

CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL MEDIANTE ANÁLISIS DE IMAGEN DEL QUESO CHANCO ELABORADO EN LA PROVINCIA DE OSORNO

Javier I. Leiva^{1*}; Haroldo E. Magariños², Alejandro F. Romero², Heriberto Figueroa³

Universidad de Los Lagos¹ Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos,³ Departamento de Ciencias Exactas, Avenida Fuchslocher 1305, Osorno, Chile. E-mail: j.leiva@ulagos.cl * Autor para correspondencia.

² Universidad Austral de Chile, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias, Isla Teja, Valdivia, Chile.

ABSTRACT

Characterization structural of Chanco cheese manufactured in the Province of Osorno using image analysis

Key words: cheese, texture, multidimension scaling.

The aim of this study was to characterize the structure of Chanco cheese manufactured in the Province of Osorno, using image analysis. The chemical, sensorial and structural parameters of Chanco cheese were determined. Results indicate a porous structure, thick and scarcely continuous in aspect. The borders of the pores appeared smooth and soft. Distribution of the pores was acceptable. Based on the results of this study from a structural point of view, the parameters studied were grouped into micro and macro-structures, and from the perspective of the role that each one plays in the structure of the Chanco cheese, the parameters were classified into those that influenced initial structure formation and those influencing the final structure.

RESUMEN

Palabras claves: queso, textura, escalamiento multidimensional.

El objetivo del trabajo presentado fue caracterizar la estructura mediante análisis de imagen del queso Chanco elaborado en la Provincia de Osorno. Se determinaron los parámetros químicos, sensoriales y estructurales del queso Chanco. Los resultados mostraron una estructura porosa, de aspecto grueso y poco continuo. Se observó un aspecto liso y suave en los bordes de los poros. Éstos se ubicaron aceptablemente bien distribuidos. Basado en los resultados del estudio, se concluye que desde un punto de vista estructural, los parámetros estudiados se agruparon en micro y macroestructurales, y desde una perspectiva del rol que juega cada uno en la estructura del queso Chanco, se clasificaron en aquellos influyentes en la formación de la estructura inicial, de los influyentes en la estructura final.

INTRODUCCIÓN

La estructura de los geles lácteos esta conformada por partículas caseínicas, las cuales juegan un rol importante en las propiedades reológicas de estos geles (Horne, 1998). La formación del gel es una etapa crítica en la elaboración del queso. La gelación puede ser inducida por acción enzimática (cuajo), acidificación y tratamiento térmico. En geles lácteos; la apariencia visual, estructural y propiedades reológicas son atributos físicos importantes, los cuales contribuyen a la percepción sensorial y propiedades funcionales de tales productos (Osorio *et al.*, 2005). Estudios estructurales rea-

lizados en queso Roncal indican que conforme avanza el proceso de maduración, la matriz proteica se compacta, se reduce el tamaño de los espacios vacíos y se pierde el carácter globular nativo de las micelas. Uno de los efectos más importantes de la proteólisis en quesos y que tiene directa relación con la textura y propiedades funcionales, es que la hidrólisis de péptidos libera grupos cargados ($\text{NH}_3^+/\text{COO}^-$), los cuales compiten por el agua, reduciendo el contenido de agua libre durante la maduración del queso (Irudayaraj *et al.*, 1999; Guinee, 2003; Lucey *et al.*, 2003). Ensayos de textura realizados en queso Roncal, indicaron que la firmeza aumenta al salar el coágulo prensado y luego disminuye

INTRODUCCIÓN

La estructura de los geles lácteos esta conformada por partículas caseínicas, las cuales juegan un rol importante en las propiedades reológicas de estos geles (Horne, 1998). La formación del gel es una etapa crítica en la elaboración del queso. La gelación puede ser inducida por acción enzimática (cuajo), acidificación y tratamiento térmico. En geles lácteos; la apariencia visual, estructural y propiedades reológicas son atributos físicos importantes, los cuales contribuyen a la percepción sensorial y propiedades funcionales de tales productos (Osorio *et al.*, 2005). Estudios estructurales realizados en queso Roncal indican que conforme avanza el proceso de maduración, la matriz proteica se compacta, se reduce el tamaño de los espacios vacíos y se pierde el carácter globular nativo de las micelas. Uno de los efectos más importantes de la proteólisis en quesos y que tiene directa relación con la textura y propiedades funcionales, es que la hidrólisis de péptidos libera grupos cargados ($\text{NH}_3^+/\text{COO}^-$), los cuales compiten por el agua, reduciendo el contenido de agua libre durante la maduración del queso (Irudayaraj *et al.*, 1999; Guinee, 2003; Lucey *et al.*, 2003). Ensayos de textura realizados en queso Roncal, indicaron que la firmeza aumenta al salar el coágulo prensado y luego disminuye hasta llegar a los últimos meses de maduración, en los que permanece casi constante; al mismo tiempo, los parámetros masticabilidad, cohesividad, elasticidad y gomosidad disminuyen con el transcurso de la maduración. Pastorino *et al.* (2003a), analizando la estructura del queso Cheddar encontró que la solubilización de minerales desde las caseínas causada por el descenso del pH, lidera la disminución de las interacciones entre las proteínas y la disociación de las caseínas a partir de las micelas. Pastorino *et al.*, (2003b), indica que a pH 5,3 la matriz proteica se caracteriza por la presencia de una densidad relativamente alta de agregados proteicos; de 10 a 12 nm de diámetro, y generalmente bien definidos en la estructura matricial en la cual un importante número de cadenas proteicas pueden ser diferenciadas. El descenso del pH a valores de 5,2 aumenta la solubilidad del calcio y disminuye la repulsión electrostática entre las micelas a medida que las

caseínas se aproximan a su punto isoeléctrico. Un estudio reciente realizado en la estructura del queso Piacentinu Ennese por Fallico *et al.* (2006), indican que los espacios vacíos de la estructura son ocupados por glóbulos grasos y suero. Las micelas se ensamblan sin una orientación definida; lo que imparte a éste queso una textura amorfa. Kalab (1977), encontró similar comportamiento en queso Edam y Gouda. Spadoti *et al.* (2004), reportaron idéntica tendencia en queso Prato. Fallico *et al.* (2006), encontraron que, al cabo de dos meses de maduración, la matriz proteica del queso Piacentinu Ennese presentó cavidades desocupadas de gran tamaño, en las cuales se retuvo humedad. Entre los cuatro y los seis meses, la estructura se volvió más compacta, con cavidades de menor tamaño, como resultado de la pérdida gradual de humedad causada por la evaporación en la superficie del queso. Los mismos investigadores, indican que cuando la matriz proteica presentó un aspecto grueso y poco continuo, reflejó una pobre fusión de la cuajada y una estructura más porosa. En un estudio estructural realizado en queso Gouda chileno, resultados no publicados han revelado la existencia de una estructura compacta y poco porosa, cuyas pequeñas aberturas se pudieron haber formado debido a la remoción del suero; en la estructura se detectaron pequeños agregados proteicos, debido a la cristalización del fosfato de calcio residual presente en el suero entrampado en la matriz del queso. Así mismo, se detectó una superficie suave alrededor de las pequeñas aberturas debido a la remoción de la grasa coincidiendo con los antecedentes publicados por Bhaskaracharya y Shah (2000).

El queso Chanco es considerado un producto madurado, de textura abierta, con abundantes ojos mecánicos o irregulares, distribuidos uniformemente en la masa del queso (Chile, INN, 1999). Aunque las propiedades reológicas del queso Chanco han sido estudiadas por otros autores, pocas investigaciones han hecho referencia a la estructura del queso. Por lo tanto, se estimó conveniente realizar este estudio que planteo como hipótesis, que la caracterización estructural del queso Chanco, es posible, mediante la técnica de análisis de imagen. El objetivo del trabajo presentado fue caracterizar la estructura mediante análisis de imagen del queso Chanco

elaborado en la Provincia de Osorno. Con los resultados del estudio se pretende contribuir a la caracterización de este queso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de queso

Se analizó queso Chanco elaborado en 2 industrias lácteas (A y B) de la Provincia de Osorno (Chile). Se estudiaron 3 muestras de queso por industria. Las industrias y muestras elegidas fueron seleccionadas al azar (Chile, INN, 1961). El queso fue muestreado a los 21 días de maduración (Chile, INN, 1999), y durante el periodo de análisis, se almacenó a 5 ± 1 °C.

Análisis químico

En las muestras de queso, se evaluó en duplicado el pH, método potenciométrico NCh 1671. Of79 (Chile, INN, 1979a), contenido de grasa, método Gerber van Gulik NCh 1016/1. Of79 (Chile, INN, 1979b), humedad, método termogravimétrico NCh 841. Of78 (Chile, INN, 1978), sólidos totales, método termogravimétrico 4-A (IDF-FIL, 1982) y nivel de sal, método de Volhard (AOAC, 2000).

Análisis micrográfico

Se extrajo una muestra de 1 mm de espesor y 4 x 4 mm de longitud desde la zona media del queso, entre el centro y la corteza. Según la metodología descrita por Rousseau (1988), la muestra extraída fue sumergida en solución acuosa de glutaraldehído 2,5 % (p/p) en buffer

cacodilato de Na 0,1M (pH 7,2) durante 3 días a 4 °C. La muestra una vez fijada, fue aclarada con buffer cacodilato por 10 min a temperatura ambiente. Se repitió la etapa 3 veces. A continuación, se realizó el deshidratado. Para ello, se utilizó una batería de etanol con las siguientes composiciones: 10, 25, 50, 75, 85 y 95 % (v/v). La muestra una vez aclarada, fue depositada 10 min en cada baño de etanol anterior a temperatura ambiente. Después del último baño, la muestra fue depositada en etanol absoluto durante 1 h a 4 °C, luego se renovó el etanol absoluto y se mantuvo 1 h a temperatura ambiente. La muestra deshidratada fue secada mediante el método del punto crítico en CO₂ usando un Polaron CPD 7501. Una vez secada, la muestra fue fracturada en 4 pequeñas láminas utilizando una pequeña pinza. Las 4 láminas fracturadas fueron montadas en una pequeña pieza de aluminio del microscopio mediante adhesivo de carbón, y cubierta con oro-paladio en un Polaron SC 7620 en medio de argón. Las imágenes obtenidas fueron registradas con una magnificación de 1500X.

Análisis de imagen

El protocolo para procesar y analizar imágenes se basó en la metodología descrita por Aguilera y Stanley (1999). Inicialmente, las micrografías fueron convertidas a imágenes digitales con pixeles en la escala de gris de 0 a 255 (de negro a blanco) mediante el programa computacional ImageJ (Abramoff *et al.*, 2004). En las imágenes digitales, los pixeles oscuros correspondieron a las áreas ocupadas por agru-

Cuadro 1. Resultados químicos en queso Chanco a los 21 días de maduración*.

Table 1. Results from chemical analyses of Chanco cheese at 21 days of ripening*.

Parámetros químicos	Muestra de queso	
	A	B
Humedad (%)	39,56 ± 2,21	42,88 ± 0,11
Contenido de grasa (%)	27,75 ± 3,75	27,50 ± 6,50
Nivel de sal (%)	0,86 ± 0,20	0,92 ± 0,09
Sólidos totales (%)	60,44 ± 2,21	57,12 ± 0,11
pH	5,44 ± 0,12	5,66 ± 0,54
* Valores presentados son el promedio de tres réplicas.		

paciones de grasa y suero, mientras que los píxeles claros fueron relacionados con las áreas ocupadas por la matriz proteica (Aguilera y Stanley, 1999). En seguida, las imágenes fueron filtradas para remover ruidos, bordes agudos u objetos de fondo. Se utilizó un filtro mediano. En la etapa siguiente, las imágenes fueron segmentadas, transformando los píxeles grises a píxeles blancos o negros. A continuación, se realizó la selección de los objetos desplegados en la imagen. Las medidas de análisis más relevantes en la estructura del queso (Impoco *et al.*, 2007), y que fueron determinadas en la investigación correspondieron a: factor de forma, redondez, cuociente de aspecto y convexidad. También fueron calculados parámetros de área, entre ellos: solidez y porosidad.

Análisis estadístico

Los resultados fueron evaluados por medio de un escalamiento multidimensional mediante el programa computacional Statistica 6.0 (Pérez, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los antecedentes que entrega el Cuadro 1, permitieron caracterizar químicamente la variedad de queso que se decidió estudiar, en este caso, queso Chanco (industrial). La humedad, contenido de grasa, sólidos totales y pH resultaron cercanos a los reportados en la Norma Chi-

lena Oficial 2090 (Chile, INN, 1999). El nivel de sal resultó similar a lo indicado por Arteaga (2004).

El Cuadro 2 presenta los parámetros estructurales del queso Chanco. Se debe tener presente que para la discusión de éstos resultados, la estructura del queso Chanco fue comparada con la de otros quesos, aunque por procesos de fabricación no son directamente comparables. Antecedentes no publicados reportan un factor de forma de 0,62 para queso Gouda con 30 días de maduración. El factor de forma encontrado en queso Chanco con 21 días de maduración fue cercano a 0,70. Probablemente, en el queso con 30 días de maduración han ocurrido numerosos cambios en las densidades de electrón, lo que significa reacomodaciones y espaciamentos estructurales, e hidrólisis de caseínas (Tunick *et al.* 1997). Lo anterior, provoca que las partículas estructurales pierdan su esferoidicidad característica alcanzando menores valores en el factor de forma (Manríquez y Terol-Villalobos, 2004).

La redondez de las partículas en la estructura del queso Chanco resultó similar a lo propuesto por Joshi *et al.*, (2004). Suárez-Sanabria y Fernández-Carrasquilla (2006), consideran aceptables, desde el punto de vista de la redondez, aquellas partículas que la poseen cercana a 0,65 y respecto al cuociente de aspecto, aquellas en que éste sea menor de 2. Joshi *et al.*,(2004) indican que las partículas estructurales del queso

Cuadro 2. Resultados estructurales en queso Chanco a los 21 días de maduración*.

Table 2. Results of structural analyses of Chanco cheese at 21 days of ripening*.

Parámetros estructurales	Muestra de queso	
	A	B
Factor de forma	0,67 ± 0,17	0,75 ± 0,01
Redondez	0,53 ± 0,15	0,61 ± 0,02
Cuociente de aspecto	2,20 ± 0,79	1,82 ± 0,05
Convexidad	0,98 ± 0,05	0,85 ± 0,01
Solidez	0,83 ± 0,06	1,01 ± 0,02
Porosidad	13,58 ± 3,89	12,49 ± 3,83

* Valores presentados son el promedio de tres réplicas.

Mozzarella varían entre 0,60 y 0,77. Antecedentes no publicados reportan que las partículas del queso Cheddar tienen una redondez de 0,55. Joshi *et al.*, (2004) sugiere que la redondez se reduce al prolongar el tiempo de maduración, probablemente debido al reacomodamiento estructural, lo que termina por dar paso a la estructura final del queso (Holt y Roginski, 2001).

El cociente de aspecto encontrado en el queso Chanco coincidió con lo reportado por Ak y Gunasekaran (1992). Los autores anteriores, estudiaron las propiedades de fractura del queso Cheddar y establecieron que el cociente de aspecto tiene un rango de valores de 1 a 5 para el mismo queso. Ellos plantearon que dicho parámetro, ejerce un fuerte efecto sobre el grado de fractura. De este modo, el queso Chanco puede caracterizarse por una estructura capaz de almacenar energía, y dado que el parámetro citado fue inferior a 5 y se ubicó cercano a la media del rango propuesto por Ak y Gunasekaran, las probabilidades de estrés y fractura deberían ser inferiores en el queso Chanco.

La investigación reveló una convexidad cercana a 1 para las partículas presentes en la estructura del queso Chanco. Antecedentes no publicados indican una convexidad de 0,9 en queso Cheddar. El mismo estudio muestra un comportamiento inversamente proporcional entre convexidad y cociente de aspecto. Probablemente, las partículas estructurales del queso Chanco pierdan su esferoidicidad con el transcurso de la maduración volviéndose más elongadas (mayor cociente de aspecto) y con un menor número de rasgos finos (menor convexidad o rugosidad).

La solidez estructural del queso Chanco resultó próxima a 0,80. Resultados no publicados indican una solidez de 1,39 en queso Gouda. El menor valor en queso Chanco puede deberse a la degradación temprana de la caseína α_1 en el enlace phe23-phe24 debido a la actividad residual de la quimosina, lo cual disminuye la solidez de la matriz proteica (Olsón, *et al.* 1996).

Melilli *et al.* (2005), estudiando el efecto del nivel de sal sobre la estructura del queso Ragusano, encontró que el tamaño de los poros disminuyó hasta valores entre 8 y 25 con el aumento de sal. La porosidad obtenida en queso Chanco fue cercana a 14 concordando con lo reportado por Melilli *et al.*, 2005.

Aguilera y Stanley (1999), establecieron que la estructura final de muchos quesos puede ser analizada en dos niveles: (1) formación de la matriz proteica dentro de los granulos de cuajada, los cuales determinan la microestructura, y (2) la forma como los granulos de cuajada son fusionados, los cuales determinan la macroestructura. De este modo, en las Figuras 1 y 2, se observa que la primera dimensión distingue

entre los parámetros químicos y estructurales de la muestra A.

Figura 1. Escalamiento multidimensional de los parámetros químicos y estructurales de la muestra A. (o) pH, (+) humedad, (-) sólidos totales, (Δ) contenido de grasa, (\square) nivel de sal, (\circ) redondez, (\blacksquare) cociente de aspecto, (\blacktriangle) solidez, (\bullet) convexidad, (\ominus) porosidad, (\otimes) factor de forma.

Figure 1. Multidimensional scaling of chemical and structural parameters of sample A. (o) pH, (+) humidity, (-) total solids, (Δ) fat content, (\square) salt level, (\circ) roundness, (\blacksquare) aspect ratio, (\blacktriangle) solidity, (\bullet) convexity, (\ominus) porosity, (\otimes) form factor.

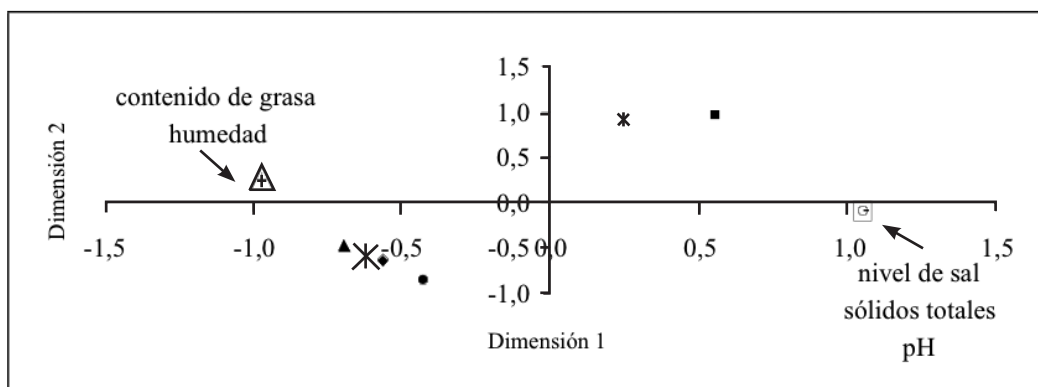
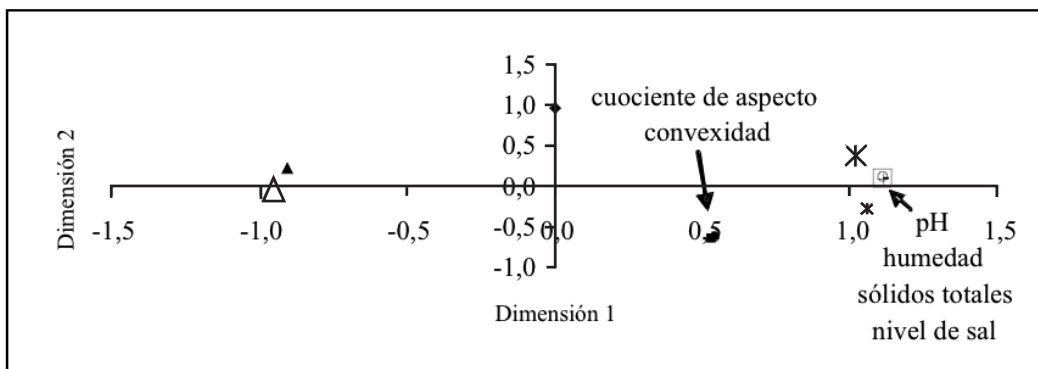


Figura 2. Escalamiento multidimensional de los parámetros químicos y estructurales de la muestra B. (o) pH, (+) humedad, (-) sólidos totales, (Δ) contenido de grasa, (⊖) nivel de sal, (⊕) redondez, (⊓) cuociente de aspecto, (▲) solidez, (●) convexidad, (⊗) porosidad, (⊛) factor de forma.

Figure 2. Multidimensional scaling of the chemical and structural parameters of sample B. (o) pH, (+) humidity, (-) total solids, (Δ) fat content, (⊖) salt level, (⊕) roundness, (⊓) aspect ratio, (▲) solidity, (●) convexity, (⊗) porosity, (⊛) form factor.

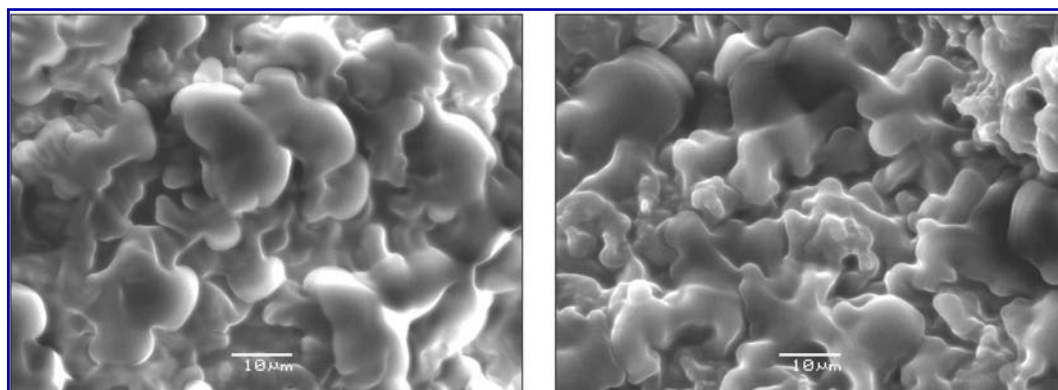


a los parámetros microestructurales, situados a la izquierda (contenido de grasa, convexidad, solidez, redondez, factor de forma), de los macroestructurales, situados a la derecha (sólidos totales, nivel de sal, pH, humedad, porosidad, cuociente de aspecto).

La segunda dimensión de la Figura 1, muestra en su parte superior un conjunto de parámetros microestructurales (contenido de grasa y humedad) y macroestructurales (porosidad y cuociente de aspecto) diferentes a los mostrados en la zona inferior del mismo gráfico, algunos de los cuales coinciden con los indicados en la segunda dimensión de la Figura 2 en su parte inferior. Una interpretación sugerible es la separación de

aquellos parámetros que influyen en la formación de la estructura inicial (contenido de grasa, humedad, porosidad y cuociente de aspecto) de los influyentes en la formación de la estructura final en el queso Chanco (solidez, factor de forma, redondez, convexidad, nivel de sal, sólidos totales y pH). Verdini *et al.* (2007), describieron a través de métodos multivariantes al queso argentino Port Salut basado en el tiempo de maduración, condiciones de almacenamiento y sitios muestreados usando el contenido de caseína, péptidos y aminoácidos medidos por análisis cromatográfico, al igual que parámetros físicos y texturales. El análisis de componentes principales mostró agrupamiento de mues-

Figura 3. Micrografías electrónicas de barrido mostrando la estructura del queso Chanco.
Figure 3. Scanning electron micrographs showing the structure of Chanco cheese.



tras de acuerdo al tiempo de maduración, sitios muestreados y condiciones de almacenamiento. Brown *et al.* (2003), investigaron las propiedades sensoriales y reológicas de quesos frescos para comprender mejor la percepción de textura en estos quesos. Según Brown *et al.*, (2003) el análisis de componentes principales de los parámetros reológicos mostró que la solidez de los quesos disminuye con la maduración, mientras el tiempo de retardación (capacidad del queso para recuperarse de la deformación) aumenta (Osorio *et al.*, 2005). Los parámetros sensoriales e instrumentales se agruparon de acuerdo a la rigidez, viscosidad y chiclosidad de los quesos. Brown *et al.*, (2003) concluyen que los parámetros reológicos poseen una fuerte asociación con la rigidez y viscosidad, pero en menor medida con la chiclosidad.

El examen estructural del queso Chanco reveló una estructura porosa de aspecto grueso y poco continuo (Figura 3). Los poros de la matriz proteica fueron encontrados aceptablemente bien distribuidos observándose una topografía propia de estructuras poco compactas según lo sugerido por Buffa *et al.* (2001) y Hassan *et al.* (2002). Se observó un aspecto liso y suave en los bordes de los poros, probablemente debido al movimiento de los glóbulos grasos atrapados en la matriz proteica (Graiver *et al.*, 2004).

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos y analizados en la presente investigación, se concluyó lo siguiente:

Aplicado al queso Chanco en su periodo de consumo, los resultados estructurales dieron una respuesta o huella digital específica de la identidad del queso, que puede ser útil para diferenciarlo de otros quesos en el mercado mundial, además de servir como base para establecer una caracterización estructural. El queso Chanco se caracterizó por presentar una estructura porosa tipo esponja, de aspecto grueso y poco continuo. Los espacios vacíos se ubicaron bien distribuidos, observándose un aspecto liso y suave en los contornos de los mismos, además de una similitud topográfica. La estructura matricial presentó zonas diferenciadas con pequeños agregados proteicos. El escalamiento multidimensional permitió concluir que, desde

BIBLIOGRAFÍA

- ABRAMOFF, M.; MAGELHAES, P.; RAM, S. 2004. Image processing with ImageJ. *Biophotonics International* 11:36-42.
- AGUILERA, J.; STANLEY, D. 1999. *Microestructural principles of food processing and engineering*. 2th ed. Aspen, Maryland, USA. 450 p.
- AK, M.; GUNASEKARAN, S. 1992. Stress-strain curve analysis of Cheddar cheese under uniaxial compression. *J. Food Sci.* 57: 1078-1081.
- ARTEAGA, M. 2004. Evolución de la maduración del queso Chanco elaborado con adición de suero en polvo. Tesis Magíster en Ciencia y Tecnología de la Leche. Valdivia, Universidad Austral de Chile. Chile. 256p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Assoc. Of. Anal. Chem., Gaithersburg, MD.
- BHASKARACHARYA, R.; SHAH, N. 2000. A simplified method for examination of microstructure of Mozzarella cheeses with scanning electron microscopy. *Aust. J. Dairy Technol.* 55:28-32.
- BROWN, J.A.; FOEGEDING, E.A.; DAUBERT, C.R.; DRAKE, M.A.; GUMPERTZ, M. 2003. Relationships among rheological and sensorial properties of Young cheeses. *J. Dairy Sci.* 86:3054-3067.
- BUFFA, M.; TRUJILLO, A.; PAVIA, M.; GUAMIS, B. 2001. Changes in textural, microstructural, and color characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *Int. Dairy J.* 11:927-934.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1961. Selección de muestras al azar. Norma Chilena 43.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1978. Alimentos. Determinación de humedad. Norma Chilena 841.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1979a. Leche y productos lácteos. Determinación de pH. Norma Chilena 1671.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1979b. Leche. Determinación del contenido de materia grasa. Método de Gerber. Norma Chilena 1016. Parte I.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1999. Productos lácteos. Queso Chanco. Requisitos. Norma Chilena 2090.
- FALLICO, V.; TUMINELLO, L.; PEDILIGGIERI, C.; HORNE, J.; CARPINO, S.; LICITRA, G. 2006. Proteolysis and Microstructure of Piacentinu Ennese Cheese Made Using Different Farm Technologies. *J. Dairy Sci.* 89:37-48.

- GRAIVER, N.G.; ZARITZKY, N.E.; CALIFANO, A.N. 2004. Viscoelastic behavior of refrigerated and frozen low-moisture Mozzarella cheese. *J. Food Sci.* 69:E123-E128.
- GUINEE, T. 2003. Role of protein in cheese and cheese products. **in** Fox, P. F.; McSweeney P.L.H. (eds.) *Advanced Dairy Chemistry*. Vol. 1, 3rd edition New York, USA, Kluwer Academic/Plenum Publishers Vol 1, pp 1083–1174
- HASSAN, A.; FRANK, J.; CORREDIG, M. 2002. Microstructure of Feta cheese made using different cultures as determined by Confocal Scanning Laser Microscopy. *J. Food Sci.* 67:2750-2753.
- HOLT, C.; ROGINSKI, H. 2001. Milk proteins: Biological and food aspects of structure and function **in** Sikorski, Z. E. (ed.) *Chemical and Functional Properties of Food Proteins* Lancaster, Technomic pp 271–334.
- HORNE, D. 1998. Casein interactions: Casting light on the black Boxes, the structure in dairy products. *Int. Dairy J.* 8:171-177.
- IMPOCO, G.; CARRATO, S.; CACCAMO, M.; TUMINELLO, L.; LICITRA, G. 2007. Quantitative analysis of cheese microstructure by scanning electron microscope images. Available at <http://svg.dmi.unict.it/iplab/administrator/users/pubblicazioni/conference/SIMAI06.pdf> Accessed 3 December 2007.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, IDF-FIL. 1982. Cheese and processed cheese. Determination of the solids content (reference method). I.S. IDF FIL 4-A: 1982. 2p.
- IRUDAYARAJ, J.; CHEN, M.; MCMAHON, D. 1999. Texture development in Cheddar cheese during ripening. *Can. Agric. Eng.* 41:253–258.
- JOSHI, N.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; DAVE, R. 2004. Effect of calcium on microstructure and meltability of part skim mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* 87:1975-1985.
- KALAB, M. 1977. Milk gel structure. VI. Cheese texture and microstructure. *Milchwissenschaft.* 32: 449-458.
- LUCEY, J.; JOHNSON, M.; HORNE, D. 2003. Invited Review: Perspectivas on the Basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. *J. Dairy Sci.* 86:2725-2743.
- MANRÍQUEZ, F.; TEROL-VILLALOBOS, I. 2004. Caracterización de HIPS mediante técnicas de análisis de imágenes. *Revista Mexicana de Física* 50:72-74.
- MELILLI, C.; CARCÓ, D.; BARBANO, D.M.; TUMINO, G.; CARPINO, S.; LICITRA, G. 2005. Composition, microstructure, and surface barrier layer development during brine salting. *J. Dairy Sci.* 88:2329-2340.
- OLSÓN, N.; GUNASEKARAN, S.; BOGENRIEF, D. 1996. Chemical and physical properties of cheese and their interactions. *Neth. Milk Dairy J.* 50: 279-294.
- OSORIO, J.F.; VELÁSQUEZ, H.J.; MEJÍA, L.G. 2005. Caracterización reológica y textural del queso Edam. *Dyna* 72:33-45.
- PASTORINO, A.; HANSEN, C.; MCMAHON, D. 2003a. Effect of pH on the Chemical Composition and Structure-Function relationships of Cheddar Cheese. *J. Dairy Sci.* 86:2751-2760.
- PASTORINO, A.; RICKS, N.; HANSEN, C.; MCMAHON, D. 2003b. Effect of calcium and water injection on structure-function relationships of cheese. *J. Dairy Sci.* 86:105–113.
- PÉREZ, C. 2004. *Técnicas de Análisis Multivariante de Datos. Aplicaciones con SPSS*. España. Pearson Prentice-Hall. 646 p
- ROUSSEAU, M. 1988. Changes in the microstructure of Saint Paulin cheese during manufacture studied by scanning electron microscopy. *Food Microstruct.* 7:105-113.
- SPADOTI, L.; DORNELLAS, J.; ROIG, S. 2004. Evaluation of the microstructure of Prato type cheese obtained by modifications of the traditional manufacturing process. *Milchwissenschaft* 59:151–155.
- SUÁREZ-SANABRIA, A.; FERNÁNDEZ-CARRASQUILLA, J. 2006. Microestructura y propiedades mecánicas de una fundición esférica ferrítica en bruto de colada para su uso en piezas de grandes dimensiones. *Revista de Metalurgia* 42:18-31.
- TUNICK, M.; COOKE, P.; MALIN, E.; SMITH, P.; HOLSINGER, V. 1997. Reorganization of casein submicelles in Mozzarella cheese during storage. *Int. Dairy J.* 7: 149-155.
- VERDINI, R.A.; ZORRILLA, S.E.; RUBIOLO, A.C.; NAKAI, S. 2007. Multivariate statistical methods for Port Salut argentino cheese analysis based on ripening time, storage conditions, and sampling sites. *Chemometr. Intell. Lab.* 86:60-67.