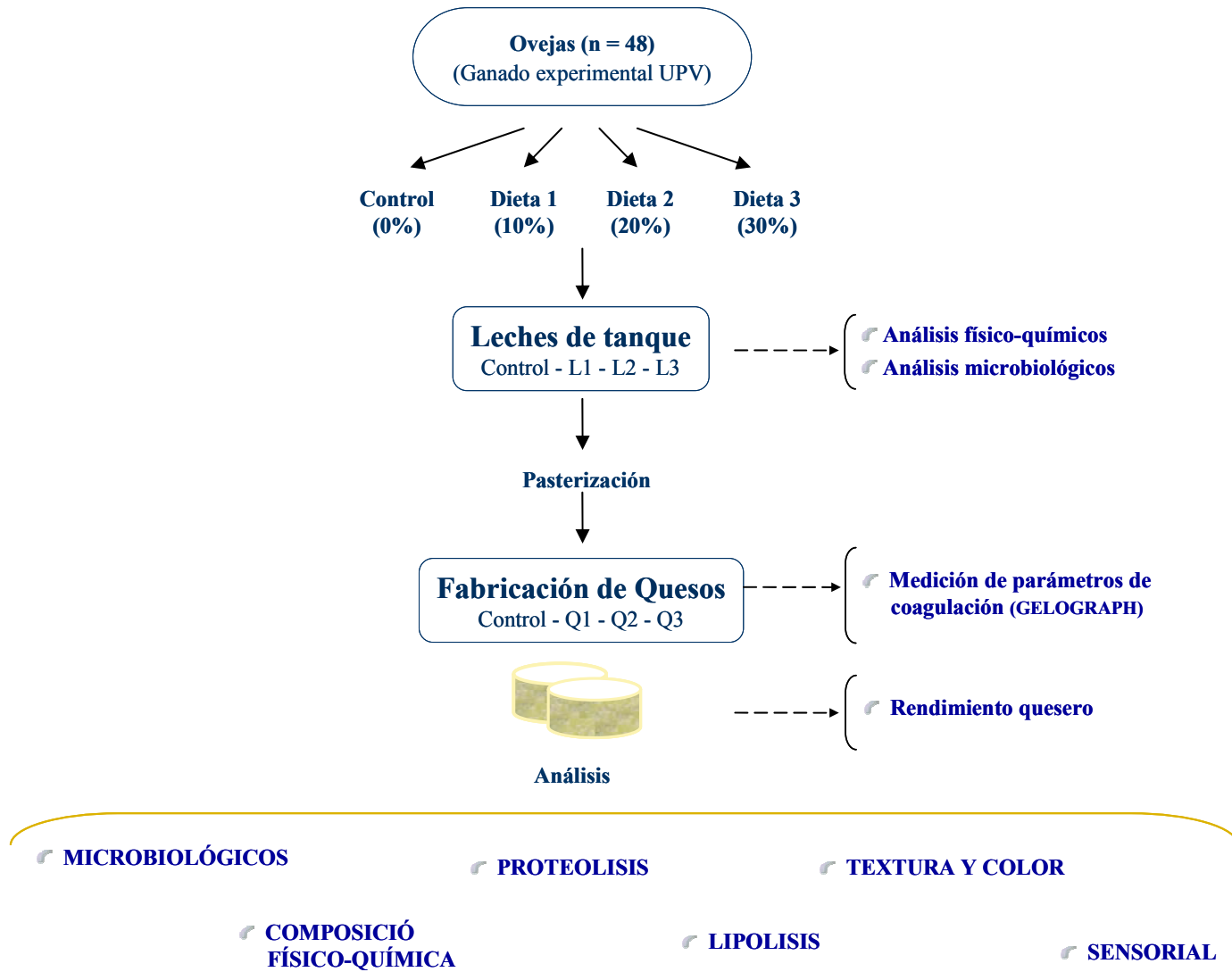


Figura 2. Plan de trabajo para la evaluación de las dietas con inclusión de cítricos de destrío y residuos de alcachofa

INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

A diferencia de la leche de vaca que se destina en su mayoría al consumo del producto líquido, la leche de oveja se emplea casi en su totalidad en la elaboración de quesos puros de oveja o quesos de mezcla. Aproximadamente un 1,3% del total de la leche producida en el mundo proviene de ovinos (FAOSTAT, 2006) siendo los países mediterráneos los de mayor tradición en la producción y procesamiento de leche de pequeños rumiantes.

En el caso de España, la producción de leche de oveja durante el año 2005 fue de 377 mil toneladas que representa el 6% del total de leche producida y que es ligeramente superior a la producción de leche de cabra (5,2 %). Debido a que la mayoría de la leche producida proviene de vaca, es de esperar que un gran porcentaje de la producción de quesos en España correspondan a quesos puros de vaca, seguidos de quesos de mezcla (Figura 3). No obstante los quesos puros de oveja representan un importante 13,4% de la producción total (EUROSTAT, 2006), existiendo en el mercado una gran variedad de quesos artesanos e industriales.

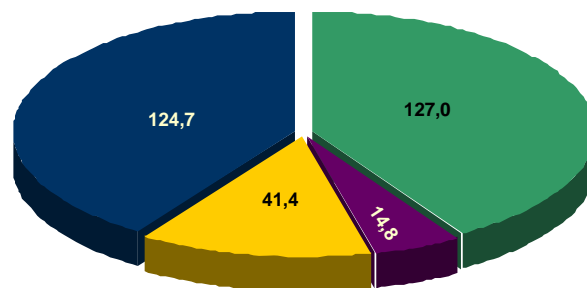


Figura 3. Producción de quesos de vaca (■), cabra (■), oveja (■) y mezcla (■) en España durante el año 2006 (X 1000 toneladas)

La producción de leche de oveja en España se ha visto incrementada por la influencia de diferentes factores. La introducción de razas foráneas altamente productivas y su cruce con razas locales, que en conjunto representan más del 45% de la población de ovejas lecheras (Ugarte *et al.*, 2001), es uno de ellos. De igual forma la modernización de los sistemas de producción, la mecanización del ordeño y también los avances en los programas de selección y mejora genéticos (Othmane *et al.*, 2002b) han contribuido al incremento de la producción. A pesar de estos avances, es común observar que de forma mayoritaria, los programas de

mejora de razas ovinas lecheras en Francia, Italia y España siguen el esquema convencional utilizado para ganado lechero vacuno, y consideran parámetros como el rendimiento lechero y el contenido de materia seca (grasa y proteína) como los principales criterios de selección (Macciotta *et al.*, 2004). No obstante, hay que enfatizar que otros parámetros como el contenido de caseína, recuento de células somáticas y pH presentan también cierto grado de correlación genética con las propiedades de coagulación de la leche (Ikonen *et al.*, 2004) y eventualmente pueden ser consideradas dentro de los programas de mejora genética, con el fin de obtener buenos rendimientos pero también leche con una buena aptitud tecnológica para su transformación en queso.

La calidad de la leche de razas ovinas españolas como la Churra, Castellana, Manchega o Latxa ha sido evaluada por diversos autores (López-Gálvez, 1993; Barrón *et al.*, 2001; Othmane *et al.*, 2002a; Gonzalo *et al.*, 2006). Existen pocos estudios sobre la aptitud a la coagulación de la leche proveniente de razas locales o autóctonas. No obstante las publicaciones científicas sobre el comportamiento de la leche de otras razas, explican la relación entre la composición de la leche de oveja y su aptitud tecnológica (Delacroix-Buchet *et al.*, 1994; Pellegrini *et al.*, 1994; Pugliese *et al.*, 2000). Sobre esta misma línea, también se ha investigado la influencia del polimorfismo genético característico de las proteínas de la leche de oveja, sobre las propiedades de coagulación (Pirisi *et al.*, 1999; Amigo *et al.*, 2000).

2.1. CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE DE OVEJA

2.1.1. Composición de la leche de oveja

La composición de la leche varía entre las diferentes especies pero siempre contiene los mismos constituyentes mayoritarios: agua, proteína, grasa, lactosa y minerales. La leche de cada especie o raza en particular, varía día a día dependiendo de factores como el estado de lactación, el sistema de reproducción, la alimentación, la edad, la salud del animal, las condiciones climáticas, etc. (Alichanidis y Polychroniadou, 1996). En general, la leche de oveja se diferencia de la leche de cabra y vaca por presentar un mayor contenido de sólidos totales, grasa y proteína (Tabla 1), que permite un mayor rendimiento quesero y la obtención de productos con más grasa y mejor valoración sensorial (Pappa *et al.*, 2006).

La lactosa es el carbohidrato mayoritario de la leche y además constituye la principal fuente de energía para la mayoría de microorganismos fermentativos que producen ácido láctico durante la obtención de algunos productos lácteos (Walstra *et al.*, 1999). Este componente cumple una función osmótica en la leche (Sevi *et al.*, 2000) de manera que influye sobre la incorporación de agua y por lo tanto en la producción (Alais, 1984). Algunos estudios indican que el contenido de lactosa en la leche de oveja disminuye con el número de lactaciones y también declina conforme avanza el periodo de ordeño (Sevi *et al.*, 2000; Casoli *et al.*, 1989). Este fenómeno se puede relacionar con el detrimento de la salud de la ubre del animal y de su función secretora (Bianchi *et al.*, 2004), y con la substitución progresiva de la lactosa por otros componentes osmóticos activos en la leche como los cloruros (Albenzio *et al.*, 2004). El efecto del contenido de lactosa en la leche sobre la coagulación enzimática no es especialmente importante, ya que aproximadamente un 96-98% de la lactosa se pierde con el suero de quesería; sin embargo la lactosa residual que queda en la cuajada puede influir sobre la calidad de los quesos madurados al transformarse en ácido láctico por acción de bacterias lactofermentativas (Fox y Kelly, 2006).

Tabla 1. Composición media de la leche de oveja, cabra y vaca

Componente (%)	Oveja ^a	Cabra ^b	Vaca ^c
Extracto seco	14,3 - 16,8	9,0 - 12,7	10,6 - 16,4
Proteína total	3,7 - 9,3	2,4 - 3,8	3,0 - 4,1
Grasa	2,4 - 10,4	2,6 - 5,4	3,3 - 6,9
Lactosa	3,4 - 6,2	4,4 - 4,8	4,6 - 5,4
Caseína	3,4 - 6,9	1,8 - 2,7	2,4 - 3,0

Fuente: ^a Pugliese *et al.* (2000); Bencini (2002); Jaeggi *et al.* (2005)
^b Soryal *et al.* (2005); Zullo *et al.* (2005)
^c Auldish *et al.* (2004)

La grasa es uno de los principales componentes de la leche de oveja. Aproximadamente entre el 98-99% del total de los lípidos de la leche son triglicéridos siendo mayoritarios los ácidos grasos de 6-12 carbonos (Assenat, 1991). La cantidad de grasa en la leche de oveja también se ve afectada, entre otros factores, por la etapa de lactación de manera que su contenido aumenta conforme avanza el periodo de producción (Pugliese *et al.*, 2000; Cappio-Borlino *et al.*, 1997; Aganga *et al.*, 2002). Existen discrepancias entre estudios acerca de la influencia

del número de lactaciones sobre el contenido de grasa en la leche de oveja. Algunos autores han observado un aumento del contenido de grasa con el número de lactaciones (Pugliese *et al.*, 2000; Sevi *et al.*, 2000) mientras que otros no han encontrado un efecto significativo de este factor (María y Gabiña, 1993). Las diferencias entre autores pueden ser debidas a fuentes de variación difíciles de estandarizar como la alimentación, el sistema de manejo, la edad y raza de los animales, etc. No obstante, la variación en el contenido de grasa puede influir sobre la aptitud tecnológica de la leche de oveja (Sevi *et al.*, 2004), y de manera particular sobre el rendimiento quesero (Jaeggi *et al.*, 2005).

Las proteínas de la leche se dividen en dos grupos mayoritarios, las caseínas y las proteínas del suero (Clément *et al.*, 2006). Las caseínas (CSN) predominantes son: α_{s1} -CSN, α_{s2} -CSN, β -CSN y κ -CSN y las proteínas del suero mayoritarias son la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina (Ruettimann y Ladisch, 1987). En general, en todas las especies estudiadas, se ha encontrado mayor heterogeneidad de las caseínas que de las proteínas del suero. La heterogeneidad de las caseínas está determinada por la presencia de variantes genéticas o por otros factores como el nivel de fosforilación, diferencias en la glicosilación o la presencia de otras formas proteicas de diferente tamaño (Amigo *et al.*, 2000). El polimorfismo de las proteínas de la leche es de especial interés para la industria quesera, debido a su correlación con la firmeza de la cuajada, el tiempo de coagulación, el contenido de caseína y el rendimiento quesero (Clément *et al.*, 2006). No obstante, existen otros factores como la concentración de caseína, el diámetro micelar y su grado de mineralización que también influyen sobre las propiedades tecnológicas de la leche (Pellegrini *et al.*, 1997). El contenido de proteína total de la leche tiene una relación negativa con el volumen de producción, de tal manera que al disminuir el rendimiento durante la lactación, su concentración aumenta al igual que la grasa y los sólidos totales (Bianchi *et al.*, 2004; Aganga *et al.*, 2002; Casoli *et al.*, 1989). La concentración de caseína al estar altamente correlacionada con el contenido de proteína total (Othmane *et al.*, 2002b) también muestra un incremento conforme avanza la lactación. La influencia del número de lactaciones sobre el contenido de los componentes proteicos ha sido descrita por algunos investigadores (Sevi *et al.*, 2000; Casoli *et al.*, 1989) quienes observaron un aumento de la proteína y caseína con el número de partos. El incremento de la proteína, caseína y grasa puede estar explicado por el aumento del peso corporal de las ovejas con mayor número de lactaciones y también probablemente a un aumento del tejido glandular de la ubre y por lo tanto de su capacidad de sintetizar estos componentes (Sevi *et al.*, 2000).

Los minerales mayoritarios en la leche de oveja son: calcio, magnesio, fósforo, sodio y potasio. Con el avance de la lactación, algunos autores han observado en general un aumento del contenido de minerales (Aganga *et al.*, 2002; Haenlein, 1996); sin embargo otras publicaciones indican una disminución del calcio difusible y del fósforo inorgánico y un aumento del contenido total de calcio (Pellegrini *et al.*, 1997). En cuanto al número de partos, algunos autores no han observado una influencia significativa de este factor sobre el contenido de minerales (Haenlein, 1996), mientras que otros investigadores han detectado un aumento del contenido de sodio conforme aumenta el número de lactaciones (Casoli *et al.*, 1989).

2.1.2. Características físicas de la leche de oveja

Las características físicas de la leche como el pH, acidez titulable, equilibrio salino, tamaño de la micela de caseína y del glóbulo graso, entre otros, son factores que influyen sobre la capacidad quesera de la leche. En general, en la leche de oveja se observa un mayor tamaño micelar, una mayor relación calcio/caseína, y una mayor concentración de compuestos del sabor y aroma, que en la leche de vaca y cabra (Haenlein y Wendorff, 2006). El mayor contenido de proteína en la leche de oveja explica su mayor acidez titulable y capacidad tamponante con respecto a la leche de bovinos y caprinos (Anifantakis, 1986).

El pH de la leche de oveja oscila entre 6,63 y 6,69 (Bencini, 2002; Pellegrini *et al.*, 1997) y al igual que otros componentes de la leche, también es influenciado por la lactación (Pellegrini *et al.*, 1994). Por el contrario, el número de partos parece no afectar el valor del pH (Casoli *et al.*, 1989) aunque se observa una relación entre el incremento del recuento de células somáticas de la leche (RCS) y un aumento paralelo del pH a medida que disminuye la salud de la ubre del animal (Pirisi *et al.*, 2000).

2.1.3. Calidad microbiológica y recuento de células somáticas

El Reglamento Europeo para leche cruda de otras especies distinta a la vaca, destinada a la industria láctea, establece como límites microbiológicos un recuento máximo de aerobios mesófilos de $1,5 \times 10^6$ y 5×10^5 ufc/mL de acuerdo a la aplicación o no de un tratamiento térmico y determina los límites para aflatoxina M₁ en $<0,05 \mu\text{g/kg}$ (European Council Directive 92/46 EEC, 1992). Entre los factores que afectan la calidad microbiológica de la

leche se encuentran el nivel tecnológico de la explotación, las condiciones de confinamiento, la alimentación, etc. El ordeño realizado a mano normalmente es menos higiénico y la leche suele tener una menor calidad microbiológica que aquella que es extraída mediante sistemas de ordeño especializados. Igualmente, la leche proveniente de ovejas mantenidas en confinamiento tiende a presentar mayores recuentos microbiológicos que la obtenida de rebaños en pastoreo extensivo (Gonzalo *et al.*, 2006).

El nivel de células somáticas en la leche no sólo influye sobre la composición de la leche, sino también sobre el valor de pH y sus características de coagulación. Leches de oveja para quesería con RCS elevados ($>10^6$ cél/mL) pueden tardar el doble de tiempo en coagular en comparación a muestras de leche con recuentos por debajo de 5×10^4 cél/mL (Pirisi *et al.*, 1994). Tanto el RCS como la salud de la ubre son parámetros que se relacionan entre sí e influyen sobre la activación proteolítica de algunas enzimas de la leche como la plasmina y el sistema plasminógeno (Albenzio *et al.*, 2004).

2.2. FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE LA COMPOSICIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE

Son varios los factores que influyen sobre la composición y la calidad de la leche que pueden ser descritos como intrínsecos cuando son inherentes al animal, y extrínsecos. Estos factores también afectarán la producción de leche y por lo tanto influirán sobre su composición ya que existe una alta correlación inversa entre el rendimiento lechero y la composición observándose una reducción en el contenido de grasa y proteína conforme incrementa la producción de leche.

2.2.1. Factores intrínsecos

La **raza** de oveja utilizada para la explotación lechera influye de manera determinante sobre la cantidad y calidad de la leche obtenida. El objetivo principal de los sistemas de mejora genética ha sido tradicionalmente el de incrementar la cantidad de leche producida durante una lactación. Así por ejemplo para la raza Manchega el criterio de selección establecido es el rendimiento de leche individual estandarizado a 120 días de lactación y un contenido de grasa ajustado al 6% (Serrano *et al.*, 1996). Tanto las explotaciones de razas puras como la de ovejas cruzadas han sido evaluadas en relación a la producción y calidad de la leche. Lana y

Lasarte (1998) observaron que el cruce de ovejas Latxa con Milchschaf (50% Latxa, 50% Milchschaf) promovió el incremento en producción en un 76% en promedio durante la lactación, no obstante el contenido de grasa fue mayor en las ovejas Latxa puras en comparación con la primera generación de ovejas cruzadas. Independientemente de otros factores, las diferentes razas ovinas lecheras presentan una alta variabilidad en cuanto a producción y composición de la leche que viene determinado por su genotipo.

Otro factor que influye sobre las características de la leche es el **estado de lactación**. Es sabido que los principales componentes de la leche presentan una curva inversa y simétrica con la de la producción. La menor concentración de grasa y proteína coincide normalmente con el pico de producción de leche. Consecuentemente estos dos componentes aumentan continuamente hasta el secado de las ovejas (Figura 4).

Con respecto a la influencia del **número de partos** sobre la producción y composición de la leche existen algunas discrepancias entre las observaciones realizadas por diferentes investigadores, probablemente debidas a la influencia de otros factores que dificultan las comparaciones. En el caso de ovejas de raza Comisana con 1, 2 y 3 lactaciones, se observó un ligero incremento de la producción con el aumento de las lactaciones aunque no de forma significativa, sin embargo el contenido de proteína se afectó por este factor de forma que aumentó con el número de lactaciones y de igual forma lo hizo el contenido de caseína y grasa (Sevi *et al.*, 2000). Contrariamente, Casoli *et al.* (1989) sí observaron un efecto del número de lactaciones sobre la producción de leche, de forma que las ovejas de raza Massase con tres o más lactaciones presentaron los mayores rendimientos. De igual forma también encontraron un efecto de esta variable sobre casi todas las características físico-químicas de la leche a excepción del pH, acidez y cenizas.

El **estado sanitario** de los animales influye notablemente sobre la producción y composición de la leche, siendo la infección de la ubre la enfermedad más común en las ovejas lecheras. Las ovejas mastíticas son indirectamente diagnosticadas mediante el recuento de células somáticas. Las ubres inflamadas hacia el final de la lactación proporcionan leche de baja calidad, con menor contenido de lactosa y grasa, y peores propiedades de coagulación (Bianchi *et al.*, 2004).

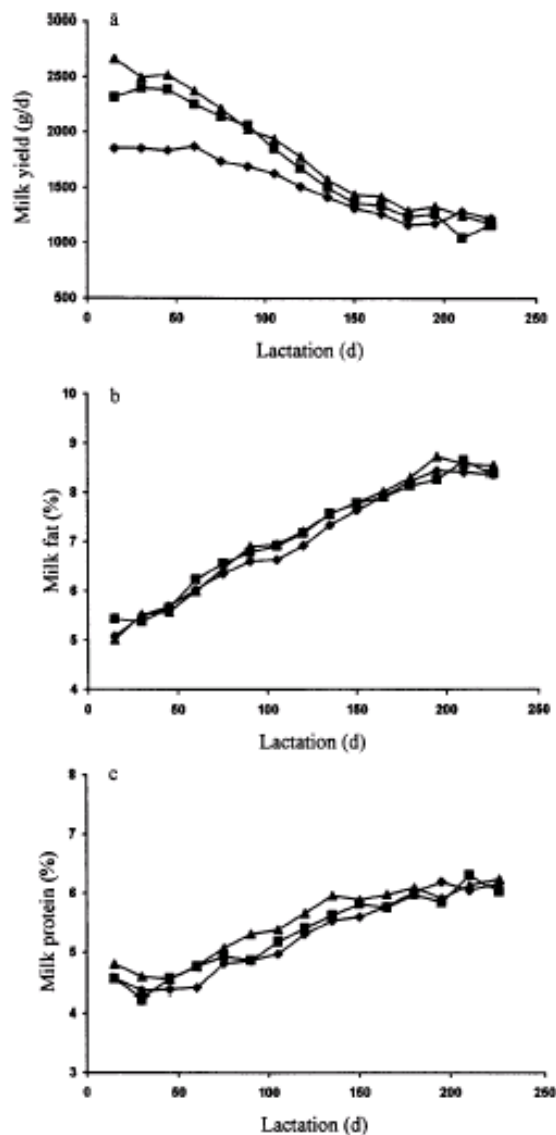


Figura 4. Curvas de producción de leche, contenido de proteína y de grasa durante la lactación de ovejas lecheras del Valle del Belice (tomado de Cappio-Borlino et al., 1997)

2.2.2. Factores extrínsecos

El **sistema de ordeño** utilizado influye poco sobre la producción lechera pero puede afectar la composición de la leche. De la Fuente *et al.* (1997) observaron diferencias en el contenido de grasa y proteína entre rebaños ordeñados a mano y mediante ordeño mecánico y adicionalmente encontraron un mayor recuento de células somáticas en el primero, que atribuyeron parcialmente a las condiciones higiénicas menos óptimas que se presentan cuando el ordeño es manual. Las concentraciones de grasa y proteína de la leche, también pueden ser

afectadas por el intervalo de tiempo entre ordeños. De acuerdo con Knight y Gosling (1995), el realizar un solo ordeño por día (mañana) a partir de la octava semana de lactación produjo en promedio un incremento de la proteína y una reducción en el contenido de lactosa y además afectó la producción de forma que las ovejas (raza Dorset) ordeñadas una vez al día produjeron un 4,2% menos leche que aquellas ordeñadas diariamente en la mañana y tarde.

La **estación del año** es otro factor que influye sobre la producción y calidad de la leche como ha sido descrito por diferentes autores para leche de oveja (Carta *et al.*, 1995; Barrón *et al.*, 2001; Sevi *et al.*, 2004). Las diferencias en composición pueden deberse a la calidad y disponibilidad de pasto durante cada estación, a las temperaturas extremas durante el verano, a variaciones en el fotoperiodo, etc.

La **alimentación** es probablemente uno de los factores que más condicionan la producción y la composición de la leche. Las necesidades nutricionales de las ovejas lecheras varían de acuerdo a la etapa productiva de los animales, de modo que durante los periodos de mantenimiento, crecimiento (animales jóvenes), variación de peso (corderas adultas), gestación, cría de corderos (lactancia natural) y ordeño, se deben proporcionar los niveles energéticos, proteicos y minerales adecuados (Caja, 1994).

El período de lactancia natural constituye la etapa de mayores necesidades nutricionales debido a la producción de leche y que en parte pueden estar determinadas por el número y vigor de los corderos. Para ovejas típicamente lecheras como la Manchega, la producción puede oscilar entre 1,2-1,9 L/día, que permite un crecimiento medio de los corderos de 150-250 g/día. Este periodo, supone una producción total de leche de 35-70 L/oveja en los 28-35 días que puede durar la lactancia natural de los corderos (Caja, 1994). Este periodo de lactancia y la fase final de gestación son críticos para la producción de leche, ya que carencias nutricionales durante estas etapas se traducen en una lactación con un pico de producción bajo o tardío (Caja y Bocquier, 2000). A pesar de que durante la lactación, las necesidades alimenticias de las ovejas son más elevadas, este incremento no se corresponde con una mayor capacidad de ingestión. Por esta razón, los animales empiezan a movilizar reservas corporales para cubrir el requerimiento energético necesario para la producción de leche (Gallego y Molina, 1994). Las necesidades nutricionales durante el ordeño pueden ser determinadas en base al nivel de producción y composición de la leche. Normalmente el ganadero no dispone de esta información a tiempo real, por lo que con frecuencia realiza

estimaciones para determinar la cantidad de nutrientes que se deben suministrar durante la lactación. Las ovejas de razas Españolas suelen caracterizarse por elevados contenidos de grasa y proteína en la leche, por lo que es necesario realizar las correcciones energéticas y proteicas adecuadas para evitar una carencia nutricional. Durante este periodo, es necesario considerar que con el aumento del nivel productivo, normalmente ocurre una disminución del contenido de grasa y proteína y que estos parámetros evolucionan de forma inversa a la producción. Así los valores de energía y proteína tienen que ser modificados para suplir las necesidades nutricionales a través de la alimentación (Caja, 1994).

2.3. INFLUENCIA DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE EL CONTENIDO DE GRASA Y PROTEÍNA DE LA LECHE

El contenido de **grasa** de la leche depende de varios factores nutricionales como el balance energético, la concentración, consumo y fuente de fibra neutro detergente y carbohidratos no fibrosos, el tamaño de partícula de la fibra y del concentrado y la cantidad y características físicas de los ácidos grasos contenidos en suplementos dietéticos (Pulina *et al.*, 2006). Una dieta basada en piensos ricos en carbohidratos simples con una baja proporción de forraje/concentrado y una fuente de fibra demasiado fina (partículas pequeñas), puede reducir la formación de acetato y butirato que son los principales precursores de la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria y reducir así el contenido de grasa en la leche (Sanz-Sampelayo *et al.*, 2007).

Debido a la intensificación de los sistemas productivos de ovino lechero, se ha observado un incremento de la producción de leche y una consecuente reducción de la concentración de grasa y proteína. Ya que estos dos componentes de la leche son prioritarios para la fabricación de queso, se ha recurrido a la utilización de suplementos grasos en las raciones. Esta estrategia para incrementar el contenido de grasa en la leche, puede influir negativamente sobre la ingesta de alimento y producir así una disminución del contenido de proteína en la leche (Caja y Bocquier, 2000). Por esta razón recientemente se ha evaluado la inclusión de diferentes fuentes de grasa en la dieta de ovejas lecheras. Así, Antongiovanni *et al.* (2002) evaluaron el empleo de un suplemento graso comercial y metionina protegida adicionándolos de forma separada y conjunta a la ración base compuesta por heno de alfalfa, pienso de maíz y harina de soja y permitiendo un consumo de forraje *ad libitum* por las ovejas lactantes. Los animales se mantuvieron alimentados a base de estas dietas experimentales durante una

semana, precedida por 10 días de adaptación para que la microbiota del rumen se acostumbrara a las nuevas raciones. Los autores no observaron ningún efecto sobre la producción de leche pero sí describieron un incremento en el contenido de grasa cuando los animales recibieron las dietas experimentales, no obstante también fue evidente una reducción del contenido de proteína en la leche. En la misma línea, Papadopoulos *et al.* (2002) también observaron un incremento en la grasa de la leche cuando emplearon algas (*Schizochytrium* sp) ricas en ácidos grasos poliinsaturados en la ración base de heno de alfalfa y concentrado. La adición de este aditivo en todas sus concentraciones provocó un incremento del contenido de proteína, a la vez que la leche se vio enriquecida en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados con más de veinte carbonos. Otro suplemento natural evaluado en la dieta de ovejas es la semilla de linaza (*Linum usitatissimum*). Este ingrediente es una fuente importante de ácido α -linolénico y se emplea con el fin de incrementar la presencia de ácidos grasos poliinsaturados en la grasa láctea. La inclusión de semillas de linaza (0, 9, 18 y 26% base seca de la dieta) en la dieta de ovejas lactantes puede llegar a incrementar el rendimiento lechero cuando los niveles son de 26% de la ración (Zhang *et al.*, 2006). A los más altos niveles de inclusión (18 y 26%) ya es apreciable un aumento del porcentaje de grasa en la leche sin afectar significativamente el contenido de proteína.

La concentración de **proteína** en la leche también puede ser influenciada por los factores nutricionales, no obstante tiene un intervalo de variación más estrecho que el presentado por la tasa butírica, de modo que las posibilidades de incrementar su contenido en la leche exclusivamente a través de la alimentación son más reducidas (Pulina *et al.*, 2006). El nivel de proteína en la leche por lo general mantiene una correlación positiva con la concentración energética de la dieta ($r = 0,64$), que generalmente es aportada por la inclusión de alimentos concentrados (Bocquier y Caja, 2001). La eficiencia de la utilización del nitrógeno de la dieta por parte del animal determina el nivel de proteína cruda que debe aportar la dieta. Sevi *et al.* (2006) evaluaron dos niveles de proteína cruda en la dieta (13 y 16% de la materia seca de la ración) observando que al menor nivel de proteína en la ración, se observó un mayor contenido de caseína en la leche sin que influyera grandemente sobre el nivel de proteína total. La utilización eficiente de la proteína de la dieta por parte del animal es estimada mediante la determinación de la cantidad de urea en la leche y que por lo tanto sirve como índice para formular raciones nutricionales (Cannas *et al.*, 1998). El objetivo de incrementar el contenido de proteína en la leche ha impulsado los estudios sobre suplementos proteicos o nuevas fuentes de proteína. En esta línea Christodoulou *et al.* (2005) evaluaron el empleo de

leguminosas (*Cicer arietinum*) en reemplazo de la harina de soja utilizada como fuente proteica en la dieta de ovejas lecheras. La inclusión de esta fuente proteica no tuvo influencia sobre el rendimiento ni sobre la composición de la leche. Por otro lado, Milis *et al.* (2005) evaluaron la influencia del grado de degradabilidad de dos fuentes proteicas: harina de gluten de maíz y harina de soja, (proteína de baja y alta degradabilidad, respectivamente) en la dieta de ovejas lactantes, y observaron una mayor concentración de proteína en las dietas que incluían la fuente de proteína de menor degradabilidad; esta dieta con gluten de maíz, al ser suplementada con lisina protegida igualó en rendimiento lechero a la dieta que incluía la harina de soja como fuente proteica. Otras fuentes proteicas como la harina de carne o pescado también han sido empeladas en la alimentación de rumiantes y evaluadas por Hadjipanayiotou *et al.* (1996), quienes observaron que el empleo de estos ingredientes en reemplazo de harina de soja no influyó sobre los parámetros de rendimiento lechero ni sobre el sabor de la leche.

2.4. UTILIZACIÓN DE RESIDUOS Y SUBPRODUCTOS AGRÍCOLAS EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES MENORES

Actualmente los sistemas productivos de ovejas lecheras, se caracterizan por ser más intensivos que en el pasado debido, entre otros factores, a la introducción de razas especializadas para la producción de leche, a la menor disponibilidad de tierras de pastoreo y a la mayor tecnificación de los sistemas de ordeño. Los censos ovinos se concentran principalmente en zonas de regadío y para muchas explotaciones el pastoreo continúa siendo una fuente importante de alimentación. No obstante, se ha observado un incremento del número de explotaciones en los que los animales permanecen estabulados de forma continua, ya que el tiempo y la distancia que tienen que recorrer los animales para llegar a las zonas de pastoreo puede ser una desventaja productiva (Lavín *et al.*, 2001). Es así que el sector ovino depende de fuentes energéticas y proteicas generalmente más costosas, para cubrir las necesidades nutricionales de los animales en estabulación, especialmente durante la época de lactancia. Una alternativa para ampliar la disponibilidad de fuentes nutritivas para el ganado ovino, es la utilización de subproductos locales que son una alternativa interesante debido a la capacidad del sistema del rumen para utilizar estos subproductos que suelen ser ricos en fibra y carbohidratos complejos. El empleo de residuos de cultivos o subproductos agroindustriales en la alimentación de pequeños rumiantes no es una práctica nueva. No obstante, las publicaciones sobre las características nutricionales, digestivas y sanitarias de estos alimentos

son limitadas. Algunos autores también han evaluado el efecto de la inclusión de subproductos en la dieta de pequeños rumiantes sobre la producción y composición de la carne y/o leche (Tabla 2).

Son pocas las evaluaciones realizadas exclusivamente con ovejas lecheras, sin embargo los resultados encontrados sugieren que el empleo de subproductos en la alimentación de ovejas en ordeño, es una alternativa viable ya que no influyen negativamente sobre la producción y la calidad de la leche.

Tabla 2. Empleo de diferentes subproductos agrícolas en la alimentación de pequeños rumiantes

Residuo	Especie / propósito	Objetivo / nivel de inclusión	Fuente
Hojas desecadas al sol y planta completa ensilada de alcachofa (<i>Cynara scolymus</i>)	Cabra Murciano-Granadina / carne	Evaluar la forma de conservación, digestibilidad y el valor nutricional de la dieta (consumo <i>ad libitum</i>)	Hernández <i>et al.</i> (1992)
Pulpa de cítricos deshidratada	Ovejas Karagouniko / leche	Determinar la composición nutricional y digestibilidad y el efecto sobre rendimiento y composición de la leche (30% de la dieta)	Fegeros <i>et al.</i> (1995)
Residuos del cultivo de Girasol (<i>Helianthus annuus</i>)	Ovejas y cabras / sin determinar	Evaluar el consumo, ganancia de peso y digestibilidad de la dieta (20, 30 y 40% de la dieta)	Rasool <i>et al.</i> (1998)
Ensilaje de raquis de banana (<i>Musa acuminata</i>)	Cabra Majorera / carne	Evaluar la composición bromatológica de los residuos y el efecto de su inclusión en la dieta sobre la ganancia de peso (100 g de ensilado/animal/día)	China <i>et al.</i> (1999)
Ensilaje de torta cruda de oliva	Ovejas Chios, cabras Damascos, vacas Friesian / leche	Evaluar la inclusión de este subproducto en reemplazo del heno y/o rastrojo de cebada (~15% de la dieta)	Hadjipanayiotou (1999)
Harina de hojas deshidratadas de alcachofa (<i>Cynara scolymus</i>)	Cabra y oveja / leche	Determinar el efecto de la dieta sobre la producción y composición de la leche (5 y 10% materia seca de la ración)	Bonomi <i>et al.</i> (2004a) Bonomi <i>et al.</i> (2004b)
Ensilado de naranjas no comercializables troceadas y otros subproductos	Ovejas Sfakian / leche	Evaluar la composición y calidad microbiológica del ensilado y el efecto sobre el rendimiento y la composición de la leche (3 kg/animal/día)	Volanis <i>et al.</i> (2004)
Brácteas de alcachofa (<i>Cynara scolymus</i>)	Oveja “Gentile di Puglia” y cabras Saanen / carne	Determinar el efecto del consumo de brácteas sobre la calidad de la carne (consumo <i>ad libitum</i>)	Marsico <i>et al.</i> (2005)
Pulpa de limón despectinizada	Ovejas: 60 machos y 780 hembras / sin determinar	Evaluar la composición nutricional, la calidad zoonosanitaria y el efecto de la dieta sobre la salud de los animales (2,25 kg/animal/día)	Niutta <i>et al.</i> (2005)
Hojas de coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var <i>italica</i>) y de col (<i>Brassica oleracea</i> var <i>capitata</i>), vainas y tallos de guisantes (<i>Pisum sativum</i>)	Cabra Beetle x Anglo Nubian x French Alpine / machos adultos	Evaluar la composición, el consumo y digestibilidad <i>in vivo</i> de los residuos ofrecidos en la dieta (consumo <i>ad libitum</i>)	Wadhwa <i>et al.</i> (2006)
Cascarilla de soja	Ovejas raza Assaf / leche	Determinar digestibilidad <i>in vitro</i> y el efecto sobre la producción de leche (33% materia seca de la ración)	Zenou y Miron (2005)
Subproducto de la extracción de zumo de tomate (agua, semillas y piel)	Ovejas macho Awassi / sin determinar	Mejorar el ensilado de la pulpa de tomate mediante la adición de granos o paja de trigo y determinar la digestibilidad y aceptabilidad del alimento <i>in vivo</i> (85% del consumo <i>ad libitum</i> del animal)	Denek y Can (2006)

El residuo de la industria de cítricos más utilizado en la alimentación animal es la pulpa de cítricos deshidratada, que por su composición puede sustituir a fuentes energéticas más costosas como el maíz en forma de harina o granos y la cebada que suelen recibir las ovejas lecheras en estabulación. La incorporación de hasta un 10% de este subproducto en la dieta no disminuye el rendimiento lechero aunque puede modificar la composición de la grasa láctea reduciendo los ácidos grasos de cadena corta (Fegeros *et al.*, 1995).

Otros subproductos cítricos han sido evaluados por Volanis *et al.* (2004), quienes preservaron este subproducto mediante el ensilaje y estudiaron el efecto de su utilización en la dieta de ovejas lactantes sobre la composición y producción de leche. Según los resultados obtenidos, el ensilado de naranjas troceadas puede ser ofrecido a las ovejas sin ningún efecto negativo sobre su aptitud productiva. En relación al rendimiento lechero, los animales que recibieron este subproducto mostraron rendimientos diarios globales menores, aunque el rendimiento de leche estandarizado al 6% de grasa no fue distinto al obtenido con la dieta convencional. Por otro lado, en cuanto a la composición de la leche, aquella correspondiente a la dieta experimental mostró mayor contenido de grasa (16%), lo cual es beneficioso en la leche de estos rumiantes ya que se emplea prácticamente en su totalidad para la fabricación de quesos.

Otra alternativa para la alimentación de ovejas, cabras y vacas lecheras es el ensilado de torta cruda de oliva. Este subproducto proviene de la extracción de aceite y contiene una mezcla de piel, fibras, semillas y huesos de oliva, que pueden ser ensilados y ofrecidos como reemplazo de otros forrajes como heno o paja de cebada (Hadjipanayiotou, 1999). En este estudio se obtuvo un ensilado libre de hongos y olores desagradables, con un buen aroma y un pH adecuado, que de acuerdo a sus características nutricionales y digestivas puede llegar a componer entre el 15 y 20% (en base seca) del total de la dieta de rumiantes en estabulación. De acuerdo con el autor, la inclusión de este subproducto no influyó sobre el rendimiento lechero de las diferentes especies evaluadas, aunque sí indujo un incremento del contenido de grasa en la leche proveniente de ovejas ($P<0,05$) y cabras ($P<0,1$) alimentadas con la dieta experimental, que fue atribuida al aporte de grasa y fibra de la torta ensilada. En el caso de las cabras y vacas lecheras fue perceptible una reducción de su peso corporal, no obstante este hecho pareció no influir negativamente sobre el rendimiento y/o el contenido de proteína de la leche de estas dos especies. También para cabras lecheras, Bonomi *et al.* (2004a) evaluaron la inclusión de harina de hojas de alcachofa deshidratadas en substitución de la harina de alfalfa

deshidratada en la dieta de estos rumiantes, y observaron que la utilización de este subproducto no comprometió la salud de los animales ni su función lechera.

El reemplazo de alimentos prefabricados para rumiantes por fuentes locales más económicas es uno de los objetivos principales del empleo de diferentes subproductos agrícolas. En este sentido Zenou y Miron (2005) evaluaron el empleo de cascarilla de soja en la formulación de piensos ofrecidos a ovejas lecheras, en reemplazo del almidón utilizado en el pienso comercial. Este residuo del lavado y descascarillado de la soja aportó mayor cantidad de fibra neutro detergente, a la vez que promovió un mayor consumo de materia seca y fibra que finalmente se reflejó en un incremento de la producción de leche y del contenido de grasa de la misma. Los autores recomendaron el empleo de este subproducto en la alimentación de ovejas de elevado rendimiento lechero ya que a pesar del incremento en la producción y el contenido de grasa, el rendimiento proteico de la leche no fue influenciado por la sustitución del almidón por la cascarilla de soja. Los estudios realizados para ovejas y cabras para otros propósitos distintos a la producción de leche, también han demostrado la viabilidad del uso de subproductos agrícolas en la alimentación de estos rumiantes. Como ejemplo está la evaluación realizada por Hernández *et al.* (1992) sobre la calidad nutricional y los parámetros de digestibilidad, tanto de las hojas desecadas al sol como del ensilado de la planta entera de alcachofa, ofrecidas a machos cabríos. Los autores observaron que las hojas desecadas al sol llegaron a cubrir las necesidades de mantenimiento de los animales, mientras que la planta entera desecada al sol puede ser ofrecida como parte de una ración correctamente suplementada.

Otro de los objetivos de la utilización de residuos o subproductos vegetales en la alimentación animal es el de reducir o facilitar el manejo de desechos de las actividades agrícolas locales. En este sentido China *et al.* (1999), evaluaron el empleo de raquis de banano, que es el residuo de la clasificación y empaque de la fruta, como alternativa forrajera para el ganado caprino de las Islas Canarias. Este estudio permitió determinar el mejor procedimiento para ensilar y preservar este residuo, de forma que se convierta en una alternativa para el manejo de estos desechos. De acuerdo con los investigadores, una de las mejores alternativas para mejorar el proceso de ensilaje de este subproducto fue la adición de maíz molido en comparación con la adición de melaza de remolacha. El producto final presentó buenas características nutricionales y fue apetecible a los animales de forma que promovió su

consumo e incrementó la relación de materia seca consumida y ganancia de peso de los animales.

Un subproducto más tradicional de la industria conservera mediterránea como es la alcachofa también ha sido evaluado para la alimentación de corderos y cabritos para carne. Marsico *et al.* (2005) emplearon brácteas de alcachofa en la dieta de estos animales y describieron el efecto de su empleo en las dietas sobre las características del producto final. Los autores observaron que independientemente de la especie, la carne de los rumiantes alimentados con el residuo de alcachofa presentó un mayor contenido de agua, menos grasa y menor nivel de colesterol. A pesar de la modificación de estos parámetros y de la influencia de la dieta sobre la composición de la grasa, no se observó un efecto negativo de la inclusión de alcachofa en la dieta sobre los demás componentes de la carne.

Los estudios que describen las características de los productos finales obtenidos de los animales alimentados a base de residuos, son escasos. La mayoría de estas publicaciones tienen como objetivos determinar la influencia de las dietas sobre la producción, la salud y el desempeño del animal, las características nutricionales, la digestibilidad y la forma de conservación del alimento.

En esta línea, Rasool *et al.* (1998) evaluaron la calidad de los residuos del cultivo de girasol para la alimentación de rumiantes. De acuerdo con los resultados descritos, este subproducto es un alimento rico en proteína cruda, relativamente bajo en fibra y puede ser incluido hasta un nivel de 20% en la ración de ovejas y cabras. La ganancia de peso observada en los animales que recibieron esta dieta y la digestibilidad de este subproducto fue comparable al descrito para otras fuentes nutritivas tradicionales como la paja de trigo y residuos del cultivo de soja. El aporte nutricional de otros subproductos agrícolas ha sido evaluado por Wadhwa *et al.* (2006). Estos autores observaron que desechos del cultivo o procesamiento de vegetales como las hojas de coliflor, hojas de col y vainas de guisantes pueden presentar valores de digestibilidad de materia seca y de fibra superiores a los descritos para otros alimentos tradicionales como por ejemplo la avena tierna. No todos los desechos vegetales presentan tales características, de hecho algunos residuos pueden contener factores anti-nutricionales, como un elevado contenido de lignina, que reduce la digestibilidad de los nutrientes, como es el caso de los tallos rastreros de la planta de guisante evaluados también por estos investigadores.

La composición del subproducto agrícola determinará su viabilidad para ser utilizado como alimento animal y también influirá sobre su conservación y manejo. Normalmente los residuos agrícolas contienen una gran cantidad de agua que facilita su deterioro y obliga a emplear técnicas de ensilaje para conservarlos. Un ejemplo de conservación es el sugerido por Denek y Can (2006) quienes después de evaluar dos procesos para ensilar los residuos de la extracción de zumo de tomate, observaron mejores características nutricionales para los subproductos ensilados con un 10% de paja de trigo. Este sistema resultó en la obtención de un ensilado de buena calidad nutricional que puede ser ofrecido a ovejas durante los periodos de escasez de forrajes.

La determinación del valor nutritivo y de la digestibilidad de los diferentes subproductos no es suficiente para recomendar su empleo en la alimentación de animales. Determinar los niveles seguros de inclusión de subproductos en la dieta ha sido parte de la caracterización realizada por algunos autores. Gasa *et al.* (1989) evaluaron el aporte nutricional y la digestibilidad de diferentes subproductos derivados de la industria conservera de frutas y vegetales de la zona mediterránea. Los diferentes residuos utilizados fueron incluidos en proporciones de 20, 40, 60, 80 y 100% en la dieta. La evaluación se realizó con ovejas adultas de raza Aragonesa que no se encontraban en estado de lactación ni gestación. Los subproductos evaluados fueron: pulpa de tomate secada al sol (*Solanum lycopersicon esculentum*), pimientos (*Capsicum annuum*), coliflor (*Brassica oleracea*) y alcachofa (*Cynara scolymus*) frescos, tallos de guisantes (*Pisum sativum*) y residuos sólidos del prensado de la manzana (*Malus communis*). El experimento permitió determinar que la inclusión de 80 y 100 % de residuos de manzana en la dieta provocó un gran rechazo por parte de los animales. Por otro lado, aquellos que fueron alimentados con el máximo nivel de inclusión de pimientos frescos (80%) presentaron desórdenes digestivos. Por el contrario, los subproductos que presentaron mayor aceptación y digestibilidad de la materia orgánica fueron los residuos de manzana a niveles de 60%, de coliflor fresca a niveles de 80 y 100%, y de alcachofa fresca independientemente del nivel de inclusión.

De acuerdo con la revisión de literatura realizada por Bampidis y Robinson (2006), los estudios del empleo de residuos cítricos en rumiantes lecheros se ha concentrado principalmente en la utilización de pulpa deshidratada para la alimentación de rumiantes (generalmente vacas lecheras). Un panorama más amplio sobre los subproductos derivados de esta actividad agrícola fue descrito por Gohl (1973), quien también explica las diferentes

formas de aprovechamiento de los residuos de cítricos en la alimentación animal. De acuerdo con el autor, los cítricos que se llegan a procesar industrialmente a mayor escala son la naranja (*Citrus sinensis* Pers.) y la toronja (*Citrus paradisi* Macf.), para la extracción de zumo. Los subproductos que se generan de este proceso industrial son la piel y el albedo de la fruta y también melaza y harina de semillas. Los cítricos enteros que caen de los árboles y/o las frutas que no son comercializables pueden ser ofrecidos directamente a los rumiantes, aunque es preferible que sean previamente troceados para evitar una obstrucción del esófago del animal. La pulpa fresca de los cítricos es un alimento palatable para las vacas que pueden llegar a consumir hasta 10 kg/día. Debido a su alto contenido de humedad, este subproducto resulta perecedero y difícil de manejar por lo que puede ser ensilado solo o mezclado con pasto o leguminosas secas. Otra alternativa para preservar la pulpa de cítricos es el secado. El proceso resulta costoso y sólo es efectivo cuando se tiene grandes volúmenes de subproducto acumulado. Debido a su palatabilidad, composición nutricional y a su fácil manejo con otros alimentos, la pulpa de cítricos deshidratada es el subproducto más empleado en la alimentación de animales e incluso es comercializado en forma de pienso extrusionado. La melaza que resulta de la concentración del líquido obtenido del prensado de los cítricos, puede ser empleada igual que las melazas de azúcar como complemento energético en la alimentación de ganado. Por último, las semillas de los cítricos son sometidas a un proceso de extracción de aceite que da como resultado una especie de torta de semillas que puede ser empleado en la alimentación de rumiantes de forma similar a la torta de semillas de algodón. Como se mencionó anteriormente, la mayoría de los residuos cítricos que se emplean en la alimentación de animales provienen de naranjas y toronjas mayoritariamente. No obstante, también se ha realizado algún estudio preliminar sobre el empleo de residuos de limón como alimento animal. Así Niutta *et al.* (2005), evaluaron las características de la pulpa de limón despectinizada y determinaron la presencia de metales pesados, residuos de insecticidas y características microbiológicas de este subproducto. Los resultados de este ensayo permitieron determinar que desde el punto de vista zoonosanitario, es un ingrediente seguro y que adicionalmente no provoca problemas de salud ni presencia de valores anormales de los parámetros clínicos evaluados en los animales a niveles de alimentación de aproximadamente 2 kg/día.

Los residuos de cultivos y los obtenidos en procesos agroindustriales generalmente se emplean para dos fines: como fuente de alimento animal o como fertilizante. El uso y manejo de los residuos para la alimentación de rumiantes puede resultar complicado debido a varios

factores como la inestabilidad biológica (crecimiento de patógenos y deterioro de la materia orgánica), el elevado contenido de agua (incremento en costos de transporte y deshidratación), la alta tasa de auto-oxidación (residuos con altos contenidos de grasa) y al deterioro acelerado por la elevada actividad enzimática de los residuos vegetales (Russ y Meyer-Pittroff, 2004). Además de estos problemas, la estacionalidad de los subproductos de los cultivos así como la variabilidad en composición también influyen negativamente sobre su empleo en la alimentación. Sin embargo, hay que considerar que ante la creciente conciencia sobre los problemas medio ambientales y la problemática que genera el manejo de estos residuos, su empleo como fuentes de alimentos es una solución factible que debe ser revalorizada y enfocada también desde el punto de vista de la calidad del producto final, que determinará el empleo de estas alternativas dentro de la cadena productiva.

2.5. INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE SOBRE LOS PARÁMETROS TECNOLÓGICOS.

De acuerdo con diferentes estudios realizados con leche de vaca se ha observado una clara influencia de la composición sobre las propiedades tecnológicas de la leche; una mayor concentración de grasa, proteína, caseína y sólidos totales permiten una mayor velocidad de endurecimiento del coágulo y por lo tanto la obtención de un gel más firme (Auldist *et al.*, 2004). Sin embargo es necesario destacar que las correlaciones entre estos componentes de la leche y los parámetros tecnológicos suelen ser bajos (coeficientes de correlación menores a 0,5) y por lo tanto no explican en su totalidad el comportamiento tecnológico de la leche. La importancia de la composición también ha sido descrita por Malacarne *et al.* (2006) quienes además observaron menores pérdidas de grasa en el suero de quesería y paralelamente un mayor rendimiento quesero en las leches con mayor contenido de caseína. Además del contenido de proteína, caseína y sólidos totales, otros componentes específicos como el contenido y la proporción de las caseínas, minerales (fósforo inorgánico y calcio) y las características físicas de las micelas son factores que determinan la aptitud tecnológica de la leche (Pellegrini *et al.*, 1997). Los trabajos realizados por Remeuf *et al.* (1989 y 1991) con leche de cabra y vaca, y posteriormente por Pellegrini *et al.* (1997) con leche de oveja, explican extensamente la relación entre las diferentes características fisico-químicas y los parámetros tecnológicos de la leche durante la obtención de geles enzimáticos, los cuales se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Relación entre las características físico-químicas y los parámetros de coagulación enzimática de la leche de vaca, cabra y oveja.

Parámetro	Tiempo de coagulación	Velocidad de endurecimiento	Firmeza del gel	Capacidad de desuerado
pH	0,52 ^v			
Proteína total	0,44 ^o	0,30 ^o	0,70 ^o	-0,65 ^v / 0,70 ^o
CSN-total	0,39 ^o	0,33 ^v / 0,67 ^c / 0,35 ^o	0,48 ^v / 0,55 ^c / 0,73 ^o	-0,65 ^v / -0,46 ^c
Soluble		-0,23 ^c	-0,20 ^c	0,23 ^c
α_s -CSN		-0,54 ^v	-0,51 ^v	-0,23 ^c
β -CSN		0,22 ^c	0,39 ^v	
<i>k</i> -CSN		0,42 ^v		
α_s -CSN / β -CSN	0,26 ^c			
Calcio total	-0,27 ^c	0,24 ^o	0,32 ^c	0,30 ^o
Iónico	-0,37 ^v / -0,37 ^c			
Coloidal		0,32 ^o	0,42 ^o	-0,47 ^v / -0,38 ^c
Soluble	-0,41 ^v	0,48 ^v		
Fósforo (P_i) total	0,31 ^o			
P_i soluble/ P_i total	-0,64 ^c			
Diámetro de la micela	0,28 ^o	-0,46 ^v / -0,32 ^o	-0,38 ^v / -0,14 ^c / -0,13 ^o	
Grado hidratación			0,30 ^c	
Grado mineralización	-0,23 ^o		-0,31 ^o	

^c Remeuf et al. (1989). Coeficientes de regresión múltiple calculados para leche de cabra.

^v Remeuf et al. (1991). Coeficientes de correlación entre parámetros físico-químicos y tecnológicos de leche de vaca.

^o Pellegrini et al. (1997). Correlaciones fenotípicas entre parámetros físico-químicos y tecnológicos para leche de oveja.

El pH de la leche es uno de los factores que más influyen sobre el proceso de coagulación. De acuerdo con las correlaciones descritas por los autores, una leche de vaca con un pH elevado presentará mayores tiempos de coagulación. Este parámetro también es influenciado por el contenido de calcio (principalmente calcio iónico y soluble) de la leche de manera que una concentración alta de calcio favorece el proceso de floculación. Adicionalmente y de manera particular en la leche de cabra, una mayor proporción de P_i soluble / P_i total reduce el tiempo

de coagulación, mientras que en el caso de la leche de oveja otros parámetros, además del contenido de proteína, caseína y fósforo, como el grado de mineralización y el diámetro de la micela influyen sobre el proceso de coagulación.

De acuerdo a los coeficientes de correlación y regresión observados, las caseínas de la leche parecen ser los principales componentes que explican la velocidad de endurecimiento y firmeza del gel. Tanto para leche de vaca, cabra y oveja se observa que a mayor contenido de caseína total se obtienen geles más firmes a una mayor velocidad de endurecimiento. En el caso de leche de cabra la velocidad de endurecimiento se correlaciona también de manera positiva con la proporción de β -CSN mientras que para leche de vaca, se observa que una mayor velocidad de endurecimiento es posible cuando la leche contiene más k -CSN y calcio soluble, y cuando el contenido de α_s -CSN y el diámetro medio de la micela es menor. La velocidad de endurecimiento de la leche de oveja también es un factor influenciado negativamente por el tamaño de la micela y positivamente por un mayor contenido de calcio coloidal.

La firmeza de la cuajada, para el caso de leche de vaca, es un parámetro que aumenta conforme incrementa la proporción de β -CSN y disminuye con el incremento del tamaño de la micela. El gel de leche de cabra también es influenciado por el contenido de caseína y el tamaño de la micela y aumentará en firmeza con el incremento del contenido de calcio coloidal y total y con una mayor hidratación de las micelas. Para leche de oveja, la firmeza del gel está altamente correlacionada con el contenido de proteína y caseína (Delacroix-Buchet et al., 1994), y en menor grado es influenciada por el contenido de calcio coloidal, el tamaño de la micela y su grado de mineralización. En cuanto a la correlación negativa entre la aptitud al desuerado y el contenido de calcio coloidal y caseína total de la leche de cabra y vaca, los autores la atribuyeron al hecho de que una leche con un elevado contenido de caseína y calcio coloidal formará un gel con mayor capacidad de retención de agua.

Según Remeuf et al. (1991) tanto las características físico-químicas como los parámetros de coagulación de la leche se encuentran correlacionados entre sí, obteniéndose correlaciones elevadas entre el contenido de caseína y el de proteína total ($r = 0,96$). No obstante, el contenido de las diferentes caseínas de la leche parece no tener una relación importante con el contenido de caseína total. Por otro lado, el grado de hidratación de las micelas está influenciado por el grado de mineralización cálcica y se correlaciona negativamente con el

diámetro de las mismas. Así las micelas pequeñas que contienen una mayor relación de superficie/volumen de la *k*-CSN presentan un mayor grado de hidratación y promueven la formación de geles más firmes. Esta mejor aptitud tecnológica de las micelas más pequeñas, puede ser debida también a que presentan una correlación positiva con la concentración de calcio iónico y negativa con la proporción de calcio coloidal/caseína. En relación a los parámetros que describen la coagulación, estos mismos autores han descrito una fuerte correlación positiva entre la firmeza del gel y la velocidad de endurecimiento ($r = 0,80$), lo que indica que la leche que presenta una mayor velocidad de agregación durante la coagulación da como resultado una cuajada de mayor firmeza. Por otro lado, esta leche tenderá también a coagular en un tiempo más corto tal como lo indica la correlación negativa entre la velocidad de endurecimiento del gel y el tiempo de coagulación ($r = -0,44$).

Además de las características resumidas en la Tabla 3, las variantes genéticas de las proteínas también han sido asociadas a las propiedades tecnológicas de la leche. En algunos estudios realizados con leche de vaca (Pagnacco y Carola, 1987; Berg et al., 1992), se ha descrito que la variante B de la *k*-CSN presenta mejores propiedades de coagulación debido a su correlación con una mayor concentración de proteína total, *k*-CSN y calcio iónico, además de estar vinculada a la presencia de micelas más pequeñas que mejoran las características tecnológicas de la leche y reducen la pérdida de sólidos en el suero de quesería. Wedholm et al. (2006) han observado una mayor concentración de *k*-CSN en leche de vaca asociada al genotipo AB de la *k*-CSN al compararla con la presencia del genotipo AA, mientras que el genotipo AE estuvo frecuentemente vinculado a las leches de pobre coagulación o que no formaron gel. Esta pobre coagulación asociada al alelo E de la *k*-CSN también ha sido descrita por Ikonen et al. (1997), quienes adicionalmente observaron que las variantes genéticas de la β -lactoglobulina (genotipos AA y BB) están asociadas a la composición de la leche aunque no influyen significativamente sobre las propiedades de coagulación. Por otro lado, Zullo et al. (2005) determinaron la influencia del polimorfismo genético de la α_{s1} -CSN sobre las propiedades de coagulación de leche de cabra. De acuerdo con los resultados obtenidos, los genotipos AA y BB de la α_{s1} -CSN son variantes asociadas a un mayor contenido de grasa, proteína y sólidos totales que a su vez otorgan a la leche una mayor velocidad de coagulación y firmeza de la cuajada. Por el contrario genotipos EF y FF presentaron menores porcentajes de estos componentes en la leche y por lo tanto se relacionó con la menor consistencia de la cuajada. En relación a los genotipos de la α_{s1} -CSN en leche de oveja, Pirisi et al. (1999) realizaron un estudio para determinar la influencia de las variantes

CC CD y DD de la α_{s1} -CSN sobre las propiedades queseras de la leche de ovejas de raza Sarda. El mayor rendimiento fue descrito para la variante CC, la cual también presentó un menor tiempo de coagulación y mayor firmeza de la cuajada. La velocidad de agregación de las micelas fue también mayor para esta variante genética, que también estuvo asociada al menor tamaño micelar y mayor contenido de caseína. Por el contrario la variante DD estuvo ligada a la presencia de micelas de mayor diámetro y a menores niveles de caseína que resultaron en unas propiedades de coagulación menos óptimas.

Finalmente, otra característica que puede influir sobre la calidad tecnológica de la leche es la presencia de células somáticas. Pirisi et al. (1994) determinaron el efecto de recuentos elevados ($1-2 \times 10^6$ cél/mL) de células somáticas sobre la aptitud quesera de la leche de oveja. Los autores observaron que leches con estos recuentos presentaron un mayor valor de pH y dificultades para formar un gel prolongando el proceso de coagulación; a pesar de estos defectos, el ajuste del pH de la leche a 6,5 mejoró su coagulación y finalmente no influyó de manera significativa sobre el rendimiento y la calidad del queso. Contrarios a estos resultados, son los obtenidos por Revilla et al. (2007) quienes evaluaron la influencia del contenido de células somáticas en la leche de ovejas sobre las propiedades de coagulación y las características de queso tipo Zamorano. En este caso sí fue observado un efecto negativo de este parámetro sobre las propiedades de coagulación de la leche estandarizada a pH de 6,5: el tiempo de coagulación fue más elevado (69 min) en aquellas leches con niveles superiores a $2,5 \times 10^6$ cél/mL, mientras que la leche con recuentos entre 10^6 y $1,5 \times 10^6$ cél/mL tardó alrededor de 36 min en coagular, a diferencia del tiempo de coagulación de 24,5 min que fue descrito para la leche con $<5 \times 10^5$ cél/mL. A pesar de la influencia negativa del recuento de células somáticas sobre el tiempo de coagulación y la firmeza de la cuajada, este parámetro no influyó negativamente sobre el rendimiento quesero coincidiendo con las observaciones descritas por Pirisi et al. (1994).

2.6. PROCESO DE TRANSFORMACIÓN DE LECHE EN QUESO

2.6.1. Estructura y propiedades de la micela de caseína

Las caseínas α_{s1} -CSN, α_{s2} -CSN y β -CSN son sensibles a la presencia de calcio, de forma que precipitan en soluciones con concentraciones >6 mmol/L y temperaturas >20 °C. El contenido de calcio de la leche es de aproximadamente 30 mmol/L, lo que proporciona condiciones para

la precipitación de las caseínas. No obstante, gracias a la solubilidad de la *k*-CSN en presencia de estas concentraciones de calcio y a su reacción con las caseínas sensibles, las estabiliza formando unas estructuras denominadas micelas de caseína (Fox y Kelly, 2006). Estas micelas son partículas coloidales con un diámetro medio de 120 nm y contienen en promedio ~5000 moléculas de caseína. El 94% (extracto seco) de la micela es proteína y un 6% corresponde a componentes no proteicos: calcio y fosfato en concentraciones mayoritarias y cantidades pequeñas de magnesio, citrato y trazas de otros metales que en conjunto se denominan fosfato cálcico coloidal (Fox y Kelly, 2006). La estructura de la micela de caseína continúa siendo objeto de investigación y discusión. Los modelos propuestos han sido debatidos por varios investigadores (McMahon y McManus, 1998; Walstra, 1999; Dalgleish *et al.*, 2004; Horne, 2006) pero en la actualidad aún no existe un consenso general sobre la estructura micelar.

Aunque estos modelos se basan en la micela bovina, pueden ser parcialmente extrapolados a las leches de cabra y oveja. Sin embargo, existen algunas diferencias en sus características que explican las propiedades de coagulación particulares de la leche de estos rumiantes menores. Brulé *et al.* (2000) establecieron diferencias en el tamaño promedio de las micelas siendo las de cabra notablemente más grandes que las bovinas, mientras que las de oveja presentan un tamaño intermedio (255, 175 y 202 nm, respectivamente). De igual forma, existen diferencias en el grado de hidratación de las micelas, de forma que las ovinas tienen un nivel de hidratación intermedio con respecto a las de vaca y cabra. Por otro lado, el nivel de calcio y fósforo inorgánico relacionado con las caseínas es mayor en la leche de oveja que en la leche de las otras especies.

2.6.2. La fabricación de queso

La transformación de la leche en queso comparte en general los siguientes procesos:

- Coagulación: este proceso incluye las modificaciones físico-químicas de las micelas de caseína debido a la acción de enzimas proteolíticas y/o agentes acidificantes que inducen a la formación de una red proteica conocida como coágulo o gel.
- Desuerado: este proceso corresponde a la separación de una parte del suero debido al corte del gel formado y los posteriores procesos de moldeado y prensado por los que se obtiene la cuajada o queso fresco.

- **Maduración:** este proceso consiste en una serie de modificaciones bioquímicas de los componentes de la cuajada o queso fresco debido a la acción de enzimas de diferentes orígenes (endógenas de la leche, enzimas coagulantes y enzimas del fermento).

Dependiendo de los parámetros tecnológicos usados y la ejecución de procesos adicionales (como el prensado y el salado) es posible obtener una gran variedad de quesos. Las características de textura, flavor y aroma del producto final están determinadas por la composición de la leche, el pH de la cuajada y por las condiciones de maduración (Brulé *et al.*, 2000).

Coagulación

Los procesos tecnológicos previos a la coagulación influyen grandemente sobre la aptitud tecnológica de la leche. El proceso que se aplica comúnmente a la mayoría de productos alimentarios es el tratamiento térmico, que tiene como objetivo principal inactivar posibles microorganismos patógenos asociados con enfermedades y de deterioro del alimento (Kelly y Fox, 2006). La pasteurización baja (62,8 °C por 30 min o 72 °C por 15 s) es el tratamiento térmico más utilizado en la industria láctea y su efecto sobre la composición y las propiedades tecnológicas de la leche de vaca es conocido (Van Hooydonk *et al.*, 1987). Sin embargo, debido a las diferencias entre especies, los cambios observados en leche de vaca no son extrapolables a la leche de oveja y cabra (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2007). Raynal y Remeuf (1998) estudiaron el efecto del tratamiento térmico sobre las propiedades físico-químicas y tecnológicas de la leche de vaca, cabra y oveja. Estos autores observaron que conforme aumenta el tiempo y la temperatura del tratamiento térmico, se produce un incremento del tiempo de coagulación, un aumento del tiempo de agregación, una disminución de la firmeza del gel y una menor capacidad de desuerado. No obstante, estos efectos fueron más marcados en la leche de vaca en comparación a lo observado en la leche de cabra y oveja.

La primera etapa para la obtención de queso se inicia con la hidrólisis enzimática de la *k*-CSN. Esta hidrólisis altera las propiedades de las micelas de forma que se vuelven inestables y tienden a agregarse y conforme la reacción avanza se forman entramados proteicos que dan lugar al gel o coágulo. Existen varias enzimas de origen animal, vegetal y microbiano que pueden coagular la leche. Las enzimas proteolíticas que se extraen del estómago de los terneros lactantes son las más usadas en la elaboración de queso madurado. Esta preparación

enzimática conocida como cuajo, contiene fundamentalmente dos proteasas que son la quimosina y la pepsina, siendo la primera la principal enzima presente (Brulé *et al.*, 2000).

Es posible diferenciar tres fases durante la coagulación enzimática: la primera es la hidrólisis de la *k*-CSN por acción de la quimosina, la segunda consiste en la agregación o floculación de las micelas y el tercero corresponde al desarrollo de una red proteica por reticulación que da lugar al gel (Brulé *et al.*, 2000). La *k*-CSN es la proteína de la leche que actúa como estabilizador coloidal y previene la precipitación de las micelas (Carlson y Hill, 1987a). Cuando la quimosina hidroliza la *k*-CSN en el enlace peptídico *Phe*₁₀₅-*Met*₁₀₆, produce la rotura de la cadena proteica que da lugar a la formación de *para-k*-CSN o *k*-CSN (f1-105) y de un macropéptido o *k*-CSN (f106-169). Esta hidrólisis tan específica provoca la reducción del área superficial de las micelas y una menor repulsión entre ellas desestabilizando el sistema coloidal (Brulé *et al.*, 2000). La concentración inicial de caseína, la concentración de la enzima, la temperatura y el pH son algunos de los factores que afectan la velocidad de la reacción enzimática.

La hidrólisis de la *k*-CSN provoca la floculación irreversible de las micelas y la posterior agregación de las partículas. Este proceso de aglomeración es complejo y está limitado por el grado de hidrólisis de la *k*-CSN. Cuando la caseína hidrolizada es menor al 60-80%, la floculación ocurre lentamente, sin embargo cuando el grado de hidrólisis supera este porcentaje, es rápida y promueve la formación de grandes agregados micelares, que incluso son visibles y forman espontáneamente el gel (Carlson y Hill, 1987a,b). Los iones de calcio tienen un impacto importante sobre la asociación de las micelas hidrolizadas. La adición de iones en forma de cloruro de calcio reduce la velocidad de agregación e incrementa la firmeza de la cuajada; por el contrario, si el contenido de calcio en la leche disminuye en un 30%, no se produce la coagulación de las micelas (Mistry, 2006).

La última fase de coagulación de la leche, es la formación del coágulo o gel. Los agregados formados durante la floculación se unen a través de enlaces hidrofóbicos y fuerzas electrostáticas que van otorgando firmeza al coágulo (Carlson y Hill, 1987c). Al inicio, el incremento en la firmeza de la matriz se debe al mayor número de moléculas que se unen progresivamente, y posteriormente es el resultado de la fusión de las micelas (Walstra *et al.*, 1999). Las características finales del gel deben ser apropiadas para evitar la pérdida de proteína y grasa durante el corte y sinéresis de la cuajada (Brulé *et al.*, 2000). Los principales

factores que afectan la firmeza del gel son el pH, la concentración de iones de calcio, la concentración de proteína y el tratamiento térmico de la leche previo a la coagulación (Singh y Fox, 1986).

Desuerado

Los geles obtenidos por coagulación enzimática son bastante estables si no se manipulan; no obstante al cortar el gel éste se contrae y provoca la sinéresis de la cuajada. Los factores que promueven la sinéresis son: el cortado de la cuajada (que puede ser fino o grueso), la disminución del pH, la presencia de iones de calcio, el incremento de la temperatura y la agitación de la cuajada durante el calentamiento. Otros parámetros, como el contenido de grasa y proteína de la leche, así como la firmeza inicial del gel también influyen sobre el proceso de desuerado (Fox y McSweeney, 1998). El resultado de esta etapa es la obtención de una “masa” de coágulos que posteriormente se moldearán y prensarán obteniéndose por otro lado una fracción acuosa que se denomina suero. El suero contiene los componentes solubles de la leche (lactosa, sales minerales y fracciones del nitrógeno soluble) y también trazas de componentes insolubles como algunas partículas de grasa y proteínas (Ramet, 2000).

Madurado

El proceso de fabricación de queso conlleva la concentración de los principales componentes de la leche mediante la extracción parcial del agua. El producto que resulta de este proceso tiene una textura húmeda, elástica y es esencialmente insípido. Mediante el proceso de maduración, cada tipo de queso desarrolla su aroma, textura y flavor característicos debido a una serie de fenómenos promovidos principalmente por agentes proteolíticos y lipolíticos además de la degradación de la lactosa y citrato por parte del sistema enzimático de los cultivos adicionados (El Soda, 1997). A continuación se describirán brevemente estos procesos que ocurren durante la maduración.

2.7. CAMBIOS BIOQUÍMICOS DURANTE LA MADURACIÓN DEL QUESO

2.7.1. *Metabolismo de lactosa residual, lactato y citrato*

La lactosa residual presente en los quesos es generalmente metabolizada mayoritariamente por el sistema glicolítico del fermento iniciador generando principalmente ácido L-láctico (McSweeney y Sousa, 2000). La fermentación de este componente en ácido láctico es un proceso esencial que produce la reducción del pH durante la fabricación del queso influyendo sobre el proceso de sinéresis, retención de calcio, retención y actividad del coagulante y sobre el crecimiento de bacterias contaminantes (Fox *et al.*, 1990).

Durante las primeras etapas de la maduración la lactosa es metabolizada en diferentes componentes dependiendo del tipo de queso y de la microbiota presente. Por un lado en la mayoría de los quesos ocurre la conversión de L-lactato a su isómero D-lactato por acción de las bacterias no fermentativas hacia el final de la maduración. En quesos tipo Suizo, el L-lactato es metabolizado en propionato, acetato y CO₂, que contribuyen a la formación de ojos y al desarrollo del sabor. En quesos de superficie enmohecida, el L-lactato es metabolizado en CO₂ y agua que contribuyen con el incremento del pH y provocan cambios en la textura de estos quesos. Por otro lado en quesos tipo Cheddar y en quesos holandeses, alguna proporción del lactato se oxida formando acetato, mientras que los bajos niveles de citrato son metabolizados para producir diacetilo que es el responsable del flavor y de la formación limitada de ojos en este tipo de quesos (Fox *et al.*, 1990).

2.7.2. *Proteolisis*

La mayoría de los quesos de coagulación ácida son consumidos frescos pero la mayoría de los quesos de coagulación enzimática son madurados por periodos que van desde 3 semanas hasta más de dos años. Durante este periodo ocurren una serie de cambios microbiológicos, bioquímicos y químicos como resultado de la degradación de los componentes del queso como son proteínas, lípidos y lactosa residual en productos primarios y secundarios (Fox y McSweeney, 1997). De estos procesos, la proteolisis es probablemente el más importante ya que promueve una serie de fenómenos que influyen de forma determinante sobre las características finales de los quesos.

La rotura de la matriz proteica por fenómenos proteolíticos promueve cambios en la textura, provoca la liberación de grupos amino y carboxilo que reducen la actividad de agua, incrementa el pH lo que facilita la liberación de compuestos sápidos durante la masticación, y contribuye directamente en el desarrollo del flavor gracias a la formación de aminoácidos libres y sustratos para posteriores reacciones bioquímicas (Sousa *et al.*, 2001). La proteolisis es un proceso realizado por diferentes proteasas y peptidasas provenientes de diversas fuentes: enzimas propias de la leche, enzima coagulante, sistema enzimático de las bacterias ácido lácticas provenientes del fermento iniciador y de la microbiota secundaria y otras enzimas exógenas (Upadhyay *et al.*, 2004).

La proteolisis de los quesos puede definirse en dos etapas: la **proteolisis primaria**, similar para la mayoría de los quesos, que es causada por la actividad de las proteasas endógenas de la leche (principalmente plasmina) y la quimosina residual retenida en la cuajada, excepto en aquellos quesos de pasta cocida en los que la plasmina es la principal fuente proteolítica. Posteriormente, la **proteolisis secundaria** describe la transformación de péptidos grandes en péptidos pequeños y aminoácidos, estos últimos encontrados a niveles elevados en todos los quesos madurados y que actúan como precursores de compuestos volátiles e intervienen con el desarrollo del flavor de los quesos.

La actividad residual del coagulante retenido en la cuajada es la mayor fuente de actividad proteolítica en la mayoría de los quesos. La quimosina es la enzima más utilizada como coagulante en la producción de quesos madurados y es secretada por el sistema gástrico de los mamíferos lactantes. La mayor parte de la quimosina adicionada a la leche de quesería, se pierde con el suero de quesería y una pequeña cantidad (6-10%) es retenida en la cuajada; esta porción residual es, en parte, la responsable de la proteolisis primaria de las caseínas. La cantidad de quimosina retenida depende de varios factores tecnológicos como son el tipo de enzima, la temperatura de cocción de la cuajada, el pH en el momento de desuerado y la humedad retenida por la cuajada (Upadhyay *et al.*, 2004). Por otro lado, la principal proteasa de la leche es la plasmina, enzima termoestable de particular importancia en quesos de pasta cocida donde se alcanzan altas temperaturas durante la cocción desnaturalizándose las enzimas coagulantes, y también en quesos en los que el pH incrementa durante la maduración de forma que se aproxima al pH óptimo de la enzima (7,5). Adicionalmente, las células somáticas de la leche también contienen una serie de enzimas activas pertenecientes al grupo de las catepsinas, de las cuales la catepsina-D ha sido relativamente estudiada de forma que se

ha observado que tiene una actividad proteolítica similar al de la quimosina y que es capaz de hidrolizar la α_s1 -CSN de forma que la formación de algunos péptidos en quesos de pasta cocida se ha atribuido a la actividad proteásica de esta enzima (Hurley *et al.*, 2000).

La proteólisis secundaria es promovida principalmente por el sistema proteolítico de las bacterias ácido-lácticas que degrada los péptidos de mediano y gran tamaño, producidos por los agentes anteriormente descritos, en pequeños péptidos y aminoácidos para satisfacer sus requerimientos nutricionales (Upadhyay *et al.*, 2004). Los principales componentes de este sistema enzimático son las proteasas que están en su mayoría asociadas a la membrana celular de las bacterias, aunque también existen proteasas intracelulares que se liberan durante la lisis de las bacterias. Adicionalmente, las enzimas de los microorganismos secundarios participan en la proteólisis secundaria de algunas variedades de quesos madurados especialmente los recubiertos por mohos, y en quesos tipo Suizo involucrándose en reacciones complejas que favorecen al desarrollo de características especiales de flavor y textura.

2.7.3. Lipolisis

La lipolisis es un fenómeno bioquímico importante durante la maduración y ha sido ampliamente estudiado en algunos quesos. Cuando el nivel de lipolisis es bajo, la contribución de este proceso a la calidad y flavor del queso recibe menor atención. No obstante, los ácidos grasos libres formados durante la maduración son importantes precursores de diferentes componentes volátiles del queso. De acuerdo con McSweeney y Sousa (2000) los agentes lipolíticos pueden provenir de la leche, de los fermentos adicionados como cultivo, de la preparación enzimática usada como coagulante, de la microbiota no fermentativa y en algunos casos de fuentes exógenas.

La enzima lipolítica de la leche es la lipasa lipoproteica (LPL), enzima de origen sanguíneo que está presente en la leche debido a su paso a través de las membranas celulares mamarias. En condiciones normales esta enzima no hidroliza la grasa ya que cerca del 90% de la LPL está asociada con las micelas de caseína mientras que los triglicéridos se encuentran en la leche formando glóbulos rodeados por una capa lipoproteica compleja denominada membrana del glóbulo graso. Cuando esta membrana es dañada por alguna acción mecánica como la agitación u homogenización expone a la grasa a la acción lipolítica de las enzimas. La LPL presenta una predilección por hidrolizar los ácidos grasos ubicados en la posición *sn*-1 o *sn*-3

de los mono, di y triglicéridos (Collins *et al*, 2004). Por esta razón los ácidos grasos de cadena corta y media son liberados preferentemente por la actividad de esta enzima. La actividad lipolítica de la LPL es especialmente importante en aquellos quesos elaborados a partir de leche cruda, ya que es sabido que los procesos de pasterización convencionales (72°C, 15 s) inactivan extensamente su actividad y previene la lipólisis de la leche. No obstante, es necesario un tratamiento térmico a una mayor temperatura y tiempo (78°C, 10 s), para su completa inactivación (Driessen, 1989).

Las lipasas provenientes de las bacterias ácido lácticas son los principales agentes lipolíticos en diferentes variedades de quesos. Las bacterias ácido lácticas de los géneros *Lactococcus* y *Lactobacillus* spp, son agentes lipolíticos débiles en comparación a otras especies, sin embargo y debido a su elevada presencia en los quesos y al incremento de su población durante la maduración, se convierten en las principales fuentes de enzimas que propician la liberación de ácidos grasos libres. Los quesos tipo Brie o Camembert son quesos altamente lipolizados gracias a las enzimas lipolíticas de *Penicillium* spp (Collins *et al.*, 2004).

El tipo de agente coagulante empleado en la elaboración de quesos de coagulación enzimática puede contribuir al desarrollo de la lipólisis durante la maduración gracias al aporte de enzimas lipolíticas. El empleo de un cuajo natural en pasta *versus* uno comercial líquido resulta normalmente en un mayor contenido de ácidos grasos libres en los quesos debido a un mayor contenido de estas enzimas en comparación con cuajos comerciales que carecen de actividad lipolítica (Etayo *et al.*, 2006).

Los ácidos grasos libres (AGL) en el queso son importantes precursores de componentes del flavor y componentes del aroma como metilcetonas, lactonas, ésteres, alcanos y alcoholes secundarios. El grado de concentración de los ácidos grasos de cadena corta e intermedia (C4-C12) tienen límites de percepción bajos comparados con los ácidos grasos de cadena larga. Así el ácido butanoico imprime el sabor rancio al queso, el hexanoico provee la característica pungente, mientras que el octanoico se relaciona con las descripciones de sabor a jabón, cabra, húmedo, rancio y a cera. La concentración de los AGL influirá positiva o negativamente sobre el aroma del queso o imprimirá defectos de rancidez. El flavor proveniente de los AGL está influenciado también por el pH de los quesos de forma que aquellos con pH elevado pueden llegar a neutralizar los AGL (Molimard y Spinnler, 1996).

Adicionalmente, los lípidos contribuyen a la textura del queso y actúan como solvente de sustancias sápidas provenientes de lípidos y otros precursores, y son el escenario de algunas reacciones bioquímicas típicas de la maduración que ocurren en la interfase grasa-agua. López *et al.* (2006) determinaron los mecanismos de lipólisis en el queso (tipo Emmental) cuantificando la cantidad de AGL después de las principales etapas de elaboración. Este trabajo permitió observar que tanto el tamaño del glóbulo graso, la disposición de las inclusiones de grasa después del prensado, las características de la interfase grasa-proteína, la localización de las bacterias en el queso y la organización de los glóbulos grasos desprovistos de su membrana, son factores que influyen sobre la accesibilidad de la grasa a la actividad de las enzimas lipolíticas y afectan la calidad final del queso.

2.8. INFLUENCIA DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS

Como se ha descrito anteriormente, la alimentación que reciben los rumiantes destinados a la producción de leche, puede influir sobre la calidad, composición y aptitud tecnológica de la misma y por lo tanto determinar las características de sus derivados. Varios estudios han centrado su atención en la interacción entre la alimentación a base de forrajes, pastizales y pasto natural, y las características sensoriales de los quesos madurados. Coulon *et al.* (2004) resumieron los principales factores relacionados con el manejo de los rumiantes lecheros (genética, fisiología y alimentación) que influyen sobre las características sensoriales de los quesos. De los parámetros alimenticios destacan el efecto del tipo de forraje, método de conservación, calidad y biodiversidad botánica del pasto y/o especies mayoritarias en pastizales naturales. La influencia de estos factores sobre las características de la leche y el queso, es incluso percibida empíricamente por los mismos maestros queseros que son capaces de describir las diferencias sensoriales del producto de acuerdo al tipo de forraje ofrecido a los animales. Estas observaciones han motivado una serie de investigaciones en este campo para identificar la fuente de variación y diversidad de los parámetros sensoriales de los quesos y relacionarlos con las diferentes condiciones de producción de leche, sin olvidar que otros factores como la tecnología de fabricación, la cinética de acidificación de la cuajada o la estación del año en que son fabricados, también influyen sobre las características del queso (Martín y Coulon, 1995).

A nivel general, es sabido que ciertas plantas pueden transmitir sabores indeseables a la leche o queso (Urbach, 1990), no obstante la mayoría de publicaciones sobre el efecto de la inclusión de subproductos o desechos agroindustriales en la dieta de animales, lamentablemente no llegan a evaluar su efecto sobre las propiedades físico-químicas y sensoriales de los derivados obtenidos (carne, leche, quesos, etc). Es por ello que la mayoría de trabajos que se relacionan con la influencia de la dieta sobre las características de los quesos se concentran en la alimentación a base de pastos, forrajes, piensos y en menor grado en la introducción de suplementos alimenticios como fuentes de grasas para modificar el valor nutricional de los quesos. Debido a la estacionalidad en la disponibilidad de pastos o forrajes se observa una gran variabilidad en la calidad de los quesos elaborados durante distintas épocas de año. En el caso de quesos de oveja Manchego, Fernández-García *et al.* (2002b) encontraron mayores contenidos de volátiles en los quesos elaborados en primavera, a excepción de algunos compuestos como el diacetilo, componentes sulfurados y terpenos que estuvieron presentes en mayor cantidad en los quesos elaborados durante el verano. La presencia de terpenos (α -pineno) e hidrocarburos en éstos últimos, fue atribuida al tipo de alimentación que los animales consumieron durante esa época del año, que consistió principalmente en rastrojos, barbechos y pastoreo de tierras improductivas. Reducir las diferencias en las características generales de los quesos madurados duros y semi duros, debido a la estación del año, es posible a través de modificaciones de la dieta. Jaros *et al.* (2001) evaluaron la inclusión de semillas de colza molidas en la ración de vacas lecheras con el objetivo de obtener quesos (tipo Suizo) con similares características texturales. El reemplazo de 1kg de grano de cereales por 1kg de colza en la ración de los animales, resultó en una reducción en la firmeza (determinada instrumentalmente) de los quesos elaborados durante el invierno, que usualmente son más “duros” que aquellos obtenidos durante el verano. Los autores concluyeron que el empleo de este ingrediente es una alternativa para reducir estas diferencias reológicas asociadas parcialmente con los diferentes sistemas de alimentación utilizados durante estas estaciones del año (invierno: principalmente heno, verano: pastoreo).

La composición de la grasa de la leche también varía con la estación del año; así la grasa de la leche proveniente de rebaños que durante el mes de junio se alimentan principalmente de pastos naturales presenta una menor concentración de ácidos grasos de cadena corta y mayor de cadena larga que aquella leche proveniente de animales que además de pastorear reciben suplementos comerciales durante los meses de febrero y abril. La variación en la composición

de la grasa probablemente contribuye a las variaciones sensoriales observadas en los quesos fabricados durante las diferentes estaciones del año (Perea *et al.*, 2000). Además de la época, la diversidad botánica de una misma zona de pastoreo también puede influir sobre las características de los quesos. Buchin *et al.* (1999) evaluaron las propiedades sensoriales de un queso semi duro tradicional (Abondance) elaborado a partir de leche cruda de vaca de raza Abondance o Tarentaise, con el objetivo de demostrar la influencia de la composición botánica del pastizal sobre las características químicas, reológicas y sensoriales de los quesos madurados. Los autores escogieron las áreas de pastoreo de las montañas porque presentan una mayor diversidad de plantas en un área limitada. El predominio de ciertas especies de pastos fue diferente en las dos regiones en que se dividió la zona de pastoreo. La zona sur presentó un predominio de gramíneas como *Festuca rubra* y *Agrostis capillaris*, mientras que la zona norte presentó un predominio de gramíneas *Agrostis capillaris* y *Nardos stricta*. Las diferencias entre los quesos correspondientes a las distintas zonas de pastoreo fueron significativas para el mayor grado de proteólisis primaria de los quesos del norte y el menor contenido de cloruros de los quesos del sur. En relación al contenido de volátiles también se observaron diferencias para las mayores concentraciones de aldehídos y xilenos y menor contenido de etil ésteres de los quesos del norte. Los quesos del norte presentaron una menor fracturabilidad que los quesos del sur, probablemente debido a las diferencias en proteólisis, y paralelamente también fueron definidos sensorialmente como quesos menos firmes, más salados, más amargos y con un sabor más persistente. Las diferencias observadas fueron parcialmente explicadas por la mayor proteólisis primaria provocada por el mayor contenido de plasmina y plasminógeno de esta leche, mientras que las diferencias en aroma fueron explicadas por la presencia de terpenos o metabolitos de las plantas que pueden pasar a la leche y al queso e influir sobre la actividad microbiana del rumen y contribuir con la formación de volátiles en los quesos.

Moio *et al.* (1996) determinaron la influencia de la alimentación de ovejas sobre los componentes del olor de la leche y el queso (Pecorino). En este estudio, un rebaño de 100 ovejas se mantuvo en pastizales naturales mientras que otro grupo (816 ovejas) se alimentaron a base de pastizales sembrados con *Trifolium ladino* y pasto raygrass, recibiendo ambos rebaños 100 g/día de suplemento alimenticio. Por último otro grupo de ovejas (77 ovejas) fueron alimentadas con raciones mixtas que contenían mayoritariamente ensilado de maíz, alfalfa deshidratada y harina de soja. Las diferencias significativas que se observaron para las leches y quesos provenientes de los animales mantenidos en pastoreo en prados naturales y/o

pastizales sembrados en comparación a los animales que recibieron la ración mixta, fueron principalmente evidenciadas por la presencia de sesquiterpenos. Estos compuestos volátiles, según la opinión de los autores, podrían incluso emplearse como marcadores de trazabilidad para determinar si los quesos provienen de animales mantenidos en pastoreo o de aquellos alimentados con raciones mixtas estándares. En otro estudio similar realizado por Carpino *et al.* (2004), se evaluó el efecto de la inclusión de pastos nativos (*Calendula arvensis*, varias especies de *Geraniaceae* y *Graminaceae*, entre otras) en la dieta de vacas cuya leche se emplea en la elaboración del queso Ragusano. Los animales fueron divididos en dos grupos, de forma que el control recibió una alimentación a base de una ración mixta completa, mientras que el grupo experimental era llevado a pastoreo durante 7 h/día en zonas con pasto nativo además de ser suplementado también con la ración mixta completa. Los autores evaluaron instrumentalmente los parámetros de color (L, *a*, *b*) y sensorialmente los parámetros de flavor, aroma y textura. Los resultados demostraron que la dieta influyó sobre el color de los quesos, de forma que aquellos correspondientes a la alimentación en pastoreo fueron más amarillos (mayor valor *b*) que los correspondientes a la ración mixta. En cuanto al análisis sensorial de los quesos con 4 meses de maduración, los catadores otorgaron a aquellos correspondientes a los animales alimentados a base de pastizales, una mayor puntuación en intensidad de olor (atributos florales, verdes y herbáceos) y fueron descritos como menos grasos y duros. En esta misma línea, Soryal *et al.* (2004) evaluaron el efecto de la alimentación de cabras lecheras a base de concentraciones decrecientes de piensos y animales mantenidos exclusivamente en pastoreo, sobre las características físico-químicas y sensoriales de quesos Domiati durante la lactación. Los quesos elaborados a partir de los animales mantenidos en pastoreo y sin pienso recibieron la mayor puntuación en flavor, a la vez que mostraron un menor contenido de ácidos grasos de cadena corta. La composición de los quesos no se vio influenciada por las dietas, pero sí mostraron fluctuaciones en el contenido de ácidos grasos durante la lactación.

En relación a la forma de conservación de los forrajes, Verdier-Metz *et al.* (2005) determinaron la influencia de dos dietas: pasto raygrass ensilado y heno de pasto natural de montaña, ambos incluidos a nivel de 90% de la materia seca de la ración total. Las leches de tanque obtenidas de estos dos grupos se utilizaron en la elaboración de quesos Cantal y Sant-Nectaire. Independientemente del tipo de queso elaborado, aquellos provenientes de las vacas que recibieron ensilado se caracterizaron por tener más grasa y menor contenido de nitrógeno total a la vez que presentaron un tono más amarillo. Por otro lado, los quesos

correspondientes a la dieta a base de heno presentaron un olor a mantequilla y pasto, y un aroma a heno y cítrico más intensos que los quesos provenientes de la ración con ensilaje. Una comparación similar entre sistemas de conservación fue realizada por Colombari *et al.* (1999) quienes evaluaron el efecto del proceso de conservación de la alfalfa (*Medicago sativa*) como ensilado o heno ventilado, sobre las características del queso madurado. En este caso, los autores no observaron diferencias significativas entre los quesos después de 12 meses de maduración. No obstante, fue posible determinar que la sustitución del heno de alfalfa por alfalfa ensilada a niveles entre el 23 y 35% de la materia seca de la ración, no influyó sobre el rendimiento lechero ni sobre la composición de la leche. Este tipo de evaluación también ha sido descrita para ovejas lecheras de raza Comisana de la zona de Sicilia, donde durante la época de escasez de pastos se emplea frecuentemente una leguminosa denominada sulla (*Hedysarum coronarium*) y que puede ser conservada en forma de heno o ensilado. Así Leto *et al.* (2002) determinaron la influencia de estos dos sistemas de conservación sobre las características del queso. De acuerdo con los resultados descritos, el método de conservación del forraje no influyó sobre la composición y las características microbiológicas de los quesos Pecorino durante su maduración, aunque los autores no realizaron una evaluación sensorial de los quesos que pueda dar una idea de la influencia de estos dos procesos de conservación sobre la textura, color o flavor del queso. Para el caso de ovejas lecheras mantenidas permanentemente en estabulación, también se han realizado estudios para definir la influencia de cambios en la ración sobre las características de los quesos. En este sentido, Albenzio *et al.* (2007) determinaron el efecto de dos niveles de proteína cruda en la ración de ovejas Comisana (13 y 16% de la materia seca de la ración) y el grado de ventilación (parámetro importante en el caso de ovejas en confinamiento), sobre las características de quesos madurados. Los autores observaron que los quesos frescos correspondientes al grupo de animales alimentados con la ración menos proteica, mostraron un mayor contenido de caseína y un mayor grado de proteólisis al final de la maduración, en comparación a los quesos correspondiente a la dieta con 16% de proteína. Estos quesos también presentaron un mayor contenido de agua que indujo a un incremento del rendimiento quesero de la leche correspondiente a la dieta con menor concentración de proteína. La menor presencia de urea y los mayores porcentajes de proteína y caseína de esta leche se debieron a que la dieta con menor cantidad de proteína promovió una utilización del N más eficiente por parte de las ovejas, sin que llegara a afectar negativamente su función productiva.

Con el objetivo de incrementar el valor nutricional de los productos derivados de los animales, se ha recurrido a la adición de diferentes fuentes nutricionales, que en el caso de rumiantes lecheros suelen ser suplementos o ingredientes ricos en grasas poliinsaturadas. Una de estas fuentes ha sido descrita por Cabiddu *et al.* (2006) quienes evaluaron la inclusión de *Chrysanthemum coronarium* en la dieta de ovejas lecheras para determinar su efecto sobre la composición de la grasa y el contenido de C18:2 (cis-9 y trans-11) en la leche y quesos. Estos autores observaron que el consumo de este tipo de forraje en estado de floración no influyó negativamente sobre la producción de leche, pero sí promovió diferencias en la composición de la grasa de la leche y el queso. Los ácidos linoléico conjugado, vaccénico y linoléico fueron mayores en la leche y queso correspondientes a las ovejas que pastaron las especies de *C. coronarium*. En la misma línea Papadopoulos *et al.* (2002) evaluaron la inclusión de suplementos ricos en ácidos grasos poliinsaturados para producir productos “saludables” de origen animal como el yogur y queso de leche de oveja. La leche obtenida a partir de las ovejas alimentadas con el suplemento se vio enriquecida en estos ácidos grasos al igual que el yogur y el queso tipo Feta elaborados a partir de esta leche. La inclusión de este componente en la dieta no afectó la salud de los animales ni la producción de leche, pero sí incrementó el contenido de grasa de la misma.

Por otro lado, el contenido natural de isoflavonas por parte de algunos forrajes ha sido también objeto de estudio para otorgar propiedades funcionales a la leche y sus derivados. Sakakibara *et al.* (2004) evaluaron el contenido de isoflavonas de forrajes de dos especies de trébol (*Trifolium subterraneum* L y *Trifolium pratense* L) de montaña, para determinar la cantidad de derivados de estos compuestos que pueden pasar del alimento a la leche de cabras que recibían en su dieta estas especies forrajeras. Las isoflavonas son sustancias que poseen una actividad estrogénica con beneficios potenciales para tratar enfermedades hormonales como el cáncer de pecho o próstata, la osteoporosis, o atenuar los síntomas de la menopausia. El contenido de isoflavonas varía grandemente entre los diferentes cultivares y variedades de este forraje y los componentes que se mueven del alimento a la leche son biotransformados por el animal, siendo el equol uno de los que pueden recuperarse en la leche (1120 µg /L). Además de este componente, el total de isoflavonoides encontrados en la leche de cabra fue 4 veces mayor al observado en leche de vaca. Este tipo de observaciones están incentivando la investigación en este campo, con el fin de obtener alimentos de origen animal con cierto potencial para beneficiar la salud humana.

Finalmente, cabe resaltar que a pesar de que el empleo de subproductos y residuos agrícolas es una práctica tradicional en las explotaciones de rumiantes menores, existe poca información sobre el impacto de estos recursos alimenticios sobre la leche y los derivados, que es especialmente importante en el caso de quesos con Denominación de Origen cuyas características son controladas y definidas. También se carece de información sobre la seguridad de estos residuos para ser ofrecidos en la dieta de los animales en relación al contenido potencial de plaguicidas u otras sustancias químicas. Estas evaluaciones son relevantes ya que pueden llegar a ser una limitación para su empleo en la alimentación de animales y más si se toma en cuenta que estos residuos pueden ser transferidos por el alimento a los productos finales como es la carne, la leche y derivados. En este sentido Ngu y Ledin (2005) determinaron la presencia de residuos de plaguicidas e insecticidas en la carne e hígado de cabras alimentadas con los residuos del cultivo de diferentes especies de *Brassicac* recolectados en el mercado y que consistían mayoritariamente de hojas que se ofrecieron verdes y frescas a cabras (machos y hembras) de 3 meses de edad. Los autores encontraron niveles muy bajos de pesticidas e insecticidas ($<0,175$ mg/kg de hojas frescas) que dejaron de ser detectados en la carne e hígado de los animales alimentados con estos residuos. No obstante se requieren más estudios en este línea ya que no existen datos suficientes para determinar los niveles de residuos químicos que los animales pueden tolerar y que no afecten al producto final que será consumido por humanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. EVALUACIÓN DE LECHE INDIVIDUALES Y DE TANQUE

3.1.1. Animales y recolección de muestras de leche

Los animales utilizados en los experimentos pertenecen a la granja experimental de ganado ovino (razas Guirra y Manchega) de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV) y durante los ensayos fueron mantenidos en condiciones de estabulación permanente bajo un sistema tradicional de lactancia natural con una etapa de cría de 35 días. Después del destete, las ovejas fueron ordeñadas dos veces al día: a las 8 a.m. y a las 5 p.m. siguiendo la rutina de ordeño de “apurado y retirada con repaso a mano” durante toda la lactación.

Durante la primera etapa del estudio, la alimentación se basó en las recomendaciones del INRA (1988) y consistió en una ración diaria compuesta por 1-1,5 kg de heno de alfalfa, 2,5 kg de pulpa fresca de naranja y cantidades variables de concentrado (~1 kg/día) según los requerimientos nutricionales de los animales a lo largo de la lactación. El concentrado ofrecido contenía un 60% de mezcla de cereales (maíz, cebada y avena) y el 40% restante de leguminosas (habas, veza y guisantes).

Las muestras de leche de tanque correspondientes a las dietas experimentales a base de cítricos de destrío o de ensilado de alcachofa, se obtuvieron de 48 ovejas lactantes que se distribuyeron en 4 grupos homogéneos (12 ovejas/grupo) en función del número de lactación y del nivel productivo. Se formularon 4 dietas iso-energéticas e iso-proteicas con un contenido de cítricos de destrío o de ensilado de alcachofa del 0, 10, 20 y 30 % de la materia seca de la ración, sustituyendo en proporción la cebada, pulpa de remolacha y/o alfalfa incluidas en la dieta del grupo control (Tablas 4 y 5). Las raciones se suministraron dos veces al día: la mitad en la mañana y la otra mitad por la tarde. Los animales siguieron el mismo patrón de ordeño descrito anteriormente y las muestras de leche de tanque se obtuvieron tanto de las ovejas del grupo control y de las alimentadas a base de las dietas experimentales.

Tabla 4. Composición de las dietas control y experimentales durante la evaluación de inclusión de cítrico de destrío en las raciones de las ovejas

Ingredientes	†Control	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3
	Extracto seco (g) / día			
Cítricos de destrío	0	250	500	750
Cebada	700	466	233	0
Pulpa de remolacha	270	180	90	0
Harina de soja	220	257	293	330
Alfalfa	1000	1000	1000	1000
Paja	260	260	260	260
Melazas	30	30	30	30
Complejo vitamínico	74	74	74	74
Total	2554	2517	2480	2444

†Control: 0% cítrico; Dieta 1: 10% cítrico; Dieta 2: 20% cítrico; Dieta 3: 30% cítrico

Tabla 5. Composición de las dietas control y experimentales durante la evaluación de inclusión de alcachofa ensilada en las raciones de las ovejas

Ingredientes	‡Control	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3
	Extracto seco (g) / día			
Ensilado de alcachofa	0	250	500	750
Cebada	600	400	200	0
Maíz	240	370	499	629
Harina de soja	275	291	308	324
Alfalfa	1050	800	550	300
Paja	330	385	441	496
Melazas	40	40	40	40
Complejo vitamínico	75	75	75	75
Total	2610	2611	2613	2614

‡Control: 0% alcachofa; Dieta 1: 10% alcachofa; Dieta 2: 20% alcachofa; Dieta 3: 30% alcachofa

Muestreo de leches individuales: Para la caracterización de la leche de oveja de ambas razas, se utilizaron un grupo de 30 ovejas Guirra (10 ovejas de primera lactación y 20 con más de una lactación) y 13 ovejas Manchega (9 de primera lactación y 4 con más de una lactación)

con un promedio de producción de leche de ~830 mL/día y 930 mL/día, respectivamente. Las ovejas Guirra se muestrearon a partir de la 9^a hasta la 21^a semana después del parto y las Manchega fueron muestreadas a partir de la semana 10^a hasta la 20^a. La obtención de leches individuales (mezcla del ordeño de la mañana y tarde) se realizó de manera que cada oveja fue muestreada al menos dos veces durante el período de producción a intervalos de 1-4 semanas. El número total de muestras individuales para la determinación de la composición de la leche y recuento de células somáticas fue de 111 (Guirra: 79; Manchega: 32): 47 de ovejas con una lactación y 64 de ovejas con ≥ 2 lactaciones. El número de muestras para la evaluación de la aptitud tecnológica de la leche se redujo a un total de 75 (Guirra: 52; Manchega: 23): 29 de ovejas de primera lactación y 46 de ovejas con ≥ 2 lactaciones, debido principalmente a pérdida de muestras durante el transporte, acidificación de la leche y/o volumen insuficiente de muestra debido a la entrada anticipada de algunas ovejas en el periodo de secado.

El día de muestreo se tomó una fracción representativa de cada leche individual, que se mantuvo a 4 °C hasta el momento de los análisis físico-químicos y de células somáticas realizados en la UPV, mientras que otra fracción de leche de ~800 mL se envió por mensajería rápida a T^a de refrigeración (6-8 °C) a los laboratorios del Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA). De esta muestra homogénea, se tomaron 500 mL y se adicionó azida sódica (40 mg/L) para inhibir el crecimiento de microorganismos y las leches se mantuvieron en una cámara a temperatura constante (20 °C) hasta el momento de su análisis para prevenir la alteración de las características tecnológicas originales (Remeuf *et al.*, 1989). El tiempo desde la recolección de las muestras y la evaluación de los parámetros tecnológicos en el CERPTA no superó las 24 h.

Muestreo de leches de tanque: el objetivo de recolectar muestras de tanque (~7 kg) de cada raza fue evaluar la aptitud quesera de las leches mediante la transformación de las leches en queso en condiciones similares a la industria. Posteriormente también se evaluaron las características de los quesos obtenidos a partir de estas leches. Las muestras se recolectaron en tres ocasiones durante el período de lactación de las ovejas y se realizaron tres producciones de queso con la leche de cada raza (Guirra y Manchega).

De igual manera se procedió con las leches de tanque (~10 kg) correspondientes a las dietas control y experimentales (cítricos enteros o ensilado de alcachofa), obteniéndose de cada una

tres muestras de leche durante el periodo de evaluación. Las leches de tanque se procesaron inmediatamente tras su recepción para la obtención de los quesos por lo cual no se adicionó ningún tipo de conservante.

3.1.2. Análisis físico-químicos y recuento de células somáticas

Los datos de la composición de las leches individuales y de tanque (extracto seco, ES; grasa, G; proteína total, PT; proteína verdadera, PV; caseína, CSN y lactosa, L) fueron proporcionados por los investigadores de la UPV y se obtuvieron mediante un analizador automático basado en espectrofotometría de infrarrojo (Milko Scan FT-120, Foss Electric, Hillerød, Dinamarca), calibrado previamente para leche de oveja con métodos estandarizados. El recuento de células somáticas (RCS) se realizó mediante un contador de células Fossomatic 5000 (Foss Electric).

3.1.3. Evaluación de los parámetros de coagulación, rendimiento y desuerado

El estudio de la coagulación se realizó por duplicado a nivel de laboratorio, usando un coagulómetro Gelograph (Gelograph[®]-NT, Gel-Instrumente, Thalwil, Suiza). Las muestras de leche atemperadas a 32 °C se coagularon por adición de una preparación líquida de quimosina (900 mg/L) con una actividad coagulante ≥ 180 IMCU/mL (Maxiren[®] 180, DSM Food Specialties, Barcelona) al 0,037% (v/v), tomando como referencia el protocolo descrito por Delacroix-Buchet *et al.* (1994). De este análisis se obtuvieron los parámetros RCT, RCA y F30, donde: RCT es el tiempo de floculación que va desde la adición del coagulante hasta la aparición de los primeros agregados detectados por el equipo, RCA es la velocidad de agregación de la cuajada y corresponde al valor de la pendiente de la tangente al origen obtenido por regresión lineal, y F30 es la dureza de la cuajada a los 30 min de coagulación.

El rendimiento potencial quesero (RTO) de las leches individuales determinado por triplicado se estimó por centrifugación, siguiendo el procedimiento sugerido por Calvo y Balcones (1998). A 100 mL de leche atemperada a 32 °C, se adicionó la preparación de quimosina líquida (0,037% v/v), y después de 30 min de coagulación, se centrifugaron las muestras (13000 g, 15 min, 10 °C), obteniéndose el rendimiento por pesado del precipitado obtenido y expresándose en tanto por ciento del peso inicial de la leche utilizada en el ensayo.

El estudio de la capacidad de los geles al desuerado (DES) se realizó por triplicado, según el procedimiento descrito por Calvo y Espinoza (1999). Después de 30 min de adicionar a 50 mL de leche atemperada (32 °C) la misma concentración de enzima, se cortó el coágulo formado con una espátula. Al cabo de una hora más a la misma temperatura, se procedió a pesar el suero liberado por el coágulo después de un minuto de decantación. Los resultados se expresaron en tanto por ciento de suero liberado a partir del peso inicial de la leche utilizada en el ensayo.

3.2. ELABORACIÓN DE QUESOS TIPO MANCHEGO

Las producciones de queso se realizaron siguiendo el protocolo de mini fabricación propuesto por Trujillo *et al.* (1999), con algunas modificaciones descritas en la Figura 5.

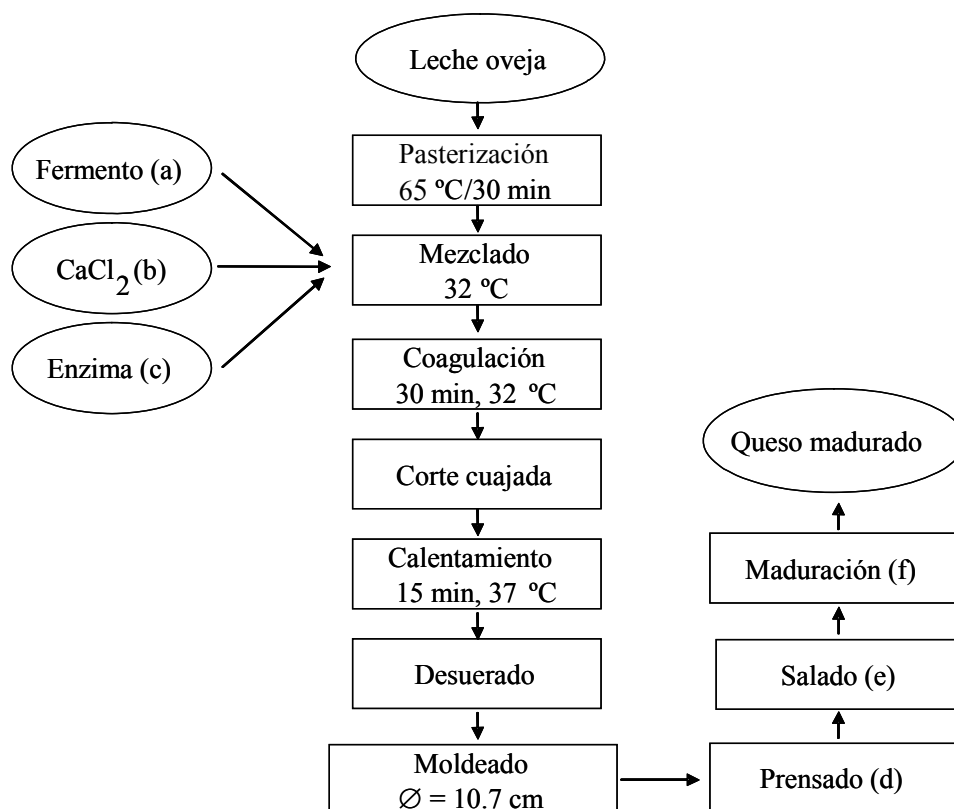


Figura 5. Diagrama de flujo de las mini fabricaciones de quesos elaborados a partir de leche de tanque. (a) Fermento AM (Larbus S.A., Barcelona) que contiene *Lactococcus lactis subsp. lactis* y *Lactococcus lactis subsp. cremoris* adicionado al 2% (p/p); (b) CaCl_2 35% (p/v) adicionado al 0,01% (v/p); (c) Preparación líquida de quimosina (900 mg/L) con una actividad coagulante de ≥ 180 IMCU/mL (Maxiren® 180, DSM Food Specialties, Barcelona) adicionado al 0,0375% (v/v); (d) 1,2 kPa / 1 h y 2,4 kPa / 3 h. (e) 14 °C / 2 h en salmuera (19% NaCl); (f) 14 °C y 85% humedad relativa.

Las leches de tanque usadas para la evaluación de las razas Guirra y Manchega no fueron pasteurizadas previamente. Por el contrario, las leches de tanque utilizadas para la evaluación de las dietas fueron pasteurizadas a 63 °C durante 30 min. Durante las producciones se obtuvieron los parámetros de coagulación RCT, RCA y F30 utilizando la sonda del coagulómetro Gelograph introducida directamente en la cuba de quesería.

El RTO bruto queso se obtuvo mediante el siguiente cálculo:

$$RTO (\%) = \text{Peso queso}^* (\text{kg}) / \text{Peso leche} (\text{kg}) \times 100$$

* el peso corresponde al queso después de salado y oreado

3.3. EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y FÍSICO-QUÍMICA DE LOS QUESOS

3.3.1. Análisis microbiológicos

La evaluación microbiológica se realizó en las leches crudas y pasteurizadas (63 °C, 30 min) así como en los quesos producidos a partir de las leches de ovejas alimentadas con cítricos de destrío, y muestreados a los días 1, 15, 30 y 60 de maduración. A partir de las leches se realizaron las diluciones decimales correspondientes que se realizaron en agua de peptona tamponada. En el caso de los quesos, se pesaron asepticamente 10 g de cada queso y esta alícuota se homogenizó durante 3 min con 90 mL de agua de peptona tamponada conteniendo 1% de Tween 80 (Panreac Química SA, Barcelona). Para este procedimiento se utilizó un homogeneizador electromecánico de palas (IUL Instruments, Barcelona) y posteriormente se realizaron las diluciones decimales en agua de peptona tamponada. Se realizaron los siguientes análisis microbiológicos por duplicado, de acuerdo a los procedimientos indicados:

- Recuento total de mesófilos aerobios: por inclusión en PCA (OXOID, Basingstoke, Hampshire, UK) incubado 48 h a 30 °C (IDF, 1991).
- Bacterias psicrotrofas: por inclusión en PCA (OXOID) incubado 7 días a 7 °C (Beuvier *et al.*, 1997).
- Lactobacilos: por inclusión y con doble capa en agar Rogosa (OXOID) incubado 72 h a 30 °C; Lactococos: por inclusión y con doble capa en medio M17 (OXOID) incubado 48 h a 30 °C y *Enterobacteriaceae*: por inclusión y con doble capa en medio

agar bilis rojo violeta glucosado (VRBGA, OXOID) incubado 24 h a 37 °C (Medina *et al.*, 1995).

- *Micrococcaceae*: por inclusión en medio manitol salado agar (OXOID) incubado 72 h a 30 °C (Beuvier *et al.*, 1997).
- Enterococos: por inclusión en medio kanamicina aesculina azida agar (OXOID) incubado 48 h a 37 °C (Medina *et al.*, 1995)
- *Salmonella* spp.: mediante pre-enriquecimiento en agua de peptona tamponada por 24 h a 37 °C, con enriquecimiento en caldos Rappaport-Vassiliadis (Biomérieux, Marcy L'Etoile, Francia) y Müller-Kauffmann (Biomérieux) por 24 h a 42 y 37 °C respectivamente, seguido de siembra en superficie en medios SMID (Biomérieux) y XLD (OXOID) incubados 24 h a 37 °C (ISO, 2002)
- *Listeria monocytogenes*: mediante pre-enriquecimiento en caldo Fraser semi (Biomérieux) por 24 h a 30 °C, con enriquecimiento en caldo Fraser (Biomérieux) por 24 h a 30 °C, seguido de siembra por estriado en medio PALCAM (OXOID) incubado 24 h a 30 °C (ISO, 1996)

Los análisis de *Salmonella* spp. y de *Listeria monocytogenes* se realizaron sobre las leches y el queso al día 1 de fabricación.

3.3.2. Análisis físico-químicos

Las muestras de queso obtenidas a los días 1, 15, 30 y 60 de la maduración se analizaron por duplicado para los siguientes parámetros:

- Extracto seco (ES): mediante desecación en estufa a 102 ± 2 °C hasta peso constante (IDF, 1982).
- Determinación de pH: en una mezcla homogénea 1:1 de queso y agua por método potenciométrico (Crison Micro-pH, Barcelona, España).
- Contenido de materia grasa: siguiendo el método de Van Gulik para quesos (ISO, 1975).
- Contenido de sal: se cuantificó utilizando un analizador de cloruros (Corning 926 Chloride Analyzer, Sherwood Scientific Ltd., Cambridge, UK) a partir de un filtrado obtenido por homogenización de 0,5-1 g de queso en 100 mL de agua de alta pureza (Milli-Q, Millipore, Madrid).

- Nitrógeno total (NT) y el nitrógeno soluble a pH 4,6 (NS) de los quesos provenientes de las ovejas Guirra y Manchega, se determinaron por el método Kjeldhal según la norma IDF (1993), mientras que el NT y NS de los quesos correspondientes a las dietas experimentales, se determinaron mediante el método basado en el principio Dumas según la norma estándar de IDF (2002) utilizando un equipo TruSpec® N (LECO, St. Joseph, MI, USA).

3.3.3. Determinación de aminoácidos libres y nitrógeno soluble

El nitrógeno soluble en agua (NS) a pH 4,6 se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Kuchroo y Fox (1982). La determinación de aminoácidos libres totales (AA) se realizó según el protocolo de Cd-ninhidrina descrito por Folkertsma y Fox (1992).

3.3.4. Determinación de ácidos grasos libres

La extracción de los lípidos del queso y la separación de los ácidos grasos libres fue realizada según el procedimiento descrito por De-Jong y Badings (1990) con algunas modificaciones. Se pesó 1 g de queso en un tubo de centrifuga con tapa y se adicionó 3 g de Na₂SO₄ anhidro, 0,3 mL de H₂SO₄ (2,5 M) y 30 µL de la solución de estándar interno (ácido heptanoico 36,4 mg/mL de dietil éter seco). Posteriormente se adicionó 3 mL de dietil éter:heptano (1:1, v/v) y se agitó en vórtex durante dos minutos, para realizar la extracción de los lípidos del queso. Este procedimiento se realizó tres veces; en cada ocasión el sobrenadante fue transferido a otro tubo de centrifuga con 1 g de Na₂SO₄ anhidro. El extracto de lípidos obtenido se pasó por columnas aminopropil (Spe-ed NH₂ 500 mg/mL, Applied Separations, Allentown, PA, USA), previamente acondicionadas con 10 mL de heptano. Los triglicéridos de la fracción lipídica fueron eluidos con 20 mL de una mezcla hexano:propanol (3:2 v/v), y finalmente los ácidos grasos libres fueron eluidos con 5 mL de dietil éter acidificado con 20 mL/L de ácido fórmico. Esta fracción con los ácidos grasos libres se utilizó para inyectar directamente en el cromatógrafo de gases. Para cada muestra de queso se realizaron dos extracciones de ácidos grasos libres y se realizaron dos inyecciones de cada extracto obtenido.

La separación y cuantificación de los ácidos grasos libres se realizó con un cromatógrafo de gases Hewlett Packard (GCSystem HP 6890 Series, Germany) equipado con un inyector on-column. Se empleó un detector de ionización de llama y para la separación una columna

capilar de sílice fundida (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm; Teknocroma TRB-5TR, Barcelona, España). Se utilizó helio de alta pureza como gas de arrastre con un flujo de 0,9 mL/min e hidrógeno de alta pureza (40 mL/min) y aire comprimido (450 mL/min) para el detector de llama. La temperatura inicial del horno fue de 50 °C seguida por una rampa de temperatura de 5 °C/min hasta una temperatura máxima de 240 °C que se mantuvo durante 20 min. La señal obtenida del detector se integró usando el programa informático ChemStation del cromatógrafo HP 6890. Los ácidos grasos libres individuales fueron cuantificados usando estándares proporcionados por la casa comercial SIGMA (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA). Para la elaboración de las curvas de calibración se utilizaron 6 soluciones estándares con concentraciones crecientes de cada ácido graso y una concentración fija del estándar interno (C7; 0,7 μg/mL).

3.3.5. Análisis instrumental del color

La determinación del color de las muestras de leche y queso se realizó usando un colorímetro portátil Hunter Lab (MiniScan XETM, Hunter Associates Laboratory Inc., Virginia, USA). Se utilizó como iluminante el parámetro Fcw (luz fluorescente) y un ángulo de observación de 10°. Las muestras de leche se atemperaron a 20 °C para el análisis y las mediciones se efectuaron por triplicado. El análisis de color en el queso se realizó a los días 1, 15, 30 y 60 de la maduración utilizando las mismas condiciones descritas para la leche. Las mediciones se efectuaron en 6 puntos distintos de la muestra de queso excluyendo la corteza formada. Se obtuvieron los valores según la escala del CIE $L a b$ donde, el valor de L varía de 0 a 100 y da una medición de la luminosidad, el valor a corresponde a la variación en las proporciones del color rojo (valores positivos) a verde (valores negativos), y b corresponde a las variaciones del color amarillo (valores positivos) al azul (valores negativos). La diferencia total de color de las muestras experimentales versus el control (ΔE) fue calculada usando la fórmula $\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$ con el fin de contrastar las leches y quesos experimentales con las leches y quesos controles.

3.3.6. Análisis instrumental de la textura

La textura se evaluó realizando un ensayo de compresión uniaxial, siguiendo el procedimiento descrito por Buffa *et al.* (2001), utilizándose un texturómetro TA-TX2 Texture Analyzer (State Microsystem, Surrey, UK). Las muestras de queso obtenidas durante la maduración se

cortaron en dimensiones de 1 cm³ y se mantuvieron a 20 °C durante 2 h antes de realizar el análisis. La compresión de los cubos se efectuó hasta el 80% de su altura original con una célula de descarga de 245 N y a una velocidad de cabezal de 80 mm/min. Se utilizó glicerol como lubricante de base para eliminar la fricción y la prueba se repitió seis veces con cada muestra de queso.

Los valores de estrés (σ) (N/m) y deformación (ε) fueron calculados según las ecuaciones propuestas por Calzada y Peleg (1978):

$$\sigma_{(t)} = F_{(t)} / A_{(t)}$$
$$\varepsilon = \ln (H_0) / (H_0 - \Delta H),$$

donde $\sigma_{(t)}$ (N/m) es el estrés a tiempo (t); $F_{(t)}$ (N) es la fuerza a tiempo (t) y $A_{(t)}$ (m²) es el área al tiempo (t) y ε (-) es la deformación verdadera; H_0 (m) es la altura original de la muestra y ΔH es el cambio en altura.

3.4. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LOS QUESOS

La evaluación sensorial de los quesos con 60 días de maduración fue llevada a cabo por un grupo de 7 panelistas pertenecientes al CERPTA, jueces que están familiarizados con el producto y las técnicas sensoriales normalmente utilizadas para evaluar los quesos. Después de retirar la corteza formada durante la maduración, los quesos se cortaron en “cuñas” de 1 cm de grosor y se mantuvieron durante 1 h a temperatura ambiente. Las muestras presentadas a los catadores fueron identificadas por un número de tres dígitos asignado al azar y se evaluaron los parámetros de color, olor, aroma, sabor y textura utilizando una escala de 7 puntos, en la que 1 corresponde a una valoración de nula o muy débil, 4 media y 7 elevada. Los catadores también dieron su impresión global de las muestras de quesos asignando un valor en una escala de 7 puntos en la que los extremos fueron: 1, defectuoso y 7, excelente.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de los datos se realizó con los paquetes estadísticos SAS versión 9.1 (SAS Institute Inc., USA) y SPSS versión 14.0 para Windows (SPSS, Inc., Michigan, USA). Los datos de las leches individuales de cada oveja (composición y parámetros tecnológicos) se analizaron

utilizando el procedimiento mixto para medidas repetidas del SAS. El modelo estadístico incluyó los efectos fijos de la raza (2 niveles: Guirra y Manchega), número de lactación (2 niveles: 1 o ≥ 2), semana de lactación (continua) y oveja como efecto aleatorio y está descrito por:

$$Y_i = X_i\beta + Z_ib_i + \varepsilon_i$$

$$b_i \sim N(0,D), \varepsilon_i \sim N(0,\Sigma_i), \text{ y } b_1, \dots, b_n, \varepsilon_1, \dots, \varepsilon_n \text{ independiente}$$

donde Y_i es el vector respuesta de la variable dependiente i ; X_i ($n_i \times 4$) y Z_i ($n_i \times 1$) son las matrices dimensionales de las covariables conocidas; β es el vector dimensional de los efectos fijos; b_i es el vector dimensional del efecto aleatorio con distribución $N(0,D)$, y ε_i es el n_i vector dimensional del error experimental con distribución $N(0,\Sigma_i)$.

Las interacciones entre los efectos fijos no fueron consideradas puesto que no mostraron significancia estadística y los recuentos de células somáticas fueron convertidos en valores logarítmicos para realizar el análisis estadístico. Para determinar diferencias entre las muestras de leche de tanque Guirra y Manchega se utilizó una prueba t para muestras independientes con un nivel de significancia de $P < 0,05$. Las correlaciones entre parámetros y el análisis factorial fueron realizadas con el programa SPSS. Se aplicó un análisis de componentes principales utilizando el método de rotación Varimax con Kaiser y por último se aplicó el procedimiento mixto del SAS para determinar el efecto de los factores fijos (raza, número de lactaciones y semana) sobre los nuevos componentes obtenidos.

Los datos de los parámetros evaluados de las leches de tanque y de los quesos correspondientes a las dietas control y experimentales se procesaron mediante una análisis de la varianza utilizando el procedimiento lineal generalizado del SAS tomando un nivel de significancia de $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. APTITUD QUESERA DE LA LECHE DE OVEJA GUIRRA Y MANCHEGA Y CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS MADURADOS

4.1.1. Parámetros físico-químicos y de coagulación de las leches individuales

En la Tabla 6 se presentan la composición físico-química y los parámetros tecnológicos de la leche de las dos razas evaluadas, y la significancia de los factores incluidos en el modelo estadístico.

Tabla 6. Composición físico-química (n = 111) y parámetros tecnológicos (n = 75) de las muestras individuales de leche (media ± d.s). Significancia de los factores fijos

Variable	Raza		Significancia		
	Guirra	Manchega	Raza	Lactación	Semana
G (%)	8,74±1,60	9,11±1,20	*	***	**
PT (%)	6,67±0,78	6,55±0,81	ns	*	***
PV (%)	6,40±0,80	6,30±0,80	ns	*	***
CSN (%)	5,16±0,84	5,18±0,61	ns	ns	**
L (%)	4,64±0,34	4,49±0,27	*	*	***
ES (%)	20,93±2,00	20,97±1,66	ns	***	***
RCS (Log cél/mL)	5,49±0,56	5,22±0,46	*	ns	ns
pH	6,63±0,52	6,69±0,10	ns	ns	**
RCT (min)	12,25±4,51	13,76±5,60	ns	ns	**
RCA (Δ%T/min)	0,41±0,17	0,23±0,23	ns	ns	***
F30 (Δ%T)	2,84±0,88	2,59±1,10	ns	ns	***
RTO (%)	43,31±7,70	43,25±9,50	ns	**	**
DES (%)	21,25±6,84	18,88±8,84	ns	ns	***

G = grasa; PT = proteína total; PV = proteína verdadera; CSN = caseína; L = lactosa; ES = extracto seco
RCS = recuento células somáticas; RCT = tiempo de coagulación; RCA = velocidad de agregación;
F30 = firmeza del gel; RTO = rendimiento quesero; DES = capacidad de desuerado
ns, no significativo. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

Las diferencias entre razas fueron significativas para el contenido de grasa, lactosa y RCS. El número de lactación (1 o ≥ 2) influyó sobre los componentes mayoritarios de la leche a

excepción de la caseína y también tuvo efecto sobre el rendimiento quesero. En cuanto al factor semana de lactación éste fue significativo para prácticamente todos los parámetros medidos en las leches a excepción del RCS. Ambas razas presentaron valores promedios de grasa y proteína superiores a los datos publicados para otras razas Españolas como la Latxa ($G = 5,67 \pm 0,04$; $PT = 5,23 \pm 0,4$) y Churra ($G = 6,54 \pm 0,04$; $PT = 5,70 \pm 0,02$) estudiadas por Ugarte y Legarra (2003) y Fuertes *et al.* (1998), respectivamente y otras razas Europeas como la Lacaune ($G = 7,33 \pm 1,46$; $PT = 5,72 \pm 0,78$) descrita por Pellegrini *et al.* (1997). El alto contenido de proteína total observado en la leche de oveja Guirra es una de las características destacadas por Rodríguez *et al.* (2002) en evaluaciones preliminares de la producción y composición de la leche de esta raza ($PT = 61,4-69,2$ g/kg). El contenido de lactosa en la leche de oveja Guirra fue similar al obtenido por Pellegrini *et al.* (1994) y Micari *et al.* (2002) para leche de oveja de razas italianas, mientras que el valor de pH, similar para ambas razas se aproximó a los datos observados en otras razas ovinas (Pellegrini *et al.*, 1997; Micari *et al.*, 2002; Albenzio, *et al.*, 2004). Los recuentos de células somáticas fueron cercanos a 350000 y 150000 cél/mL para las razas Guirra y Manchega, respectivamente. Según Micari *et al.* (2002) el RCS es un parámetro que depende de las condiciones sanitarias de los animales, la higiene durante el ordeño y otros agentes externos. Debido a estas fuentes de variación, existen grandes discrepancias para establecer valores de referencia para rumiantes menores a pesar de que un elevado RCS puede influir negativamente sobre las propiedades de la leche. Albenzio *et al.* (2004) observaron que leches con recuentos por debajo de 5×10^5 cél/mL coagularon en menos tiempo y presentaron una cuajada más firme que leches con RCS superiores a 1×10^6 cél/mL. Siguiendo el criterio de estos autores, los recuentos observados en la leche de las dos razas estudiadas estuvieron por debajo del nivel que puede afectar negativamente las características de coagulación.

No se observaron diferencias significativas entre razas para los parámetros de coagulación evaluados ($P > 0,05$), no obstante la leche Manchega presentó un mayor tiempo de coagulación, menor velocidad de agregación y un gel de menor firmeza. En cuanto al rendimiento potencial quesero de las leches analizado en laboratorio, se observó que para ambas razas, los valores fueron elevados y mayores a los que se obtienen a escala industrial debido a que los métodos de laboratorio basados en técnicas de centrifugación sobreestiman este resultado. El parámetro de rendimiento es difícil de comparar entre trabajos ya que existen pocos estudios llevados a cabo con leches individuales además de que existen grandes diferencias entre las técnicas empleadas por los investigadores. Sin embargo, Othmane *et al.*

(2002b), siguiendo un protocolo similar (centrifugación a 2500 rpm durante 15 min) evaluaron el rendimiento quesero de leche de oveja Churra ($G = 7,12 \pm 0,14$; $P = 5,98 \pm 0,60$) obteniendo un rendimiento de 26,5 kg queso/100 L leche. En relación al desuerado de la cuajada, Pellegrini *et al.* (1994) obtuvieron un promedio de 15,2% (p/p) de suero de centrifugación a partir de leche de oveja Lacaune, mediante la ejecución de un ensayo similar. Este valor fue menor al obtenido en nuestro trabajo, siendo el porcentaje de suero obtenido tras la centrifugación de la cuajada mayor para la leche Guirra en comparación con la Manchega aunque las diferencias no llegaron a ser significativas ($P > 0,05$).

4.1.2. Efecto del número de lactación y evolución de los parámetros físico-químicos y tecnológicos

Los componentes mayoritarios de la leche y el rendimiento quesero fueron influenciados por el número de lactaciones (Tabla 6). Independientemente de la raza, el contenido de grasa, proteína y rendimiento quesero fueron mayores en la leche proveniente de ovejas con dos o más lactaciones (lactación = 1: $G = 8,21 \pm 0,18$; $PT = 6,17 \pm 0,10$; $RTO = 40,49 \pm 1,32$; lactación ≥ 2 : $G = 9,61 \pm 0,18$; $PT = 6,49 \pm 0,10$; $RTO = 45,35 \pm 1,26$), lo cual concuerda con lo observado por otros autores (Casoli *et al.*, 1989; Pugliese *et al.*, 2000). A pesar de los cambios en composición, las propiedades de coagulación no fueron afectadas significativamente por el número de partos. Estos resultados son similares a los descritos por Pellegrini *et al.* (1997) en leche de oveja Lacaune, mientras que discrepa de otros estudios realizados con leche de vaca en los que se observó un efecto negativo del número de lactaciones sobre las propiedades de coagulación (Tyrisevā *et al.*, 2003).

A excepción del RCS, todas las variables fueron afectadas significativamente por la semana de lactación. Los valores de grasa, proteína y caseína aumentaron con el período de ordeño (Figura 6), lo que coincide con lo descrito para diferentes razas de oveja (Delacroix-Buchet *et al.*, 1994; Cappio-Borlino *et al.*, 1997; Pugliese *et al.*, 2000). El incremento de estos componentes fue observado en las dos razas y puede ser parcialmente explicado por la reducción del rendimiento lechero que normalmente se observa durante la curva de lactación (Carta *et al.*, 1995). La evolución del contenido de lactosa fue distinta al de la grasa y proteína ya que disminuyó con el avance de la lactación y concuerda con lo descrito por otros autores para leche de oveja (Pellegrini *et al.*, 1994; Pugliese *et al.*, 2000).

En la Figura 7 se muestra la evolución de los parámetros de coagulación, desuerado y rendimiento quesero para las leches Guirra y Manchega. Todas las variables evaluadas fueron influenciadas significativamente por el periodo de ordeño (Tabla 6). Es sabido que con el avance de la lactación la leche experimenta un detrimento de sus propiedades de coagulación debido, entre otras razones, a los cambios en composición, incremento de células somáticas o modificaciones de la actividad enzimática (Sevi *et al.*, 2004). Con el avance de la lactación se observó un aumento del tiempo de coagulación y del pH de la leche y una disminución de la velocidad de agregación y de la firmeza de gel. Estas observaciones concuerdan parcialmente con lo descrito por Pellegrini *et al.* (1994), pero discrepan con respecto a la consistencia de la cuajada ya que estos autores observaron un incremento de la firmeza conforme avanzó la lactación. Coulon *et al.* (1998) y Albenzio *et al.* (2004) también observaron una menor firmeza del gel especialmente durante el último periodo de ordeño de ovejas Comisana y vacas lecheras, respectivamente. Las diferencias entre resultados pueden ser explicadas por la influencia de los componentes de la leche (principalmente grasa y proteína) sobre este parámetro, aunque otros factores que varían con la lactación, como el tamaño de la micela de caseína y el equilibrio mineral también tienen influencia en la consistencia del gel (Remeuf *et al.*, 1991; Pellegrini *et al.*, 1997).

Existen varios factores que afectan la composición de la leche como son el estado nutricional del animal, la etapa de lactación o la raza. Este último factor genera grandes diferencias en composición y rendimiento. Las razas ovinas Españolas presentan una producción de leche intermedia en comparación con otras razas foráneas como la Lacaune, que se considera una raza de alto rendimiento. Debido a estas características, el contenido de sólidos totales (proteína, grasa y lactosa) suele ser mayor en las primeras. Existen pocas publicaciones que describan el efecto de diferentes concentraciones de proteína y grasa sobre las propiedades de coagulación de la leche. Bencini (2002) estudió el efecto de incrementar la concentración de estos dos componentes (G y PT) mediante un proceso de ultrafiltración, sobre las propiedades de coagulación de leche de oveja. Los resultados demostraron que un incremento en la proteína (de 4,90 a 6,84%; pH 6,71) de la leche resultó en una disminución del tiempo de coagulación y un aumento de la consistencia del gel; sin embargo, el autor describió una relación curvilínea entre la concentración de proteína y la firmeza del gel obtenido. Estas observaciones sugieren que un incremento en proteína por encima de una concentración determinada (~6,30%) puede tener un efecto negativo sobre la consistencia de la cuajada. Al evaluar el incremento en grasa (de 5,93 a 10,10%, pH 6,73), el autor observó resultados

similares a los descritos anteriormente, de modo que el gel con mayor consistencia correspondió a un contenido de grasa del 6,85%. Estos resultados podrían explicar el aumento de la firmeza del gel descrita por otros autores (Pellegrini *et al.*, 1997) en razas ovinas seleccionadas, como por ejemplo Lacaune (P = 4,91-6,21% y G = 6,05-8,33 después de 48 y 174 días de lactación) y también la disminución de este parámetro observado en las ovejas Guirra y Manchega durante la lactación (P = 5,67-7,28% y G = 6,34-9,37% para Guirra, y P = 5,60-6,83% y G = 7,81-9,16% para Manchega después de 70 y 133 días de lactación).

Para las dos razas evaluadas se observó un incremento del rendimiento quesero mientras que el porcentaje de suero expulsado por la cuajada, que nos da una idea la capacidad de desuerado del gel, disminuyó durante la lactación. El aumento en rendimiento fue paralelo al incremento de sólidos en la leche como ha sido descrito para otras especies ovinas (Coulon *et al.*, 1998; Fekadu *et al.*, 2005). La evolución de la capacidad de desuerado de los geles a lo largo de la lactación es un parámetro menos estudiado, no obstante de acuerdo a estudios realizados, el incremento de sólidos totales en la leche puede reducir la capacidad de desuerado de las cuajadas enzimáticas (Pellegrini *et al.*, 1994; Remeuf y Raynal, 2001).

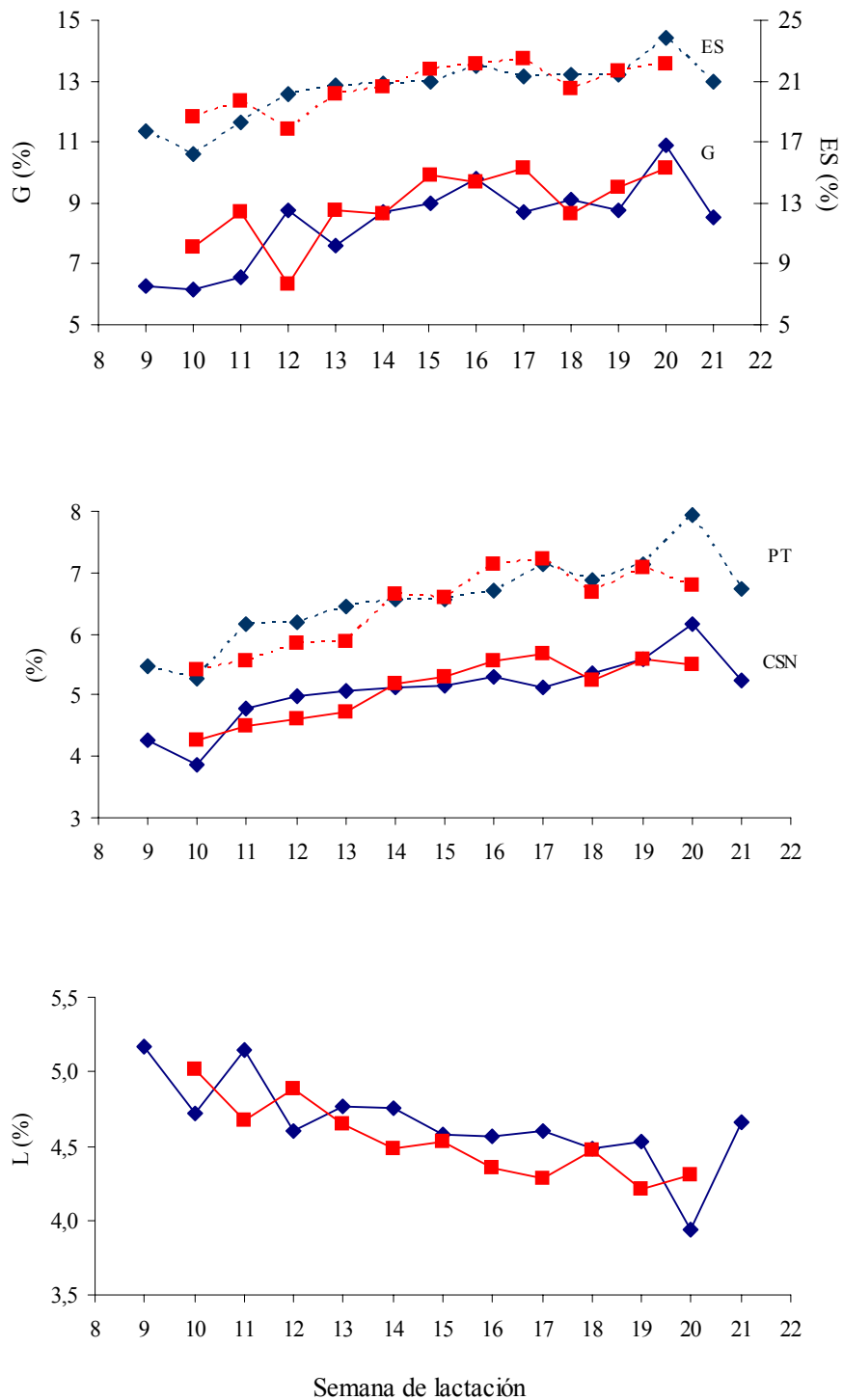


Figura 6. Evolución de la composición de la leche de oveja Guirra (♦) y Manchega (■) durante la lactación
 ES = extracto seco; G = grasa; PT = proteína total; CSN = caseína; L = lactosa

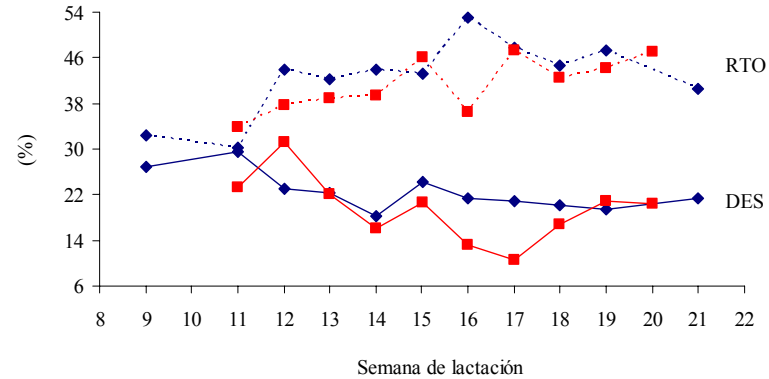
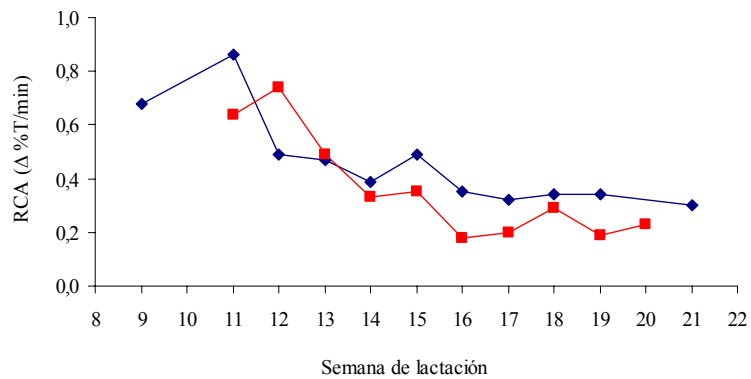
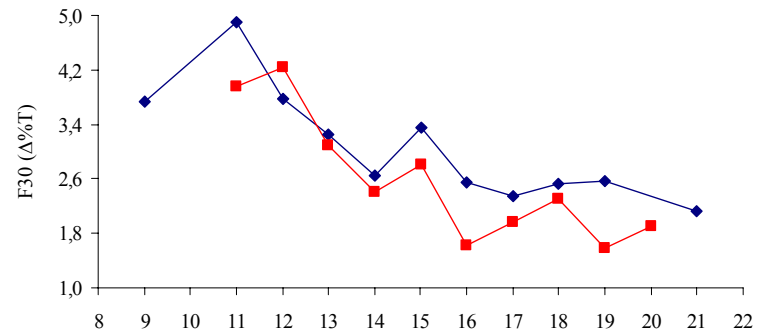
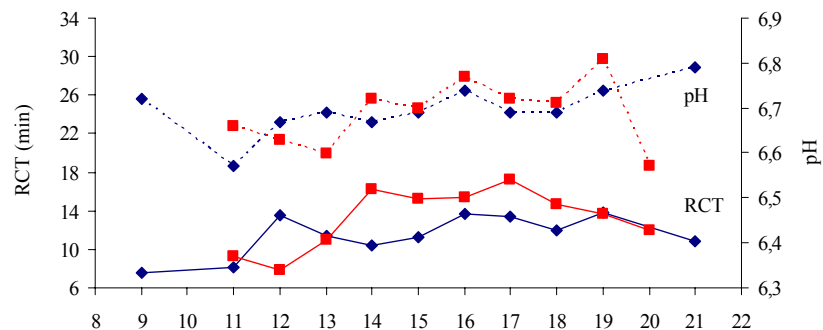


Figura 7. Evolución de las propiedades tecnológicas de la leche de oveja Guirra (♦) y Manchega (■) durante la lactación
 RCT = tiempo de coagulación; RCA = velocidad de agregación; F30 = firmeza del gel; RTO = rendimiento quesero;
 DES = capacidad de desuerado

4.1.3. Relación entre los parámetros físico-químicos y tecnológicos

En la Tabla 7 se muestran los coeficientes de correlación entre las características de la leche y los parámetros de aptitud tecnológica. La velocidad de agregación y la firmeza del gel presentaron correlaciones negativas con el tiempo de coagulación, sugiriendo que la consistencia del gel disminuye cuando la leche tarda más en coagular, característica que concuerda con lo descrito por Remeuf *et al.* (1989) para leche de cabra. Adicionalmente se observó una correlación positiva alta y significativa entre la velocidad de agregación y la firmeza del gel en concordancia con lo observado por otros autores (Delacroix-Buchet *et al.*, 1994). El pH de la leche mostró correlaciones positivas con el tiempo de coagulación y negativas con la velocidad de agregación y la firmeza del gel. Estos resultados muestran la dependencia de los parámetros de coagulación con respecto al valor de pH, que también ha sido descrita por otros autores (Duranti y Casoli, 1991; Manfredini *et al.*, 1992). Además del pH, los principales componentes físico-químicos de la leche que se correlacionaron significativamente ($P < 0,01$) con el tiempo de coagulación fueron la proteína total, proteína verdadera, caseína, lactosa y sólidos totales. Estas correlaciones positivas entre los componentes proteicos de la leche y el tiempo de coagulación también han sido observadas en otros estudios realizados con leche de oveja (Delacroix-Buchet *et al.*, 1994; Pellegrini *et al.*, 1997). De igual forma, la consistencia del gel y la velocidad de agregación fueron influenciadas por el contenido de grasa, proteína, caseína y sólidos totales. Las correlaciones entre estos parámetros fueron negativas, de manera que a pesar del incremento en grasa, proteína y sólidos durante la lactación, el gel formado fue cada vez más débil. Las relaciones curvilíneas entre la consistencia del gel y el contenido de proteína y grasa observadas por Bencini (2002) antes citadas, podrían explicar los coeficientes encontrados. Sin embargo, en otros estudios realizados con leche de oveja se describen correlaciones positivas entre los parámetros de concentración proteica y velocidad de agregación y firmeza de gel (Delacroix-Buchet *et al.*, 1994; Pellegrini *et al.*, 1997), probablemente debidas al contenido intermedio de proteína y grasa de las leches empleadas.

A pesar de que las correlaciones entre los parámetros de coagulación y el contenido de grasa, proteína y pH fueron significativas ($P < 0,05$), estos coeficientes no fueron mayores a 0,5. Estas correlaciones bajas también han sido observadas en otros estudios realizados con leche de vaca (Tyrisevä *et al.*, 2003; Auldist *et al.*, 2004), y confirman que la coagulación es

influenciada por otros factores como la presencia de fracciones caseínicas, las características de la micela o la concentración de calcio (Remeuf *et al.*, 1991; Pellegrini *et al.*, 1997).

Tabla 7. Coeficientes de correlación entre los parámetros físico-químicos y tecnológicos

Variable	RCT	RCA	F30	RTO	DES
G	0,238*	-0,433**	-0,423**	0,824**	ns
PT	0,392**	-0,469**	-0,473**	0,564**	-0,342**
PV	0,401**	-0,476**	-0,481**	0,560**	-0,347**
CSN	0,277*	-0,352**	-0,343**	0,233*	0,283*
L	-0,372**	0,486**	0,470**	-0,557**	ns
ES	0,327**	-0,511**	-0,505**	0,856**	-0,258*
pH	0,434**	-0,385**	-0,357**	ns	-0,310**
RCT	1,000	-0,701**	-0,585**	ns	-0,731**
RCA	-0,701**	1,000	0,949**	-0,268*	0,734**
F30	-0,585**	0,949**	1,000	ns	0,662**

G = grasa; PT = proteína total; PV = proteína verdadera; CSN = caseína; L = lactosa; ES = extracto seco; RCT = tiempo de coagulación; RCA = velocidad de agregación; F30=firmeza del gel; RTO= rendimiento quesero; DES=capacidad de desuerado
ns, no significativo
* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

Únicamente el rendimiento quesero mostró correlaciones altas y positivas con el contenido de sólidos totales, grasa y proteína, no obstante este parámetro no mostró correlación con las variables de coagulación a excepción de la velocidad de agregación. Por el contrario, el desuerado del gel mostró correlaciones altas con el tiempo de coagulación, velocidad de agregación y firmeza del gel.

La variabilidad del conjunto de muestras individuales puede ser explicada mediante la extracción de componentes principales y la posterior rotación de los factores por métodos ortogonales. El análisis de rotación permitió agrupar las variables en tres nuevos factores que explicaron el 80,9% de la variabilidad global (Tabla 8). El factor 1 estuvo altamente correlacionado con el contenido de grasa, sólidos totales y rendimiento quesero, el factor 2 mostró altas correlaciones con los parámetros tecnológicos y la capacidad de desuerado del

gel, y por último el factor 3 mostró correlación únicamente con los componentes proteicos de la leche. Después de realizar un análisis de la varianza de los factores rotados se obtuvieron las medias de los mínimos cuadrados y la significancia para los efectos fijos de raza, número de lactación (Tabla 9) y semana de lactación.

Tabla 8. Coeficientes de los componentes rotados[†]

Variable	Componentes Principales		
	1	2	3
G	0,946		
PT			0,848
PV			0,849
CSN			0,661
L	-0,616		
ES	0,869		
RCT		-0,806	
RCA		0,893	
F30		0,842	
RTO	0,898		
DES		0,878	

[†]Método de extracción: análisis de componentes principales. Método de rotación: normalización Varimax con Kaiser
Valores Eigenvalue y porcentaje de la varianza explicada por cada uno de los factores: Factor 1 = 5,79 – 30,23%; Factor 2 = 2,068 – 29,43%; Factor 3 = 1,042 – 21,28%

Tabla 9. Efecto de la raza y lactación sobre los factores rotados[†]

Factor	Raza		Lactación	
	Guirra	Manchega	1	≥2
1	ns	ns	-0,39±0,20	0,29±0,17
2	0,19±0,14	-0,44±0,20	ns	ns
3	0,16±0,14	-0,41±0,21	ns	ns

ns, no significativo

[†]Medias de los mínimos cuadrados y error estándar ($P < 0,05$)

Este análisis confirmó el efecto significativo del avance de la lactación sobre los parámetros evaluados en las leches individuales y el efecto del número de partos sobre los parámetros

relacionados con el rendimiento quesero. No obstante, mediante la reducción de los datos y la obtención de las nuevas variables fue posible observar diferencias entre razas que no fueron reflejadas por el análisis estadístico de los parámetros individuales. Así, la leche de oveja Guirra presentó una aptitud a la coagulación (factor 2) superior en comparación a la raza Manchega ($P<0,05$), que se refleja en los valores positivos de los mínimos cuadrados para la raza Valenciana.

4.1.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS

4.1.4.1. Composición físico-química

La Tabla 10 muestra los valores promedios de la composición y las características de coagulación de las leches de tanque de oveja Guirra y Manchega empleadas para la elaboración de los quesos.

Tabla 10. Parámetros físico-químicos y tecnológicos (media \pm d.s) de las leches de tanque Guirra y Manchega

Variable	Raza	
	Guirra	Manchega
G (%)	8,72 \pm 0,28	8,68 \pm 0,82
PT (%)	6,64 \pm 0,47	6,39 \pm 0,30
CSN (%)	5,17 \pm 0,37	4,97 \pm 0,25
L (%)	4,59 \pm 0,19	4,21 \pm 0,20
ES (%)	21,01 \pm 0,45	20,26 \pm 0,32
pH	6,67 \pm 0,06	6,57 \pm 0,09
RCS (Log cél/mL)	5,86 \pm 0,16	5,58 \pm 0,59
RCT (min)	8,89 \pm 1,19	10,51 \pm 1,99
RCA ($\Delta\%$ T/min)	0,40 \pm 0,12	0,29 \pm 0,10
F30 ($\Delta\%$ T)	2,79 \pm 0,44	2,27 \pm 0,21
RTO (%)	30,18 \pm 1,99	29,35 \pm 1,90

G = grasa; PT = proteína total; CSN = caseína; L = lactosa; ES = extracto seco; RCS = recuento de células somáticas; RCT = tiempo de coagulación; RCA = velocidad de agregación; F30 = firmeza del gel; RTO = rendimiento quesero

La prueba *t* no mostró diferencias significativas entre razas para los parámetros evaluados. A pesar de que la velocidad de agregación y la firmeza del gel fueron mayores en la leche de oveja Guirra, las dos razas evaluadas presentaron el mismo rendimiento quesero (~30%).

En la Tabla 11 se observa la composición de los quesos obtenidos a partir de las leches de tanque y su evolución durante la maduración. En general, la composición de los quesos estuvo en concordancia con lo descrito para otros quesos de oveja elaborados de forma similar (Jaeggi *et al.*, 2003; Ballesteros *et al.*, 2006; Cabezas *et al.*, 2007).

Tabla 11. Características físico-químicas (media ± d.s) de los quesos elaborados a partir de las leches de tanque Guirra y Manchega

Raza	Variable [†]	Días maduración			
		2	15	30	45
Guirra	G (%)	54,84±0,95 ^{a,B}	ND	ND	56,37±4,13 ^a
	ES (%)	51,84±1,72 ^d	59,44±1,37 ^c	66,45±1,42 ^b	69,26±1,68 ^a
	NT (%)	5,49±0,18 ^a	5,41±0,25 ^a	5,13±0,28 ^{b,B}	5,50±0,10 ^a
	NaCl (%)	1,79±0,21 ^c	2,06±0,11 ^{a,b}	2,18±0,37 ^a	1,87±0,13 ^{c,b,B}
	pH	5,13±0,12 ^a	4,76±0,04 ^b	4,75±0,06 ^{b,B}	4,78±0,08 ^b
Manchega	G (%)	57,22±1,0 ^{b,A}	ND	ND	59,07±0,74 ^a
	ES (%)	50,25±0,97 ^d	58,42±0,52 ^c	65,14±1,09 ^b	67,71±1,12 ^a
	NT (%)	5,44±0,14 ^{a,b}	5,42±0,02 ^b	5,57±0,11 ^{a,A}	5,51±0,05 ^{a,b}
	NaCl (%)	1,71±0,24 ^c	2,03±0,22 ^b	2,25±0,21 ^a	2,01±0,12 ^{b,A}
	pH	5,12±0,08 ^a	4,78±0,06 ^b	4,82±0,04 ^{b,A}	4,82±0,06 ^b

G = grasa; ES = extracto seco; NT = nitrógeno total

^{a-d} Medias en la misma línea con diferente superíndice difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

^{A,B} Medias en columna para la misma variable con diferente superíndice difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

ND, no determinado; [†]G, NT y NaCl expresado sobre ES (%)

Únicamente el valor de pH fue distinto a lo descrito por estos autores (pH >5,00 durante toda la maduración) ya que en los quesos de ambas razas el pH inicial de ~5,13 disminuyó marcadamente ($P < 0,05$) hasta valores de ~4,78 a los 15 días de maduración sin mostrar luego variaciones importantes. Sin embargo, este valor de pH fue cercano al mínimo descrito para quesos Manchego de denominación de origen (intervalo de pH de 4,8 a 5,8). Debido a la pérdida de humedad de los quesos en cámara de maduración, el porcentaje de extracto seco

aumentó significativamente durante la maduración hasta aproximadamente 70% a los 45 días. La reducción en humedad (~18%) fue mayor a la observada en otros quesos elaborados con leche de oveja (10-15%) con tiempos de maduración similares, descritos por Pavia *et al.* (1999b) y Corzo *et al.* (2000); esta mayor deshidratación pudo deberse al menor formato de los quesos que tuvieron pesos en fresco entre 250 y 300 g.

Las diferencias en composición fueron significativas entre las razas para el contenido de grasa al día 2, el NT y el valor de pH al día 30 y el nivel de sal al día 45 ($P < 0,05$). Esta similitud en la composición de los quesos era predecible ya que tampoco se observaron diferencias importantes entre razas en cuanto a composición de las leches.

4.1.4.2. Evolución del nitrógeno soluble y aminoácidos libres

El análisis de la proteólisis es un indicador óptimo de la maduración y de la calidad del queso. Es sabido que la quimosina o los cuajos sustitutos (cuajos vegetales y microbianos) son los principales responsables, conjuntamente con las proteasas endógenas de la leche (principalmente plasmina), de la proteólisis inicial y de la producción de compuestos determinados mediante el nivel de NS; por otro lado, la producción de péptidos de pequeño tamaño y de aminoácidos libres se deben principalmente a la acción de las enzimas (peptidasas) del cultivo iniciador (Fox, 2002). En la Figura 8 se representa la evolución de los parámetros indicadores de proteólisis utilizados en este estudio (NS/NT y AA) durante la maduración de los quesos. Los valores de NS/NT aumentaron significativamente durante la maduración, ($P < 0,05$) de $13,97 \pm 0,83$ a $24,16 \pm 3,00$ % para los quesos de oveja Guirra y de $13,89 \pm 1,53$ a $28,37 \pm 0,81$ % para quesos Manchego, sin observarse diferencias significativas entre razas ($P > 0,05$). La evolución y el contenido de NS/NT en nuestras muestras fue similar a lo descrito por Guamis *et al.* (1997) y Morais (2004) en quesos tipo Manchego y superiores a los valores observados por Ballesteros *et al.* (2006) y Cabezas *et al.* (2007), quienes encontraron niveles máximos de NS del 16% y 25% del NT a los 60 y 120 días, respectivamente de maduración de quesos Manchego.

Los valores más altos en NS/NT obtenidos para ambas razas, pudieron deberse al menor valor de pH observado en los quesos desde el inicio de la maduración, que pudo favorecer la retención y la actividad de la quimosina residual (principal enzima del extracto de cuajo), con el consecuente incremento de este parámetro de maduración.

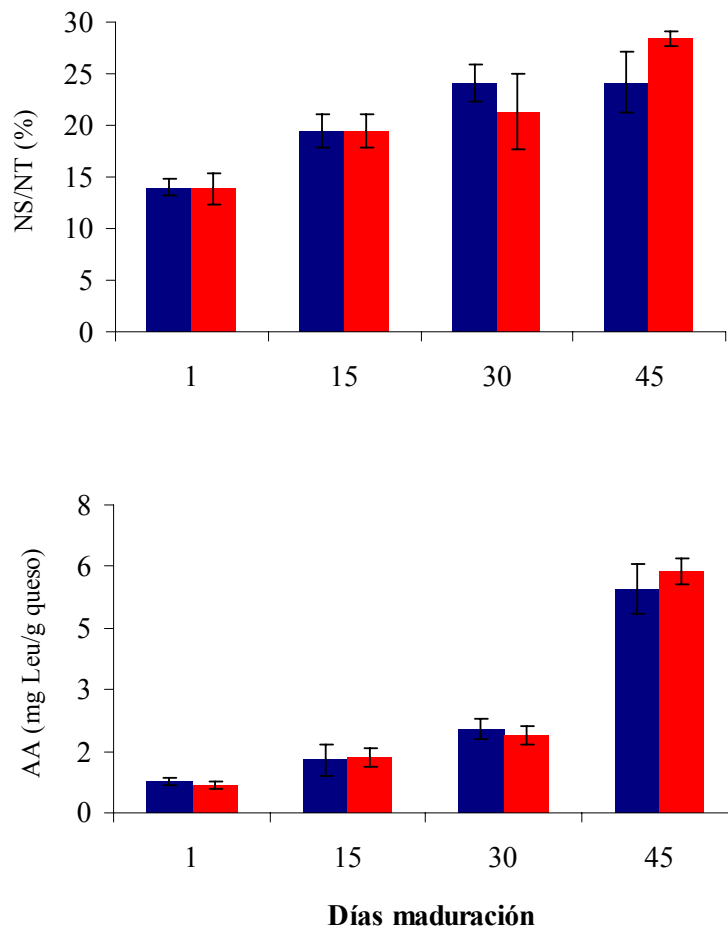


Figura 8. Evolución del nitrógeno soluble, NS/NT (%) y de los aminoácidos libres, AA (mg Leu/g queso) durante la maduración de los quesos elaborados a partir de leche de oveja Guirra (■) y Manchega (■)

El contenido en AA aumentaron significativamente ($P < 0,05$) durante la maduración de $0,77 \pm 0,09$ a $5,45 \pm 0,60$ mg Leu/g queso, y de $0,68 \pm 0,09$ a $5,89 \pm 0,30$ mg Leu/g queso, en los quesos de oveja Guirra y Manchega, respectivamente. No se observaron diferencias significativas entre razas ($P > 0,05$) en ningún punto de la maduración. El incremento de este parámetro ha sido descrito por otros autores (Sanjuan *et al.*, 2002; Gaya *et al.*, 2005), quienes observaron que los factores que influyen sobre el nivel de AA, además del tipo y cantidad de fermento, son por ejemplo la estación del año, el proceso térmico aplicado a la leche de quesería o el tipo de enzima coagulante utilizado durante la elaboración de los quesos.

4.2. EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE CÍTRICOS EN LA DIETA

4.2.1. CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE

4.2.1.1. Características microbiológicas

En las Tablas 12 y 13 se muestran los resultados de los recuentos de los principales grupos microbianos de las muestras de leche cruda y pasterizadas, correspondientes a las ovejas alimentadas con las diferentes dietas. El recuento de mesófilos aerobios en las muestras de leche crudas se situó en un intervalo de $2,6 \times 10^5$ y $1,6 \times 10^6$ ufc/mL. Estos valores se aproximaron a los límites recomendados por la normativa para leche de otras especies diferentes de la vaca destinada a la industria láctea, que son de $5,0 \times 10^5$ ufc/mL para productos sin tratamiento térmico y de $1,5 \times 10^6$ ufc/mL para la elaboración de productos con tratamiento térmico (Anónimo, 2004). Los recuentos de psicrotrofos y lactococos en las leches crudas fueron similares a los observados por Pérez-Elortondo *et al.* (1998, 1999) en leche de oveja, mientras que los lactobacilos y enterococos mostraron recuentos inferiores al intervalo de 4,0 a 5,0 Log ufc/mL publicado para leche cruda de oveja (Salmerón *et al.*, 2002; Gaya *et al.*, 2003; Pisano *et al.*, 2006). En cuanto a los dos patógenos estudiados (*L. monocytogenes* y *Salmonella* spp.) los resultados fueron negativos en las leches crudas y pasterizadas correspondientes a la dietas control y experimentales. En general, en la leche cruda se observó un mayor recuento de microorganismos conforme aumentó la cantidad de cítrico en la dieta (L1, L2 y L3 *versus* Control), aunque estas diferencias no fueron significativas. No se observó un efecto de la dieta sobre la población de los microorganismos evaluados, excepto para el recuento de psicrotrofos que fue significativamente mayor en las leches L2 y L3 con respecto a la leche control ($P < 0,05$). No existen publicaciones sobre el efecto de la inclusión de cítricos en las raciones de ovejas lactantes sobre la microbiota de la leche. No obstante existen estudios sobre la influencia de cambios en las raciones de rebaños lecheros sobre las propiedades generales de la leche. Así, Cavani *et al.* (1991) compararon la calidad microbiológica de leche proveniente de ovejas alimentadas bajo un sistema tradicional (dieta a base de mezclas de heno de baja calidad) y un sistema intensivo (dieta completa a base de ensilado de maíz y heno), sin observar un efecto significativo sobre el recuento total de microorganismos y coliformes de la leche.

Al parecer, la forma de conservación del alimento y la calidad de los forrajes o pastos ofrecidos, no afecta significativamente la calidad microbiológica de la leche. Colombari *et al.* (1999) evaluaron la incorporación de alfalfa en la dieta de vacas lecheras, como ensilado o heno deshidratado, sin encontrar una influencia directa de la calidad del alimento sobre la microbiota de la leche, siendo la época del año el factor que más afectó los parámetros microbiológicos.

Tabla 12. Recuentos microbiológicos (media \pm d.e) expresados en Log ufc/mL de las leches crudas correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos

Recuento	Control	L1	L2	L3
Recuento total	5,29 \pm 0,34	5,46 \pm 0,41	5,78 \pm 0,69	5,76 \pm 0,60
Psicrotrofos	5,38 \pm 0,24 ^b	5,52 \pm 0,46 ^{a,b}	5,87 \pm 0,51 ^a	5,91 \pm 0,49 ^a
Lactobacilos	2,90 \pm 0,23	2,94 \pm 0,14	3,01 \pm 0,04	2,91 \pm 0,03
Lactococos	5,78 \pm 0,39	5,80 \pm 0,57	6,05 \pm 0,59	6,02 \pm 0,56
<i>Enterobacteriaceae</i>	3,63 \pm 0,18	3,63 \pm 0,18	3,78 \pm 0,21	3,71 \pm 0,20
<i>Micrococcaceae</i>	4,31 \pm 0,06	4,18 \pm 0,12	4,31 \pm 0,20	4,20 \pm 0,24
Enterococos	3,76 \pm 0,32	3,64 \pm 0,49	3,95 \pm 0,45	3,82 \pm 0,44
<i>Listeria monocytogenes</i>	A	A	A	A
<i>Salmonella</i> spp	A	A	A	A

Control = 0% cítrico; L1 = 10% cítrico; L2 = 20% cítrico; L3 = 30% cítrico

^{a,b} Diferentes superíndices en una misma columna difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

A, ausencia en 25 mL.

4.2.1.2. Leches pasterizadas

El proceso de pasterización por definición debe reducir el recuento de mesófilos aerobios en la leche en al menos una unidad logarítmica, lo que equivale a un 90% de reducción (Grappin y Beuvier, 1997). En este estudio, el tratamiento térmico de 63 °C durante 30 min redujo en más de 2,6 unidades logarítmicas (99%) el recuento de mesófilos aerobios en todas las leches evaluadas. Este nivel de reducción fue igual al obtenido por Salmerón *et al.* (2002) después de pasterizar leche de oveja a 72 °C por 15 s. La población de *Micrococcaceae* presentó la menor reducción (98,3%) después del tratamiento de pasterización, mientras que los recuentos de psicrotrofos, lactobacilos y *Enterobacteriaceae* fueron los grupos microbianos más susceptibles al tratamiento térmico y se vieron reducidos hasta niveles de no detección. Es conocido que los coliformes y la mayoría de la microbiota psicrotrofa son destruidos a

temperaturas de pasterización, mientras que los microorganismos pertenecientes a los géneros *Micrococcus*, *Bacillus* y *Clostridium* resisten mejor las temperaturas de estos tratamientos térmicos (Grappin y Beuvier, 1997). Tras la pasterización de las leches no se observaron grandes diferencias en los recuentos entre las leches, sin embargo la L1 mostró un menor recuento en lactococos en comparación a las leches L2 y L3. Con respecto a los demás microorganismos evaluados no se observaron diferencias entre las leches provenientes de las ovejas alimentadas con las diferentes dietas.

Tabla 13. Recuentos microbiológicos (media \pm d.e) expresados en Log ufc/mL de las leches pasterizadas correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos

Recuento	Control	L1	L2	L3
Recuento total	2,66 \pm 0,22	2,79 \pm 0,34	2,72 \pm 0,23	2,80 \pm 0,27
Psicrotrofos	ND	ND	ND	ND
Lactobacilos	ND	ND	ND	ND
Lactococos	2,41 \pm 0,63 ^{a,b}	2,33 \pm 0,70 ^b	2,67 \pm 0,38 ^a	2,64 \pm 0,39 ^a
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,48 \pm 0,75	ND	ND	0,59 \pm 0,91
<i>Micrococcaceae</i>	2,42 \pm 0,23	2,33 \pm 0,31	2,11 \pm 0,88	2,04 \pm 0,85
Enterococos	0,51 \pm 0,78	0,72 \pm 0,83	ND	0,89 \pm 0,98
<i>Listeria monocytogenes</i>	A	A	A	A
<i>Salmonella</i> spp	A	A	A	A

Control = 0% cítrico; L1 = 10% cítrico; L2 = 20% cítrico; L3 = 30% cítrico

^{a,b} Diferentes superíndices en una misma columna difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

A, ausencia en 25 mL.

ND, no detectado

4.2.1.3. Características físico-químicas

En la Tabla 14 se muestran los parámetros físico-químicos de las leches empleadas en la fabricación de los quesos. Las diferencias entre leches fueron significativas para grasa, lactosa y extracto seco ($P < 0,05$). La leche proveniente de las ovejas con mayor inclusión de cítrico en la dieta (L3) mostró menor contenido de grasa con respecto a las demás muestras y menor contenido de ES con respecto a la muestra L1. El mayor contenido de lactosa y RCS se observó en la leche control.

Tabla 14. Parámetros físico-químicos y recuentos de células somáticas (media ± d.e) de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos

Leche	G	PT	CSN (%)	L	ES	pH	RCS (Log cél/mL)
Control	7,92±0,23 ^a	6,41±0,40	5,13±0,32	4,56±0,06 ^a	19,82±0,66 ^{a,b}	6,40±0,09	5,91±0,12 ^a
L1	8,42±0,48 ^a	7,02±0,48	5,62±0,36	4,34±0,04 ^b	20,76±0,99 ^a	6,51±0,10	5,21±0,12 ^b
L2	7,88±0,14 ^a	6,78±0,38	5,44±0,32	4,38±0,05 ^b	20,01±0,43 ^{a,b}	6,47±0,07	5,24±0,10 ^b
L3	6,75±0,44 ^b	6,64±0,07	5,32±0,05	4,54±0,02 ^a	18,87±0,40 ^b	6,51±0,13	5,16±0,13 ^b

Control = 0% cítrico; L1 = 10% cítrico; L2 = 20% cítrico; L3 = 30% cítrico

G = grasa; PT = proteína total; CSN = caseína; L = lactosa; ES = extracto seco; RCS = recuento de células somáticas

^{a,b} Diferentes superíndices en una misma columna difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

Los porcentajes de grasa, proteína total, caseína, lactosa y extracto seco se encontraron dentro del intervalo observado por Rodríguez *et al.* (2002) en ovejas de raza Guirra. Los contenidos de extracto seco y de grasa fueron también similares a los obtenidos por Pardo *et al.* (1996) en leche de oveja de raza Manchega, y el valor promedio de lactosa se situó dentro del intervalo encontrado por Sevi *et al.* (2004) durante la lactación de ovejas de raza Comisana. El pH fue similar en todas las leches y próximo al reportado en la literatura para otras razas de oveja (Cavani *et al.*, 1991; Pardo *et al.*, 1996). Los RCS observados en las leches experimentales fueron inferiores al $4,26 \times 10^5$ células/mL descrito por Chiofalo *et al.* (2004) en leche de oveja de raza Comisana, y en general estuvieron por debajo de valores que podrían indicar problemas de mastitis en los animales o influir en la coagulación de la leche y la calidad de los quesos.

La inclusión de cítricos en la dieta de ovejas lactantes ha sido evaluada recientemente por el grupo de la UPV (Piquer *et al.*, 2006b). Los autores observaron un efecto de la dieta sobre la composición de la leche; el contenido de grasa de la leche fue menor en las ovejas alimentadas con 30% de cítrico de destrío, mientras que la proteína fue mayor en la leche de las ovejas alimentadas con 10% y menor en las que recibían 30% de cítrico de destrío. Existen otras publicaciones sobre la inclusión de cítricos frescos (Volcani, 1956) y pulpa de cítrico deshidratada (Belibasakis y Tsirgogianni, 1996) en la dieta de vacas lecheras y su efecto sobre la composición de la leche. De acuerdo a estos estudios, las dietas experimentales aumentaron el contenido de grasa en la leche y aparentemente no influyeron sobre el contenido de proteína y lactosa. Este incremento en grasa también fue observado en leche de ovejas alimentadas con

dietas que incluían ensilado de naranjas (Volanis *et al.*, 2004), aunque en este caso el cítrico incluido (79% en base fresca) provocó una reducción del 3% en el contenido de proteína total en la leche. Estos resultados difieren de la composición observada en las leches de tanque empleadas en este trabajo, ya que la leche correspondiente a la dieta con mayor contenido de cítrico fresco (30%) presentó un 15% menos de grasa y un 4% más de proteína, mientras que el efecto sobre la grasa y proteína no fue significativo para las leches L1 y L2. En un estudio sobre la incorporación de pulpa de cítrico deshidratada (hasta un 11%) en raciones de ovejas lactantes tampoco se observó un efecto significativo sobre la cantidad de grasa y proteína de la leche (Fegeros *et al.*, 1995).

4.2.1.4. Parámetros de coagulación

La Tabla 15 presenta los parámetros de coagulación de las leches obtenidos durante la elaboración de los quesos. En general, los valores de RCT, RCA y F30 fueron similares para todas las leches. La muestra L1 tardó más tiempo en coagular en comparación a las demás, pero la única diferencia significativa se observó en la mayor firmeza de gel de la muestra L3 con respecto a las leches L1 y L2, posiblemente relacionado con el menor contenido de grasa y extracto seco de la leche L3. La leche L3 también mostró la mayor velocidad de agregación, aunque estas diferencias no resultaron significativas ($P > 0,05$) con respecto a las demás leches.

Tabla 15. Parámetros de coagulación y rendimiento quesero (media \pm d.e) de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos

Leche	RCT (min)	F30 ($\Delta\%$ T)	RCA ($\Delta\%$ T/min)	RTO (%)
Control	11,45 \pm 1,43	3,09 \pm 0,38 ^{a,b}	0,45 \pm 0,08	30,07 \pm 3,50
L1	12,24 \pm 0,58	2,81 \pm 0,24 ^b	0,42 \pm 0,05	31,32 \pm 2,89
L2	11,13 \pm 1,40	2,80 \pm 0,31 ^b	0,41 \pm 0,08	27,58 \pm 1,97
L3	11,37 \pm 1,44	3,64 \pm 0,31 ^a	0,58 \pm 0,11	25,88 \pm 2,04

Control = 0% cítrico; L1 = 10% cítrico; L2 = 20% cítrico; L3 = 30% cítrico

RCT = tiempo de coagulación; F30 = firmeza del gel; RCA = velocidad de agregación;

RTO = rendimiento quesero

^{a,b} Diferentes superíndices en una misma columna difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

Existen pocos estudios que relacionen la dieta de las ovejas lactantes con su aptitud a la coagulación. Cavani *et al.* (1991) observaron que el único efecto de substituir una dieta completa a base de ensilado de maíz por una dieta a base de heno en ovejas lactantes, fue un incremento en la velocidad de agregación. Por otra parte, Colombari *et al.* (1999) evaluaron la inclusión de ensilado de alfalfa en la dieta de vacas lecheras, sin observar un efecto negativo de las raciones experimentales sobre las propiedades de coagulación de la leche.

El mayor rendimiento quesero se observó en las muestras L1, probablemente debido a su mayor contenido de extracto seco, proteína total y caseína que son componentes directamente relacionados con el rendimiento quesero (Soryal *et al.*, 2005). Por el contrario, la muestra L3 presentó el menor rendimiento quesero en concordancia con el menor contenido de grasa y extracto seco observado en esta leche. Las diferencias en rendimiento no fueron significativas entre dietas, no obstante los valores obtenidos en este trabajo (3,5 L de leche/kg queso fresco) fueron superiores a los reportados en la literatura para otras razas ovinas como la Latxa (Lana y Lasarte, 1998) y Merino (López-Fandino y Olano., 1999), de las que se requirieron ~5 L de leche para obtener 1 kg de queso fresco.

4.2.1.5. Evaluación del color

En la Tabla 16 se muestran los valores obtenidos para los parámetros del color de las leches y la diferencia total del color (ΔE) con respecto a la leche control. Los valores de L , a y b de las muestras L1, L2 y L3 fueron significativamente ($P < 0,05$) diferentes al control, a excepción del valor a de la muestra L1. El valor b incrementó significativamente ($P < 0,05$) con la cantidad de cítrico incluida en la dieta al igual que la ΔE . El incremento en b también ha sido observado en leche de vaca (Verdier-Metz *et al.*, 1998, 2005; Coulon y Priolo, 2002; Carpino *et al.*, 2004) y leche de oveja (Priolo *et al.*, 2003) procedente de animales alimentados con dietas ricas en forrajes frescos. Según estos autores, el incremento en b se debe a la transferencia de los carotenos presentes en las raciones de los animales a la leche y con posterioridad al queso. Por esta característica, los carotenos pueden ser utilizados como marcadores de trazabilidad de la dieta a la leche, y en el caso de ovejas y cabras es la luteína el caroteno que se almacena en su tejido adiposo (Prache *et al.*, 2003 y 2005). De acuerdo a estas características de los pigmentos, en nuestro estudio el incremento significativo del color amarillo en las leches al aumentar el contenido de cítricos en la dieta, se atribuye a la

transferencia de los carotenos de la dieta a la leche ya que éstos se encuentran en grandes cantidades en los cítricos (Kato *et al.*, 2004).

Tabla 16. Parámetros de color (medias \pm d.e) de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos

Leche	Parámetros de color			ΔE
	L	a	b	
Control	90,89 \pm 0,20 ^c	-1,98 \pm 0,11 ^a	10,46 \pm 0,37 ^d	
L1	91,09 \pm 0,04 ^b	-1,97 \pm 0,14 ^a	11,25 \pm 0,10 ^c	0,83 \pm 0,10 ^c
L2	91,21 \pm 0,11 ^a	-1,95 \pm 0,06 ^a	11,50 \pm 0,17 ^b	1,10 \pm 0,18 ^b
L3	90,68 \pm 0,15 ^d	-2,17 \pm 0,10 ^b	11,86 \pm 0,13 ^a	1,44 \pm 0,14 ^a

Control = 0% cítrico; L1 = 10% cítrico; L2 = 20% cítrico; L3 = 30% cítrico

L = 0 – 100; a= (+) rojo / (-) verde; b (+) amarillo / (-) azul; ΔE = diferencia total de color vs. control
^{a,b,c,d} Diferentes superíndices en una misma columna difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

4.2.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS

4.2.2.1. Características microbiológicas

En la Figura 9 se presenta la evolución de los recuentos microbiológicos de los quesos durante la maduración. En general, los recuentos de microorganismos observados en los quesos frescos (día 1) fueron mayores en comparación a los recuentos iniciales de las leches pasteurizadas. Este incremento se debe a la adición del cultivo iniciador, a la retención física de los microorganismos en la cuajada y a su multiplicación durante el proceso de coagulación y desuerado (Ferrazza *et al.*, 2004). Los recuentos iniciales de mesófilos aerobios fue >9 Log ufc/g en todos los quesos y disminuyó principalmente a partir de los 30 días de maduración hasta valores mínimos de 7 Log ufc/g observados a los 60 días de maduración. A pesar de que los quesos Q2 presentaron mayores recuentos al inicio de la maduración, al día 60 los recuentos fueron menores en comparación a los otros quesos ($P < 0,05$). Esta evolución fue similar a la observada por Gaya *et al.* (1990) y Ferrazza *et al.* (2004) en quesos Manchego y Zamorano respectivamente, aunque en estos casos la disminución en los recuentos totales fue más evidente a partir de los 60 días de maduración. La pasteurización de las leches para quesería redujo a niveles no detectables los recuentos de lactobacilos, sin embargo este grupo de microorganismos normalmente está presente en el queso debido a contaminación proveniente de la cuba, utensilios y del ambiente de la quesería. Los recuentos iniciales de

lactobacilos en los quesos se situaron entre 1,90 y 2,37 Log ufc/g para luego, a partir de los 30 días, aumentar a valores cercanos a 3 Log ufc/g manteniéndose constantes hasta el final de la maduración, donde las diferencias entre quesos no fueron significativas. Los recuentos de lactobacilos fueron menores a los descritos en la literatura para quesos Manchego y Zamorano (Gaya *et al.*, 1990; Ferrazza *et al.*, 2004); sin embargo, se observó la misma tendencia a aumentar conforme avanzó la maduración como también ha sido descrito en otros tipos de quesos elaborados a partir de leche de oveja (Litopoulou-Tzanetaki *et al.*, 1993). La menor presencia de lactobacilos en todos los quesos evaluados, pudo deberse principalmente a la pasterización previa de la leche y a la competencia inicial con la población de lactococos adicionados como cultivo iniciador (Ortigosa *et al.*, 1999).

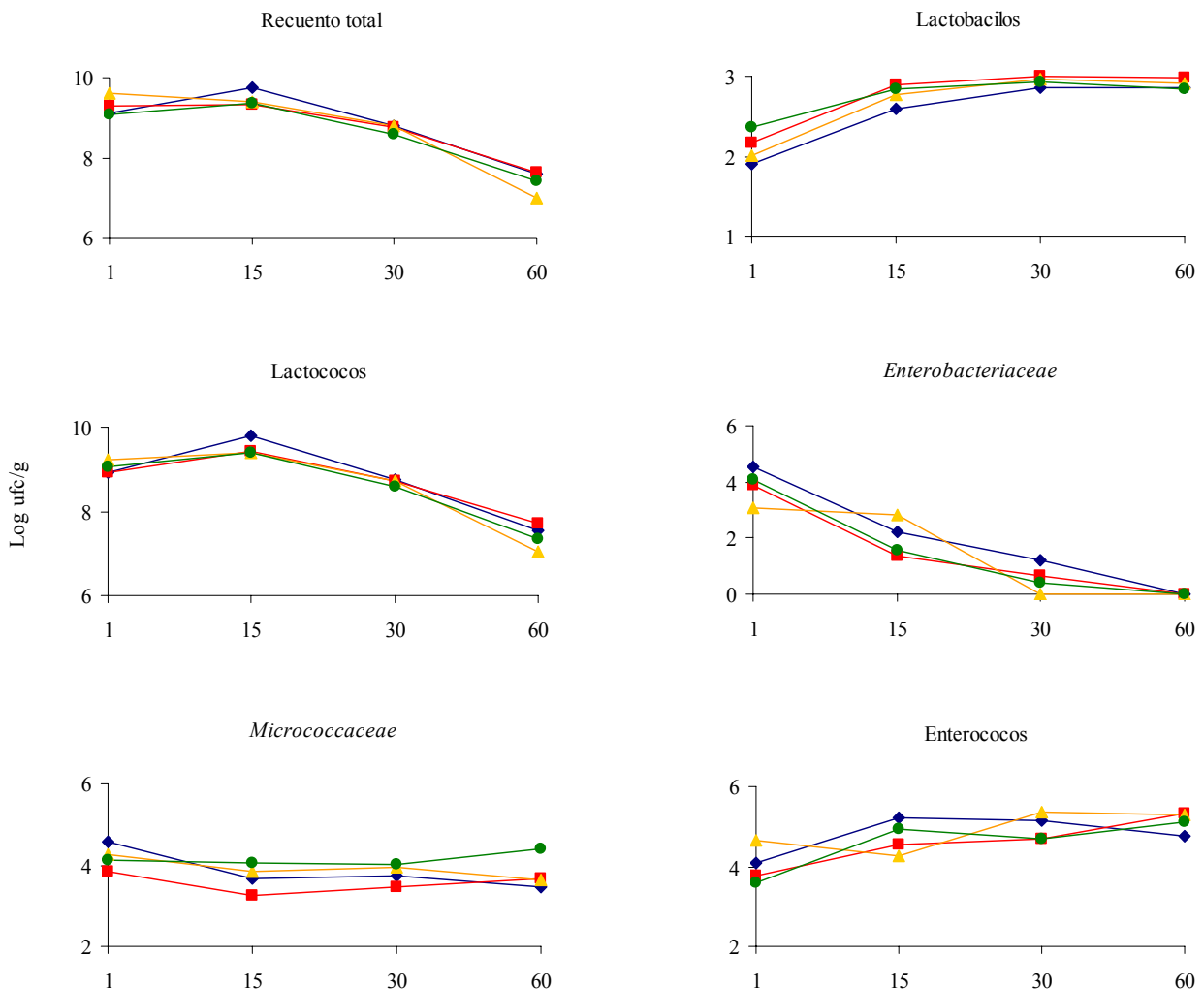


Figura 9. Evolución de los recuentos microbiológicos (Log ufc/g) de los quesos control (♦), Q1 (■), Q2 (▲) y Q3 (●), durante la maduración
Control = 0% cítrico; Q1 = 10% cítrico; Q2 = 20% cítrico; Q3 = 30% cítrico

El recuento inicial de lactococos en los quesos se situó en un intervalo de 8,92 a 9,23 Log ufc/g y disminuyó conforme avanzó la maduración a valores de 7,04 a 7,71 Log ufc/g. Durante los primeros 15 días se observó un incremento de su población en al menos 0,2 Log ufc/g, probablemente debido al ambiente favorable (humedad, pH, etc.) y al contenido de lactosa inicial en los quesos. Sin embargo, la población de lactococos en los quesos disminuyó al avanzar la maduración, coincidiendo con el desdoblamiento de la lactosa residual del queso en ácido láctico y el descenso de pH. Estas tendencias también han sido observadas en otros estudios sobre la microbiota de quesos de oveja (Ferrazza *et al.*, 2004), y podría explicar el menor recuento de lactococos observado en los quesos Q2 que presentaron el pH más bajo observado al final de la maduración (Tabla 14).

Los recuentos iniciales de *Enterobacteriaceae* presentaron valores entre 3,07 y 4,54 Log ufc/g. A partir de los 15 días de maduración se observó una disminución de los recuentos en al menos 2 Log ufc/g, a excepción de la muestra Q2 cuya reducción fue menor a 0,3 unidades logarítmicas y alcanzó el nivel de no detección a los 30 días de maduración. Todos los quesos evaluados mostraron niveles de no detección a los 60 días de maduración. Los recuentos observados y la evolución durante la maduración fueron similares a los descritos por Ferrazza *et al.* (2004) en queso Zamorano.

Al inicio de la maduración, los quesos presentaron recuentos de *Micrococcaceae* mayores a 4 Log ufc/g. Estos recuentos disminuyeron a 3,7 Log ufc/g en todos los quesos al día 15 y se mantuvieron constantes hasta el final de maduración, excepto en los quesos Q3, en los que se observó un ligero incremento ($P<0,05$) a los 60 días. Los quesos Q1 presentaron los menores ($P<0,05$) recuentos de *Micrococcaceae* al día 1 y 30, mientras que los mayores ($P<0,05$) recuentos se observaron en los quesos Q3 a partir del día 15 de maduración. Los recuentos observados en estos quesos fueron menores a los descritos en la literatura para queso Manchego elaborado a partir de leche cruda (Freitas y Malcata, 2000) y mayores a los observados por Ferrazza *et al.* (2004), quienes a partir de los 30 días de maduración ya observaron una disminución de micrococos hasta niveles de no detección.

Al inicio de la maduración, los recuentos de enterococos se situaron alrededor de 4 Log ufc/g en todos los quesos. A los 15 días, estos recuentos aumentaron a 4,7 Log ufc/g y luego disminuyeron ligeramente a los 30 días, y se mantuvieron alrededor de 5 Log ufc/g hasta el final de la maduración, a excepción de los quesos Q2 que presentaron los mayores recuentos

($P < 0,05$) al inicio de la maduración pero el menor recuento a los 15 días. Los valores a los 60 días de maduración fueron similares a los encontrados por Cabezas *et al.* (2006) y Ortigosa *et al.* (1999) en quesos de oveja elaborados a partir de leche cruda.

4.2.2.2. Características físico-químicas

En la Tabla 17 se presenta la composición físico-química de los quesos durante la maduración. El ES de los quesos aumentó hasta valores de aproximadamente 70% a los 60 días de maduración. Las diferencias en contenido de ES fueron significativas ($P < 0,05$) para los quesos Q3 que presentaron los valores más bajos durante toda la maduración. Las diferencias se corresponden al contenido de ES de las leches empleadas en quesería, que fue menor en la leche L3 y similar entre las leches control, L1 y L2. El contenido promedio de ES observado en los quesos al final de la maduración (~70 %) fue mayor al descrito por Corzo *et al.* (2000) y Ballesteros *et al.* (2006) para quesos Manchego madurados (62,03 y 65,11%, respectivamente).

El contenido de NT de los quesos a los 60 días de maduración se situó en un intervalo de 5,74 y 5,99% respecto al ES. Las únicas diferencias entre quesos se observaron a los 30 días de maduración, siendo menor el contenido de NT en el control con respecto a los quesos Q2 y Q3, aunque estas diferencias dejaron de ser significativas a los 60 días de maduración. El contenido de NT de los quesos concuerda con el contenido original de PT y CSN de las leches utilizadas para quesería, que tampoco mostraron diferencias significativas entre ellas (Tabla 14). En comparación a datos publicados, el contenido de NT observado en los quesos, fue similar a lo descrito por Sanjuán *et al.* (2002), para quesos elaborados con leche cruda de oveja (6,19% NT en base seca) y superior al 3,1% N (base húmeda) referido por Tavaría *et al.* (2003) en quesos de oveja con el mismo tiempo de maduración.

El pH de los quesos disminuyó principalmente durante los primeros 15 días de maduración y luego aumentó ligeramente del día 30 al 60. Las diferencias en pH fueron significativas ($P < 0,05$) para los quesos Q2 y Q3 a los 15 días de maduración, pero únicamente el queso Q2 mantuvo las diferencias hasta el final de la maduración mostrando el pH más bajo con respecto a las demás muestras. La disminución del pH al inicio de la maduración se debe a la formación de ácido láctico proveniente de la hidrólisis de la lactosa, reacción que es favorecida por una menor concentración de sal (Pavía *et al.*, 1999a) y la multiplicación de las

bacterias ácido-lácticas al inicio de la maduración. La disminución de pH en nuestros quesos fue mayor a lo observado en otros estudios (Pavia *et al.*, 1999b y Sanjuán *et al.*, 2002), sin embargo coincide con estos autores en el ligero incremento de pH observado al final de la maduración, debido al incremento de los compuestos amínicos procedentes de los procesos proteolíticos que se desarrollan en el queso (Pavia *et al.*, 1999b).

El efecto de la dieta sobre la composición de los quesos se observó principalmente en el contenido de grasa. La leche utilizada para la elaboración de los quesos Q3 presentó la menor cantidad de grasa en comparación a las leches control, L1 y L2 y por lo tanto al final de la maduración, estos quesos presentaron un valor de grasa inferior en ~13% con respecto al control. A pesar del menor contenido de grasa de estos quesos, su valor está dentro del intervalo establecido por el Consejo Regulador de Denominación de Origen para queso Manchego, que estipula la cantidad mínima de grasa en 50% sobre ES (Anónimo, 1995).

El incremento en contenido de sal durante la maduración coincide con lo observado por Pavia *et al.* (1999b) en queso de oveja tipo Manchego. Las diferencias entre quesos fueron significativas únicamente al inicio de la maduración, observándose el menor contenido de sal en los quesos control y Q2. A los 60 días de maduración el contenido de sal fue similar para todos los quesos evaluados.

Tabla 17. Características físico-químicas (media \pm d.e) de los quesos correspondientes a las dietas control (0% cítrico) y con inclusión de cítricos (Q1=10% cítrico, Q2 = 20% cítrico y Q3 = 30% cítrico)

Días maduración	ES (%)				NT (%) [†]				pH			
	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3
1	49,85 \pm 1,08 ^a	50,86 \pm 1,52 ^a	49,25 \pm 1,15 ^{a,b}	47,86 \pm 1,71 ^b	6,72 \pm 1,15	6,74 \pm 0,96	6,95 \pm 1,09	7,32 \pm 1,31	5,42 \pm 0,14	5,40 \pm 0,05	5,38 \pm 0,13	5,48 \pm 0,04
15	58,95 \pm 0,64 ^{a,b}	59,70 \pm 0,77 ^a	57,54 \pm 1,93 ^{b,c}	57,10 \pm 2,71 ^c	5,56 \pm 0,52	5,81 \pm 0,33	5,71 \pm 0,64	5,81 \pm 1,14	4,79 \pm 0,03 ^b	4,82 \pm 0,03 ^b	4,73 \pm 0,05 ^c	4,89 \pm 0,05 ^a
30	64,15 \pm 3,04 ^a	63,18 \pm 0,90 ^{a,b}	61,59 \pm 1,08 ^b	59,71 \pm 3,56 ^c	5,59 \pm 0,22 ^c	5,79 \pm 0,22 ^{b,c}	5,95 \pm 0,36 ^{a,b}	6,18 \pm 0,44 ^a	4,83 \pm 0,01 ^a	4,80 \pm 0,03 ^a	4,73 \pm 0,05 ^b	4,80 \pm 0,04 ^a
60	70,57 \pm 0,84 ^a	69,61 \pm 1,44 ^a	70,79 \pm 1,89 ^a	67,83 \pm 3,33 ^b	5,79 \pm 0,06	5,76 \pm 0,34	5,74 \pm 0,47	5,99 \pm 0,64	4,90 \pm 0,04 ^a	4,87 \pm 0,06 ^a	4,81 \pm 0,05 ^b	4,90 \pm 0,03 ^a

Días maduración	G (%) [†]				NaCl (g/100 g queso)			
	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3
1	54,34 \pm 2,97 ^a	52,87 \pm 2,51 ^a	50,90 \pm 5,52 ^{a,b}	48,01 \pm 5,07 ^b	1,15 \pm 0,21 ^{b,c}	1,30 \pm 0,17 ^a	1,06 \pm 0,13 ^c	1,25 \pm 0,09 ^{a,b}
60	55,95 \pm 2,71 ^a	54,58 \pm 1,96 ^a	54,61 \pm 2,28 ^a	50,71 \pm 3,73 ^b	1,95 \pm 0,18	1,84 \pm 0,10	1,88 \pm 0,08	1,95 \pm 0,35

ES = extracto seco; NT = nitrógeno total; G = grasa

^{a,b,c} Medias dentro de la misma fila con diferente superíndice difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

[†]Expresado sobre ES (%)

4.2.2.3. Evolución de nitrógeno soluble y aminoácidos libres

La proteólisis ocurrida en el queso se puede dividir en primaria y secundaria. La proteólisis primaria se puede definir como aquellos cambios en la *para*-caseína que pueden ser detectados por diferentes métodos entre ellos métodos electroforéticos o cromatográficos. Los productos de proteólisis secundaria podrían incluir aquellas proteínas, péptidos, y aminoácidos solubles en la fase acuosa del queso y que son extraíbles en la fracción soluble en agua (Rank *et al.*, 1985).

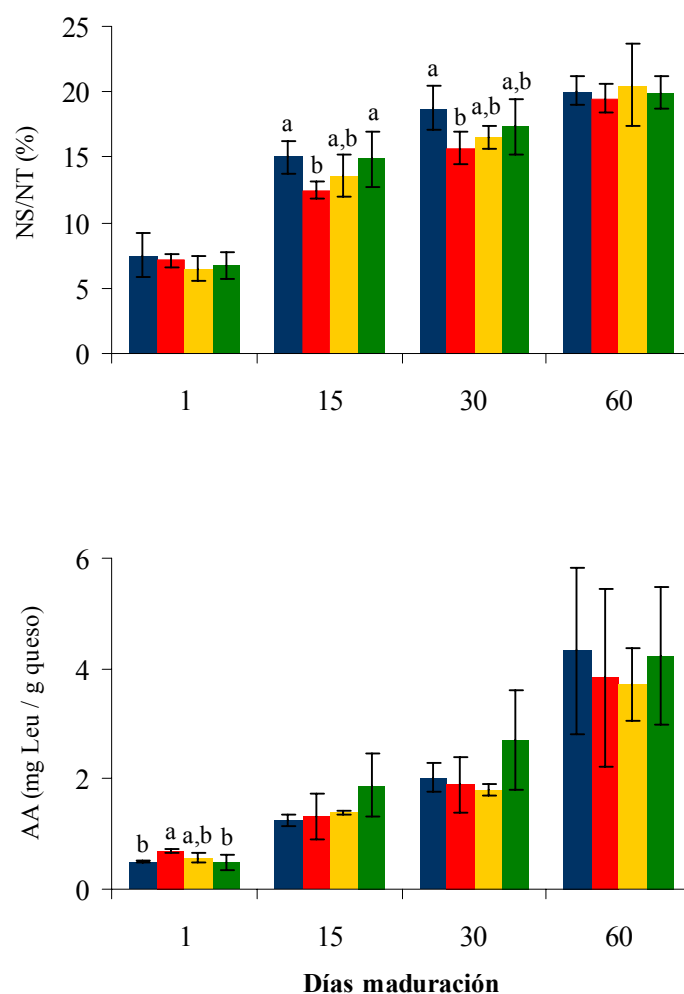


Figura 10. Evolución del nitrógeno soluble, NS/NT (%) y del contenido de aminoácidos libres, AA (mg Leu/g queso) durante el madurado de los quesos control (■), Q1 (■), Q2 (■) y Q3 (■)
Control = 0% cítrico; Q1 = 10% cítrico; Q2 = 20% cítrico; Q3 = 30% cítrico
^{a, b} Diferentes superíndices en una misma categoría difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

La Figura 10 muestra dos índices utilizados para describir los cambios proteolíticos que ocurren en los quesos (NS/NT % y miligramos AA/g queso) durante la maduración. El primer parámetro nos da información sobre la cantidad de péptidos solubles en agua a pH 4,6 y AA libres totales resultado de la actividad enzimática del agente coagulante residual (quimosina) y en menor grado de la actividad de las enzimas de la leche (principalmente plasmina), y de algunas proteasas y peptidasas del fermento (Sousa *et al.*, 2001). El NS/NT aumentó significativamente en todos los quesos, siendo bastante evidente el incremento observado del día 1 al 15 de maduración. Los valores iniciales de NS/NT (6,4-7,4%), fueron ligeramente mayores a los descritos por Pirisi *et al.* (2007) y Mendia *et al.* (2000) para quesos de oveja Fiore Sardo (~6,0%) e Idiazábal (6,3%), respectivamente, y algo menores que el contenido inicial de ~10 g/100g NT observado en quesos de oveja Serra da Estrela por Tavaría *et al.* (2003). Estos autores también observaron un incremento del NS/NT durante la maduración, lo cual indica la continua actividad proteolítica del cuajo residual y de otras proteasas propias de la leche o provenientes de la lisis de las bacterias (Pirisi *et al.*, 2007). Las diferencias entre dietas fueron significativas únicamente para el menor porcentaje de NS/NT observado en el queso Q1 con respecto al control a los días 15 y 30 de maduración. Al final de la maduración, estas diferencias dejaron de ser significativas y los valores finales de NS/NT fueron de ~20% en todos los quesos evaluados. Este nivel de NS/NT a los 60 días de maduración fue similar al observado por Pavia *et al.* (2000) e Irigoyen *et al.* (2002) en queso tipo Manchego y Roncal, respectivamente, con el mismo tiempo de maduración.

El contenido de AA aumentó durante la maduración. Los valores iniciales se situaron entre 0,5 y 0,7 mg Leu/g queso, observándose el mayor contenido de AA en los quesos Q1 y Q2, y el menor en el control y Q3, siendo estas diferencias significativas únicamente al primer día de evaluación. Después de 15 días de maduración, la cantidad de AA en los quesos fue aproximadamente el doble del inicial y continuó aumentando hasta el final de la maduración, donde se observaron valores entre 3,7 y 4,3 mg Leu/g queso, siendo los valores más altos para los quesos control y Q3, y algo menores para los quesos Q1 y Q2 aunque estas diferencias no resultaron significativas ($P > 0,05$). La evolución del contenido de AA en este trabajo concuerda con lo observado en otros quesos elaborados a partir de leche pasteurizada de oveja de coagulación enzimática añadidos de un cultivo comercial (Juan *et al.*, 2007a; Pavia *et al.*, 2000).

La formación de productos de la proteólisis en los quesos madurados puede ser considerablemente influenciada por otros factores como la estación del año (Gaya *et al.*, 2005; Muñoz *et al.*, 2003; Mendia *et al.*, 2000), la actividad enzimática del coagulante utilizado durante la elaboración de los quesos (Irigoyen *et al.*, 2001) y la adición o no de fermentos con alta actividad aminopeptidásica y/o la adición de peptidasas (Garde *et al.*, 2006; Courtin *et al.*, 2002), factores que tienen un efecto importante sobre la concentración y proporción de AA presentes en quesos madurados. Los quesos correspondientes a las distintas dietas ofrecidas, fueron elaborados durante la misma época del año (enero-febrero), y utilizando las mismas concentraciones de coagulante y cultivo iniciador. De igual forma, la pasteurización de las leches redujo la posible influencia de la microbiota inicial sobre los procesos de maduración de los quesos. De acuerdo a los resultados obtenidos, la inclusión de cítricos en la dieta de las ovejas no influyó significativamente sobre el contenido de NS/NT ni sobre la concentración total de AA en los quesos. Existe poca literatura que relacione los cambios en la dieta de ovejas lactantes con los cambios proteolíticos observados durante la maduración. No obstante, Bugaud *et al.* (2001) al evaluar las características del queso Abondance elaborado a partir de vacas alimentadas a base de diferentes pastizales, observaron diferencias en la actividad proteolítica de la plasmina y por lo tanto diferencias en la proteólisis primaria de los quesos. Por otro lado, Verdier-Metz *et al.* (2005) no observaron diferencias en el porcentaje de NS/NT entre quesos (Cantal y Saint-Nectaire) provenientes de vacas alimentadas a base de pasto ensilado y heno. Cavani *et al.* (1991) midieron el contenido de NS/NT de quesos elaborados a partir de ovejas alimentadas con una dieta tradicional de heno y concentrado, y otra dieta completa basada en ensilado de maíz, no observando tampoco un efecto de la dieta sobre este indicador de la proteólisis.

4.2.2.4. Evolución de los ácidos grasos libres

La evolución del perfil de AGL de los quesos se muestra en la Figura 11. La concentración de todos los AGL individuales aumentó de forma significativa con la maduración de los quesos ($P < 0,05$) a excepción del ácido esteárico (C18) de los quesos control y Q1 que no aumentó ($P > 0,05$) en el transcurso de la maduración. El avance de la lipólisis, reflejado en el incremento de los AGL, es una característica común de la mayoría de quesos madurados, ya sean elaborados a partir de leche de oveja, cabra o vaca (Sousa *et al.*, 1997; Mallatou *et al.*, 2003; Fernández-García *et al.*, 2006). Durante la evolución del perfil lipídico se observó que los quesos control, Q1 y Q2 experimentaron un aumento importante de los AGLC y AGLM

especialmente del día 30 a 60 de maduración, mientras que en los quesos Q3 el incremento de los AGLC fue mayor del día 15 a 30 de maduración. Los AGLL aumentaron principalmente del día 30 a 60, aunque este incremento fue más evidente para los ácidos oleico (C18:1) y linoleico (C18:2). A lo largo de la maduración el mayor porcentaje de incremento de AGL se observó en el queso control seguido por el Q2, Q3 y Q1, en este orden. Por otro lado los ácidos butírico y caproico (C4 y C6) que son, junto con el caprílico los que más contribuyen en el desarrollo de aroma de los quesos, mostraron un porcentaje de incremento mayor en el queso Q1, mientras que el Q3 mostró el mayor porcentaje de incremento del ácido linoleico.

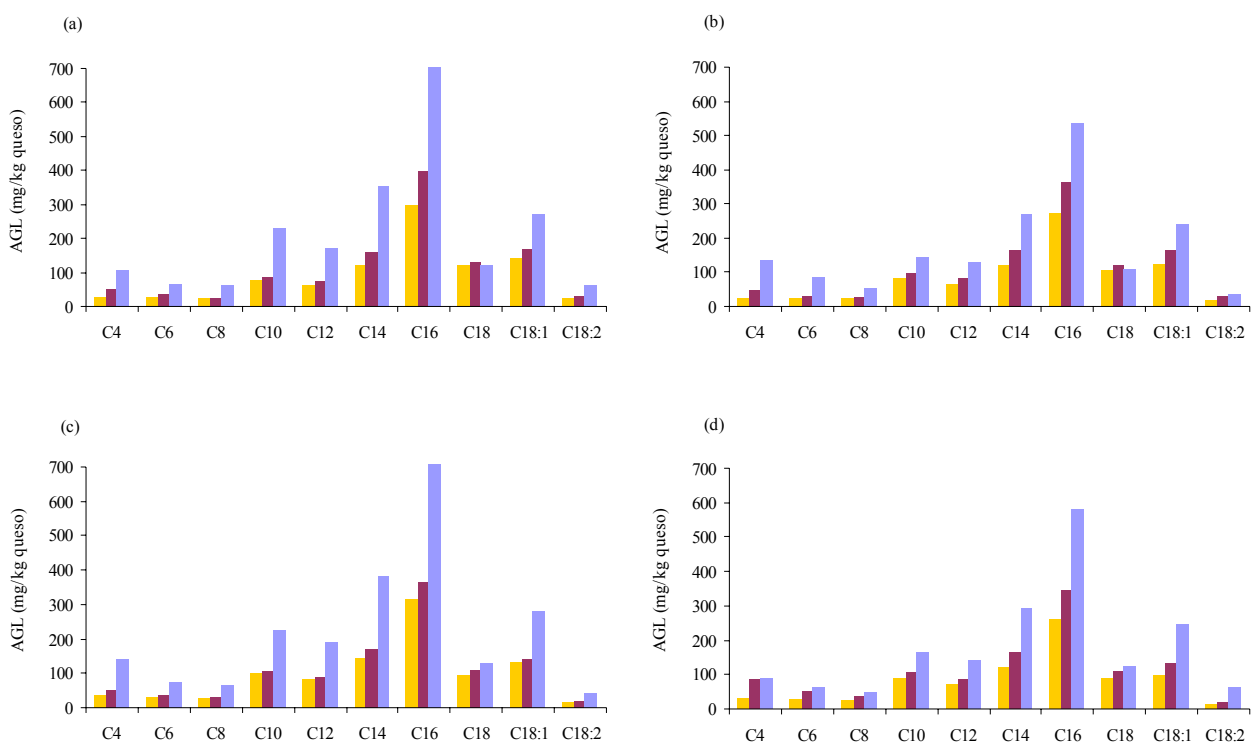


Figura 11. Contenido de ácidos grasos libres individuales (mg/kg queso) en los quesos control (a), Q1 (b), Q2 (c) y Q3 (d) a los días 15 (■), 30 (■) y 60 (■) de maduración
Control = 0% cítrico; Q1 = 10% cítrico; Q2 = 20% cítrico; Q3 = 30% cítrico

Las diferencias entre dietas a los 15 días de maduración fueron significativas para todos los AGL individuales, no obstante la sumatoria total no mostró diferencias entre quesos (Tabla 18). El queso Q2 mostró un mayor contenido de AGLC y AGLM mientras que el contenido de AGLL de cadena larga fue mayor en el control y disminuyó significativamente conforme aumentó la cantidad de cítrico en la dieta ($P < 0,05$). A los 30 días de maduración las diferencias en AGL individuales se mantuvieron significativas excepto para el butírico (C4) y

caproico (C6). A pesar de que las diferencias en la sumatoria de AGL de diferente tamaño así como la suma total no resultaron significativas, se observó un mayor contenido de AGLC en el queso Q3 y de AGLM en el Q2, mientras que los AGLL mantuvieron la misma tendencia observada a los 15 días. Las diferencias en el contenido de AGL individuales se mantuvieron al día 60 siendo no significativas únicamente para el butírico. Se observaron diferencias significativas entre dietas para la sumatoria de AGLM y AGL totales de manera que los quesos Q2 mostraron contenidos similares al control mientras Q1 y Q3 presentaron los valores más bajos pero similares entre sí.

Los índices medios de los AGL de cadena corta, media y larga con respecto a la sumatoria total resumen la composición de los AGL de los quesos durante la maduración (Tabla 18). El ratio de AGLC/Total aumentó ligeramente con la maduración especialmente en los quesos Q1 y Q2, mientras que disminuyó en el queso Q3. Una tendencia similar mostró el índice AGLM/Total excepto para el queso Q1, mientras que el ratio AGLL/Total disminuyó con la maduración. La evolución de estos parámetros concuerda con los resultados descritos por Fernández-García *et al.* (2006) para quesos de oveja Manchego y Zamorano. Por otro lado, los AGL mayoritarios, independientemente de la dieta y el tiempo de maduración, fueron el mirístico, palmítico y oleico (con porcentajes individuales de 15, 32 y 13% del total de AGL, respectivamente), mientras que el butírico fue el AGL de cadena corta más abundante a partir de los 30 días de maduración (4-8% del total de AGL). Este perfil de AGL concuerda con lo descrito por otros autores para quesos de oveja madurados (Poveda *et al.*, 2000; Fernández-García *et al.*, 2006). A pesar de que los AGLC están presentes en menor proporción, son los que más aportan al desarrollo de las características organolépticas de los productos lácteos (De la Fuente *et al.*, 1993).

Las diferencias observadas entre dietas al final de la maduración podrían ser parcialmente explicadas por el diferente contenido de grasa de los quesos. El queso control presentó mayor contenido de grasa (55,95%), mientras que el menor porcentaje se observó en el queso Q3 (50,7%). Lalos *et al.* (2001) observaron que la suma de los AGL individuales (expresados en miligramos/100 g de queso) fue menor en quesos de oveja bajos en grasa en comparación a los quesos elaborados a partir de leche entera. Por otro lado, la composición de la grasa de la leche puede ser alterada por cambios en la dieta e influir posteriormente sobre la proporción de AGL en el queso. Rodríguez *et al.* (2006) observaron que la inclusión de cítricos en la dieta de ovejas lactantes provocó un ligero aumento de los ácidos grasos de cadena corta, una

reducción de los ácidos grasos de cadena larga y poca influencia sobre los ácidos grasos de cadena media.

Según Fernández-García *et al.* (1994) el ratio de $\Sigma(C4-C10)/\Sigma(C12-C18)$ dentro del intervalo de 30 a 50% asegura un adecuado balance del aroma y sabor, de manera que una alteración de este índice puede dar lugar a la formación de sabores anormales en los quesos madurados. Este mismo índice calculado para los quesos control y experimentales, se encontraron dentro del intervalo sugerido por estos autores y fueron similares entre sí (control: 34,9; Q1: 40,5; Q2: 35,4 y Q3: 31,8).

Tabla 18. Valores medios (d.e) de los ácidos grasos libres (AGL, mg/kg queso) de cadena corta (AGLC), media (AGLM) y larga (AGLL) de los quesos con 15, 30 y 60 días de maduración correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos

Parámetro	15				30				60			
	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3
AGLC (C4-C8)	77,27 (3,04)	69,93 (0,92)	95,27 (2,49)	85,24 (3,77)	112,18 (12,95)	104,28 (10,37)	115,99 (11,59)	171,37 (24,85)	239,24 (23,78)	277,44 (42,88)	278,77 (40,29)	200,37 (20,69)
AGLM (C10-C16)	564,47 (109,19)	541,76 (95,04)	637,14 (105,76)	541,88 (85,84)	718,88 (149,08)	708,69 (129,71)	730,62 (126,12)	701,31 (119,02)	1464,96 ^a (237,47)	1082,92 ^b (188,11)	1524,90 ^a (242,54)	1173,33 ^b (201,98)
AGLL (C18-C18:2)	288,83 ^a (62,62)	250,73 ^b (56,49)	242,26 ^b (58,14)	197,50 ^c (47,48)	330,48 (72,30)	316,59 (68,38)	268,27 (62,71)	259,38 (60,99)	460,46 (107,49)	389,42 (105,57)	449,39 (119,52)	430,19 (92,45)
Total (C4-C18:2)	930,58 (85,95)	861,57 (78,22)	974,66 (87,82)	824,61 (72,63)	1161,52 (111,73)	1129,55 (102,92)	1114,87 (101,92)	1132,06 (93,21)	2164,67 ^{a,b} (197,52)	1749,79 ^c (147,32)	2253,06 ^a (204,18)	1803,90 ^{b,c} (161,30)
AGLC/Total	0,08	0,08	0,10	0,10	0,10	0,09	0,10	0,15	0,11	0,16	0,12	0,11
AGLM/Total	0,61	0,63	0,65	0,66	0,62	0,63	0,66	0,62	0,68	0,62	0,68	0,65
AGLL/Total	0,31	0,29	0,25	0,24	0,28	0,28	0,24	0,23	0,21	0,22	0,20	0,24

Control = 0% cítrico; Q1 = 10% cítrico; Q2 = 20% cítrico; Q3 = 30% cítrico

^{a,b,c} Diferentes superíndices dentro de la misma fila y para el mismo día difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

4.2.2.5. Evaluación de color

En la Figura 12 se muestra la evolución de los parámetros de color (L , a y b) durante la maduración, y la Tabla 19 presenta la diferencia total de color (ΔE) de los quesos experimentales con respecto al control. El análisis estadístico mostró el efecto significativo de la maduración sobre los parámetros de color de todos los quesos evaluados. Se observó un descenso significativo ($P < 0,05$) en la luminosidad (L) y un aumento del parámetro b ($P < 0,05$), durante la maduración. Según las correlaciones de Pearson observadas entre parámetros, los valores de L y b fueron influenciados por los cambios bioquímicos típicos de la maduración. Se observó una correlación entre el incremento de ES, AA y NS/NT de los quesos y la disminución del valor L y el aumento del valor b .

Rohm y Jaros (1997) también observaron correlaciones similares entre el índice de amarillamiento de quesos Emmental madurados y el contenido de G, ES y NS. El valor a no mostró correlaciones significativas con los parámetros de composición evaluados durante la maduración. No obstante, en los quesos control y Q1 este parámetro tuvo una tendencia significativa ($P < 0,05$) a disminuir durante los primeros 15 días y luego, en todos los quesos se observó un incremento hacia el final de la maduración.

Las diferencias en color de las leches control y experimentales (Tabla 16), se acentuaron al ser transformadas en queso (Tabla 19). El valor L de todos los quesos frescos (~ 95) fue mayor al valor L original de las leches, mientras que el valor a ($> -1,2$) fue menos negativo, y el valor b ($< 10,8$) fue menor en los quesos frescos en comparación a sus respectivos valores en las leches. El proceso de maduración acentuó las diferencias en color de manera que, el efecto de la dieta fue significativa para el valor L únicamente al día 30 de maduración y para el valor a y b durante prácticamente todo el período de evaluación. Las diferencias más notables se observaron entre los quesos experimentales en comparación al control, principalmente para el valor a . Este parámetro que define la escala verde y rojo fue el más afectado por la dieta, de manera que los quesos correspondientes a las dietas con 10, 20 y 30 % de cítrico, presentaron valores de a más cercanos a la cromática verde (valores negativos) en comparación al control. De igual forma el valor b que define la escala de azul y amarillo, fue influenciado por la dieta. Los quesos más “amarillos” (valores positivos) correspondieron a las dietas experimentales principalmente al final de la maduración, donde los valores b de los quesos Q1, Q2 y Q3 fueron mayores al control en un 10, 17 y 22 %, respectivamente.

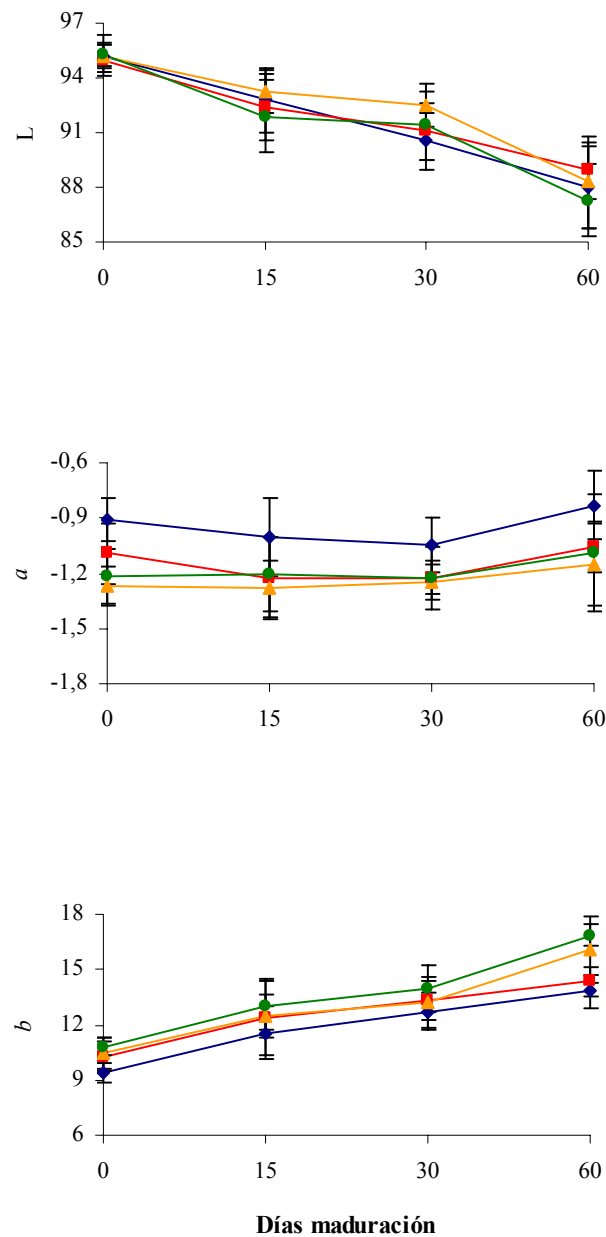


Figura 12. Parámetros de color L, a y b durante el madurado de los quesos control (◆), Q1(■), Q2(▲) y Q3 (●)
Control = 0% cítrico; Q1 = 10% cítrico; Q2 = 20% cítrico; Q3 = 30% cítrico
L = 0 – 100; a = (+) rojo / (-) verde; b (+) amarillo / (-) azul

Las diferencias en los parámetros de color observadas entre dietas, se resumen en el valor del ΔE de los quesos experimentales con respecto al queso control. En general se observó un aumento significativo del ΔE de los quesos conforme aumentó la inclusión de cítricos en la dieta ($P < 0,05$) en concordancia con los ΔE observados en las leches originales. El avance de

la maduración también influyó significativamente sobre el incremento de ΔE de los quesos Q2 y Q3, especialmente al comparar el día 1 con el valor observado al día 60 de maduración ($P < 0,05$). Este efecto de la dieta sobre el color final de los quesos madurados se debe principalmente a la concentración de los pigmentos aportados por la dieta en la leche primero y posteriormente en el queso madurado.

Tabla 19. Diferencia total de color (ΔE) de los quesos correspondientes a las dietas con inclusión de cítricos Q1, Q2 y Q3 respecto al control durante la maduración

Días maduración	ΔE		
	Q1	Q2	Q3
1	1,06±0,69 ^b	1,68±0,27 ^{a,b,B}	2,10±0,23 ^{a,B}
15	1,36±0,21	2,34±0,53 ^A	2,26±0,9 ^B
30	1,40±0,37 ^b	2,80±0,76 ^{a,A}	2,45±0,70 ^{a,b,B}
60	1,53±0,55 ^b	3,30±0,90 ^{a,A}	3,63±0,06 ^{a,A}

Q1 = 10% cítrico; Q2 = 20% cítrico; Q3 = 30% cítrico

^{a,b} Diferentes superíndices en una misma fila difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

^{A,B} Diferentes superíndices en una misma columna difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

4.2.2.6. Evaluación de la textura

En la Tabla 20 se muestran los valores de los parámetros de textura medidos durante la maduración de los quesos. El parámetro (σ_f) describe las características de fractura de la matriz del queso; un valor bajo indica una mayor fracturabilidad. En general, la fuerza requerida para fracturar los quesos aumentó del día 1 al día 60 de maduración, demostrando el efecto significativo del tiempo sobre este parámetro de textura. Se observaron diferencias significativas entre quesos al inicio de la maduración, siendo similares las características de textura a los 60 días de evaluación. Las correlaciones calculadas entre los parámetros de textura y componentes físico-químicos de los quesos mostraron una alta relación entre el esfuerzo en el momento de fractura (σ_f) y el porcentaje de ES ($r = 0,95$) y el contenido de AA ($r = 0,97$). Así, el mayor valor numérico de (σ_f) de los quesos Q3 se correspondió la mayor humedad de estos quesos al final de la maduración, mientras que los quesos Q2 que presentaron menor humedad a los 60 días de maduración requirieron de una mayor fuerza para fracturar el queso, lo cual también concuerda con el menor contenido de AA de estos quesos al final de la maduración (Figura 10). Pollard *et al.* (2003) concluyeron que la

proteolisis de quesos Cheddar madurados es parcialmente responsable de la disminución de la fuerza y grado de compresión necesarios para fracturar el queso.

Tabla 20. Evolución de los parámetros de textura (media \pm d.e) durante la maduración de los quesos correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos

	Días de maduración			
	1	15	30	60
<i>†Fracturabilidad (σ_f)</i>				
Control	4,44 \pm 0,46 ^{a,b}	8,04 \pm 0,96 ^b	14,26 \pm 2,16	25,80 \pm 4,98
Q1	4,85 \pm 0,54 ^a	9,09 \pm 1,26 ^a	13,94 \pm 1,43	24,12 \pm 4,22
Q2	4,27 \pm 0,70 ^b	8,20 \pm 1,49 ^b	14,34 \pm 1,51	26,31 \pm 2,33
Q3	4,62 \pm 0,89 ^{a,b}	7,59 \pm 0,98 ^b	13,07 \pm 2,14	23,60 \pm 4,60
<i>Deformabilidad (ϵ_f)</i>				
Control	0,73 \pm 0,13	0,27 \pm 0,04 ^b	0,20 \pm 0,02 ^b	0,19 \pm 0,02
Q1	0,74 \pm 0,10	0,28 \pm 0,02 ^{a,b}	0,22 \pm 0,02 ^a	0,19 \pm 0,03
Q2	0,72 \pm 0,05	0,27 \pm 0,01 ^b	0,22 \pm 0,02 ^a	0,20 \pm 0,02
Q3	0,79 \pm 0,08	0,30 \pm 0,03 ^a	0,23 \pm 0,02 ^a	0,20 \pm 0,02

Control = 0% cítrico; Q1 = 10% cítrico; Q2 = 20% cítrico; Q3 = 30% cítrico

^{a,b} Medias dentro de la misma columna y parámetro con diferente superíndice difieren estadísticamente ($P < 0,05$) [†]($\times 10$ kPa)

El parámetro (ϵ_f) describe el grado de deformabilidad del queso lo cual indica propiedades de cohesión; un valor numérico elevado indica una mayor deformabilidad. En general, este parámetro disminuyó conforme avanzó la maduración, siendo más evidente la reducción del día 1 al 15 mientras que a partir del día 30 hasta el final de la maduración las reducciones fueron mínimas. La deformabilidad del queso, al igual que el esfuerzo en el momento de fractura también mostró correlaciones importantes con los parámetros de composición, principalmente con el pH ($r = 0,96$) y NS/NT ($r = 0,93$), de forma que los quesos Q3 que presentaron mayor valor de pH al día 1 y 15 de maduración, mostraron también los valores de deformabilidad más altos con respecto a los demás quesos. El nivel de NS/NT fue ligeramente mayor en los quesos control y Q3 hasta los 30 días de maduración, por lo que ambos deberían presentar valores de deformabilidad más altos durante este período; no obstante el queso control mostró un (ϵ_f) numéricamente más bajo que el queso Q3 probablemente debido a su mayor contenido de ES. La misma influencia del pH sobre la magnitud de este parámetro ha

sido descrita por Visser (1991), y la misma correlación con el NS/NT ha sido observada por Buffa *et al.* (2001) en quesos de cabra madurados.

Los parámetros de textura obtenidos del ensayo de compresión uniaxial de los quesos evolucionaron en concordancia a lo descrito para queso de oveja por otros autores (Pavia *et al.*, 1999a; Juan *et al.*, 2007b). No existen publicaciones que relacionen el uso de cítricos en la dieta de animales con la textura del queso, sin embargo las modificaciones de la dieta pueden influir sobre la textura final del queso y ser apreciadas sensorialmente. Bugaud *et al.* (2002) compararon sensorialmente la textura de quesos Abondance correspondientes a animales alimentados a base de 5 pastizales de valle y 5 de montaña, y observaron que los quesos de montaña fueron menos elásticos, más deformables y cohesivos que los quesos de valle. Los autores atribuyeron estas diferencias a la actividad de la plasmina y a la composición de la grasa de la leche que fueron parámetros influenciados por la alimentación. Por otro lado, Jaros *et al.* (2001) observaron diferencias en la firmeza de los quesos al evaluar el efecto de la inclusión de colza (*Brassica napus*) en la dieta de vacas lecheras, aunque no observaron diferencias en la proteólisis de los quesos durante la maduración. A diferencia de estos ensayos, la inclusión de cítricos en la dieta de las ovejas lactantes, influyó sobre la textura de los quesos principalmente al inicio de la maduración y luego con el avance de los cambios bioquímicos de los quesos, las diferencias fueron menos evidentes al final de la evaluación.

4.2.2.7. Evaluación sensorial

Los resultados de la evaluación sensorial de los quesos se presentan en la Tabla 21. En general los catadores no observaron diferencias significativas entre los quesos correspondientes a las dietas evaluadas. Numéricamente se observaron mayores puntuaciones para la intensidad y calidad de olor en los quesos experimentales con respecto al control y también para la intensidad de aroma y el sabor ácido. La similitud entre quesos concuerda con la ausencia de diferencias significativas para los parámetros de maduración evaluados (AA, NS/NT y AGL). De hecho, según Fernández-García *et al.* (1994) la producción de AA es más importante para la mejora del sabor de quesos tipo Manchego que la liberación de AGL.

Las puntuaciones otorgadas en base a la escala hedónica de 0 a 7 fueron similares a las valoraciones para los parámetros de calidad e intensidad de olor y aroma observados por Fernández-García *et al.* (2002a) en quesos Manchego elaborados a partir de leche pasteurizada

(4,21; 3,84; 4,33 y 4,21, respectivamente). Al comparar quesos elaborados con leche cruda y leche pasteurizada, se ha observado que estos últimos presentan una menor valoración para los parámetros de intensidad de olor, sabor y aroma (Fernández-García *et al.*, 2000; Ballesteros *et al.*, 2006). Además del tratamiento térmico, la época del año también es un factor que afecta la percepción sensorial de los quesos. Fernández-García *et al.* (2002b) observaron que quesos Manchego elaborados durante la primavera contenían más compuestos volátiles que los elaborados en otra época del año, probablemente debido a las diferentes fuentes de alimento disponibles durante cada estación. El cambio en la dieta mediante la inclusión de cítricos, prácticamente no influyó sobre las propiedades sensoriales de los quesos. Cavani *et al.* (1991) tampoco observaron diferencias organolépticas entre quesos al mejorar la dieta de ovejas lactantes con ensilado de maíz. Por el contrario, y según observaciones de Álvarez *et al.* (2007), el uso de forrajes con una elevada proporción de fibra en comparación a una dieta a base de concentrado de maíz sí mejoró la valoración sensorial de quesos madurados de cabra.

Tabla 21. Resultados de la valoración sensorial (media \pm d.e) de los quesos con 60 días de maduración correspondientes a las dietas control y con inclusión de cítricos

Atributo	Parámetro	Control	Q1	Q2	Q3
Olor	Intensidad	3,75 \pm 1,19	3,83 \pm 1,04	4,39 \pm 1,06	4,28 \pm 1,30
	Calidad	4,19 \pm 1,23	4,52 \pm 1,03	4,46 \pm 0,93	4,58 \pm 1,03
Aroma	Intensidad	4,04 \pm 1,05	4,16 \pm 1,01	4,16 \pm 1,14	4,17 \pm 1,22
	Calidad	4,07 \pm 1,07	4,25 \pm 0,96	4,02 \pm 1,31	4,13 \pm 1,11
Sabor	Calidad	3,93 \pm 1,54	4,00 \pm 1,10	3,93 \pm 1,23	4,13 \pm 1,31
	Salado	4,30 \pm 1,35	4,18 \pm 0,70	3,96 \pm 1,20	4,05 \pm 0,76
	Ácido	4,15 \pm 1,13	4,75 \pm 0,81	4,47 \pm 0,94	4,64 \pm 0,90
	Amargo	3,10 \pm 1,44	3,20 \pm 1,35	3,30 \pm 1,39	2,86 \pm 1,13
	Picante	3,91 \pm 1,51	3,93 \pm 1,28	3,80 \pm 1,39	3,97 \pm 1,40
	Regusto	3,30 \pm 1,74	3,16 \pm 1,72	3,19 \pm 1,66	3,46 \pm 1,92
Textura	Dureza	4,26 \pm 0,77	4,47 \pm 0,86	4,46 \pm 1,33	4,57 \pm 1,00
	Elasticidad	2,83 \pm 1,22	2,35 \pm 0,92	2,57 \pm 0,77	2,91 \pm 1,11
	Friabilidad	4,59 \pm 1,43	5,04 \pm 1,25	5,00 \pm 0,91	4,52 \pm 1,38
Impresión Global		3,98 \pm 1,39	4,04 \pm 1,20	3,77 \pm 1,46	4,27 \pm 1,36

Control = 0% cítrico; Q1 = 10% cítrico; Q2 = 20% cítrico; Q3 = 30% cítrico

4.3. EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE ENSILADO DE ALCACHOFA EN LA DIETA

4.3.1. CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE

4.3.1.1. Características físico-químicas

En la Tabla 22 se muestran los parámetros físico-químicos de las leches empleadas para la elaboración de los quesos y que corresponden a las dietas control y experimentales. Las diferencias entre leches no resultaron significativas ($P>0,05$) a excepción del RCS. Sin embargo, fue apreciable un contenido ligeramente mayor de proteína total, caseína y grasa en las leches L2 y L3 con respecto al control.

Los porcentajes de grasa y proteína total de estas leches fueron mayores a lo descrito para otras razas ovinas españolas como la Latxa (G = 5,77% y PT = 5,07%) y Manchega (G = 6,50% y PT = 6,15%) de acuerdo a las observaciones realizadas por María y Gabiña (1993) y Cabezas *et al.* (2007), respectivamente. El contenido de lactosa estuvo dentro del intervalo descrito por Anifantakis (1986) para leche de oveja de distintas razas (4,22-4,93%). Por otro lado, el recuento de células somáticas de las leches, a excepción de la L3 fue menor al promedio (5,95 Log cél/mL) descrito por Gonzalo *et al.* (2005) para ovejas lecheras de razas Assaf, Awassi, Churra y Castellana.

Tabla 22. Parámetros físico-químicos y recuento de células somáticas (media \pm d.e) de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa

Muestra	G	PT	CSN (%)	L	ES	pH	RCS (Log cél/ml)
Control	7,23 \pm 0,44	6,55 \pm 0,10	5,12 \pm 0,04	4,53 \pm 0,02	19,26 \pm 0,52	6,46 \pm 0,02	5,71 \pm 0,23 ^{a,b}
L1	7,34 \pm 0,29	6,47 \pm 0,04	5,07 \pm 0,05	4,65 \pm 0,10	19,39 \pm 0,21	6,49 \pm 0,06	5,55 \pm 0,11 ^{b,c}
L2	7,57 \pm 0,17	6,75 \pm 0,17	5,26 \pm 0,15	4,58 \pm 0,10	19,86 \pm 0,19	6,56 \pm 0,05	5,33 \pm 0,14 ^c
L3	7,45 \pm 0,48	6,79 \pm 0,14	5,32 \pm 0,13	4,46 \pm 0,10	19,69 \pm 0,56	6,53 \pm 0,03	5,94 \pm 0,25 ^a

Control = 0% alcachofa; L1 = 10% alcachofa; L2 = 20% alcachofa; L3 = 30% alcachofa

G = grasa; PT = proteína total; CSN = caseína; L = lactosa; ES = extracto seco; RCS = recuento de células somáticas

^{a,b,c} Diferentes superíndices en una misma columna difieren estadísticamente ($P<0,05$)

No existen publicaciones que describan la influencia de la inclusión de alcachofa ensilada sobre la composición de la leche de oveja, no obstante Galvano y Scerra (1983) evaluaron la incorporación de este subproducto en la dieta de vacas sin observar un efecto negativo sobre la composición de la leche. El ligero incremento en grasa y componentes proteicos en las leches con 20 y 30% de alcachofa ensilada podría deberse a un mayor aporte de fibra de estas dietas. Es sabido que el contenido de grasa de la leche está altamente influenciado por el balance energético aportado por la dieta; sin embargo éste no es el único factor que influencia su síntesis y su concentración en la leche, ya que se ha observado que un aumento de fibra neutro detergente en la dieta muestra una correlación positiva con el contenido de grasa de la leche, principalmente cuando los animales se encuentran en un sistema confinado y presentan altos rendimientos lecheros (Pulina *et al.*, 2006). En un estudio realizado por Zenou *et al.* (2005), al reemplazar la fuente de almidón (precipitados de granos de maíz y cebada) en la dieta de ovejas lactantes por cascarilla de soja, observaron un incremento significativo del contenido de grasa que los autores atribuyeron al mayor consumo de fibra neutro detergente por parte de las ovejas alimentadas con cascarilla de soja. En cuanto a las concentraciones de proteína en la leche, Pulina *et al.* (2006) concluyeron que este parámetro, en comparación con la grasa, está menos influenciado por la alimentación de la oveja aunque su concentración presenta una correlación positiva con el aporte de energía proveniente de la dieta. Con respecto al RCS, se observaron diferencias significativas entre dietas ($P < 0,05$), de modo que la leche L2 mostró un menor recuento con respecto a las leches control y L3. Debido a la ausencia de una tendencia, no fue posible relacionar la inclusión de alcachofa ensilada en la dieta con el nivel de células somáticas de la leche. No obstante, la alimentación del animal es un factor que influye sobre su salud, de manera que deficiencias nutricionales pueden incrementar la susceptibilidad de la glándula mamaria a inflamarse e incurrir en un aumento del RCS (Pulina *et al.*, 2006). Las dietas con inclusión de alcachofa, no influyeron negativamente sobre la salud del animal por lo que las diferencias en RCS pudieron estar relacionadas con otros factores ambientales difíciles de controlar. Finalmente, el valor de pH de las leches no evidenció diferencias significativas entre dietas ($P > 0,05$), aunque sí fue apreciable un valor ligeramente mayor en las leches experimentales con respecto a la leche control.

4.3.1.2. *Parámetros de coagulación*

Los parámetros de coagulación y rendimiento quesero obtenidos durante la elaboración de los quesos se muestran en la Tabla 23. Los valores de RCT, RCA y RTO de las leches control y experimentales no presentaron diferencias significativas ($P>0,05$). Sin embargo se observó una disminución del RCA conforme aumentó la cantidad de ensilado de alcachofa en la dieta y un menor RTO quesero en las leches L1 y L2. De acuerdo al análisis estadístico, la inclusión de un 20 y 30% de ensilado de alcachofa en la dieta, disminuyó la firmeza del gel ($P<0,05$), mientras que una inclusión del 10% no produjo diferencias de este parámetro con respecto a la leche control. Estos resultados podrían ser explicados por los ligeros incrementos de grasa y proteína de estas leches así como por su mayor pH. Otros autores que han evaluado modificaciones de la dieta no han observado una influencia neta de éstas sobre las propiedades de coagulación de la leche. Verdier-Metz *et al.* (2005) compararon los parámetros de coagulación de leche proveniente de vacas alimentadas a base de pasto ensilado en comparación a heno, sin observar diferencias significativas entre dietas. Masucci *et al.* (2006) describieron resultados similares no encontrando un efecto negativo sobre la coagulación cuando evaluaron la inclusión de semillas de altramuza blanca (*Lupinus albus*) en la dieta de ovejas lecheras reemplazando la harina de soja utilizada como fuente proteica en la ración control. Por el contrario, Kreuzer *et al.* (1996) observaron que la optimización de calidad del forraje y un incremento en la proporción de concentrado en la dieta de vacas lecheras, mejoró las propiedades tecnológicas traducidas en un menor tiempo de coagulación y en un aumento moderado de la firmeza del gel.

Tabla 23. Parámetros de coagulación y rendimiento quesero (media \pm d.e) de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa

Leche	RCT (min)	F30 ($\Delta\%T$)	RCA ($\Delta\%T/\text{min}$)	RTO (%)
Control	11,69 \pm 0,05	3,57 \pm 0,10 ^a	0,50 \pm 0,05	28,19 \pm 1,71
L1	11,49 \pm 0,50	3,35 \pm 0,24 ^{a,b}	0,51 \pm 0,06	26,58 \pm 0,86
L2	11,75 \pm 0,66	3,18 \pm 0,09 ^b	0,48 \pm 0,00	27,89 \pm 0,77
L3	10,03 \pm 1,77	2,73 \pm 0,04 ^c	0,40 \pm 0,05	28,16 \pm 1,01

Control = 0% alcachofa; L1 = 10% alcachofa; L2 = 20% alcachofa; L3 = 30% alcachofa
 RCT = tiempo de coagulación; F30 = firmeza del gel; RCA = velocidad de agregación;
 RTO = rendimiento quesero

^{a,b} Diferentes superíndices en una misma columna difieren estadísticamente ($P<0,05$)

Los subproductos del cultivo de alcachofa han sido utilizados en la alimentación de vacas lecheras (Martínez y Medina, 1982), cordero y cabrito para carne (Marsico *et al.*, 2005) y como harina de hojas deshidratadas de la planta en la alimentación de ganado de carne y cabras lecheras (Bonomi y Bonomi, 2001; Bonomi *et al.*, 2004a). Por otro lado, también se han evaluado las características fitosanitarias, fermentativas y nutritivas, así como la mejora de la fermentación durante el ensilado de los residuos de la alcachofa para su utilización en alimentación animal (Megías-Rivas *et al.*, 1991; Meneses *et al.*, 2007). La mayoría de estos estudios coinciden en que los diferentes subproductos de este cultivo son alimentos palatables, fáciles de digerir, nutritivos y seguros ya que no influyen negativamente sobre la salud de los animales ni sobre la producción de leche o carne.

4.3.1.3. Evaluación del color

En la Tabla 24 se presentan los valores L, *a*, *b*, y ΔE de las leches control y experimentales. Al igual que la inclusión de cítrico entero en la dieta, la incorporación de ensilado de alcachofa influyó sobre el color de la leche. Los parámetros L, *a* y *b* de las leches experimentales mostraron valores significativamente diferentes al control ($P < 0,05$), a excepción del valor L de la leche L1. El valor L y *b* disminuyó conforme aumentó el porcentaje de ensilado en la dieta, y el valor absoluto de *a* también disminuyó con respecto al control.

Tabla 24. Parámetros de color (media \pm d.e) de las leches correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa

Leche	Parámetros de color			ΔE
	L	<i>a</i>	<i>b</i>	
Control	92,30 \pm 0,61 ^a	-1,96 \pm 0,48 ^c	10,40 \pm 0,32 ^a	
L1	92,35 \pm 0,86 ^a	-1,79 \pm 0,54 ^b	9,63 \pm 0,30 ^b	0,86 \pm 0,04 ^b
L2	92,08 \pm 0,84 ^b	-1,78 \pm 0,46 ^b	9,60 \pm 0,31 ^b	0,90 \pm 0,03 ^b
L3	92,14 \pm 0,79 ^b	-1,74 \pm 0,48 ^a	9,48 \pm 0,34 ^c	0,98 \pm 0,06 ^a

Control = 0% alcachofa; L1 = 10% alcachofa; L2 = 20% alcachofa; L3 = 30% alcachofa

L = 0 – 100; *a* = (+) rojo / (-) verde; *b* = (+) amarillo / (-) azul; ΔE = diferencia total de color vs. control

^{a,b,c} Diferentes superíndices en una misma columna difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

El contenido de carotenos de la leche puede influir sobre el valor del parámetro *b* (Nozière *et al.*, 2006), principalmente cuando se trata de leche de vaca ya que ésta contiene β -caroteno

como pigmento mayoritario. A diferencia de los bovinos, la luteína es el principal caroteno presente en el plasma sanguíneo de la oveja, aunque recientemente también se ha comprobado el contenido de zeaxantina y pequeñas cantidades de β -caroteno y otros carotenos desconocidos (Priolo *et al.*, 2003). La concentración de estos pigmentos en la leche es influenciada grandemente por la dieta, ya que no son sintetizados por el animal e incluso son sustancias que pueden utilizarse como marcadores de trazabilidad en la leche (Prache y Theriez, 1999). La reducción en el índice *b* de las leches experimentales y las diferencias en *a* pueden ser atribuidas al menor aporte de carotenos por parte de las dietas experimentales, debido a que los principales pigmentos presentes en la inflorescencia de la alcachofa pertenecen al grupo de las antocianinas (Schütz *et al.*, 2006). Las diferencias en *L*, *a* y *b* se reflejaron en el ΔE de modo que este parámetro fue numéricamente mayor conforme aumentó el contenido de ensilado de alcachofa en la dieta.

4.4.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS QUESOS

4.4.1.1. Características físico-químicas

En la Tabla 25 se muestra la composición físico-química de los quesos durante la maduración. En todos los quesos el contenido de ES aumentó con el avance de la maduración hasta valores finales de ~61%. Este porcentaje es similar a lo observado por Ballesteros *et al.* (2006) en queso Manchego artesano con 60 días de maduración (60,45%). Las diferencias entre dietas fueron significativas ($P < 0,05$) para el mayor contenido de ES de los quesos Q1 y Q2 con respecto a los demás al día 1 de evaluación. Con el avance de la maduración las diferencias entre dietas dejaron de ser significativas aunque el ES del queso Q2 fue numéricamente mayor en comparación a los demás, lo que concuerda con el mayor porcentaje de ES observado en la leche L2 a pesar de que las diferencias entre leches tampoco fueron significativas.

El contenido de NT de los quesos a los distintos tiempos de maduración estuvo en un intervalo de 6 a 7% en base al ES. Los valores finales de NT de todos los quesos fueron mayores a los descritos (en base seca) por González-Viñas *et al.* (2001) para quesos Manchego con dos meses de maduración elaborados a partir de leche cruda y pasteurizada (5,77 y 6,03%, respectivamente). Las diferencias al final de la maduración fueron

significativas para el menor contenido de NT del queso Q2 con respecto a los quesos Q1 y Q3 ($P < 0,05$), aunque ninguna de las dietas experimentales se diferenció del control ($P > 0,05$).

El valor de pH disminuyó con el avance de la maduración, observándose al día 60 un ligero incremento en los quesos control y Q2. Los valores finales fueron más bajos que los descritos por otros autores para quesos de oveja con el mismo tiempo de maduración (González-Viñas *et al.*, 2001; Ballesteros *et al.*, 2006; Cabezas *et al.*, 2007). La disminución del pH fue principalmente evidente durante los primeros 15 días de maduración, sin observarse diferencias significativas entre dietas. A partir de los 30 días se apreció un menor pH en el queso control con respecto a los experimentales y al final de la maduración se apreciaron diferencias significativas entre todos los quesos ($P < 0,05$). Hacia el final de la maduración, se evidenció un incremento del pH principalmente en los quesos control y Q2 y menores variaciones en los quesos Q1 y Q3, que se relacionan con la desacidificación del queso debido a los cambios bioquímicos durante la maduración (McSweeney, 2004).

En cuanto al contenido de grasa, en general se observó que los quesos experimentales mostraron un menor porcentaje de grasa en comparación al control aunque las diferencias fueron significativas únicamente al día 60 de maduración. Las diferencias observadas entre los quesos no pueden ser explicadas por la composición original de las leches (Tabla 22), no obstante el menor contenido de grasa apreciada en los quesos experimentales pudo deberse a pérdidas en el suero de quesería posiblemente influenciadas por la aptitud tecnológica de las leches durante la coagulación (Tabla 23). Ng-Kwai Hang *et al.* (1989) obtuvieron menores pérdidas de grasa en el suero de quesería cuando la coagulación fue más rápida y se formó un gel más firme.

El contenido de sal de todos los quesos aumentó ligeramente con la maduración debido a la evaporación del agua. Las diferencias fueron significativas entre dietas para la mayor concentración de sal observada en el queso control con respecto a la obtenida para el queso Q3. Tanto al inicio como al final de la maduración los quesos control, Q1 y Q2 presentaron concentraciones similares, siendo el Q3 el que presentó la menor cantidad de sal. Las diferencias en el contenido y difusión de sal pudieron ser influenciadas por el contenido inicial de humedad o por diferencias en la microestructura de la cuajada.

Tabla 25. Características físico-químicas (media \pm d.e) de los quesos correspondientes a las dietas control (0% alcachofa) y con inclusión de ensilado de alcachofa (Q1=10% alcachofa, Q2 = 20% alcachofa y Q3 = 30% alcachofa)

Días maduración	ES (%)				NT (%) [†]				pH			
	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3
1	47,80 \pm 2,11 ^{b,c}	49,49 \pm 0,61 ^a	49,02 \pm 0,84 ^{a,b}	47,28 \pm 1,54 ^c	6,76 \pm 0,12 ^b	6,81 \pm 0,27 ^b	6,78 \pm 0,24 ^b	7,05 \pm 0,16 ^a	5,59 \pm 0,18	5,55 \pm 0,19	5,49 \pm 0,25	5,56 \pm 0,39
15	58,69 \pm 2,37 ^{a,b}	57,65 \pm 0,79 ^b	59,34 \pm 1,00 ^a	57,70 \pm 1,00 ^b	6,31 \pm 0,46	6,34 \pm 0,14	6,38 \pm 0,16	6,52 \pm 0,22	4,84 \pm 0,03	4,88 \pm 0,08	4,86 \pm 0,07	4,83 \pm 0,03
30	57,87 \pm 2,37 ^b	58,74 \pm 1,11 ^b	60,08 \pm 1,72 ^a	58,91 \pm 1,70 ^{a,b}	6,38 \pm 0,05 ^a	6,37 \pm 0,09 ^a	6,13 \pm 0,11 ^b	6,39 \pm 0,12 ^a	4,77 \pm 0,05 ^b	4,86 \pm 0,03 ^a	4,86 \pm 0,06 ^a	4,85 \pm 0,05 ^a
60	61,24 \pm 1,73 ^{b,c}	60,92 \pm 0,46 ^c	62,72 \pm 0,87 ^a	61,76 \pm 0,43 ^b	6,44 \pm 0,06 ^{a,b}	6,54 \pm 0,08 ^a	6,34 \pm 0,20 ^b	6,54 \pm 0,09 ^a	4,80 \pm 0,03 ^d	4,84 \pm 0,02 ^b	4,89 \pm 0,03 ^a	4,82 \pm 0,04 ^c

Días maduración	G (%) [†]				NaCl (g/100 g queso)			
	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3
1	50,71 \pm 3,76 ^a	48,50 \pm 1,06 ^a	46,25 \pm 0,82 ^b	48,59 \pm 2,00 ^a	1,08 \pm 0,06 ^a	0,98 \pm 0,13 ^a	1,07 \pm 0,06 ^a	0,84 \pm 0,14 ^b
60	53,32 \pm 1,57 ^a	50,87 \pm 2,34 ^b	50,22 \pm 1,30 ^{b,c}	48,30 \pm 1,37 ^c	1,40 \pm 0,06 ^a	1,37 \pm 0,04 ^{a,b}	1,38 \pm 0,06 ^{a,b}	1,33 \pm 0,06 ^b

ES = extracto seco; NT = nitrógeno total; G = grasa

^{a,b,c} Medias dentro de la misma fila con diferente superíndice difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

[†]Expresado sobre ES (%)

4.4.1.2. Evolución de nitrógeno soluble y aminoácidos libres

En la Figura 13 se muestra la evolución del NS/NT (%) y de los AA (mg Leu/g queso) durante la maduración de los quesos. Los procesos proteolíticos influyen la textura del queso a través de la hidrólisis de la matriz proteica y modificaciones de la actividad de agua, y determinan el desarrollo del aroma a través del metabolismo de péptidos y aminoácidos (McSweeney, 2004). El grado de proteolisis de los quesos puede ser descrito por parámetros no específicos como el contenido de NS/NT y AA, entre otros (Upadhyay *et al.*, 2004).

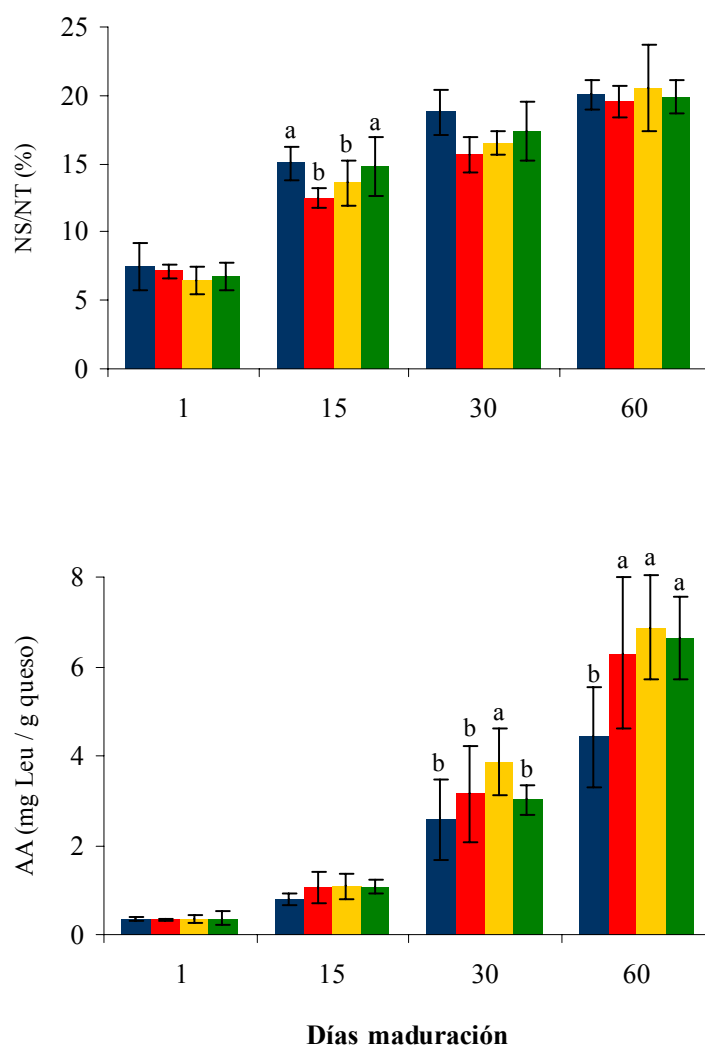


Figura 13. Evolución del nitrógeno soluble, NS/NT (%) y del contenido de aminoácidos libres, AA (mg Leu/g queso) durante el madurado de los quesos control (■), Q1 (■), Q2 (■) y Q3 (■)
Control = 0% alcachofa; Q1 = 10% alcachofa; Q2 = 20% alcachofa; Q3 = 30% alcachofa
^{a, b} Diferentes superíndices en una misma categoría difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

Estos dos parámetros utilizados para evaluar la maduración fueron afectados principalmente por el tiempo, observándose un aumento del NS/NT del ~7 al 20%, mientras que el contenido de AA aumentó de ~0,3 mg Leu/g queso hasta un valor máximo de 6,8 mg Leu/g queso.

El contenido inicial de NS/NT fue comparable con el nivel descrito por Ballesteros *et al.* (2006), y a medida que avanzó la maduración los valores fueron cercanos a los observados en queso tipo Manchego con 60 días de maduración (Pavia *et al.*, 2000). Las diferencias entre dietas fueron significativas únicamente al día 15, de modo que el contenido de NS/NT en los quesos Q1 y Q2 fue menor en relación a las dietas control y Q3 ($P < 0,05$). Sin embargo estas diferencias no se mantuvieron durante la maduración, de manera que no se observó una influencia de la dieta sobre la concentración de péptidos de diferente tamaño producidos por la actividad enzimática del cuajo residual (McSweeney y Fox, 1997). A diferencia del NS/NT, no se apreciaron diferencias en el contenido de AA durante los primeros 15 días de maduración, aunque a partir del día 30 el queso Q2 presentó la mayor concentración de AA ($P < 0,05$), mientras que los quesos Q1 y Q3 presentaron un valor numérico mayor al control aunque no de forma significativa. Conforme avanzó la maduración, estas diferencias fueron más evidentes de manera que el contenido de AA de los quesos experimentales fue mayor que el control ($P < 0,05$). La formación de AA está determinado principalmente por la actividad peptidolítica de las enzimas de las bacterias ácido-lácticas adicionadas como cultivo iniciador (aminopeptidasas) y también en menor grado por las peptidasas de la microbiota que no pertenece al fermento (McSweeney, 2004).

Las diferencias con respecto al control, sugieren que los quesos experimentales presentaron condiciones más favorables para el desarrollo de las bacterias ácido-lácticas o para el desarrollo de su actividad aminopeptidásica y que podrían estar relacionadas con las diferencias en composición, contenido de sal y evolución del pH durante la maduración de los quesos. Según Coulon *et al.* (2004) las posibles diferencias en proteólisis y/o lipólisis observadas entre quesos pueden ser debidas a variaciones en el ecosistema de la microbiota de la leche debido a la alimentación del animal y a la transferencia de diferentes compuestos de la dieta a la leche y posteriormente al queso. Fallico *et al.* (2003) al evaluar dos sistemas de alimentación (pastoreo en comparación a una ración mixta completa) no observaron un efecto significativo sobre la proteólisis primaria de los quesos, pero describieron un efecto cualitativo sobre el perfil peptídico para los animales mantenidos en pastoreo, que los autores

atribuyeron a una actividad enzimática más definida y balanceada de las peptidasas microbianas.

4.4.1.3. Evolución de los ácidos grasos libres

La Figura 14 muestra la evolución de los AGL individuales durante la maduración de los quesos. Al igual que en el caso de los cítricos prácticamente todos los AGL aumentaron de forma significativa con el avance de la maduración ($P < 0,05$), excepto el ácido láurico (C12) y esteárico (C18) en el queso Q3. Todos los quesos de esta etapa experimental presentaron una mayor lipólisis que la descrita durante la evaluación de cítricos en la dieta. Los quesos control y los correspondientes a las dietas con ensilado de alcachofa tuvieron un mayor contenido de humedad que llegó a 40% en comparación al 30% (día 60) observado en los quesos durante la evaluación de cítricos.

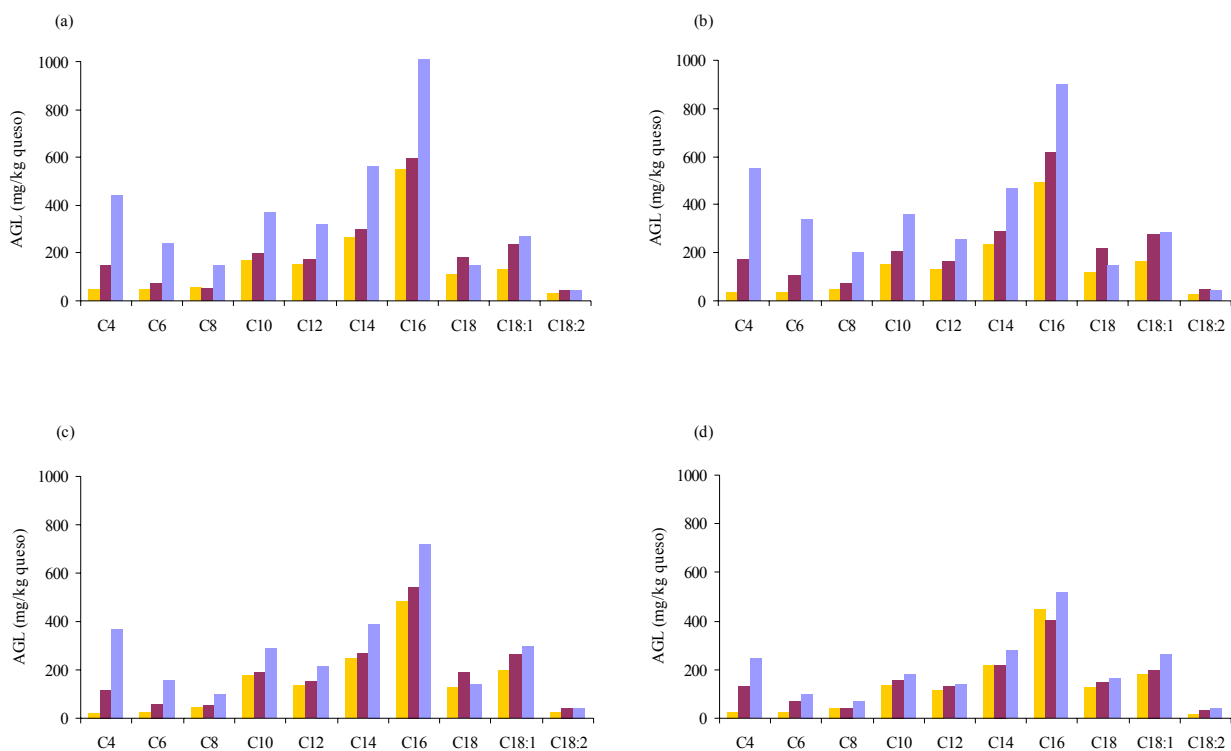


Figura 14. Contenido de los ácidos grasos libres individuales (mg/kg queso) en los quesos control (a), Q1 (b), Q2 (c) y Q3 (d) al día 15 (■), 30 (■) y 60 (■) de maduración
Control = 0% alcachofa; Q1 = 10% alcachofa; Q2 = 20% alcachofa; Q3 = 30% alcachofa

La mayor actividad de las enzimas lipolíticas podría verse favorecida por el mayor contenido de agua que mostraron todos los quesos durante la evaluación del ensilado de alcachofa. La mayoría de AGL se encontraron en mayor cantidad que lo descrito para otros quesos de oveja con 60 o con incluso 180 días de maduración (Poveda *et al.*, 2000; Fernández-García *et al.*, 2006). Por el contrario los quesos control y experimentales presentaron bajas concentraciones de ácido linoleico (C18:2) en comparación a lo observado por estos autores. No obstante, estas diferencias con respecto a otras publicaciones deben ser discutidas con cautela ya que la cuantificación de los AGL varía dependiendo de los métodos de análisis utilizados. Chavarri *et al.* (1997) encontraron diferencias en la cuantificación de los AGL cuando compararon dos métodos analíticos para determinar AGL en quesos: el primero por separación de los AGL de los triglicéridos mediante la utilización de columnas de aminopropil y el segundo mediante derivatización de los AGL, de manera que mediante éste último procedimiento, el contenido total de AGL en los quesos fue ~2,4 veces más alto que el primero.

Según la evolución del perfil de AGL se observó que el mayor incremento de los AGLC y AGLM para todos los quesos ocurrió durante el último mes de maduración (día 30 a 60). Los AGLL experimentaron un mayor incremento del día 15 a 30 de maduración, a excepción de los ácidos esteárico (C18) y oleico (C18:1) en el queso Q3 que aumentaron su proporción después de los 30 días. Durante toda la maduración los mayores porcentajes de incremento de AGL totales se observaron en el queso Q1 seguido por el control, Q2 y Q3 (58,5%, 56,8%, 46,9% y 36,3% respectivamente). El incremento del ácido butírico fue similar para todos los quesos mientras que para los ácidos C8 a C16, los porcentajes de incremento fueron mayores para los quesos control y Q1 y menores consecutivamente para los quesos Q2 y Q3. Este último presentó el mayor incremento del ácido linoléico (C18:2) seguido del Q2 y Q1.

En la Tabla 26 se muestran los promedios de la sumatoria de AGL de cadena corta, media, larga y totales que resumen las diferencias encontradas entre los quesos durante la maduración. La dieta influyó significativamente ($P < 0,05$) sobre el contenido de casi todos los AGL individuales de los quesos a excepción del ácido oleico (C18:1) observado en los quesos con 15 días de maduración. Transcurridos 30 días de maduración el contenido de ácido butírico (C4), cáprico (C10) y láurico (C12) fue similar para todas las dietas mientras que al día 60 sí se observó un efecto significativo de la dieta sobre los AGL con excepción de los de 18 carbonos (C18-C18:2). En la primera quincena de maduración (día 15) se observó un menor contenido de AGLC conforme aumentó el contenido de ensilado de alcachofa en la

dieta, de igual forma los AGLM de los quesos experimentales también fueron menores con respecto al control. En cuanto a los AGLL se observó un mayor contenido de este grupo en los quesos experimentales y menor en el control. La sumatoria de todos los AGL reflejó una menor lipólisis en los quesos correspondientes a la dieta con 30% de ensilado de alcachofa. Con el avance de la maduración las diferencias fueron más erráticas. Al día 30 de maduración, los AGLC fueron similares para todos los quesos aunque ligeramente superior en el queso Q1 pero no de forma significativa ($P>0,05$). Los AGLM continuaron disminuyendo con la inclusión de ensilado de alcachofa y por otro lado se observó una reducción marcada de los AGLL en los quesos Q2 y Q3. Estas diferencias se recogen en la sumatoria total de forma que hubo menor contenido de AGL totales en los quesos con 20 y 30% de ensilado de alcachofa. Al final de la maduración (día 60) las diferencias fueron significativas para el menor contenido de AGL de cadena corta y media en los quesos experimentales ($P<0,05$), a excepción del queso Q1 que presentó una concentración similar de AGLC que el queso control.

En la Tabla 26 también se aprecian los índices medios de los AGLC, AGLM y AGLL con respecto a la sumatoria total. El ratio de AGLC/Total aumentó en todos los quesos a medida que avanzó la maduración. Por otro lado el índice AGLM/Total disminuyó principalmente del día 15 al 30 y luego se mantuvo sin cambios hasta el final de la maduración. El ratio de AGLL/Total aumentó ligeramente del día 15 a 30 y luego disminuyó visiblemente al día 60 de maduración. Independientemente de la dieta, los AGL mayoritarios en los quesos madurados fueron los de cadena media seguidos por los AGL de cadena larga excepto en los quesos con 60 días en los que los AGLC aumentaron en mayor proporción que los AGLL. Estos resultados discrepan de las proporciones encontradas por Fernández-García *et al.* (2006) en quesos de oveja madurados. Estos autores encontraron una menor proporción de AGLC y mayor de AGLL. Las diferencias podrían deberse, entre otras causas, al tiempo de madurado de los quesos ya que los evaluados por estos autores tenían entre 2 y 8 meses de maduración; es sabido que con el avance de la maduración algunos AGLC se convierten en precursores de compuestos volátiles que contribuyen al desarrollo del flavor (Collins *et al.*, 2003). Existen evidencias de que la dieta del animal puede influir sobre el sistema lipolítico de la leche y afectar la calidad sensorial de la leche y sus derivados. Ferlay *et al.* (2006) encontraron diferencias en el perfil de AG de leche de vaca, al comparar diferentes dietas a base de concentrado, pastos y forrajes. Los autores también encontraron variaciones en el nivel de lipólisis de la leche, siendo menor en el grupo alimentado a base de ensilado de maíz y mayor

en la leche proveniente de la dieta a base de pasto ensilado. Además de la dieta, otros factores como la época de manufactura de los quesos también pueden influir sobre el perfil de AGL. Chavarri *et al.* (1999) y Fernández-García *et al.* (2006) observaron diferencias en el contenido de AGL de quesos de oveja elaborados en distintas estaciones del año. Estas diferencias en la mayoría de los casos permitieron discriminar quesos elaborados en invierno o verano e incluso diferenciar variedades de queso.

En el queso Cheddar madurado se ha descrito que la proporción de AGL (C6 al C18:3) es similar a la observada en la grasa de la leche, lo cual indica que la mayoría de AGL son liberados de forma no específica. No obstante el ácido butírico libre es usualmente encontrado en una concentración más elevada que la observada en la grasa por lo que probablemente sea liberado selectivamente por las lipasas del queso o sintetizada por la microbiota (Fox, 2000). Partiendo de esta suposición las diferencias observadas entre las dietas (quesos Q2 y Q3) con respecto al control podrían ser explicadas parcialmente por la variación en el contenido de ácidos grasos de los triglicéridos de la leche. Los investigadores de la UPV (Rodríguez M, datos no publicados) observaron que la máxima inclusión de ensilado de alcachofa en la dieta (30% de la materia seca de la ración) provocó una reducción del contenido de ácidos grasos de cadena corta, no influyó significativamente sobre la proporción de ácidos de cadena media mientras que aumentó la proporción de ácidos de cadena larga con respecto a la dieta control (mayores índices de AGLL/total de los quesos Q2 y Q3 a los 30 y 60 días de maduración).

Tabla 26. Valores medios (d.e) de los ácidos grasos libres (AGL, mg/kg queso) de cadena corta (AGLC), media (AGLM) y larga (AGLL) de los quesos con 15, 30 y 60 días de maduración correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa

Parámetro	15				30				60			
	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3	Control	Q1	Q2	Q3
AGLC (C4-C8)	155,65 ^a (7,17)	117,17 ^b (6,95)	93,28 ^b (12,40)	96,90 ^b (8,04)	278,06 (51,34)	348,89 (51,94)	227,59 (33,63)	240,67 (43,46)	834,01 ^{a,b} (149,21)	1085,99 ^a (176,42)	631,19 ^{b,c} (141,14)	411,98 ^c (95,70)
AGLM (C10-C16)	1137,17 ^a (182,21)	1009,99 ^{b,c} (164,58)	1048,42 ^{a,b} (155,01)	925,72 ^c (153,47)	1261,77 ^a (193,98)	1284,45 ^{a,b} (204,41)	1149,16 ^b (177,04)	734,23 ^c (123,06)	2290,05 ^a (328,99)	1984,49 ^b (283,85)	1613,72 ^c (223,56)	1123,03 ^d (169,04)
AGLL (C18-C18:2)	277,94 ^c (54,22)	304,50 ^b (69,68)	352,67 ^a (88,01)	328,12 ^{a,b} (86,20)	457,86 ^b (97,20)	536,80 ^a (117,92)	497,45 ^c (111,48)	376,77 ^d (85,81)	462,51 (114,50)	478,72 (123,37)	484,04 (129,30)	469,08 (111,35)
Total (C4-C18:2)	1570,76 ^a (154,91)	1431,66 ^{a,b} (140,08)	1494,37 ^{a,b} (142,88)	1350,74 ^b (131,85)	1997,69 ^b (160,43)	21,70 ^a (162,17)	1874,19 ^c (148,99)	1351,67 ^d (107,40)	3587,47 ^a (283,58)	3549,19 ^a (242,39)	2728,95 ^b (194,49)	2004,09 ^c (138,41)
AGLC/Total	0,10	0,08	0,06	0,07	0,14	0,16	0,12	0,18	0,23	0,31	0,23	0,21
AGLM/Total	0,72	0,71	0,70	0,69	0,63	0,59	0,61	0,54	0,64	0,56	0,59	0,56
AGLL/Total	0,18	0,21	0,24	0,24	0,23	0,25	0,27	0,28	0,13	0,13	0,18	0,23

Control = 0% alcachofa; Q1 = 10% alcachofa; Q2 = 20% alcachofa; Q3 = 30% alcachofa

^{a-d} Diferentes superíndices dentro de la misma fila y para el mismo día difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

4.4.1.4. Evaluación de color

En la Figura 15 se presenta la evolución de los parámetros de color durante la maduración de los quesos. El análisis estadístico reveló un efecto significativo de la maduración sobre los parámetros de color ($P < 0,05$). Tanto la luminosidad (L) como el valor absoluto del parámetro a disminuyeron con el tiempo, mientras que el valor b aumentó con el madurado del queso.

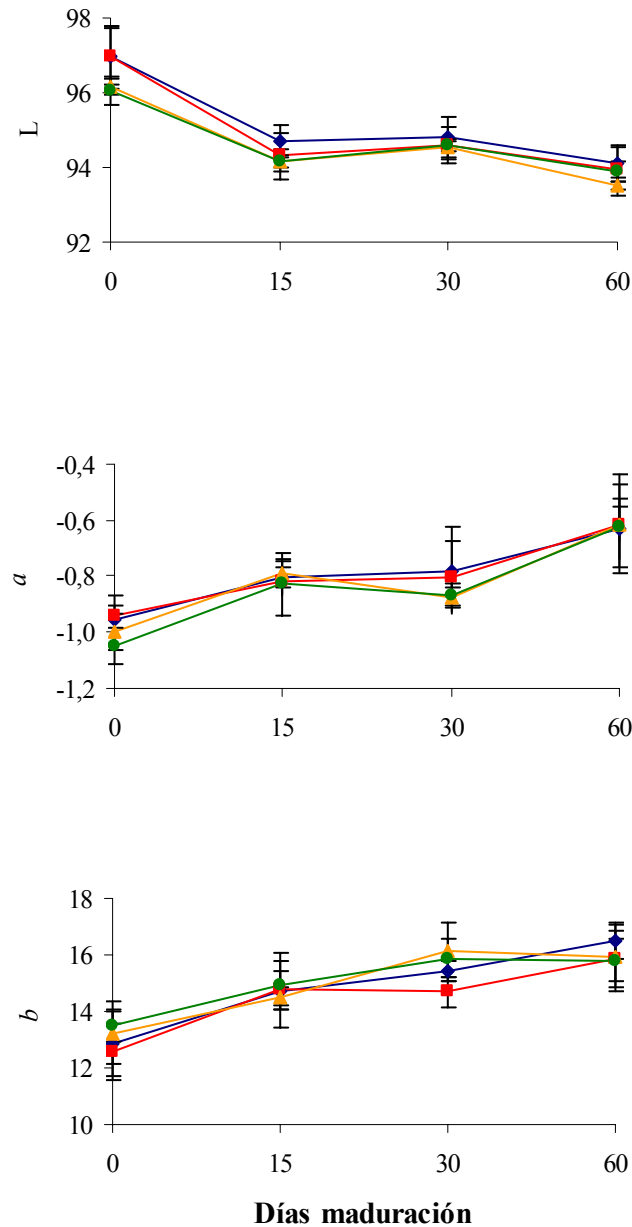


Figura 15. Parámetros de color L , a y b durante el madurado de los quesos control (\blacklozenge), Q1 (\blacksquare), Q2 (\blacktriangle) y Q3 (\bullet)
 Control = 0% alcachofa; Q1 = 10% alcachofa; Q2 = 20% alcachofa; Q3 = 30% alcachofa
 $L = 0 - 100$; $a = (+)$ rojo / $(-)$ verde; $b (+)$ amarillo / $(-)$ azul

Estos cambios del color también han sido observados en otras variedades de quesos de leche de oveja (Pinho *et al.*, 2004) y de cabra (Saldo *et al.*, 2002) y también se ha descrito para quesos madurados de leche de vaca como el Mahón (Frau *et al.*, 1999). Estos últimos autores relacionaron los cambios en los parámetros de color con los procesos bioquímicos (pérdida de agua, proteólisis y lipólisis) que ocurren durante la maduración. En nuestro estudio, y según las correlaciones de Pearson, se observaron relaciones significativas ($P < 0,0001$) entre los parámetros de color y el contenido de ES ($r = -0,89$, para L; $r = 0,78$ para a y $r = 0,80$ para b). Además del contenido de humedad, los parámetros de proteólisis también influyeron sobre las variaciones de L, a y b , mostrando una correlación negativa con la luminosidad y positivas con los índices de la cromática roja y amarilla. Las diferencias de color entre dietas fueron significativas principalmente para el valor L durante toda la maduración y para los valores a y b al primer día de maduración. Los quesos Q2 y Q3 fueron los quesos más “amarillos” y oscuros. Únicamente el queso Q3 mostró el valor de a más lejano del extremo cromático rojo aunque estas diferencias dejaron de ser significativas con el avance de la maduración ($P > 0,05$).

A diferencia de los quesos evaluados durante la utilización de cítricos en la dieta, los quesos correspondientes a las dietas con alcachofa ensilada mostraron un ΔE más bajo (Tabla 27) cuando se compararon con el control tanto en el caso de la leche como del queso.

Tabla 27. Diferencia total de color (ΔE) de los quesos correspondientes a las dietas con inclusión de ensilado de alcachofa Q1, Q2 y Q3 respecto a los quesos control durante la maduración

Días maduración	ΔE		
	Q1	Q2	Q3
1	0,59±0,51 ^c	1,13±0,82 ^{b,c}	1,48±0,72 ^{a,b}
15	1,12±0,55	1,72±0,98	1,84±0,94
30	1,10±0,40	1,17±0,60	1,40±0,40
60	1,21±0,67	1,22±0,56	1,15±0,46

Q1 = 10% alcachofa; Q2 = 20% alcachofa; Q3 = 30% alcachofa

^{a,b,c} Diferentes superíndices en una misma fila difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

Se observaron diferencias en el valor de ΔE de los quesos experimentales únicamente al primer día de evaluación, siendo mayor el ΔE de los quesos Q3. Con el tiempo estas

diferencias dejaron de ser significativas y tampoco se observó un efecto significativo del tiempo ($P>0,05$), de forma que las diferencias en color de estos quesos con respecto al control se mantuvieron similares durante la maduración. No obstante se pudo observar un aumento del ΔE de los quesos Q2 y Q3 cuando éstos tuvieron 15 días de maduración.

4.4.1.5. Evaluación de la textura

En la Tabla 28 se describen los resultados de la evaluación de la textura durante la maduración de los quesos. Independientemente de la dieta, el tiempo de maduración influyó significativamente sobre la textura de los quesos. Este efecto también ha sido descrito por otros autores para quesos de oveja (Pavia *et al.*, 1999a; González-Viñas *et al.*, 2001; Juan *et al.*, 2007b).

Tabla 28. Evolución de los parámetros de textura (media \pm d.e) durante la maduración de los quesos correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa

	Días de maduración			
	1	15	30	60
<i>†</i> Fracturabilidad (σ_f)				
Control	3,96 \pm 0,64	8,38 \pm 2,75	9,20 \pm 2,02	12,68 \pm 2,29 ^{a,b}
Q1	3,93 \pm 0,65	8,09 \pm 1,80	8,82 \pm 1,37	11,42 \pm 1,99 ^b
Q2	4,18 \pm 0,87	8,10 \pm 1,44	9,47 \pm 1,60	12,62 \pm 1,91 ^{a,b}
Q3	4,05 \pm 0,62	7,87 \pm 0,68	9,14 \pm 1,58	13,40 \pm 2,32 ^a
<i>Deformabilidad (ϵ_f)</i>				
Control	0,76 \pm 0,07	0,24 \pm 0,02 ^b	0,21 \pm 0,02	0,18 \pm 0,02
Q1	0,79 \pm 0,10	0,27 \pm 0,03 ^{a,b}	0,21 \pm 0,02	0,18 \pm 0,02
Q2	0,75 \pm 0,04	0,31 \pm 0,05 ^a	0,22 \pm 0,01	0,19 \pm 0,02
Q3	0,76 \pm 0,07	0,26 \pm 0,02 ^{a,b}	0,22 \pm 0,01	0,19 \pm 0,02

Control = 0% alcachofa; Q1 = 10% alcachofa; Q2 = 20% alcachofa; Q3 = 30% alcachofa

^{a,b} Medias dentro de la misma columna y parámetro con diferente superíndice difieren estadísticamente ($P<0,05$) [†]($\times 10$ kPa)

Los valores de fracturabilidad (σ_f) de los quesos aumentaron conforme avanzó la maduración mientras que el grado de deformabilidad (ϵ_f) disminuyó. De acuerdo a las correlaciones de Pearson calculadas entre los parámetros de textura y composición de los quesos, se observó

que las propiedades de fracturabilidad y deformación se relacionaron significativamente ($P < 0,0001$) con el contenido de ES y los parámetros de proteolisis (NS y AA). La fuerza necesaria para fracturar el queso mostró una correlación positiva con el contenido de sólidos, de forma que el valor de fracturabilidad del queso Q1 al final de la maduración fue más bajo en concordancia con el menor contenido de ES de este queso. La influencia de la humedad sobre la textura del queso también ha sido descrita por Watkinson *et al.* (2001) quienes encontraron que una variación de un 2% en el contenido de agua influye perceptiblemente sobre la textura del mismo. Debido a que las diferencias en composición (Tabla 25) no resultaron significativas tampoco lo fueron las diferencias en textura de los quesos experimentales con respecto al control, a pesar del mayor grado de proteolisis de los primeros. Gaya *et al.* (1990) al evaluar la textura de quesos Manchego durante la maduración, también observaron que el efecto de la humedad sobre los parámetros de textura prevaleció sobre el de la proteolisis. De igual forma Pirisi *et al.* (2007) al evaluar el uso de un cuajo tradicional en comparación a otro industrial para la elaboración de quesos de oveja (Fiore Sardo), observaron una mayor actividad proteolítica del primero que no llegó a influir significativamente sobre las propiedades reológicas del queso.

De acuerdo a lo descrito por algunos autores, es posible modificar la textura de los quesos mediante cambios en la dieta de los animales. Álvarez *et al.* (2007) evaluaron la utilización de forrajes nativos de zonas áridas para la alimentación de cabras lecheras en contraste con la dieta a base de piensos que recibía el grupo control y observaron que los quesos (Majorero) correspondientes a la dieta experimental fueron mejor valorados por los catadores para los parámetros de textura, olor y sabor. La mayor solubilidad, menor firmeza y friabilidad de estos quesos fueron atribuidas a su mayor contenido de grasa. Por otra parte Jaros *et al.* (2001) evaluaron el reemplazo de granos por semillas de colza (*Brassica napus*) triturada (semillas ricas en grasa), con el fin de reducir las diferencias en textura observadas entre quesos de vaca elaborados durante el verano e invierno. Los autores observaron una menor firmeza en términos de fracturabilidad y deformabilidad en los quesos correspondientes a la dieta experimental, que fue percibida sensorialmente por los catadores. Las diferencias fueron explicadas en base a la variación en composición de la grasa ya que los parámetros de proteolisis y humedad no fueron grandemente afectados por la dieta. En cuanto a la inclusión de ensilado de alcachofa en la dieta de las ovejas, ésta no pareció afectar las propiedades de textura probablemente debido a las mínimas diferencias observadas en la composición de los quesos.

4.4.1.6. Evaluación sensorial

En relación a la evaluación sensorial de los quesos, los catadores apreciaron diferencias significativas entre dietas para el parámetro de color, intensidad de aroma, regusto e impresión global (Tabla 29). Los catadores fueron capaces de distinguir el queso con mayor diferencia de color con respecto al control asignando al Q2 el valor más alto de intensidad en la escala hedónica. El queso Q1 fue el que recibió mayor puntuación en el parámetro de impresión global, seguido del Q2 y Q3. La preferencia de los catadores por el queso Q1 se debió a la mayor valoración para los parámetros de intensidad y calidad de olor y aroma e intensidad de sabor aunque las diferencias sólo fueron significativas para la intensidad del aroma.

Tabla 29. Resultados de la valoración sensorial (media \pm d.e) de los quesos con 60 días de maduración correspondientes a las dietas control y con inclusión de ensilado de alcachofa

Atributo	Parámetro	Control	Q1	Q2	Q3
Color	Intensidad	3,52 \pm 0,91 ^b	3,41 \pm 0,92 ^b	3,90 \pm 0,98 ^a	3,57 \pm 0,97 ^b
Olor	Intensidad	3,50 \pm 0,91	3,67 \pm 0,92	3,19 \pm 0,98	3,44 \pm 1,07
	Calidad	3,13 \pm 1,07	3,51 \pm 1,03	3,24 \pm 1,21	3,28 \pm 1,25
Aroma	Intensidad	3,87 \pm 1,05 ^{a,b}	4,19 \pm 0,94 ^a	3,55 \pm 1,19 ^b	3,79 \pm 1,29 ^b
	Calidad	3,52 \pm 1,11	3,84 \pm 1,09	3,67 \pm 1,41	3,54 \pm 1,31
Sabor	Calidad	3,77 \pm 0,91	3,93 \pm 0,82	3,77 \pm 1,11	3,59 \pm 1,04
	Salado	3,78 \pm 0,73	3,77 \pm 0,80	3,78 \pm 0,71	3,83 \pm 0,78
	Ácido	3,78 \pm 0,99	3,95 \pm 1,41	3,59 \pm 1,10	4,04 \pm 1,04
	Amargo	2,94 \pm 1,28	2,86 \pm 1,01	2,74 \pm 1,03	2,92 \pm 0,90
	Picante	3,65 \pm 1,24	3,93 \pm 1,21	3,58 \pm 1,40	3,52 \pm 1,17
	Regusto	3,13 \pm 1,45 ^a	3,13 \pm 1,38 ^a	2,51 \pm 1,05 ^b	3,06 \pm 1,37 ^a
Textura	Dureza	3,43 \pm 0,93	3,55 \pm 0,89	3,77 \pm 1,26	3,59 \pm 1,03
	Elasticidad	2,99 \pm 0,91	2,93 \pm 0,94	3,17 \pm 1,27	3,30 \pm 1,23
	Friabilidad	4,37 \pm 0,97	4,40 \pm 0,94	4,29 \pm 1,07	4,18 \pm 1,06
Impresión Global		2,94 \pm 0,96 ^c	3,53 \pm 1,04 ^a	3,35 \pm 1,02 ^{a,b}	3,07 \pm 0,99 ^{b,c}

^{a,b,c} Medias dentro de la misma fila con diferente superíndice difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

Los parámetros sensoriales de quesos Manchego son diferentes cuando éstos son elaborados a partir de leche cruda o pasteurizada (Ballesteros *et al.*, 2006) e incluso cuando son elaborados de forma artesanal y en diferentes queserías (Cabezas *et al.*, 2007). No obstante estos quesos tienen una descripción sensorial específica de acuerdo a lo establecido por su denominación de origen. Así el queso Manchego se describe como un queso de color blanco o marfil amarillento, de olor láctico acidificado persistente y que puede ser picante, de sabor ligeramente ácido y fuerte con un gusto residual agradable típico de la leche de oveja y poco elástico (Anónimo, 1995). Los quesos tipo Manchego elaborados en este trabajo fueron valorados de acuerdo a estas características sensoriales, siendo el queso Q1 el que presentó un sabor ligeramente más picante y con mayor regusto en comparación a los quesos experimentales y algo más ácido con respecto al control.

Las diferencias sensoriales con respecto al control pudieron deberse a las diferencias en proteolisis y lipolisis de los quesos durante la maduración. Algunos autores han descrito la influencia de la proteolisis sobre las características sensoriales de los quesos (Mendia *et al.*, 2000; Poveda *et al.*, 2003) ya que de este proceso se producen aminoácidos que actúan como precursores de reacciones catabólicas (McSweeney, 2004). En relación a la dieta se ha observado que la presencia de pastos de distintas especies botánicas en un mismo valle de pastoreo, puede influir sobre las características sensoriales de los quesos (Buchin *et al.*, 1999; Bugaud *et al.*, 2002). Estos autores concluyeron que algunos compuestos presentes en los pastos pueden pasar directamente de la leche al queso y contribuir indirectamente con las diferencias en aroma inhibiendo la formación de otros compuestos aromáticos. La inclusión de ensilado de alcachofa influyó sobre algunas características sensoriales de los quesos probablemente debido al paso de compuestos de la dieta a la leche y luego al queso. Rodríguez *et al.* (2006) realizaron una evaluación sensorial de la cuajada (leche coagulada enzimáticamente) obtenida con las leches correspondientes a las dietas con alcachofa ensilada y observaron que los catadores fueron capaces de diferenciar la cuajada proveniente de la dieta con 30% de alcachofa, a la cual describieron como de sabor más suave y textura más cremosa en comparación a la cuajada control.

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

- I. La leche de oveja de raza Guirra y Manchega presentan una composición y aptitud quesera comparables. Las dos razas proveen leche con una buena aptitud tecnológica y permiten la obtención de quesos madurados con características de calidad similares. Las leches de ambas razas presentan tiempos de coagulación cortos, geles firmes y elevados rendimientos queseros (a nivel laboratorio y planta piloto). Sin embargo, cuando las variables estudiadas se reducen mediante un análisis de componentes principales, los nuevos parámetros obtenidos muestran que las características proteicas y tecnológicas de la leche de oveja Guirra son superiores a las observadas en la raza Manchega, aunque este hecho no incrementa necesariamente el rendimiento quesero.

- II. El factor que más influye sobre la composición y los parámetros tecnológicos de las leches individuales es el periodo de lactación, seguido por el número de partos. Este último afecta principalmente los macro componentes de la leche y por lo tanto sobre el rendimiento quesero. En relación al periodo de lactación, se observa que el incremento de grasa y proteína en la leche durante el avance de la lactación dificulta la formación del gel enzimático. Este efecto está reflejado parcialmente por las correlaciones negativas entre estos componentes de la leche y los parámetros de velocidad de agregación y firmeza del gel y por la disminución de estos últimos durante la lactación. Sin embargo, la composición general de la leche no logra explicar en su totalidad los resultados observados, que podrían estar relacionados con otros parámetros como las características de las micelas, la composición de la caseína o la proporción del contenido de calcio y fósforo.

- III. La inclusión de cítricos enteros en la dieta de ovejas lactantes no influye significativamente sobre la microbiota de la leche cruda, aunque se distingue la tendencia a un incremento del recuento de los principales grupos microbiológicos estudiados al incluir el cítrico en la dieta.

- IV. De acuerdo con la composición de la leche de tanque evaluada en este estudio, la inclusión de 30% de cítrico de destrío en la dieta de las ovejas lactantes (leche L3), provocó una reducción del contenido de grasa y extracto seco en ~15 y 5%

respectivamente, en comparación con la leche proveniente de ovejas sin cítricos de destrío en la dieta. Este efecto se refleja también en el menor contenido de grasa y extracto seco de los quesos correspondientes a la dieta con 30% de cítrico con respecto al queso control. Sin embargo, las leches experimentales presentan características de coagulación similares al control, posiblemente debido a que no se diferencian en sus valores de pH y contenido de proteína y caseína.

- V. El empleo de cítrico de destrío en la dieta de las ovejas no influye sobre la proteólisis de los quesos medida por los parámetros de nitrógeno soluble y aminoácidos libres. Tampoco modifica el perfil general de ácidos grasos libres ya que los quesos presentan unas proporciones similares de ácidos grasos libres de cadena corta, media y larga con respecto al total.
- VI. La incorporación de alcachofa ensilada en la dieta no afecta la composición de la leche ni los parámetros de coagulación y rendimiento evaluados, aunque es posible observar una tendencia no significativa de los geles enzimáticos producidos a partir de la leche experimental a presentar valores de firmeza y velocidad de agregación más bajos conforme aumenta la inclusión de alcachofa en la ración de las ovejas. Por otro lado, la inclusión de este subproducto en la dieta disminuye el contenido de grasa de los quesos, especialmente en aquellos correspondientes al 30% de incorporación de alcachofa en la dieta.
- VII. El empleo de alcachofa ensilada en la dieta no modifica los procesos proteolíticos de los quesos (determinado por el contenido de nitrógeno soluble) pero sí afecta la producción de aminoácidos libres, siendo mayor en los quesos experimentales con respecto al control sin presentar una tendencia a aumentar conforme aumenta el contenido de alcachofa en la dieta. Por otro lado la inclusión de alcachofa ensilada (a niveles de 20 y 30%) en la ración reduce el contenido de ácidos grasos libres de cadena corta y media que resulta en un menor contenido total de ácidos grasos libres de los quesos experimentales con 60 días de maduración con respecto al control.
- VIII. La inclusión de cítrico entero y alcachofa ensilada en la dieta tiene un efecto significativo sobre el color (medido instrumentalmente) de la leche y del queso madurado, que incluso llega a ser percibido por los catadores (para el caso de las dietas

con alcachofa). La dieta no modifica la textura ni tampoco afecta negativamente la valoración sensorial de los quesos, que por el contrario reciben puntuaciones en impresión global ligeramente superiores a los quesos control.

BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Aganga, A.A., Amarteifio, J.O. y Nkile, N. 2002. Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat's milk. *Journal of Food Composition and Analysis* 15, 533-543.
2. Alais, Ch. 1985. Ciencias de la leche. 4ª Edición. Reverté, Barcelona. pp: 873.
3. Albenzio, M., Marino, R., Caroprese, M., Santillo, A., Annicchiarico, G. y Sevi, A. 2004. Quality of milk and of Canestrato Pugliese cheese from ewes exposed to different ventilation regimens. *Journal of Dairy Research* 71, 434-443.
4. Albenzio, M., Antonella, S., Caroprese, M., Marino, R., Annicchiarico, G. y Sevi, A. 2007. Effects of ventilation rate and of dietary protein level in an intensive dairy sheep system on the features of Canestrato Pugliese cheese. *Journal of Dairy Research* 74, 26-33.
5. Alichanidis, E. y Polychroniadon, A. 1996. Special features of dairy products from ewe and goat milk from the physiochemical and organoleptic point of view. En: Production and utilization of ewe and goat milk. Ed. International Dairy Federation, Bruselas. pp: 21-43.
6. Álvarez, S., Fresno, M., Méndez, P., Castro, N., Fernández, J.R. y Sampelayo, M.R.S. 2007. Alternatives for improving physical, chemical, and sensory characteristics of goat cheeses: the use of arid-land forages in the diet. *Journal of Dairy Science* 90, 2181-2188.
7. Amigo, L., Recio, I. y Ramos, M. 2000. Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on technological properties of milk. A review. *International Dairy Journal* 10, 135-149.
8. Anifantakis, E.M. 1986. Comparison of the physico-chemical properties of ewe's and cow's milk. *International Dairy Federation. Bulletin* No. 202, 42-53.
9. Anónimo. 1995. Orden del 23 de noviembre de 1995 por la que se ratifica el Reglamento de la Denominación de Origen Queso Manchego y de su Consejo Regulador. BOE, 295, 35548-35556.
10. Anónimo. 2004. Orden APA/3234/2004 del 30 de septiembre, por la que se aprueba la Reglamentación específica del libro genealógico de la raza ovina Manchega. BOE, 244, 33948-33952.
11. Antongiovanni, M., Secchiari, P., Mele, M., Buccioni, A., Serra, A., Ferruzzi, G., Rapaccini, S. y Pistoia, A., 2002. Olive oil calcium soaps and rumen protected methionine in the diet of lactating ewes: effect on milk quality. *Italian Journal of Animal Science* 1, 55-63.
12. Assenat, L. 1991. La leche de oveja. En: Leche y productos lácteos. Editor: Luquet, F.M. Acibia S.A., Zaragoza. pp: 277-311.

13. Auldist, M.J., Johnston, K.A., White, N.J., Fitzsimons, W.P. y Boland, M.J. 2004. A comparison of the composition, coagulation characteristics and cheesemaking capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows. *Journal of Dairy Research* 71, 51-57.
14. Ballesteros, C., Poveda, J.M., González-Viñas, M.A. y Cabezas, L. 2006. Microbiological, biochemical and sensory characteristics of artisanal and industrial Manchego cheeses. *Food Control* 17, 249-255.
15. Bampidis, V. A. and P. H. Robinson. 2006. Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology* 128, 175-217.
16. Barrón, L.J.R., Fernández de Labastida, E., Perea, S., Chavarri, F., de Vega, C., Soledad Vicente, M., Isabel Torres, M., Isabel Nájera, A., Virto, M., Santisteban, A., Pérez-Elortondo, F.J., Albisu, M., Salmerón, J., Mendía, C., Torre, P., Clemente Ibáñez, F. y De Renobales, M. 2001. Seasonal changes in the composition of bulk raw ewe's milk used for Idiazabal cheese manufacture. *International Dairy Journal* 11, 771-778.
17. Belibasakis, N.G. y Tsirgogianni, D. 1996. Effects of dried citrus pulp on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 60, 87-92.
18. Bencini, R.R. 2002. Factors affecting the clotting properties of sheep milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 705-719.
19. Berg, G., Escher, J.T.M., Koning, P.J. y Bovenhuis, H. 1992. Genetic polymorphism of *k*-casein and β -lactoglobulin in relation to milk composition and processing properties. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. 46, 145-168.
20. Bianchi, L., Casoli, C., Pauselli, M., Budelli, E., Caroli, A., Bolla, A. y Duranti, E. 2004. Effect of somatic cell count and lactation stage on sheep milk quality. *Italian Journal of Animal Science* 3, 147-156.
21. Bocquier, F. y Caja, G. 2001. Production et composition du lait de brebis: effets de l'alimentation. *INRA Productions Animales* 14, 129-140
22. Bonomi, A. y Bonomi, B. 2001. L'impiego della farina di foglie di carciofo disidratate (*Cynara scolymus* L.) nell'alimentazione dei vitelloni. *Revista di Scienza dell'Alimentazione* 30, 361-370.
23. Bonomi, A., Bonomi, B., Mazzotti, A., Quarantelli, A. y Superchi, P. 2004a. L'impiego della farina di foglie di carciofo disidratate (*Cynara scolymus* L.) nell'alimentazione delle capre da latte. *Rivista di Scienza dell'Alimentazione* 33, 159-164.
24. Bonomi, A., Bonomi, B., Mazzotti, A., Quarantelli, A. y Superchi, P. 2004b. L'impiego della farina di foglie di carciofo disidratate (*Cynara scolymus* L.) nell'alimentazione delle pecore da latte. *Rivista di Scienza dell'Alimentazione* 3, 153-158.
25. Brulé, G., Lenoir, J. y Remeuf, F. 2000. The casein micelle and milk coagulation. En: *Cheesemaking from Science to Quality Assurance*. Editores: Eck, A y Gillis, J.C. Lavoisier Publishing, Paris. pp: 7-40.

26. Buchin, S., Martin, B., Dupont, D., Bornard, A. y Achilleos, C. 1999. Influence of the composition of Alpine highland pasture on the chemical, rheological and sensory properties of cheese. *Journal of Dairy Research* 66, 579-588.
27. Buffa, M.N., Trujillo, A.J., Pavia, M. y Guamis, B. 2001. Changes in textural, microstructural, and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal* 11, 927-934.
28. Bugaud, C., Buchin, S., Noel, Y., Tessier, L., Pochet, S., Martin, B. y Chamba, J.F. 2001. Relationships between Abondance cheese texture, its composition and that of milk produced by cows grazing different types of pastures. *Lait* 81, 593-607.
29. Bugaud, C., Buchin, S., Hauwuy, A. y Coulon, J.B. 2002. Texture et flaveur du fromage selon la nature du pâturage: Cas du fromage d'Abondance. *Productions Animales* 15, 31-36.
30. Cabezas, L., González-Viñas, M., Ballesteros, C. y Martín-Álvarez, P. 2006. Application of Partial Least Squares regression to predict sensory attributes of artisanal and industrial Manchego cheeses. *European Food Research and Technology* 222, 223-228.
31. Cabezas, L., Sánchez, I., Poveda, J.M., Sesena, S. y Palop, M.L. 2007. Comparison of microflora, chemical and sensory characteristics of artisanal Manchego cheeses from two dairies. *Food Control* 18, 11-17.
32. Cabiddu, A., Addis, M., Pinna, G., Spada, S., Fiori, M., Sitzia, M., Pirisi, A., Piredda, G. y Molle, G. 2006. The inclusion of a daisy plant (*Chrysanthemum coronarium*) in dairy sheep diet. 1: Effect on milk and cheese fatty acid composition with particular reference to C18:2 cis-9, trans-11. *Livestock Science* 101, 57-67.
33. Caja, G. 1994. Valoraciones de las necesidades nutritivas y manejo de la alimentación de ovejas lecheras de Raza Manchega. En: Ganado Ovino. Raza Manchega. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. pp: 137-159.
34. Caja, G. y Bocquier, F. 2000. Effects of nutrition on the composition of sheep's milk. *Options Méditerranéennes* 52, 59-74.
35. Calvo, M.M. y Balcones, E. 1998. Influence of heat treatment on rennet clotting properties of mixtures of cow's, ewe's, and goat's milk and on cheese yield. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 2957-2962.
36. Calvo, M.M. y Espinoza, N.A. 1999. Syneresis rate of cow's, ewe's, and goat's curd. Effect of thermal treatment and ultrafiltration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 883-886.
37. Calzada, J.F. y Peleg, M. 1978. Mechanical interpretation of compressive stress strain relationships of solid foods. *Journal of Food Science* 43, 1087-1092.
38. Cannas, A., Pes, A., Mancuso, R., Vodret, B. y Nudda, A. 1998. Effect of dietary energy and protein concentration on the concentration of milk urea nitrogen in dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 81, 499-508.

39. Cappio-Borlino, A., Portolano, B., Todaro, M., Macciotta, N.P.P., Giaccone, P. y Pulina, G. 1997. Lactation curves of Valle del Belice dairy ewes for yields of milk, fat, and protein estimated with test day models. *Journal of Dairy Science* 80, 3023-3029.
40. Carlson, A. y Hill C.G. 1987a. Kinetics of milk coagulation: I. The kinetics of kappa casein hydrolysis in the presence of enzyme deactivation. *Biotechnology and Bioengineering* 29, 582-589.
41. Carlson, A. y Hill C.G. 1987b. Kinetics of milk coagulation: II. Kinetics of the secondary phase: micelle flocculation. *Biotechnology and Bioengineering* 29, 590-600.
42. Carlson, A. y Hill C.G. 1987c. Kinetics of milk coagulation: IV. The kinetics of the gel-firming process. *Biotechnology and Bioengineering* 29, 612-624.
43. Carpino, S., Horne, J., Melilli, C., Licitra, G., Barbano, D.M. y Van Soest, P.J. 2004. Contribution of native pasture to the sensory properties of Ragusano cheese. *Journal of Dairy Science* 87, 308-315.
44. Carta, A., Sanna, S.R. y Casu, S. 1995. Estimating lactation curves and seasonal effects for milk, fat and protein in Sarda dairy sheep with a test day model. *Livestock Production Science* 44, 37-44.
45. Casoli, C., Duranti, E., Morbidini, L., Panella, F. y Vizioli, V. 1989. Quantitative and compositional variations of Massese sheep milk by parity and stage of lactation. *Small Ruminant Research* 2, 47-62.
46. Cavani, C., Bianconi, L., Manfredini, M., Rizzi, L. y Zarri, M.C. 1991. Effects of a complete diet on the qualitative characteristics of ewe milk and cheese. *Small Ruminant Research* 5, 273-284.
47. Chavarri, F., Virto, M., Martín, C., Najera, A.-I., Santisteban, A., Barrón, L.-J.R. y De-Renobales, M. 1997. Determination of free fatty acids in cheese: Comparison of two analytical methods. *Journal of Dairy Research* 64, 445-452.
48. Chavarri, F., Bustamante, M.A., Santisteban, A., Virto, M., Barrón, L.J.R. y De Renobales, M. 1999. Changes in free fatty acids during ripening of Idiazabal cheese manufactured at different times of the year. *Journal of Dairy Science* 82, 885-890.
49. China, E., Martín, P., Afonso, C., Hita, P. y Hernández, E. 1999. Banana rachis silage (*Musa acuminata colla*, subgrupo Cavendish) for cattle feeding in the Canary Islands (Spain). *Revista de la Facultad de Agronomía* 16, 291-305.
50. Chiofalo, B., Liotta, L., Zumbo, A. y Chiofalo, V. 2004. Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Ruminant Research* 55, 169-176.
51. Christodoulou, V., Bampidis, V.A., Hucko, B., Ploumi, K., Iliadis, C., Robinson, P.H. y Mudrik, Z. 2005. Nutritional value of chickpeas in rations of lactating ewes and growing lambs. *Animal Feed Science and Technology* 118, 229-241.

52. Clément, P., Agboola, S.O., Bencini, R. 2006. A study of polymorphism in milk proteins from local and imported dairy sheep in Australia by capillary electrophoresis. *LWT-Food Science and Technology* 39, 63-69.
53. Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H. y Wilkinson, M.G. 2003. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. *International Dairy Journal* 13, 841-866.
54. Collins, Y. F., McSweeney, P.L.H. y Wilkinson, M.G. 2004. Lipolysis and catabolism of fatty acids in cheese. En *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 1: General Aspects. Editores: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M. y Guinee, T.P. 3ª Edición. Elsevier, Londres. pp: 373-389.
55. Colombari, G.C., Borreani, G. y Crovetto, G.M. 1999. Comparison of lucerne silage and ventilated hay in maize silage-based rations for dairy cows for the production of milk destined for Grana cheese. *Grass and Forage Science* 54, 184-194.
56. Conselleria d'Agricultura, Pesca y Alimentació. 2007a. Datos básicos del sector agrario Valenciano: Producciones cítricas por campaña. Disponible en: <http://www.agricultura.gva.es>.
57. Conselleria d'Agricultura, Pesca y Alimentació. 2007b. Datos básicos del sector agrario Valenciano: Principales producciones agrícolas. Disponible en: <http://www.agricultura.gva.es>.
58. Coppola, R., Nanni, M., Iorizzo, M., Sorrentino, A., Sorrentino, E., Chiavari, C. y Grazia, L. 2000. Microbiological characteristics of Parmigiano Reggiano cheese during the cheesemaking and the first months of ripening. *Lait* 80, 479-490.
59. Corzo, N., Villamiel, M., Arias, M., Jiménez-Pérez, S. y Morales, F.J. 2000. The Maillard reaction during the ripening of Manchego cheese. *Food Chemistry* 71, 255-258.
60. Coulon, J.J.B., Verdier, I.I., Pradel, P.P. y Almendra, M.M. 1998. Effect of lactation stage on the cheesemaking properties of milk and the quality of Saint-Nectaire-type cheese. *Journal of Dairy Research* 65, 295-305.
61. Coulon, J. y Priolo, A. 2002. La qualité sensorielle des produits laitiers et de la viande dépend des fourrages consommés par les animaux. *INRA Productions Animales* 15, 333-342.
62. Coulon, J.B., Delacroix-Buchet, A., Martin, B. y Pirisi, A. 2004. Relationships between ruminant management and sensory characteristics of cheeses: A review *Lait*. 84, 221-241.
63. Courtin, P., Nardi, M., Wegmann, U., Joutsjoki, V., Ogier, J.C., Gripon, J.C., Palva, A., Henrich, B. y Monnet, V. 2002. Accelerating cheese proteolysis by enriching *Lactococcus lactis* proteolytic system with lactobacilli peptidases. *International Dairy Journal* 12, 447-454.
64. Dagleish, D.G., Spagnuolo, P.A. y Goff, H.D. 2004. A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. *International Dairy Journal* 14, 1025-1031.

65. De La Fuente, M.A., Fontecha, J. y Juárez, M. 1993. Fatty acid composition of the triglyceride and free fatty acid fractions in different cows-, ewes- and goats-milk cheeses. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 196, 155-158.
66. De La Fuente, L.F., Primitivo, F.S., Fuertes, J.A. y Gonzalo, C. 1997. Daily and between-milking variations and repeatabilities in milk yield, somatic cell count, fat, and protein of dairy ewes. *Small Ruminant Research* 24, 133-139.
67. De-Jong, C. y Badings, H. 1990. Determination of free fatty acids in milk and cheese. Procedures for extraction clean up and capillary gas chromatographic analysis. *Journal of High Resolution Chromatography* 13, 94-98.
68. Delacroix-Buchet, A., Barillet, F. y Lagriffoul, G. 1994. Characterization of cheesemaking properties of Lacaune ewe milk samples with a Formagraph. *Lait* 74, 173-186.
69. Denek, N. y Can, A. 2006. Feeding value of wet tomato pomace ensiled with wheat straw and wheat grain for Awassi sheep. *Small Ruminant Research* 65, 260-265.
70. Driessen F.M. 1989. Inactivation of lipases and proteinases (indigenous and bacterial). Heat-induced Changes in Milk. *International Dairy Federation*. Bulletin No. 238,71– 93.
71. Duranti, E. y Casoli, C. 1991. Differences in nitrogen composition and lactodynamographic values of ewe's milk in relation to somatic cell content. *Zootecnica e Nutrizione Animale* 17, 99-105.
72. El Soda, M. 1997. Control and enhancement of flavour in cheese. En: *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*. Editor: Law, B. Blackie Academic and Professional, London. pp: 219-246.
73. Etayo, I., Pérez Elortondo, F., Gila P.F., Albisu, M., Virto, M., Conde, S., Barrón, L.J., Nájera, A.I., Gómez-Hidalgo M.E., Delgado, C., Guerra, A. y De Renobales, M. 2006. Hygienic quality, lipolysis and sensory properties of Spanish Protected Designation of Origin ewe's milk cheeses manufactured with lamb rennet paste. *Lait* 86, 415-434
74. European Council Directive 92/46/EEC del 16 de Junio. 1992. Laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat treated milk and milk based products.
75. EUROSTAT, 2006. Milk and milk products balance sheet. Disponible en: <http://epp.eurostat.ec.europa.eu>.
76. Fallico, V., Chianese, L., Carpino, S. y Licitra, G. 2006. Preliminary evaluation of the influence of pasture feeding on proteolysis of Ragusano cheese. *Journal of Food Technology* 4, 128-134.
77. FAOSTAT. 2006. World milk production. Disponible en <http://faostat.org>.
78. Fegeros, K., Zervas, G., Stamouli, S. y Apostolaki, E. 1995b. Nutritive value of dried citrus pulp and its effect on milk yield and milk composition of lactating ewes. *Journal of Dairy Science* 78, 1116-1121.

79. Fekadu, B., Soryal, K., Zeng, S., Hekken, D.V., Bah, B. y Villaquiran, M. 2005. Changes in goat milk composition during lactation and their effect on yield and quality of hard and semi-hard cheeses. *Small Ruminant Research* 59, 55-63.
80. Ferlay, A., Martin, B., Pradel, P., Coulon, J.B. y Chilliard, Y. 2006. Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in Tarentaise and Montbeliarde cow breeds. *Journal of Dairy Science* 89, 4026-4041.
81. Fernández-García, E., López-Fandino, R. y Alonso, L. 1994. Effect of a food-grade enzyme preparation from *Aspergillus oryzae* on free fatty acid release in Manchego-type cheese from ovine and bovine milk. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 199, 262-264.
82. Fernández-García, E., Tomillo, J. y Núñez, M. 2000. Formation of biogenic amines in raw milk Hispanico cheese manufactured with proteinases and different levels of starter culture. *Journal of Food Protection* 63, 1551-1555.
83. Fernández-García, E., Carbonell, M. y Núñez, M. 2002a. Volatile fraction and sensory characteristics of Manchego cheese. 1. Comparison of raw and pasteurized milk cheese. *Journal of Dairy Research* 69, 579-593.
84. Fernández-García, E. y Serrano, C. 2002b. Volatile fraction and sensory characteristics of Manchego cheese. 2. Seasonal variation. *Journal of Dairy Research* 69, 595-604.
85. Fernández-García, E., Carbonell, M., Gaya, P. y Núñez, M. 2004. Evolution of the volatile components of ewes raw milk Zamorano cheese. Seasonal variation. *International Dairy Journal* 14, 701-711.
86. Fernández-García, E., Carbonell, M., Calzada, J. y Núñez, M. 2006. Seasonal variation of the free fatty acids contents of Spanish ovine milk cheeses protected by a designation of origin: A comparative study. *International Dairy Journal* 16, 252-261.
87. Ferrazza, R.E., Fresno, J.M., Ribeiro, J.I., Tornadijo, M.E. y Furtado, M.M. 2004. Changes in the microbial flora of Zamorano cheese (P.D.O.) by accelerated ripening process. *Food Research International* 37, 149-155.
88. Folkertsma, B.B. y Fox, B.P. 1992. Use of the cd-ninhydrin reagent to assess proteolysis in cheese during ripening. *Journal of Dairy Research* 59, 217-224.
89. Fox, P.F., Lucey, J.A. y Cogan, T.M. 1990. Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 29, 237-253.
90. Fox, P.F. y McSweeney, P.L.H. 1997. Rennets: their role in milk coagulation and cheese ripening. En: *Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk*, Editor Law B.A. Blackie Academic & Professional, London, UK. pp: 1-49.
91. Fox, P.F. y McSweeney, P.L. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic & Professional, Londres. pp: 478.

92. Fox, P.F. 2000. Microbiology of Cheese Ripening. En: Fundamentals of Cheese Science. Editores: Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M. y McSweeney, P.L. Aspen Publishers, Gaithersburg. pp: 206-232.
93. Fox, P.F. 2002. Cheese: Overview. En: Encyclopedia of Dairy Sciences. Editores: Roginski, H., Fuquay, J.W. y Fox, P.F. Academia Press, London. pp: 252-268.
94. Fox, P.F. y Kelly, A.L. 2006. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects. Part 1. *International Dairy Journal* 16, 500-516.
95. Frau, M., Simal, S., Femenia, A., Sanjuan, E. y Rossello, C. 1999. Use of principal component analysis to evaluate the physical properties of Mahon cheese. *European Food Research and Technology* 210, 73-76.
96. Fuertes, J. A., C. Gonzalo, J. A. Carriedo, and F. San Primitivo. 1998. Parameters of Test Day Milk Yield and Milk Components for Dairy Ewes. *Journal of Dairy Science* 81, 1300-1307.
97. Gallego, L. y Molina, A. 1994. Estado corporal y producción. En: Ganado ovino. Raza Manchega. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. pp: 161-171.
98. Galvano, G. y Scerra, V. 1983. The use of bracts of artichoke (*Cynara scolymus* L.) in the feeding of cattle. *World Review of Animal Production* 19, 41-46.
99. Garde, S., Ávila, M., Gaya, P., Medina, M. y Núñez, M. 2006. Proteolysis of Hispánico cheese manufactured using lacticin 481-producing *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* INIA 639. *Journal of Dairy Science* 89, 840-849.
100. Gasa, J., Castrillo, C., Baucells, M.D. y Guada, J.A. 1989. By-products from the canning industry as feedstuff for ruminants: Digestibility and its prediction from chemical composition and laboratory bioassays. *Animal Feed Science and Technology* 25, 67-77.
101. Gaya, P., Medina, M., Rodríguez-Marín, M.A. y Núñez, M. 1990. Accelerated ripening of ewes' milk Manchego cheese: The Effect of elevated ripening temperatures. *Journal of Dairy Science* 73, 26-32.
102. Gaya, P., Fernández-García, E., Medina, M. y Núñez, M. 2003. Seasonal variation in microbiological, chemical, textural and sensory characteristics during ripening of raw ewes' milk Castellano cheese. *Milchwissenschaft* 58, 376-379.
103. Gaya, P., Sánchez, C., Núñez, M. y Fernández-García, E. 2005. Proteolysis during ripening of Manchego cheese made from raw or pasteurized ewes' milk. Seasonal variation. *Journal of Dairy Research* 72, 287-295.
104. Gohl, B. 1973. Citrus by-products for animal feed. *World Animal Review* 6, 24-27.
105. González-Viñas, M.A., Poveda, J., Ruiz, A.G. y Cabezas, L. 2001. Changes in chemical, sensory and rheological characteristics of Manchego cheeses during ripening. *Journal of Sensory Studies* 16, 361-371.

106. Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Blanco, M.A., Benítez, E., Juárez, M.T., De La Fuente, L.F. y Primitivo, F.S. 2005. Factors of variation influencing bulk tank somatic cell count in dairy sheep. *Journal of Dairy Science* 88, 969-974.
107. Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Benítez, E., Juárez, M.T., De La Fuente, L.F. y San Primitivo, F. 2006. Short Communication: Bulk tank total bacterial count in dairy sheep: Factors of variation and relationship with somatic cell count. *Journal of Dairy Science* 89, 549-552.
108. Grappin, R. y Beuvier, E. 1997. Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. *International Dairy Journal* 7, 751-761.
109. Guamis, B., Trujillo, A.J., Ferragut, V., Chiralt, A., Andres, A. y Fito, P. 1997. Ripening control of Manchego type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal* 7, 185-192.
110. Hadjipanayiotou, M., Koumas, A., Hadjigavriel, G., Antoniou, I., Photiou, A. y Theodoridou, M. 1996. Feeding dairy ewes and goats and growing lambs and kids mixtures of protein supplements. *Small Ruminant Research* 21, 203-211.
111. Hadjipanayiotou, M. 1999. Feeding ensiled crude olive cake to lactating Chios ewes, Damascus goats and Friesian cows. *Livestock Production Science* 59, 61-66.
112. Haenlein, G.F.W. 1996. Nutritional value of dairy products of ewe and goat milk. En: Production and utilization of ewe and goat milk. IDF National Comités. Bruselas. pp: 159-178
113. Haenlein, G.F.W. y W.L. Wendorff. 2006. Sheep milk: production and utilization. En: Handbook of Milks of Non-bovine Mammals, Park, Y. y Haenlein, G.F.W. Blackwell Publishers. pp: 137-194.
114. Hernández Ruipérez, F., Pulgar Gutiérrez, M.A., Cid Díaz, J.M., Moreno Ríos, R. y Ocio Trueba, E. 1992. Nutritive value of residues of the artichoke (*Cynara scolymus*) crop: sun-dried leaves and whole-plant silage. *Archivos de Zootecnia* 41, 257-264.
115. Horne, D.S. 2006. Casein micelle structure: models and muddles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 11, 148-153.
116. Hurley, M.J., Larsen, L.B., Kelly, A.L. y McSweeney, P.L.H. 2000. The milk acid proteinase cathepsin D: A review. *International Dairy Journal* 10, 673-681.
117. International Dairy Federation. 1982. Cheese and processed cheese. Determination of the total solids content. Standard 4A. International Dairy Federation. Brussels, Belgium.
118. International Dairy Federation. 1991. Milk and milk products. Enumeration of microorganisms. Colony count technique at 30 °C. Standard 100B. International Dairy Federation. Brussels, Belgium.
119. International Dairy Federation. 1993. Milk determination of the total nitrogen content. Standard 20B. International Dairy Federation. Brussels, Belgium.

120. International Dairy Federation. 2002. Milk and milk products. Determination of the nitrogen content. Routine method using combustion according to the Dumas principle. Standard 185. International Dairy Federation. Brusells, Belgium.
121. International Organization for Standarization. 1975. Cheese –Determination of fat content- Van Gulic method. International Organization for Standarization. Standard 3433. International Organization for Standarization. Leusden, Netherlands.
122. International Organization for Standarization. 1996. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Part 1: Detection method. ISO 11290-1. International Organization for Standarization. Geneva, Switzerland.
123. International Organization for Standarization. 2002. Horizontal method for the detection *Salmonella* spp. Detection method. ISO 11290-1. International Organization for Standarization. Geneva, Switzerland.
124. Ikonen, T., Ojala, M. y Syväoja, E.L. 1997. Effects of composite casein and β -lactoglobulin genotypes on renneting properties and composition of bovine milk by assuming an animal model. *Agricultural and Food Science in Finland* 6, 283-294.
125. Ikonen, T., Morri, S., Tyrisevä, A.M., Ruottinen, O. y Ojala, M. 2004. Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content, and ph of milk. *Journal of Dairy Science* 87, 458-467.
126. INRA, 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Ouvrage collectif dirigé par R. Jarrige. INRA. Paris, 471 pp.
127. Irigoyen, A., Izco, J.M., Ibáñez, F.C. y Torre, P. 2001. Influence of rennet milk-clotting activity on the proteolytic and sensory characteristics of an ovine cheese. *Food Chemistry* 72, 137-144.
128. Irigoyen, A., Izco, J.M., Ibáñez, F.C. y Torre, P. 2002. Influence of calf or lamb rennet on the physicochemical, proteolytic, and sensory characteristics of an ewe's-milk cheese. *International Dairy Journal* 12, 27-34.
129. Jaeggi, J.J., Govindasamy-Lucey, S., Berger, Y.M., Johnson, M.E., McKusick, B.C., Thomas, D.L. y Wendorff, W.L. 2003. Hard ewe's milk cheese manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts. *Journal of Dairy Science* 86, 3082-3089.
130. Jaeggi, J.J., Wendorff, W.L., Romero, J., Berger, Y.M. y Johnson, M.E. 2005. Impact of seasonal changes in ovine milk on composition and yield of a hard-pressed cheese. *Journal of Dairy Science* 88, 1358-1363.
131. Jaros, D., Ginzinger, W., Tschager, E., Leitgeb, R. y Rohm, H. 2001. Application of oilseed feeding to reduce firmness of hard cheeses produced in the winter feeding period. *International Dairy Journal* 11, 611-619.
132. Juan, B., Ferragut, V., Buffa, M., Guamis, B. y Trujillo, A.J. 2007a. Effects of high pressure on proteolytic enzymes in cheese: Relationship with the proteolysis of ewe milk cheese. *Journal of Dairy Science* 90, 2113-2125.

-
133. Juan, B., Trujillo, A.J., Guamis, V., Buffa, M. y Ferragut, V. 2007b. Rheological, textural and sensory characteristics of high-pressure treated semi-hard ewes' milk cheese. *International Dairy Journal* 17, 248-254.
134. Kato, M., Ikoma, Y., Matsumoto, H., Sugiura, M., Hyodo, H. y Yano, M. 2004. Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiology* 134, 824-837.
135. Knight, T.W. y Gosling, L.S. 1995. Effects of milking frequency and machine-stripping on the yield and composition of milk from Poll Dorset ewes. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 38, 123-130.
136. Kreuzer, M., Von-Siebenthal, A.-M., Kaufmann, A., Ratzer, H., Jakob, E. y Sutter, F. 1996. Determination of the relative efficacy to enhance milk renneting properties of alterations in dietary energy, breed and stage of lactation. *Milchwissenschaft* 51, 633-637.
137. Kuchroo, C.N. y Fox, P.F. 1982. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft* 37, 331-335.
138. Lana, M.P. y Lasarte, J.M. 1998. Influencia de la raza en producción y calidad de leche. *Producción Ovina y Caprina* 167-170.
139. Lavín, P., Mantecon, A.R. y Giraldez, F.J. 2001. Sistemas de pastoreo y utilización del territorio. *OVIS* 11-27.
140. Leto, G., Todaro, M., Di noto, A.M. y Alicata, M.L. 2002. Comparison of Sulla-hay and Sulla-silage in the lactating ewes and their effects on milk and cheese characteristics. *Small Ruminant Research* 45, 301-306.
141. Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N. y Vafopoulou-Mastrojiannaki, A. 1993. Effect of the type of lactic starter on microbiological, chemical and sensory characteristics of Feta cheese. *Food Microbiology* 10, 31-41.
142. López-Gálvez, G. 1993. Estudio del polimorfismo de las proteínas de leche de oveja de las razas Manchega y Segureña. Aptitud a la coagulación y rendimiento quesero. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. Madrid, España
143. López-Fandino, R. y Olano, A. 1999. Review: Selected indicators of the quality of thermal processed milk. *Food Science and Technology International* 5, 121-137.
144. López, C., Maillard, M.B., Briard-Bion, V., Camier, B. y Hannon, J.A. 2006. Lipolysis during ripening of Emmental cheese considering organization of fat and preferential localization of bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 5855-5867.
145. Macciotta, N.P.P., Vicario, D., Di Mauro, C. y Cappio-Borlino, A. 2004. A Multivariate approach to modelling shapes of individual lactation curves in cattle. *Journal of Dairy Science* 87, 1092-1098.

146. Mallatou, H., Pappa, E. y Massouras, T. 2003. Changes in free fatty acids during ripening of Teleme cheese made with ewes', goats', cows' or a mixture of ewes' and goats' milk. *International Dairy Journal* 13, 211-219.
147. Manfredini, M., Tassinari, M. y Zarri, M.C. 1992. Physicochemical characteristics, somatic cell count and coagulation properties of milk from individual ewes from Emilia Romagna. *Scienza e tecnica lattiero-casearia* 43, 113-126.
148. María, G. y Gabiña, D. 1993. Non-genetic effects on milk production of Latxa ewes. *Small Ruminant Research* 12, 61-67.
149. Marsico, G., Ragni, M., Vicenti, A., Jambrenghi, A.C., Tateo, A., Giannico, F. y Vonghia, G. 2005. The quality of meat from lambs and kids reared on feeds based on artichoke (*Cynara scolymus* L.) bracts. *Acta-Horticulturae*. En : IV International Congress on Artichoke. pp. 489-494.
150. Martin, B. y Coulon, J. 1995. Facteurs de production du lait et caractéristiques des fromages. II. Influence des caractéristiques des laits de troupeaux et des pratiques fromagères sur les caractéristiques du reblochon de Savoie fermier. *Lait* 75, 133-149.
151. Martínez, A. y Medina., M. 1982. Contribución al estudio de los subproductos de la industria conservera de Murcia en la alimentación animal. *Archivos de zootecnia* 32, 155-165.
152. Martínez-Teruel, A., J., Madrid Sánchez, M.D., Megías Rivas, J.A., Gallego Barrera, Yañez, A.R. and Ruipérez, F.H. 1998. Uso de forrajes y subproductos en las explotaciones de vacuno de leche de la región de Murcia. *Archivos de Zootecnia* 44, 33-42.
153. Masucci, F., Francia, A.D., Romano, R., Serracapriola, M.T.M.D., Lambiase, G., Varricchio, M.L. y Proto, V. 2006. Effect of *Lupinus albus* as protein supplement on yield, constituents, clotting properties and fatty acid composition in ewes' milk. *Small Ruminant Research* 65, 251-259.
154. McMahon, D.J. y McManus, R. 1998. Rethinking casein micelle structure using electron microscopy. *Journal of Dairy Science* 81, 2985-2993.
155. McSweeney, P.L.H y Fox, P.F. 1997. Chemical methods for the characterisation of proteolysis in cheese during ripening. *Lait* 77, 41-76
156. McSweeney, P.L.H. y Sousa, M.J. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait* 80, 293-324.
157. McSweeney, P.L.H. 2004. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology* 57, 127-144.
158. Medina, M.L., Tornadijo, M.E., Carballo, J. y Martín-Sarmiento, R. 1995. Microbiological study of León raw cow-milk cheese, a Spanish craft variety. *Journal of Food Protection* 57, 998-1006.

159. Megías-Rivas, M.D., Teruel, A.M. y Barrera, J.A.G. 1991. Estudio de la evolución de los componentes nutritivos en ensilado de subproducto de alcachofa. En: XXXI Reunión Científica de la Sociedad Española de Pastos. Pastoralismo en zonas áridas mediterráneas. Pp: 423-426, Murcia.
160. Mendia, C., Ibáñez, F.C., Torre, P. y Barcina, Y. 2000. Influence of the season on proteolysis and sensory characteristics of Idiazabal cheese. *Journal of Dairy Science* 83, 1899-1904.
161. Meneses, M., Megías, M.D., Madrid, J., Martínez-Teruel, A., Hernández, F. y Oliva, J. 2007. Evaluation of the phytosanitary, fermentative and nutritive characteristics of the silage made from crude artichoke (*Cynara scolymus L.*) by-product feeding for ruminants. *Small Ruminant Research* 70, 292-296.
162. Micari, P., Caridi, A., Colacino, T., Caparra, P. y Cufari, A. 2002. Physicochemical, microbiological and coagulating properties of ewe's milk produced on the Calabrian Mount Poro plateau. *International Journal of Dairy Technology* 55, 204-210.
163. Milis, C., Liamadis, D., Roubies, N., Christodoulou, V. y Giouseljiannis, A. 2005. Comparison of corn gluten products and a soybean-bran mixture as sources of protein for lactating Chios ewes. *Small Ruminant Research* 58, 237-244.
164. Mistry, V.V. 2006. Chymosin in cheese making. En: Food Biochemistry and Food Processing. Editor: Hui, Y.H. Balckwell Publishing, Iowa. pp: 241-252.
165. Moio, L., Rillo, L., Ledda, A. y Addeo, F. 1996. Odorous constituents of ovine milk in relationship to diet. *Journal of Dairy Science* 79, 1322-1331.
166. Molimard, P. y Spinnler, H.E. 1996. Compounds involved in the flavour of surface mold-ripened cheeses: origins and properties. *Journal of Dairy Science* 79, 169-184.
167. Morais, J. 2004. Estudio de adecuación de cepas lácticas autóctonas aisladas de leche cruda de oveja Guirra para la elaboración de queso. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Veterinaria. Barcelona, España.
168. Muñoz, N., Ortigosa, M., Torre, P. y Izco, J.M. 2003. Free amino acids and volatile compounds in a ewe's milk cheese as affected by seasonal and cheese-making plant variations. *Food Chemistry* 83, 329-338.
169. Ng Kwai Hang, K.F., Politis, I., Cue, R.I. y Marziali, A.S. 1989. Correlations between coagulation properties of milk and cheese yielding capacity and cheese composition. *Canadian Institute of Food Science and Technology journal* 22, 291-294.
170. Ngu, I. y Ledin, I. 2005. Effects of feeding wastes from Brassica species on growth of goats and pesticide/insecticide residues in goat meat. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences* 18, 197-202.
171. Niuatta, P.P., Mordaci, R., DE Majo, M., Pugliese, M. y De Domenico, A. 2005. Pstazzo di limone depectinizzato (PLD) non essiccato nell'alimentazione degli ovini: risultati preliminari. En: Proceedings XIII International Congress of Mediterranean Federation for Ruminant Health and Production (*Fe. Me. S. P. Rum*). Valenzano, pp. 1-6.

172. Nozière, P., Graulet, B., Lucas, A., Martin, B., Grolier, P. y Doreau, M. 2006. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology* 131, 418-450.
173. Ortigosa, M., Bárcenas, P., Arizcun, C., Pérez-Elortondo, F., Albisu, M. y Torre, P. 1999. Influence of the starter culture on the microbiological and sensory characteristics of ewe's cheese. *Food Microbiology* 16, 237-247.
174. Othmane, M.H., Carriedo, J.A., De La Fuente Crespo, L.F. y San Primitivo, F. 2002a. An individual laboratory cheese-making method for selection in dairy ewes. *Small Ruminant Research* 45, 67-73.
175. Othmane, M.H., De La Fuente, L.F., Carriedo, J.A. y San Primitivo, F. 2002b. Heritability and genetic correlations of test day milk yield and composition, individual laboratory cheese yield, and somatic cell count for dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 85, 2692-2698.
176. Pagnacco, G. y Caroli, A. 1987. Effect of casein and β -lactoglobulin genotypes on renneting properties of milks. *Journal of Dairy Research* 85, 2692-2698.
177. Pappa, E.C., Kandarakis, I.G., Zerfiridis, G.K., Anifantakis, E.M. y Sotirakoglou, K. 2006. Influence of starter cultures on the proteolysis of Teleme cheese made from different types of milk. *Lait* 86, 273-290.
178. Papadopoulos, G., Goulas, C., Apostolaki, E. y Abril, R. 2002. Effects of dietary supplements of algae, containing polyunsaturated fatty acids, on milk yield and the composition of milk products in dairy ewes. *Journal of Dairy Research* 69, 357-365.
179. Pavia, M., Guamis, B., Trujillo, A.J., Capellas, M. y Ferragut, V. 1999a. Changes in microstructural, textural and colour characteristics during ripening of Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal* 9, 91-98.
180. Pavia, M., Trujillo, A.J., Guamis, B. y Ferragut, V. 1999b. Evolution of the composition and texture of a ewe milk cheese during ripening. *Alimentaria* 36, 43-47.
181. Pavia, M., Trujillo, A.J., Guamis, B. y Ferragut, V. 2000. Proteolysis in Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *Journal of Dairy Science* 83, 1441-1447.
182. Pellegrini, O., Remeuf, F. y Rivemale, M. 1994. Evolution of physico-chemical characteristics and renneting properties of ewe milk collected in the Roquefort area. *Le Lait* 74, 425-442.
183. Pellegrini, O., Remeuf, F., Rivemale, M. y Barillet, F. 1997. Renneting properties of milk from individual ewes: Influence of genetic and non-genetic variables, and relationship with physicochemical characteristics. *Journal of Dairy Research* 64, 355-366.
184. Perea, S., De Labastida, E.F., Nájera, A.I., Chavarri, F., Virto, M., De Renobales, M. y Barrón, L.J.R. 2000. Seasonal changes in the fat composition of Lacha sheep's milk used for Idiazabal cheese manufacture. *European Food Research and Technology* 210, 318-323.
185. Pérez-Elortondo, F.J., Albisu, M. y Barcina, Y. 1999. Brining time effect on physicochemical and microbiological parameters in Idiazabal cheese. *International Journal of Food Microbiology* 49, 139-149.

186. Pinho, O., Mendes, E., Alves, M. y Ferreira, I. 2004. Chemical, physical, and sensorial characteristics of "Terrincho" ewe cheese: changes during ripening and intravarietal comparison. *Journal of Dairy Science* 249-257.
187. Piquer, O., Casado, C., Ródenas, L., Blas, E., Moya, J.V. y Pascual, J.J. 2006a. Whole citrus fruit characterization for ruminant nutrition. *Journal of Agricultural Food Chemistry* (Enviado).
188. Piquer, O., Rodríguez, M., Peris, C., Fernández, N., Blas, E. y Pascual, J.J. 2006b. Whole citrus fruits in diets for mediterranean milking ewes. Milk production and composition. *Journal of Dairy Science* (Enviado).
189. Pirisi, A., Piredda, G., Podda, F., Pintus, S., 1994. Effect of somatic cell count on sheep milk composition and cheesemaking properties. En: Proceedings of the International Symposium on Somatic Cells and Milk of Small Ruminants. Bella. pp. 245-251.
190. Pirisi, A.A., Piredda, G.G., Papoff, C.C.M., Di Salvo, R.R., Pintus, S.S., Garro, G.G., Ferranti, P.P. y Chianese, L.L. 1999. Effects of sheep α (s1)-casein CC, CD and DD genotypes on milk composition and cheesemaking properties. *Journal of Dairy Research* 66, 409.
191. Pirisi, A., G. Piredda, M. Corona, M. Pes, S. Pintus, y A. Ledda. 2000. Influence of somatic cell count on ewe's milk composition, cheese yield and cheese quality. En: Proceedings of the 6th Great Lakes Dairy Sheep Symposium. Ontario. pp. 47-59.
192. Pirisi, A., Pinna, G., Addis, M., Piredda, G., Mauriello, R., de Pascale, S., Caira, S., Mamone, G., Ferranti, P., Addeo, F. y Chianese, L. 2007. Relationship between the enzymatic composition of lamb rennet paste and proteolytic, lipolytic pattern and texture of PDO Fiore Sardo ovine cheese. *International Dairy Journal*. 17, 143-156.
193. Pollard, A., Sherkat, F., Seuret, M.G. y Halmos, A.L. 2003. Textural changes of natural cheddar cheese during the maturation process. *Journal of Food Science* 68, 2011-2016.
194. 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. *European Food Research and Technology* 210, 314-317.
195. Poveda, J.M., Sousa, M.J., Cabezas, L. y McSweeney, P.L.H. 2003. Preliminary observations on proteolysis in Manchego cheese made with a defined-strain starter culture and adjunct starter (*Lactobacillus plantarum*) or a commercial starter. *International Dairy Journal* 13, 169-178.
196. Prache, S. y Theriez, M. 1999. Traceability of lamb production systems: carotenoids in plasma and adipose tissue. *Animal Production* 69, 29-36.
197. Prache, S., Priolo, A., Grolier, P. 2003. Persistence of carotenoid pigments in the blood of concentrate finished grazing sheep: its significance for the traceability of grass feeding. *Journal of Animal Science* 81, 360-367.
198. Prache, S., Cornu, A., Berdagué, J.L., Priolo, A. 2005. Traceability of animal feeding diet in the meat and milk of small ruminants. *Small Ruminant Research* 59, 157-168.

199. Priolo, A., Lanza, M., Barbagallo, D., Finocchiaro, L. y Biondi, L. 2003. Can the reflectance spectrum be used to trace grass feeding in ewe milk? *Small Ruminant Research* 48, 103-107.
200. Pugliese, C., Acciaioli, A., Rapaccini, S., Parisi, G. y Franci, O. 2000. Evolution of chemical composition, somatic cell count and renneting properties of the milk of Massese ewes. *Small Ruminant Research* 35, 71-80.
201. Pulina, G., Nudda, A., Battacone, G. y Cannas, A. 2006. Effects of nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, aromatic compounds, and undesirable substances in sheep milk. *Animal Feed Science and Technology* 131, 255-291.
202. Ramet, J.P. 2000. Comparing ripening technology of the various types of cheese. En: *Cheesemaking from Science to Quality Assurance*. Editores: Eck, A. y Gillis, J.C. Lavoisier Publishing, Paris. pp: 418-446.
203. Rank, T.C., Grappin, R. y Olson, N.F. 1985. Secondary proteolysis of cheese during ripening: A Review. *Journal of Dairy Science* 68, 801-805.
204. Rasool, E., Khan, M.F., Nawaz, M. y Rafiq, M. 1998. Utilization of sunflower crop residues as feed in small ruminants *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 11, 272-276.
205. Raynal, K., y Remeuf, F. 1998. The effect of heating on physicochemical and renneting properties of milk: A comparison between caprine, ovine and bovine milk. *International Dairy Journal* 8, 695-706.
206. Raynal-Ljutovac, K., Park, Y.W., Gaucheron, F. y Bouhallab, S. 2007. Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 68, 207-220.
207. Remeuf, F., Lenoir, J. y Duby, C. 1989. Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la prèsure. *Lait* 69, 499 -518.
208. Remeuf, F., Cossin, V., Dervin, C., Lenoir, J. y Tomassone, R. 1991. Relationships between the physicochemical characteristics of milk and their suitability for cheesemaking. *Lait* 71, 397-421.
209. Remeuf, F. y Raynal, K. 2001. Effets de différents traitements de correction sur les aptitudes à la coagulation des laits de chèvre, de brebis et de vache chauffés. *Lait* 81, 381-399.
210. Revilla, I., Rodríguez-Nogales, J.M. y Vivar-Quintana, A.M. 2007. Proteolysis and texture of hard ewe's milk cheese during ripening as affected by somatic cell counts. *Journal of Dairy Research* 74, 127-136.
211. Rodríguez, G.M., Hidalgo, L., M. Y., Althaus, R.L., Molina, P.P., Peris, R.C. y Fernández, M.N. 2002. Primeros resultados de producción y composición de leche en la oveja Guirra En: XXVII Jornadas Científicas de la SEOC. Valencia. pp. 913-918.
212. Rodríguez, M., Beltrán, M., Tomás, M., Piquer, O., Molina, P. y Pascal, J. 2006. Efecto de la incorporación de cítricos de destrío en la ración de ovejas lactantes sobre el contenido de grasa

- de la leche y su composición en ácidos grasos. En: XXXI Jornadas científicas y X internacionales SEOC. Zamora. pp. 35-37.
213. Rohm, H. y Jaros, D. 1997. Colour of hard cheese. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung A*. 204, 259-264.
214. Ruettimann, K. W. y Ladisch, M. R. 1987. Casein micelles: structure, properties and enzymatic coagulation. *Enzyme and Microbial Technology* 9, 578-589.
215. Russ, W. y Meyer-Pittroff, R. 2004. Utilizing waste products from the food production and processing industries. A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44, 57-62.
216. Sakakibara, H., D. Viala, A. Ollier, A. Combeau, y J.M. Besle. 2004. Isoflavones in several clover species and in milk from goats fed clovers. *BioFactors* 22, 237-239.
217. Saldo, J.J., Sendra, J.E. y Guamis, J.B. 2002. Colour changes during ripening of high pressure treated hard caprine cheese. *High Pressure Research* 22, 659-663.
218. Salmerón, J., De Vega, C., Pérez-Elortondo, F.J., Albisu, M. y Barrón, L.J.R. 2002. Effect of pasteurization and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheesemaking. *Food Microbiology* 19, 167-174.
219. Sanjuan, E., Millan, R., Saavedra, P., Carmona, M.A., Gómez, R. y Fernández-Salguero, J. 2002. Influence of animal and vegetable rennet on the physicochemical characteristics of Los Pedroches cheese during ripening. *Food Chemistry* 78, 281-289.
220. Sanz-Sampelayo, M.R. Chilliard, Y., Schmidely Ph. y Boza, J. 2007. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk, *Small Ruminant Research* 68: 42-63
221. Schütz, K., Persike, M., Carle, R. y Schieber, A. 2006. Characterization and quantification of anthocyanins in selected artichoke (*Cynara scolymus*) cultivars by HPLC-DAD-ESI-MSn. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 384, 1511-1517.
222. Serrano, M., Pérez-Guzmán, M.D., Montoro, V. y Jurado J. J. 1996. Genetic parameters estimation and selection progress for milk yield in Manchega sheep. *Small Ruminant Research* 23,51-57.
223. Sevi, A., Taibi, L., Albenzio, M., Muscio, A. y Annicchiarico, G. 2000. Effect of parity on milk yield, composition, somatic cell count, renneting parameters and bacteria counts of Comisana ewes. *Small Ruminant Research* 37, 99-107.
224. Sevi, A., Albenzio, M., Marino, R., Santillo, A. y Muscio, A. 2004. Effects of lambing season and stage of lactation on ewe milk quality. *Small Ruminant Research* 51, 251-259.
225. Sevi, A., Albenzio, M., Giovanni, A., Caroprese, M., Marino, R. y Santillo, A. 2006. Effects of dietary protein level on ewe milk yield and nitrogen utilization, and on air quality under different ventilation rates. *Journal of Dairy Research* 73, 197-206.

226. Singh, H. y Fox, P.F. 1986. Heat stability of milk: Further studies on the pH-dependent dissociation of micellar *k*-casein. *Journal of Dairy Research* 53, 237-248.
227. Soryal, K.A., Zeng, S.S., Min, B.R. y Hart, S.P. 2004. Effect of feeding treatments and lactation stages on composition and organoleptic quality of goat milk Domiati cheese. *Small Ruminant Research* 52, 109-116.
228. Soryal, K., Beyene, F.A., Zeng, S., Bah, B. y Tesfai, K. 2005. Effect of goat breed and milk composition on yield, sensory quality, fatty acid concentration of soft cheese during lactation. *Small Ruminant Research* 58, 275-281.
229. Sousa, M.J., Balcão, V.M. y Malcata, F.X. 1997. Evolution of free fatty acid profile during ripening in cheeses manufactured from bovine, ovine and caprine milks with extracts of *Cynara cardunculus* as coagulant. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*. 205, 104-107.
230. Sousa, M.J., Ardo, Y. y McSweeney, P.L.H. 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal* 11, 327-345.
231. Tavaría, F.K., Franco, I., Javier Carballo, F. y Xavier Malcata, F. 2003. Amino acid and soluble nitrogen evolution throughout ripening of Serra da Estrela cheese. *International Dairy Journal* 13, 537-545.
232. Torres, A. y Gallego, L. 1994. Censos y distribución geográfica. En: Ganado ovino. Raza Manchega. Ediciones Mundiprensa, Madrid. pp. 51-60.
233. Trujillo, A.J., Royo, C., Guamis, B. y Ferragut, V. 1999. Influence of pressurization on goat milk and cheese composition and yield. *Milchwissenschaft* 54, 197-199.
234. Tyrisevä, A.M., Ikonen, T. y Ojala, M. 2003. Repeatability estimates for milk coagulation traits and non-coagulation of milk in Finnish Ayrshire cows. *Journal of Dairy Research* 70, 91-98.
235. Ugarte, E., Ruiz, R., Gabina, D. y Beltrán de Heredia, I. 2001. Impact of high-yielding foreign breeds on the Spanish dairy sheep industry. *Livestock Production Science* 71, 3-10.
236. Ugarte, E. y Legarra, A. 2003. Scientific background of the selection program in the Latxa breed. *Options Méditerranéennes Serie A*. 55, 91-98.
237. Upadhyay, V.K., McSweeney, P.L.H., Magboul, A.A.A. y Fox, P.F. 2004. Proteolysis in cheese during ripening. En: Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology pp. 391-433, Elsevier Academic Press, London, UK.
238. Urbach, G. 1990. Effect of feed on flavor in dairy foods. *Journal of Dairy Science* 73, 3639-3650.
239. Van Hooydonk, A.C.M., Koster, P.G. y Boerrigter, J. 1987. The renneting properties of heated milk. *Netherlands Milk Dairy Journal* 41, 3-18

-
240. Verdier-Metz, I., Coulon, J.B., Pradel, P., Viallon, C., Berdagué, J.L. 1998. Effect of forage conservation (hay or silage) and cow breed on the coagulation properties of milks and on the characteristics of ripened cheeses. *Journal of Dairy Research* 65, 9-21.
241. Verdier-Metz, I., Martin, B., Pradel, P., Albouy, H., Hulin, S., Montel, M.C. y Coulon, J.B. 2005. Effect of grass-silage vs. hay diet on the characteristics of cheese: Interactions with the cheese model. *Lait* 85, 469-480.
242. Volanis, M., Zoiopoulos, P. y Tzerakis, K. 2004. Effects of feeding ensiled sliced oranges to lactating dairy sheep. *Small Ruminant Research* 53, 15-21.
243. Wadhwa, M., Kaushal, S. y Bakshi, M.P.S. 2006. Nutritive evaluation of vegetable wastes as complete feed for goat bucks. *Small Ruminant Research* 64, 279-284.
244. Walstra, P. 1999. Casein sub-micelles: do they exist? *International Dairy Journal*. 9, 189-192.
245. Walstra, P., Geurts, T.J., Normen, A., Jellema, A., y Van Boekel, M.A.J.S. 1999. Dairy technology: Principles of milk properties and processes. Marcel Dekker Editors, Inc., New York. pp: 727.
246. Watkinson, P., Coker, C., Crawford, R., Dodds, C., Johnston, K., Mckenna, A. y White, N. 2001. Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. *International Dairy Journal* 11, 455-464.
247. Wedholm, A., Larsen, L.B., Lindmark-Mansson, H., Karlsson, A.H. y Andren, A. 2006. Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 3296-3305.
248. Zenou, A. y Miron, J. 2005. Milking performance of dairy ewes fed pellets containing soy hulls as starchy grain substitute. *Small Ruminant Research* 57, 187-192.
249. Zhang, R., Mustafa, A.F. y Zhao, X. 2006. Effects of flaxseed supplementation to lactating ewes on milk composition, cheese yield, and fatty acid composition of milk and cheese. *Small Ruminant Research* 63, 233-241.
250. Zullo, A., Barone, C.M.A., Chianese, L., Colatruglio, P., Occidente, M. y Matassino, D. 2005. Protein polymorphisms and coagulation properties of Cilentana goat milk. *Small Ruminant Research* 58, 223-230.