

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



TESIS DOCTORAL

Desarrollo de quesos de cabra madurados sin lactosa

Development of lactose-free ripened goat cheeses

Memoria para optar al grado de Doctor

Ángel Luis López Ruiz

Directores

Dra. Hortensia Galán Soldevilla

Dra. Pilar Ruiz Pérez-Cacho

Dr. Francisco de Asís Ruiz Morales

Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos

Programa de doctorado de Biociencias y Ciencias Agroalimentarias

Córdoba, mayo 2024

TITULO: *Desarrollo de quesos de cabra madurados sin lactosa*

AUTOR: *Ángel Luis López Ruiz*

© Edita: UCOPress. 2024
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>
ucopress@uco.es



INFORME RAZONADO DE LAS/LOS DIRECTORAS/ES DE LA TESIS



DOCTORANDA/O

Ángel Luis López Ruiz

TÍTULO DE LA TESIS:

Desarrollo de quesos de cabra madurados sin lactosa

INFORME RAZONADO DE LAS/LOS DIRECTORAS/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma)

El doctorando Angel Luis López Ruiz comenzó los trabajos de investigación de su tesis en el curso académico 2017/2018 en el Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Córdoba. Durante estos años ha simultaneado la realización de la tesis doctoral con su actividad profesional como Técnico Especialista en industrias lácteas, en el Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica (IFAPA), donde es coordinador del Proyecto Formativo en el Sector Lácteo (PR.FES.FES2019.012) y de actividades de investigación y transferencia tecnológica (PP.TRA23.TRA2023.016) de la Planta Piloto de Lácteos de Andalucía, del Centro IFAPA de Hinojosa del Duque.

Esta Tesis doctoral surge de la colaboración entre la Universidad de Córdoba y el IFAPA (Camino de Purchil e Hinojosa del Duque) y ha sido financiada por los Grupos de investigación AGR-020-Laboratorio de Estudios Sensoriales (GrupoSens) y AGR-210-Economía Rural y de los Recursos Naturales, dentro de los proyectos PP.TRA.TRA2019.008 "Retos de los Sistemas Ganaderos Andaluces y sus Productos" y PP.TRA23.TRA2023.016 "Innovaciones para la valorización de productos lácteos y cárnicos andaluces (INVALAC)".

Las pequeñas y medianas empresas lácteas andaluzas no tienen un nivel de conocimiento tecnológico adecuado para desarrollar productos lácteos adaptados a las nuevas necesidades del consumidor y se hace necesario investigar en esta área. El trabajo desarrollado en esta investigación ha contribuido a un mejor conocimiento sobre quesos funcionales. Fruto de este estudio han sido los artículos y comunicaciones a congresos publicados y que son fácilmente transferibles al sector lácteo andaluz.

En un primer trabajo de esta tesis se analiza el grado de innovación de las queserías artesanales andaluzas y se evalúa si éstas cubren las demandas de los consumidores andaluces. Este primer trabajo científico identifica a los lácteos sin lactosa como una de las demandas no cubiertas por las queserías en Andalucía. Uno de los principales avances logrados, en la presente tesis doctoral, fue conseguir quesos sin lactosa con perfil sensorial similar a los quesos convencionales, dada la baja calidad sensorial de los productos sin lactosa comercializados. Los primeros resultados obtenidos se publicaron en Foods (revista Q1 de Food Science and Technology, JCR) con el título "Effect of Lactose-reduction in Murciano-Granadina semi-hard goat cheese on physicochemical and sensory characteristics" y actualmente, está en revisión un segundo estudio en la revista LWT-Food Science and Technology (revista Q1 de Food Science and Technology, JCR) de título "Physicochemical and sensory characteristics of a soft goat's milk cheese made with plant coagulant (*Cynara cardunculus*, L.), and with or without lactose".

La transferencia de conocimiento de los trabajos de investigación realizados en esta tesis, servirán para aumentar la competitividad de las empresas lácteas andaluzas, y cubrir demandas que actualmente tienen los consumidores y no son cubiertas por el sector lácteo artesanal andaluz.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, a 30 de mayo de 2024

Las/los directoras/es

Fdo.: Hortensia Galán Soldevilla, Pilar Ruiz
Pérez-Cacho y Francisco de Asís Ruiz
Morales

RESUMEN · SUMMARY	7
INTRODUCCIÓN	17
1. SITUACIÓN DEL SECTOR LÁCTEO EN ANDALUCÍA	17
1.1. Producción Láctea.....	17
1.2. Las razas caprinas lecheras	21
2. EL QUESO DE CABRA	24
2.1. Definición de queso y clasificación	24
2.2. Proceso de elaboración.....	27
2.3. Calidad sensorial.....	39
2.4. Sellos de calidad de Quesos de cabra DOP en España	46
3. CULTIVOS Y ENZIMAS COAGULANTES EMPLEADOS EN LA ELABORACIÓN DE QUESO	49
3.1. Cultivos	49
3.2. Enzimas coagulantes	61
4. PRODUCTOS SIN LACTOSA	69
4.1. Tendencias de consumo en la industria láctea	69
4.2. Intolerancia a la lactosa	70
4.3. Métodos de reducción de la lactosa en productos lácteos	74
HIPÓTESIS DE PARTIDA Y OBJETIVOS	81
CAPÍTULOS	85
CAPÍTULO 1	87
CAPÍTULO 2	121
CAPÍTULO 3	143
DISCUSIÓN GENERAL	168
CONCLUSIONES	183
REFERENCIAS	189



RESUMEN - SUMMARY

RESUMEN

La intolerancia a la lactosa es cada vez más significativa a nivel mundial, y los consumidores demandan alternativas lácteas como leches, quesos y otros productos deslactosados, además de bebidas vegetales. Las pequeñas y medianas empresas lácteas andaluzas no tienen un nivel de conocimiento tecnológico adecuado para desarrollar productos lácteos funcionales adaptados a estas nuevas necesidades. La presente tesis doctoral contribuye a un mejor conocimiento sobre quesos de cabra sin lactosa evaluando el efecto de la reducción de lactosa en la composición y en la calidad sensorial de estos quesos. Para conseguir este objetivo, se plantearon tres estudios.

En el primero, se analizó el nivel de innovación de las queserías artesanales y la demanda de quesos de los consumidores, con un estudio de caso en la región de Andalucía (España). Se analizaron 80 queserías representativas de la totalidad del sector quesero artesano andaluz (que consta de 124 industrias) y 1.529 consumidores habituales de queso, de ambos sexos y diferentes edades, procedentes de distintas zonas de Andalucía, con la ayuda de cuestionarios previamente establecidos. A partir de los datos recopilados de los queseros y de los datos extraídos de los consumidores, se seleccionaron 6 variables de innovación dirigidas y una de innovación global para evaluar el grado de innovación de las queserías y las demandas de los consumidores. Los resultados obtenidos de las queserías mostraron el bajo nivel de innovación que éstas tienen al elaborar mayoritariamente, queso de cabra tradicional de corteza natural o con recubrimientos. Sólo un reducido número de ellas fabricaba, además, quesos de nuevas tecnologías (coagulación láctica, corteza enmohecida, queso azul) y una única quesería ofertaba productos lácteos funcionales de forma habitual. Con relación al estudio de consumidores, éstos demandan además del queso tradicional, quesos de nuevas tecnologías y muestran también interés por quesos funcionales, con distintivos de calidad, con diferentes formatos de presentación e incluso por productos lácteos diferentes al queso. Del análisis conjunto de los resultados de las queserías y los consumidores andaluces se observa que la demanda del consumidor no está siendo cubierta por las queserías.

En el segundo estudio, se planteó obtener el queso de cabra tradicional andaluz sin lactosa con un perfil sensorial similar al del queso tradicional. En un ensayo previo

se investigó la cantidad de enzima lactasa necesaria para que la lactosa residual en la leche permitiera la fermentación y maduración propia de estos quesos. Los resultados mostraron que la acción combinada de la enzima (0,125 g/L, 0,250 g/L, 0,5 g/L y 1 g/L) y de las bacterias lácticas reduce el contenido final de lactosa en el queso por debajo del 0,01% para considerarlos quesos sin lactosa según la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN). Los resultados del análisis de varianza (lote x dosis lactasa) aplicados para los parámetros de composición del queso indicaron que los contenidos en materia seca, grasa y cloruro sódico estaban más afectados por la composición de la leche de partida (lote) que por la dosis de lactasa añadida mientras que el grado de deslactosado (dosis lactasa) influía más en el pH. Los análisis de varianza (lote x dosis lactasa) aplicados a los atributos sensoriales mostraron que el efecto de la dosis de lactasa era más importante que la composición de la leche de partida en todos los atributos analizados excepto para la nota olfativa a yogur característica de la raza caprina Murciano-Granadina. Los quesos elaborados con la dosis menor de lactasa (0,125 g/l leche) mostraron un perfil sensorial similar al de los quesos control, definido por sus notas olfativas a yogur, mantequilla y bizcocho, sabor básico ácido y salado y una textura blanda, tierna y cremosa. Los quesos con las mayores dosis de lactasa tenían una mayor intensidad de olor/aroma a mantequilla, olor/aroma a bizcocho y un sabor dulce debido a las reacciones de pardeamiento de Maillard.

En el tercer estudio se abordó la posibilidad de obtener un queso de pasta blanda con leche cruda de cabra Murciano-Granadina y coagulante vegetal (*Cynara cardunculus* L.) similar a las tortas extremeñas y se investigó el efecto de la reducción de lactosa en estos quesos. Se elaboraron dos tipos de quesos utilizando diferentes cultivos: en el primero se utilizó únicamente cultivo iniciador comercial y en el segundo se adicionó una mezcla de cultivos comerciales de iniciación y de maduración. Fue necesaria la mezcla de cultivos de iniciación y de maduración para obtener un queso de pasta blanda con textura similar a las tortas extremeñas. El perfil sensorial de estos quesos se caracterizó por sus notas olfativas a mantequilla, yogur, bizcocho, frutos secos, vómito y cabra, similares al del queso de cabra murciano-granadina tradicional andaluz; un olor vegetal y un sabor amargo propio de los quesos elaborados con coagulante vegetal y una textura húmeda, soluble, cremosa y untada. Seguidamente, se estudió el efecto de la reducción de la lactosa en la composición y en el perfil sensorial de este queso. Para ello, se eligieron las dosis de 0,25, 0,50 y 0,75 g de lactasa por litro de leche, de acuerdo con los resultados obtenidos en el segundo estudio. Los análisis de varianza (lote x dosis lactasa)

aplicados a los parámetros de composición del queso indicaron que la materia seca y el contenido graso estaban más afectados por la composición de la leche de partida que por la dosis de lactasa añadida, mientras que el grado de deslactosado (dosis lactasa) influía más en el pH y en el contenido en sal. Todos los quesos, independientemente de la dosis de lactasa añadida, presentaron un nivel de lactosa residual inferior al 0,01% de acuerdo con la normativa española vigente para productos sin lactosa. Al igual que en el segundo estudio, los resultados del análisis sensorial mostraron que el efecto de la dosis de lactasa fue más significativo que la propia composición de la leche (lote) en todos los atributos sensoriales excepto en el olor/aroma a yogur y en el olor vegetal. Los quesos elaborados con la dosis más baja de lactasa (0,25 g/L) presentaron un perfil sensorial similar al de los quesos control y los elaborados con las dosis más altas de lactasa presentaron notas olfativas tostadas debido a las reacciones de Maillard más intensas y una textura más húmeda, soluble y fácil de untar que los quesos control.

Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral ponen de manifiesto la importancia que tiene el estudio de las características sensoriales de un producto para que éste tenga éxito en el mercado.

SUMMARY

Intolerance to lactose has become increasingly significant world-wide, with consumers demanding vegetable-based drinks, lactose-free milks and other lactose-free products like cheeses. Andalusian small and medium-sized cheese enterprises do not possess enough technological knowledge to create functional dairy products adapted to these new requirements. This doctoral thesis contributes to improving information on lactose-free goat's milk cheese, that is easily transferable to the sector. In order to attain this objective, three studies were proposed.

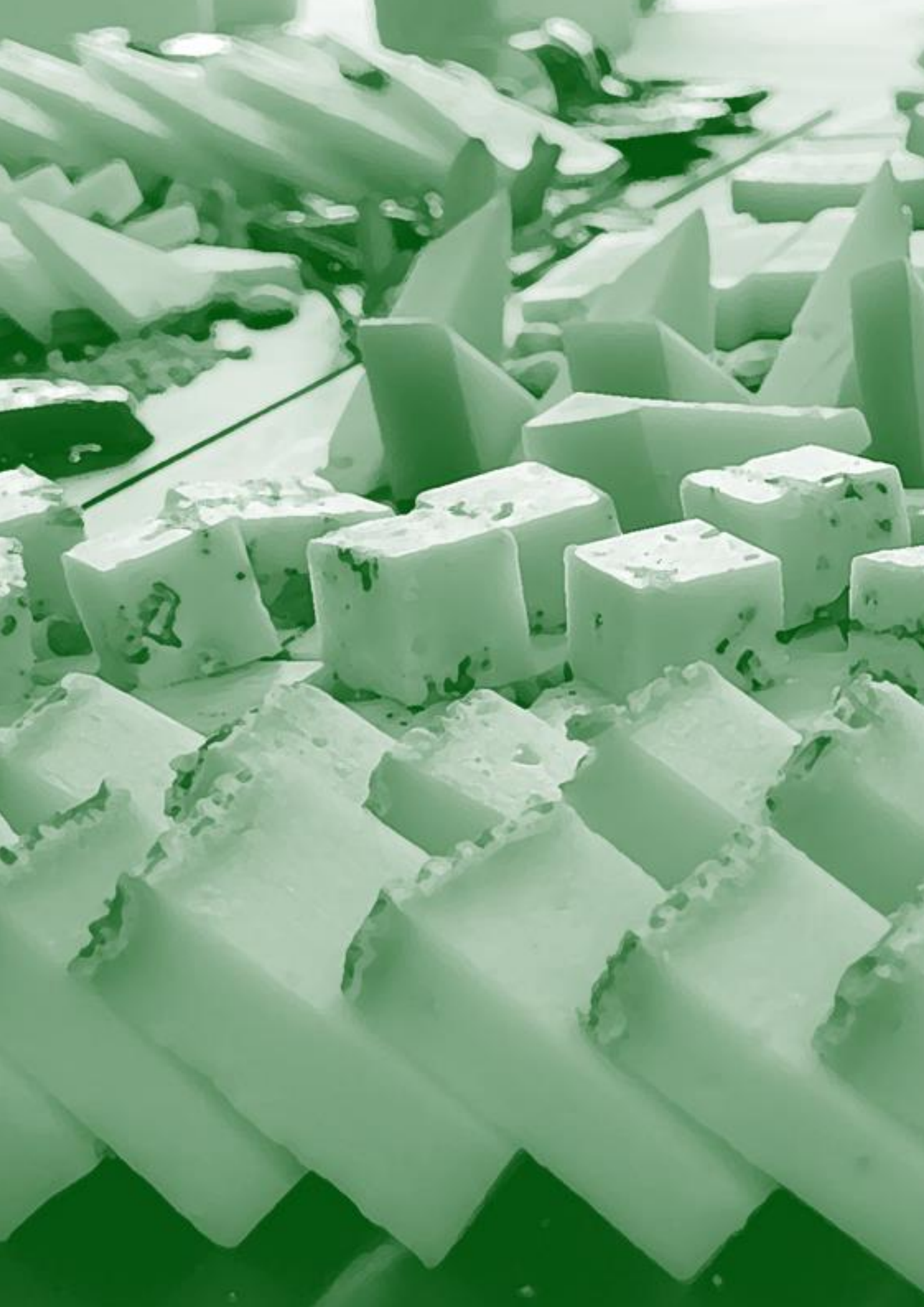
In the first, the innovation level of Andalusian cheese factories, and the demand for cheeses from Andalusian consumers, were analysed. Eighty cheese factories that were representative of the whole Andalusian artisanal cheese sector (124 industries) and 1,529 habitual cheese consumers, of both sexes and different ages from different areas of Andalusia, were surveyed with the help of previously established questionnaires. Taking the data collected from the cheese makers and those emitted by the consumers, 6 directed innovation variables, and one global one, were selected to evaluate the cheese factories' degree of innovation, and customer demands. The results obtained from the cheese factories showed their low innovation level, as they mostly manufactured traditional goat's milk cheese, with a natural rind or with coatings. Only a reduced number of factories also produced cheeses with new technologies (lactic coagulation, mouldy rind, blue cheese), and one single factory offered functional dairy products [apart from cheese?]. With regard to the answers from the consumers, the latter, in addition to traditional cheese, demand cheeses made with new technologies, and also show an interest for functional cheeses, with quality labels, different presentation formats, and even for dairy products differing from cheese. From the compilation of the Andalusian cheese factory and consumer results, it was observed that the consumer's demand is not being covered by the cheese makers.

In the second study, it was aimed to obtain a traditional Andalusian lactose-free goat's milk cheese with a similar sensory profile to that of the traditional cheese. A prior assay investigated the amount of the enzyme lactase necessary for the residual lactose in the milk to permit the typical fermentation and ripening of these cheeses. The results showed that the combined action of the enzyme (0.125 g/L, 0.250 g/L, 0.5 g/L and 1 g/L) and of the lactic bacteria reduces the final lactose content in the

cheese, i.e. to under 0.01% for it to be considered as lactose-free, according to the Spanish Agency of Food Safety and Nutrition (AESAN). The results of the analyses of variance (batch x lactase dose) applied for the cheese composition parameters indicated that its contents in dry matter, fat, and sodium chloride, were more affected by the composition of the starting-out milk (batch) than by the dose of lactase added, whereas the degree of the lactase dose had a greater influence on the pH. The analyses of variance (batch x lactase dose) applied to the sensory attributes demonstrated that the effect of the lactase dose was more important than the composition of the starting-out milk in all the attributes analysed, except for the olfactory note of yoghurt, a characteristic of the Murciano-Granadina goat breed. The cheeses made with the lower dose of lactase (0.125 g/l milk) had a similar sensory profile to that of the control cheeses, defined by their olfactory notes of yoghurt, butter and sponge cake, a basic acidic and salty taste, and a soft, tender, creamy texture. The cheeses with the highest doses of lactase had a greater intensity of odour/aroma, of butter and cake, and a sweet taste due to Maillard browning reactions.

In the third study, the possibility was addressed of obtaining a soft paste cheese with raw Murciano-Granadina milk and plant coagulant (*Cynara cardunculus* L.) similar to Extremaduran “Torta” cheese, and the effect of lactose reduction was investigated in those cheeses. Two types of cheese were produced using different cultures: in the first one only a commercial starter culture was employed, in the second, a mixture of commercial starter and ripening cultures was added. That mixture of cultures was necessary to obtain a cheese with a soft paste and a similar texture to the Torta cheese. The sensory profile of these cheeses is characterized by their olfactory notes of butter, yoghurt, cake, nuts, vomit, and goat, similar to those of the traditional Andalusian murciano-granadina goat cheese; a vegetable odour, and a bitter taste, typical of cheeses made with plant coagulant, and a moist, soluble, creamy and spreadable texture. Next, the effect of lactose reduction on the composition and sensory profile of this cheese was studied. For this purpose, the doses of 0.25, 0.50 and 0.75 g of lactase per liter of milk were selected, in accordance with the results obtained in the second study. The analyses of variance (batch x lactase dose) applied to the composition parameters of the cheese indicated that the dry matter and fat content were more affected by the composition of the starting-out milk than by the dose of lactase added, whereas the degree of lactase dosing had a greater influence on the pH and on the salt content. All the cheeses, regardless of the lactose?? dose added, presented a residual lactose level of below 0.01%, obeying the Spanish regulation in force for lactose-free products. The same as in the second

study, the results of the sensory analysis showed that the effect of the dose of lactase was more significant than the composition of the milk itself (batch) in all the sensory attributes except in the odour/aroma of yoghurt and in the vegetable odour. The cheeses made with the lowest dose of lactase (0,25 g/L) gave a similar sensory profile to that of the control cheeses, and those made with the highest doses





INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. SITUACIÓN DEL SECTOR LÁCTEO EN ANDALUCÍA

1.1. Producción Láctea

La producción de leche a nivel mundial procede, principalmente, de ganado vacuno (81%), seguido del bufalino (15%) y del caprino, ovino y camélido combinados (4,0%). La Unión Europea (UE) produce el 30,4 % de leche de vaca, el 29,7 % de leche de oveja y el 15 % de leche de cabra del total mundial (OECD-FAO, 2022). España tiene un volumen de producción de 7.623.000 t de leche de vaca, 560.300 t de leche de oveja y 519.200 t de leche de cabra del total de la UE, ocupando el séptimo lugar en producción de leche de vaca (tras Alemania, Francia, Reino Unido, Holanda, Italia e Irlanda) y el segundo lugar en leche de oveja (solamente superado por Grecia) y cabra (después de Francia) (FAOSTAT, 2021).

En la UE se producen 10,24 Mt de queso, de las que 197.000 t corresponden al queso puro de cabra. A nivel nacional se elaboran 548.000 t de queso (5,4% UE), de las que 64.000 t son de queso puro de cabra, lo que sitúa a España en segundo lugar (32,3%) tras Francia (43,9%) en la UE. La leche de cabra se destina también a la elaboración de quesos de mezcla, donde España (35,68% UE) es el segundo productor tras Grecia (39,7 % UE). A escala nacional, el 13% corresponde a queso puro de oveja, el 12% a queso puro de cabra, y el 34% a queso mezcla (MAPA, 2022b).

El consumo de leche y productos lácteos en España difiere del resto de la UE, porque el consumidor español elige principalmente leche con una vida útil larga, un mayor consumo de yogures y quesos y un menor consumo de mantequilla. En cuanto al consumo de queso, el de cabra es muy bajo en comparación con otras tipologías de quesos, suponiendo un 3,76% del total y 270 gramos por persona y año (Gámiz Ramírez et al., 2021).

España exporta nata, mantequilla y quesos, principalmente a la Unión Europea (Francia, Portugal e Italia) y China. Por otro lado, importa quesos, leche en polvo y mantequilla de países comunitarios (Francia, Portugal, Alemania, Países Bajos e

Italia). La balanza comercial del sector lácteo español es negativa (Tabla 1) siendo las importaciones mayores a las exportaciones (MAPA, 2023b).

Tabla 1. Volumen de exportaciones e importaciones de productos lácteos (t) de España en 2022. Fuente: DATACOMEX-AEAT, elaboración SGPGyC (MAPA).

Productos	Exportación	Importación
Leche	80.524	105.411
Nata	287.039	225.377
Leche fermentada	46.882	27.858
Leche concentrada	66.636	34.494
Leche en polvo	73.894	408.997
Mantequilla	392.841	396.080
Quesos	505.743	2.269.479
TOTAL	1.453.560	3.467.696

En Andalucía la producción de leche de vaca asciende a 526.975 t, lo que supone el 7,7 % de la producción nacional, situándose en cuarta posición tras Galicia, Castilla y León y Cataluña (MAPA, 2023d). El volumen de leche de oveja producida, 11.576 t, representa el 2,1% del total nacional, situándose en sexto lugar, tras Castilla y León, Castilla la Mancha, Navarra, Madrid y Extremadura. Respecto a la leche de cabra, Andalucía es líder indiscutible con 220.930 t, que supone el 43,9 % del total nacional, siendo la segunda región productora de la Unión Europea con un 9% del total de leche de cabra (MAPA, 2022b). Sin embargo, el volumen de leche de cabra transformado en Andalucía es muy bajo con relación a la cantidad producida (10 %), el resto se utiliza como materia prima en la elaboración de quesos de mezcla en otras comunidades autónomas y quesos de cabra en Francia. El consumo de queso de cabra es menor al de la media nacional con un 3,38% del total y 250 gramos per cápita. Esto implica que el sector tiene muchas oportunidades para incrementar el consumo interno de quesos y otros lácteos a partir de leche de cabra (Gámiz Ramírez et al., 2021). La transformación de leche de vaca, de menor relevancia aun, se limita prácticamente a quesos frescos puros de vaca o mezcla vaca-cabra. La de oveja es aún más residual, dirigiéndose a quesos madurados puros de oveja y mezcla con cabra (Ruiz Morales, 2012).

La leche de cabra se transforma en quesos puros de cabra, mayoritariamente, en queserías artesanas distribuidas por todo el territorio andaluz, siendo las

provincias de Sevilla, Málaga, Cádiz y Granada las que disponen de mayor número de ellas (Tabla 2). Estas queserías familiares, de tamaño pequeño y mediano y capacidad de transformación entre los 500 y 2.500 litros diarios, se caracterizan por estar atomizadas, presentar un escaso nivel asociativo, y mantener una estrecha relación con la producción primaria, que favorece la protección de los ecosistemas rurales, la prevención de incendios forestales y la calidad y seguridad alimentaria (Pantoja et al., 2017).

Tabla 2. Distribución de queserías por provincias en Andalucía. Fuente: Empresas Alimentarias Inscritas (RGSEAA) y AESAN 2023.

Provincia	Nº empresas elaboración quesos madurados	Nº empresas elaboración quesos frescos	Nº total de empresas	Nº empresas provincia /total Andalucía
Almería	6	10	10	6,7%
Cádiz	21	18	24	16,0%
Córdoba	15	15	17	11,3%
Granada	23	19	24	16,0%
Huelva	9	4	9	6,0%
Jaén	10	10	10	6,7%
Málaga	26	27	27	18,0%
Sevilla	23	24	29	19,3%
TOTAL	133	129	150	100,0%

Estas queserías desarrollan distintas tipologías de quesos, siendo el tradicional aquel elaborado con leche cruda o pasteurizada, de pasta prensada, coagulación enzimática, con distintos grados de maduración (tierno, semicurado, curado, viejo y añejo) y con corteza natural o recubrimientos tradicionales (aceite de oliva, especias, hierbas aromáticas, vino, salvado de trigo o manteca de cerdo). Aunque Andalucía es una potencia en producción de leche de cabra a nivel nacional y europeo, no cuenta con quesos con distintivos de calidad diferenciada como DOP o IGP. No obstante, dispone de un importante patrimonio quesero, con diversos quesos tradicionales asociados al territorio, muy valorados por los consumidores (de la Haba Ruiz et al., 2016). En los últimos años, estas queserías han ido diversificando su

producción elaborando otros tipos de productos lácteos (quesos de pasta azul, quesos de coagulación láctica, yogures, postres...) motivadas por los cambios en los hábitos de consumo y por la formación técnica y la accesibilidad de los productores a las infraestructuras y equipos para su desarrollo (Ruiz Morales, 2021).

En la actualidad, las queserías andaluzas, para su supervivencia, necesitan abordar los siguientes retos (de la Haba Ruiz et al., 2016; Gámiz Ramírez et al., 2021):

- Incrementar el nivel de asociacionismo. Las queserías se encuentran atomizadas y apenas el 20 % de las queserías de Andalucía pertenece a asociaciones del sector. Esto dificulta la interlocución con las Administraciones Públicas para el acceso líneas de desarrollo específicas conjuntas de promoción.
- Crear denominaciones de calidad diferenciada, DOP e IGP, que sirvan de estandartes de las producciones tradicionales. Existen ya, en distintas fases, varias iniciativas para la consecución de estas distinciones, como la “DOP Quesos de Málaga”, “DOP Quesos de la Sierra de Cádiz” o “DOP Queso de los Pedroches”.
- Articular la normativa específica para Queso Artesano y Queso Artesano de Granja (Junta de Andalucía, 2013). La aplicación global de la norma para regular el etiquetado de los quesos artesanos se encuentra bloqueada por los criterios necesarios para su puesta en marcha y el consenso con las empresas queseras.
- Aumentar el grado de innovación de las queserías andaluzas para su diferenciación con respecto a las grandes industrias, a través del apoyo de entidades científico-técnicas. El modelo empresarial de este sector, habitualmente con escasos márgenes comerciales, no permite disponer de personal con dedicación para el desarrollo de nuevos productos.
- Mejorar los canales de comercialización más allá de los circuitos clásicos locales. El consumidor tiene dificultad para poder conocer y acceder a las producciones de las queserías de Andalucía. Sólo una proporción reducida de los productos tradicionales andaluces se comercializa más allá de Andalucía o se destina a la exportación.

1.2. Las razas caprinas lecheras

La cabra es una especie ampliamente extendida a nivel mundial, que se adapta mejor que la vaca y la oveja a diversos hábitats ya que habitualmente es más rústica y capaz de optimizar el aprovechamiento de los recursos naturales. El destino fundamental del ganado caprino es la leche y la carne, asociándose generalmente a regiones con pocos recursos económicos o condiciones agroclimáticas adversas, aunque en países desarrollados la leche de cabra se destina a la producción de quesos tradicionales. Asia y África concentran el mayor censo de caprino, y por países, China e India son los que más cabras aportan. En las regiones en desarrollo el destino principal de este ganado es la producción de carne, en cambio en Europa se destina a la obtención de leche. En la Unión Europea el caprino se encuentra localizado fundamentalmente en los países mediterráneos y alcanza 11,03 millones de cabezas que se distribuyen en diversos sistemas de explotación, extensivos como Grecia aprovechando los pastos, e intensivos como en Francia y Países Bajos (Gámiz Ramírez et al., 2021).

España presenta una gran diversidad de tipos de explotaciones caprinas, con distintos regímenes de explotación y grados de tecnificación que suele estar asociados a la raza. En número de cabezas, en 2021, se contabilizaron 2.589.761 (2,3% menor que 2020). Esto supone que España se sitúa en segunda posición tras Grecia (2,8 millones de cabezas) y seguido de Rumanía (1,6 millones), Francia (1,4 millones) e Italia (1,06 millones). Por Comunidades Autónomas, el censo de ganado caprino se concentra en Andalucía (38%), Castilla - La Mancha (14%), Extremadura (10%), Murcia (8%) y Canarias (8%). El sector caprino en España se encuentra orientado fundamentalmente a la producción de leche, que en 2021 contaba con 1.644.453 hembras, el 74% de aptitud lechera (1.219.835 en ordeño), localizadas mayoritariamente en Andalucía (40%), Castilla-La Mancha (15%), Extremadura (11%), Canarias (10%), Murcia (10%) y Castilla y León (6%) (MAPA, 2022a).

En Andalucía el ganado caprino tiene orientación eminentemente lechera (89,69% de los animales). Destacan en número de cabezas Málaga (22,11%), Sevilla (16,33%), Almería (15,94%), Granada (15,34%) y Cádiz (12,73%) (SIMA, 2021). En número de explotaciones de caprino de leche, Andalucía cuenta con 3.195, 52% a nivel nacional, que supone una reducción del 1% con respecto a 2020. La mayor parte de las explotaciones tienen una dimensión media de 250 cabezas, con una

tendencia hacia sistemas de explotación intensivos o semi-extensivos. El sector caprino lechero es trascendental para Andalucía ya que muchas familias, gracias a la creación o mantenimiento de este tipo de explotaciones, subsisten en zonas rurales con escasos recursos que proporcionen alternativas de negocio. Además, estas actividades económicas se encuentran en perfecto equilibrio con su entorno. Es por ello por lo que la magnitud de este sector es más significativa que lo que indican sus cifras económicas, ya que además tiene un papel importante en las esferas social, cultural y medioambiental.

Las ganaderías andaluzas disponen principalmente, de animales procedentes de sus cuatro razas autóctonas de aptitud lechera: Murciano Granadina, Malagueña, Florida y Payoya, siendo el cabrito un ingreso secundario y muy inferior al de la leche. Las razas autóctonas han sido explotadas tradicionalmente en sus zonas de origen, donde las razas exóticas no son competitivas. De este modo la Murciano-Granadina se ubicaba en Andalucía oriental (Granada, Almería y parte de Jaén y Córdoba), la Malagueña en Málaga principalmente (también por costa de Granada y parte de Almería), la Florida se ubicaba en Sevilla, Córdoba y Huelva, mientras que la Payoya por las Sierras de Cádiz y la Serranía de Ronda (Málaga). Las tres primeras razas autóctonas se encuentran en expansión (Murciano-Granadina, Florida y Malagueña), mientras que la Payoya está catalogada como amenazada (Gámiz Ramírez et al., 2021). Las características más importantes de las razas autóctonas de actitud lechera, que determinan su potencial genético, su manejo y la calidad de la leche, se enumeran a continuación (RFEAGAS, 2023).

Malagueña

Procede del tronco pirenaico y africano. Aunque está muy extendida por la península ibérica se concentra, principalmente, en la provincia de Málaga. También es conocida como Veleña o Costeña ya que su origen podría ser la Axarquía, comarca cuya capital es Vélez Málaga. Su capa es uniforme, de color rubio, con variaciones del claro al oscuro o retinto. Presenta ubres abolsadas o globosas de buenas capacidades e inserciones que las hacen buenas productoras de leche. Se explotan en sistema semi-extensivo, tienen elevada rusticidad, buena adaptabilidad a ambientes marginales y resistencia frente a enfermedades. La lactación tiene una duración media de 268 días con una producción de 502 kg de leche con unos porcentajes de grasa y proteína elevados (4,8 y 3,4, respectivamente), siendo idónea

para la producción de derivados lácteos, especialmente de quesos. Aunque su uso principal es para leche, también puede destinarse para la producción de carne. Así, es reconocido el chivo lechal Malagueño que se obtiene a partir de animales sacrificados con un mes de vida, 8 kg de peso y que nunca se ha alimentado de alimento sólido.

Murciano-Granadina

De forma similar a la cabra Malagueña, procede del tronco europeo con influencias africanas y las zonas de origen, Murcia y Granada, dan nombre a esta raza. Hoy día se distribuye por toda la Península Ibérica. Son animales de capa continua, de color negro a caoba y muy rústicos, que se adaptan a las condiciones climáticas diversas de las zonas áridas y montañosas mediterráneas. Pueden pastorear cerca de la explotación en régimen semi-intensivo, o consumir heno y subproductos agrícolas cuando no hay pastos. Su orientación principal es la producción de leche, con una media de 530 kg por lactación. Su contenido elevado en proteína (3,6%) y grasa (5,6%), son ideales para la elaboración de quesos.

Florida

Esta raza procede del Bajo Valle del Guadalquivir de la provincia de Sevilla y su origen deriva del tronco pirenaico y nubiano. El aspecto moteado rojo de su capa sobre fondo blanco o viceversa le da nombre a la raza. En la actualidad se ha expandido a toda Andalucía y parte de Extremadura. Son animales muy rústicos cuyo manejo, en sistemas semi-extensivos, y su morfología, le permiten obtener elevados rendimientos con el consumo de pastos. La lactación media se prolonga 274 días y su promedio de producción es de 575 kg, con un 4,9% y 3,4%, de grasa y proteína respectivamente.

Payoya

El origen de esta raza, Villaluenga del Rosario, cuyo gentilicio popular es Payoyo, da nombre a la misma. Puede ser denominada a su vez como Montejaqueña. Procede del cruce del tronco Pirenaico y cabras autóctonas de la Sierra de Grazalema. Se distribuye fundamentalmente en la Sierra de Cádiz y Málaga, regiones caracterizadas por su altitud y pluviometría. Son animales de porte

alto y generalmente con pelo corto y capas diversas tricolores, negro blanco y rojizo. Las ubres disponen de pezones divergentes y forma abolsada. Se explotan en sistemas semi-extensivos, donde los pastos constituyen la fuente principal de recursos de su alimentación. La cabra Payoya no solo genera empleo y riqueza, sino que también juega un papel en la fijación de la población en las zonas rurales donde el desempleo es alto. Cabe destacar su alta capacidad para transformar los recursos naturales pastorales en alimento. La lactación se alarga 220 días, donde produce de media 440 kg de leche, con 4,2% y 3,5% de grasa y proteína, respectivamente. La venta de cabritos con lactancia natural da lugar a una carne de elevado valor añadido.

Las cuatro razas de ganado caprinas de leche de Andalucía están protegidas por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación por el patrimonio genético que representan y por el beneficio que ocasionan sobre el medio rural (Figura 1). El logotipo “100% Raza Autóctona” se le concedió a la Malagueña, Murciano Granadina y Payoya para la carne, productos cárnicos, leche y productos lácteos procedentes de estas razas. En el caso de la Florida solamente para los productos lácteos (MAPA, 2023c). Este logotipo, de uso voluntario, permite al consumidor reconocer las producciones de razas autóctonas en su etiquetado y conocer donde puede encontrarlo. Se encuentra regulado el uso del logotipo raza autóctona por el Real Decreto 505/2013, de 28 de junio.



Figura 1. Logotipo de razas autóctonas de aptitud leche de Andalucía

2. EL QUESO DE CABRA

2.1. Definición de queso y clasificación

La norma de calidad del queso establece que este es el producto fresco o madurado, sólido o semisólido, obtenido de la leche, de la leche total o parcialmente desnatada, de la nata, del suero de mantequilla o de una mezcla de algunos o de

todos estos productos, coagulados total o parcialmente por la acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, antes del desuerado o después de la eliminación parcial de la parte acuosa, con o sin hidrólisis previa de la lactosa, siempre que la relación entre la caseína y las proteínas séricas sea igual o superior a la de la leche. La denominación de “queso” se completa, según corresponda, con diversas indicaciones (Ministerio de la Presidencia, 2006, 2015):

- Según el origen de la leche:

Los quesos que no tengan una denominación concreta o aquellos que aun teniéndola no estén protegidos por una norma individual de composición y características específicas, que se fabriquen con leche distinta de la de vaca, deberán incluir en su denominación después de la palabra “queso” la indicación de la especie que corresponda. Los quesos elaborados con mezcla de leche de dos o más especies deberán incluir en su denominación, después de la palabra queso, la indicación de las especies animales de las que proceda la leche en orden descendente de proporciones. Esta denominación podrá reemplazarse por la de “Queso de mezcla”.

- Según su maduración:
 - Queso fresco: es el que está dispuesto para el consumo al finalizar el proceso de fabricación.
 - Queso blanco pasteurizado: es aquel queso fresco en el que el coágulo obtenido se somete a un proceso de pasteurización, quedando dispuesto para el consumo al finalizar su proceso de fabricación.
 - Queso madurado: es el que, tras el proceso de fabricación, requiere mantenerse durante cierto tiempo a una temperatura y en condiciones tales que se produzcan los cambios físicos y químicos característicos del mismo. La palabra madurado podrá sustituirse por los calificativos según el grado de maduración alcanzado por el producto a la salida de fábrica (Tabla 3).
 - Queso madurado con mohos: es aquel en el que la maduración se produce, principalmente, como consecuencia del desarrollo característico de mohos en su interior, en la superficie o en ambas

partes. Dicha denominación podrá sustituirse por la de “queso azul” o “queso de pasta azul”, cuando corresponda.

Tabla 3. Denominaciones según el grado de maduración (Ministerio de la Presidencia, 2006).

Denominaciones facultativas	Peso > 1,5 kg	Peso ≤ 1,5 kg
	Maduración mínima en días	
Tierno	7	
Semicurado	35	20
Curado	105	45
Viejo	180	100
Añejo	270	

- Según su contenido de grasa: se indicará el contenido mínimo de materia grasa por cien gramos de producto acabado que se corresponderá con el que contenga el producto a la salida de fábrica. Sin embargo, esta mención no es exigible cuando forme parte del etiquetado nutricional. Podrá incluir, facultativamente, las menciones, graso y extragrasso, de acuerdo con las siguientes condiciones:
 - Graso: Cuando el queso contenga un mínimo de 45 y menos de 60 por ciento de materia grasa sobre el extracto seco total.
 - Extragrasso: Cuando el queso contenga un mínimo de 60 por ciento de materia grasa sobre el extracto seco total.

Además de la denominación normativa, debido a la gran variedad de quesos elaborados en el mundo, existen diversas clasificaciones que tienen en cuenta la textura o el proceso tecnológico. Las propiedades mecánicas más débiles de la cuajada de leche de cabra en comparación con la de vaca, limitan la variedad de quesos que se pueden producir. La mayoría de los quesos de cabra se clasifican en los siguientes grupos:

- Quesos frescos: sin madurar, con bajo contenido de materia seca (menos del 25%).

- Quesos de pasta blanda: hechos principalmente de cuajada láctica o mixta, de pequeño tamaño, forma cilíndrica o piramidal, y a menudo con moho o ceniza en la superficie.
- Quesos semiduros o duros: de coagulación enzimática, de mayor tamaño, forma cilíndrica plana (rueda) y corteza seca.

2.2. Proceso de elaboración

Las operaciones básicas en la elaboración de los quesos constituyen las etapas necesarias para desarrollar, mediante el control de distintos parámetros tecnológicos, la transformación de la leche en queso. La leche es un producto vivo que experimenta cambios de forma continua, modificándose su estructura y su equilibrio microbiológico. Previamente a la elaboración de queso es necesario conocer el estado sanitario, manejo reproductivo y alimentación de los animales, las condiciones de almacenamiento y composición físico química de la leche y otros factores que influyen en el perfil sensorial del producto final (Gillis et al., 2018). Pero a su vez la calidad del queso se ve influenciada por las características del coágulo, el trabajo mecánico, el salado y las condiciones de maduración, por lo que es indispensable el conocimiento y descripción de las fases del proceso tecnológico de elaboración de queso (McSweeney, 2017).

2.2.1. Operaciones previas

Los quesos de cabra pueden elaborarse a partir de leche cruda o de leche pasteurizada, en función de las características particulares de cada tipología de queso. La leche cruda no puede ser calentada a una temperatura que supere los 40 grados o tratamiento con efecto equivalente. En cambio, la leche pasteurizada es aquella sometida a un tratamiento térmico de intensidad media, que tiene como finalidad la aplicación de temperaturas de entre 60 - 85 °C y tiempos de entre 15 segundos hasta 30 minutos, que dependerán de los objetivos empresariales que se persigan con dicho tratamiento. Muchas tecnologías queseras son muy sensibles al tratamiento térmico de la leche, llegando en ocasiones a inhibir el proceso de coagulación y sinéresis de la cuajada (Scott, R. et al., 2010). También puede afectar en función de la intensidad el mismo a la destrucción de componentes aromáticos, responsables de las características organolépticas del queso.

En los quesos pasteurizados, antes del proceso de coagulación se debe acondicionar la leche añadiendo cloruro cálcico y fermentos lácticos para mejorar su aptitud tecnológica. El contenido de calcio de la leche fluctúa durante la lactación, por la alimentación y por otras variables complejas. Además, la refrigeración o el tratamiento térmico alteran el equilibrio entre la fase soluble y coloidal (Hougaard et al., 2010). Para la corrección del contenido cálcico las empresas queseras utilizan una solución de cloruro cálcico (CaCl_2), a una dosis de 0 a 20 g/100 litros de leche, sin afectar la calidad final del queso. El aumento del calcio en el queso, especialmente el calcio insoluble ligado a la caseína incrementa la firmeza y la fuerza necesaria para romperlo. Con relación a los fermentos lácticos, la pasteurización elimina los microorganismos patógenos indeseables, pero también los microorganismos que influyen positivamente en la elaboración de los quesos, responsables de sus propiedades aromáticas y textura características. Por tanto, en los quesos madurados de leche pasteurizada deben añadirse cultivos o fermentos lácticos antes de la coagulación para poder llevar a cabo el proceso de fermentación. En elaboraciones de quesos madurados de leche cruda, teóricamente no sería necesario inocular cultivos comerciales ya que están presentes los de la leche de partida. Sin embargo, es frecuente añadirlos también, aunque en dosis inferiores, cuando la carga microbiológica de la leche de partida sea baja (≤ 1000 UFC/ml) (Tabla, 2019). Según el tipo de elaboración podemos utilizar diferentes tipos de fermentos lácticos, que se presentan en multitud de formatos, pero los más extendidos son los liofilizados y congelados. De forma general para el desarrollo de quesos de cabra son necesarios cultivos de arranque y en determinadas ocasiones, cultivos de maduración.

2.2.2. Coagulación

En la transformación de la leche líquida en una matriz semisólida se produce un fenómeno bioquímico, denominado coagulación, que provoca la precipitación de las proteínas de la leche, especialmente la caseína, formando un gel de consistencia semisólida dotado de cierta estabilidad y elasticidad. En función de la naturaleza de la coagulación (actividad enzimática, acidificación bacteriana o por acción conjunta), se podrán establecer diferentes tipologías de coagulación: enzimática, ácida o mixta (Fox et al., 2017).

Cabe destacar que las características de la cuajada de la leche de cabra son distintas a las de la leche de vaca, incluso cuando se producen en las mismas condiciones (Grosclaude et al., 1994). Las limitaciones en la elaboración de quesos con leche de cabra se originan por su bajo contenido de α -caseína, especialmente de α 1-caseína, y su alto contenido de β -caseína. Estas diferencias en la composición se deben a los diferentes tipos de α 1-caseína que existen en la leche de cabra. La leche de cabra con bajo contenido de α 1-caseína produce una cuajada menos firme, lo que reduce la retención de proteínas y el rendimiento de queso en comparación con la leche de cabra con alto contenido de α 1-caseína (Skeie, 2014; Stocco et al., 2018).

Coagulación enzimática

Este tipo de coagulación es la correspondiente a los quesos elaborados por acción del cuajo o coagulante. Tradicionalmente se ha utilizado el cuajo, cuyo componente activo está constituido por la mezcla de las enzimas obtenidas por extracción de los cuajares de rumiantes jóvenes. Sin embargo, el incremento de la producción de quesos ha ocasionado que el volumen de cuajo animal sea incapaz de satisfacer la demanda actual, por lo que se han desarrollado multitud de investigaciones para obtener sustancias de actividad similar como los coagulantes microbianos y genéticos y los coagulantes vegetales (Fresno et al., 2023).

En la coagulación enzimática tiene lugar la hidrólisis de una fracción superficial de la micela de caseína, originando la pérdida de repulsiones estéricas y electroestáticas y de su capa de hidratación. El gel resultante de este tipo de coagulación es elástico, mineralizado (elevado contenido en calcio) e impermeable. Para el desuerado posterior de este gel es necesario implementar acciones mecánicas (cortar y agitar), así como el calentamiento y/o acidificación de la cuajada. Además de intervenir en el proceso de coagulación, las enzimas coagulantes tienen actividad durante la maduración e influyen sobre la textura y aromas del queso (McSweeney, 2017).

La etapa de coagulación es fundamental en la conformación estructural de la matriz o cuajada, por lo que es muy importante comprender su desarrollo. Se pueden diferenciar, claramente, dos fases en el proceso de coagulación, la fase enzimática y la fase de precipitación. La primera fase comienza con la acción del cuajo sobre la

κ -caseína, más concretamente sobre el enlace Phe105 - Met106, descomponiéndola en dos fracciones, paracaseinato cálcico (carácter básico e hidrofóbico, disminuyendo el grado de hidratación de la micela) y caseino macropéptido (carácter ácido e hidrofílico, se pierde con el suero). En la segunda fase el paracaseinato formado precipita en presencia de iones de calcio, y se van formando una red de agregados moleculares proteicos que aumentan de tamaño incluyendo en su interior otros elementos de la leche, principalmente suero y grasa. La actividad del cuajo no afecta a las proteínas séricas que permanecen solubles en el suero (Scott, R. et al., 2010).

Existen diversos parámetros tecnológicos que afectan a la coagulación como el pH y la temperatura. El pH de la leche tiene una gran influencia sobre la aptitud de la leche para la coagulación, ya que afecta a la actividad enzimática modificando los tiempos tecnológicos y la velocidad de coagulación, así como el nivel de desuerado, el rendimiento quesero y la composición del queso tras el desmoldeo. La temperatura influye sobre la actividad coagulante de la enzima, es decir, sobre el tiempo de coagulación (mayor actividad a 40-41 °C), la capacidad de hidratación y la contracción de la cuajada (Fox et al., 2017).

Coagulación ácida

Este proceso se lleva a cabo por la acción de los microorganismos presentes en la leche cruda o por los fermentos comerciales incorporados. Concretamente se debe a la acción de las bacterias lácticas o bacterias ácido-lácticas (BAL), que transforman la lactosa (azúcar principal de la leche) en ácido láctico, disminuyendo el pH de la leche y favoreciendo la precipitación de las caseínas.

En medio acuoso, el ácido láctico se disocia originando una parte ácida (H^+) y otra básica, el lactato. Estos protones generados (H^+) se unen a los iones fosfatos (PO_4^{3-}) que se encuentran naturalmente en solución en la leche, y forman ácido fosfórico (H_3PO_4), por lo que disminuye la concentración de ambos. No existe variación de pH puesto que no se incrementa la concentración de protones. En cambio, la acidez Dornic sí, ya que existe formación de componentes ácidos. Derivado de la reducción de la concentración de los grupos fosfato (PO_4^{3-}) disueltos, el fosfato de calcio micelar ($Ca_3(PO_4)_2$) sale de la micela y se divide en calcio (Ca^{2+})

y grupos fosfato (PO_4^{3-}), originando la eliminación de los enlaces entre submicelas. Esto origina la disgregación de la micela, y la salida del calcio, aumentando su concentración en el suero. Al continuar la hidrólisis de la lactosa, sigue aumentando la generación de ácido láctico, que se separa en protones (H^+) y lactato. Estos protones continúan uniéndose a los grupos fosfato (PO_4^{3-}) disponibles, por lo que el pH se mantiene estable, mientras que la acidez sigue aumentando. Cuando los grupos fosfato se agotan, los protones formados por las bacterias lácticas incrementan su concentración, descendiendo el pH de la leche hasta valores próximos al punto isoeléctrico (pH 4,60) y disminuyendo por tanto la carga neta de las micelas de caseína (κ y β). Esto da lugar a la solubilización y a la disminución de la hidratación de la micela que origina finalmente la agregación de las micelas y la formación de un gel o coágulo (Fox et al., 2017; IDF, 2007).

Debido al proceso fermentativo, se produce una solubilización del calcio, obteniéndose un coágulo muy desmineralizado, lo que supone la obtención de un gel friable y poroso. Ello ocasionará una fuerte retención de suero, dando lugar a quesos con un contenido en humedad elevado. Durante este proceso los iones de calcio (Ca^{2+}) libres se combinan con el ácido láctico para constituir moléculas de lactato cálcico, que darán lugar a sabores amargos si se producen de manera desmedida. Este proceso de coagulación se desarrolla lentamente, pues las distintas fracciones proteicas experimentan ese fenómeno sucesivamente (Gillis et al., 2018).

2.2.3. Corte

Tras la obtención de un coágulo con una firmeza adecuada, la cuajada debe ser cortada para posibilitar la extracción del suero con liras o cuchillas. Si la firmeza de la cuajada es débil (corte antes de tiempo), se incrementa la pérdida de proteínas, grasas y minerales, con el consecuente descenso del rendimiento. En cambio, si el gel es excesivamente firme (corte después de tiempo), será más difícil obtener un tamaño de grano adecuado, dando lugar a una cuajada de difícil desuerado, mayor humedad en el queso final y una disminución en la recuperación de la grasa (Johnson et al., 2001). El inicio del corte debe ser lento y progresivo para poder obtener un rendimiento quesero elevado. Se trata de aumentar la superficie de desuerado para que el coágulo se contraiga y se incremente su dureza y elasticidad. Tras un primer corte, en leche de cabra se recomienda realizar una parada para que el grano se

endurezca y comenzar con el segundo corte, que se realiza paulatinamente a mayor velocidad hasta conseguir el tamaño objetivo. El tamaño final de los granos de cuajada dependerá de la tecnología. De esta forma en quesos con predominio láctico, esta operación va a ser más débil que en quesos con predominio enzimático de larga maduración (Law & Tamime, 2010).

2.2.4. Trabajo del grano

Esta operación básica consta de dos variables, la agitación y el recalentamiento, que persiguen evitar la agrupación de los granos de cuajada para facilitar el desuerado y la homogeneización térmica. Tras el corte los granos de la cuajada se deben agitar con suavidad para evitar pérdidas de rendimiento. Posteriormente, se incrementa la velocidad de agitación conforme el grano va adquiriendo la consistencia adecuada. Paralelamente se calienta la cuajada, para favorecer la contracción del grano y, de esta forma, facilitar el desuerado. La velocidad de calentamiento es variable en función de la tecnología y el tipo de queso a obtener. La duración de la agitación y el incremento de temperatura del recalentamiento depende de la tipología de queso que se pretende elaborar, con una humedad y grado de acidificación determinado (Law & Tamime, 2010).

2.2.5. Desuerado

Para la obtención del queso es necesario concentrar los componentes de la leche, separándola en dos fracciones, la cuajada y el lactosuero. La cuajada contendrá las caseínas, la mayor parte de la materia grasa y una proporción variable de minerales, además de agua y otras sustancias solubles. El suero lácteo en cambio estará formado mayoritariamente por agua, lactosa y proteínas séricas. Durante el proceso productivo el desuerado tiene lugar en dos etapas. En la primera de ellas, el desuerado como tal, se libera la mayor parte del suero y comprende desde el fin de la coagulación hasta la conclusión del moldeado. La segunda, el desuerado complementario, discurre desde el desmoldeado hasta el final del afinado, y se debe al salado y oreo. El desuerado regula el contenido de humedad, lactosa y el gradiente de mineralización del grano (Gillis et al., 2018).

El desarrollo del desuerado difiere de unas tecnologías a otras, en función del tipo de coágulo. El desuerado de un coágulo láctico, es complejo y da lugar a

cuajadas húmedas, ya que existe gran dispersión proteica, una contracción del gel casi inexistente y una estructura sin mineralizar. En cambio, el desuerado de los geles enzimáticos y mixtos, que presentan cohesividad, son elásticos, porosos y poco permeables, necesitan de tratamientos mecánicos (corte, agitación, etc.) de mayor intensidad cuanto mayor sea el extracto seco de los granos de cuajada deseado (Mahaut, M. et al., 2003).

2.2.6. Moldeado

En esta etapa los granos de cuajada se introducen en recipientes perforados, denominados moldes, cuyo formato depende de la tipología de queso a elaborar. El objetivo del moldeado es la obtención de una forma determinada, y según la tecnología, permitir el prensado. Algunos moldes disponen de grabado en las caras superior e inferior y/o en los laterales y pueden requerir en elaboraciones tradicionales el uso del paño. El moldeado puede ser manual o mecanizado, utilizándose diversas técnicas para esta operación (Papademas & Bintsis, 2017).

2.2.7. Prensado

Si el proceso tecnológico lo requiere (pastas prensadas), se somete a la cuajada a presiones exteriores a través de una prensa o de la incorporación de peso, para adoptar una forma compacta que termine de evacuar el lactosuero intermiscelar. Además de esta finalidad, en el prensado se completa el proceso de acidificación hasta alcanzar el valor de pH objetivo del producto. El incremento de presión a la que se somete la cuajada en la prensa ha de ser gradual para evitar una presión excesiva sobre la parte superficial del queso, que dificultaría el desuerado del mismo. La presión nominal debe adecuarse a la superficie del queso (Mukhiddinov et al., 2022).

2.2.8. Salado

El salado tiene como objetivo principal completar el drenaje de la fase acuosa libre de la pasta, formar la corteza, regular la actividad microbológica y potenciar el aroma de los quesos. En quesería se utilizan diversos sistemas de salado en función del tipo de queso y del régimen de producción, entre los que cabe destacar el salado en seco y por inmersión en salmuera. En las queserías el salado en seco se utiliza habitualmente en elaboraciones artesanales de quesos de pasta blanda, ya que por

su estructura estos permiten una adecuada difusión de la sal. El salado en salmuera es la metodología más frecuente en industrias lácteas ya, que permite mayor homogeneidad y organización del resto de operaciones básicas (Scott, R. et al., 2010).

2.2.9. Oreo

La operación de oreo, realizada en los quesos madurados, tiene como finalidad principal la formación de una cubierta exterior que pueda proteger al queso tanto microbiológicamente como de agentes ambientales, durante el proceso de maduración. En esta etapa es necesario controlar la temperatura, humedad relativa y velocidad de aire para que el acortezado sea homogéneo (McSweeney, 2017).

2.2.10. Maduración

La operación de afinado o maduración constituye la etapa final en la elaboración del queso y en ella se producen modificaciones sucesivas hasta alcanzar las propiedades sensoriales de cada tipología de queso. La maduración es un proceso que depende de multitud de variables, que pueden agruparse en agentes de afinado y en parámetros tecnológicos (López et al., 2019). Respecto a los agentes de afinado, se encuentran las enzimas presentes de forma natural en la leche (lipasas, proteasas y fosfatasas), las generadas por bacteriología psicrótrofa (lipasas, proteasas y fosfolipasas), las desarrolladas por el crecimiento o tras la muerte de microorganismos presentes en el queso y las enzimas coagulantes. Dentro de los parámetros tecnológicos, la temperatura, humedad, velocidad y renovación del aire tienen un papel de gran importancia en el proceso madurativo. La producción enzimática máxima tiene lugar habitualmente por debajo de la temperatura óptima de desarrollo de los microorganismos, pero la maduración tiene lugar a una temperatura inferior. Aumentar la temperatura favorece la velocidad de maduración e influye en el desarrollo aromático. La humedad relativa interviene directamente en el crecimiento de los microorganismos. En función de la tecnología se diseñará una curva de a_w que disminuirá o mantendrá la humedad del producto. Además, se debe tener en cuenta la flora superficial, de forma que, para quesos con desarrollo bacteriano en corteza se necesitará una humedad alta, una humedad inferior para quesos con moho en superficie y la menor para quesos con corteza natural (Gillis et al., 2018). Durante la maduración, una distribución homogénea del aire favorece la uniformidad del afinado

y en productos con desarrollo fúngico además es necesaria las renovaciones del volumen de la cámara.

Durante la maduración de los quesos de cabra, la cuajada sufre una degradación de sus componentes que deriva en el desarrollo del perfil sensorial y nutritivo. Esta modificación de la cuajada es producida por las enzimas de los microorganismos presentes en la leche con actividad sobre los hidratos de carbono, grasas y proteínas del queso, produciendo modificaciones en su aspecto, textura, sabor y aroma. Cada tipología de queso se caracteriza por un proceso de afinado diferente, pero todos los procesos de maduración tienen en común tres procesos bioquímicos que se manifiestan en distinto grado: glicolisis, lipolisis y proteólisis (Fox et al., 2017).

Glicolisis

La lactosa puede ser hidrolizada por diversos microorganismos, propios de la leche o de otras fuentes, en glucosa y galactosa que a su vez se degradan siguiendo diferentes rutas metabólicas en otros compuestos como alcoholes, ácidos y aldehídos. Así, durante la fermentación, en condiciones de anaerobiosis, las bacterias lácticas homofermentativas transforman mayoritariamente la lactosa en ácido láctico (90-95%) y en menor proporción, en otros metabolitos secundarios como etanol, ácido acético y acetaldehído. Las bacterias heterofermentativas producen un 50% de ácido láctico y un 50% de ácido acético, etanol y anhídrido carbónico. Las bacterias coliformes también generan ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, anhídrido carbónico e hidrógeno y las levaduras transforman la lactosa en etanol, anhídrido carbónico y otros productos en menor cantidad como acetaldehído y otros ácidos orgánicos. En quesos de larga maduración la lactosa puede metabolizarse a ácido láctico hasta casi su completa desaparición, aspecto positivo para la inhibición de microbiología patógena como para el desarrollo aromático (McSweeney & Sousa, 2000).

La evolución del pH durante el desuerado determina el contenido mineral de la cuajada (O'Mahony & Fox, 1997). La disminución del calcio y fosfato de la micela de caseína es un factor trascendental para la proteólisis y por tanto para la estructura y textura del queso (Ong et al., 2012). La disminución del pH aumenta la retención de enzimas coagulantes como la quimosina, que es más activa a pH ácido, dando lugar

a un incremento de la proteólisis en quesos con un pH bajo. De este modo, si la cuajada tiene un pH muy bajo tendrá generalmente textura quebradiza, mientras que, si tiene pH elevado, tenderá a ser más elástica (Law & Tamime, 2010). También influye en la retención de sal durante el proceso de salado, aumentando para un pH más alto y viceversa.

Lipolisis

La hidrólisis de los lípidos es una de las mayores transformaciones que suceden durante el afinado de los quesos, que influyen notablemente en sus propiedades sensoriales. Los ácidos grasos que se generan en la lipolisis junto con los elementos de la proteólisis y otros compuestos volátiles determinan el aroma del queso (Etayo et al., 2006; McSweeney & Sousa, 2000).

Los triglicéridos son hidrolizados a ácidos grasos libres mediante las lipasas, enzimas con actividad específica en la interfase agua-grasa. La actividad lipolítica de estas enzimas depende de factores diversos como el tiempo de almacenamiento y la calidad microbiológica de la leche, las acciones mecánicas (bombeos y agitación) a las que ha sido sometida la leche, la concentración de sal y el tiempo de maduración del queso (McSweeney et al., 2020). Las lipasas pueden proceder de la leche cruda, del coagulante, de los cultivos iniciadores, de los cultivos de afinado o pueden ser incorporadas como aditivo (Fox et al., 2017; J. Singh & Vyas, 2022). Si se realiza un tratamiento térmico, la actividad de las lipasas de la leche se ve afectada negativamente. El cuajo de cabrito y de ovino contribuyen a la lipólisis a diferencia del cuajo de ternero (Ferrandini et al., 2011). Las bacterias lácticas y propiónicas tienen actividad lipolítica por la vía esterasa-lipasa, principalmente durante la primera semana de maduración debido a la presencia de lipasas nativas. No obstante, los microorganismos de origen fúngico son los que más contribuyen a la lipólisis y por tanto al aroma del queso (Jooyandeh et al., 2009).

La lipólisis de los quesos de cabra es fundamental para la formación de su sabor característico. Algunos ácidos grasos libres y ramificados participan en el desarrollo del perfil sensorial del queso de cabra (Morgan & Gaborit, 2001) y otros preceden a la formación de compuestos volátiles (Buffa, Guamis, et al., 2001). Por otro lado, también puede contribuir negativamente a las características del queso por

una elevada producción de ácidos grasos volátiles que provocan su enranciamiento. La formación de ácidos grasos libres en quesos se debe principalmente a la lipólisis, aunque también pueden ser generados por las bacterias lácticas a través de distintas rutas metabólicas de proteínas e hidratos de carbono (McSweeney et al., 2020).

Proteólisis

La proteólisis es un proceso esencial en la maduración del queso y afecta directa o indirectamente a sus características sensoriales, es decir, a su perfil de olor/aroma, sabores básicos y textura. La hidrólisis de las proteínas (α y las β -caseínas) se debe a la actividad enzimática de los coagulantes (quimosina, pepsina o proteasas ácidas), a las enzimas propias de la leche (plasmina mayoritariamente), a las enzimas generadas por el cultivo de inicio, a las enzimas del cultivo de afinado o a peptidasas incorporadas durante la elaboración para aumentar la velocidad de la maduración (McSweeney, 2017). Las proteasas de los cultivos incorporados o de la microbiología de la leche originan péptidos grandes y de tamaño medio que posteriormente degradan las enzimas coagulantes y de los microorganismos. Los péptidos de menor tamaño y los aminoácidos libres son generados por las proteasas y peptidasas microbianas. Los agentes proteolíticos se ven afectados por variables como la humedad, salinidad, pH y temperatura de afinado. Así, el queso tiene una gran diversidad de compuestos nitrogenados que pueden ser degradados siguiendo diferentes rutas metabólicas generadas por diversos componentes con actividad proteolítica, formándose una elevada diversidad de compuestos durante su maduración (F. J. Delgado et al., 2011).

El proceso de proteólisis también afecta a la textura de los quesos de pasta prensada por la hidrólisis de las caseínas, el aumento de pH y la capacidad de retener agua por los compuestos formados durante el afinado. Un pH elevado propicia que las proteínas permanezcan en una matriz que pierde dureza conforme avanza la proteólisis y un pH bajo originará una textura friable al avanzar la proteólisis, ya que la humedad intersticial está ligada iónicamente. La proteólisis será mayor en el interior del queso ya que la salinidad es inferior.

Los quesos a partir de leche cruda, que contienen la microbiología propia de la leche, contienen una mayor concentración de aminoácidos libres que los quesos de leche pasteurizada equivalentes. Estos resultados se deben a la mayor acción

peptidasa de los microorganismos endógenos de la leche cruda (McSweeney, 2017; Park, 2001).

El proceso de proteólisis se lleva a cabo en dos etapas bien diferenciadas, proteólisis primaria y proteólisis secundaria. En la proteólisis primaria se producen las modificaciones bioquímicas de las caseínas y los péptidos de elevado peso molecular. Estas transformaciones se generan tanto por las enzimas presentes en la leche cruda como por las enzimas coagulantes, dando lugar a péptidos de elevado tamaño (Scott, 2002). La proteinasa nativa principal de la leche, la plasmina, interviene en la degradación de las caseínas con especificidad sobre la β -caseína, originando las proteosomas peptonas γ -caseínas y, en menor proporción, también interviene sobre las α_2 -caseínas. Las enzimas coagulantes actúan sobre la α -caseína más rápidamente y con mayor intensidad que sobre la β -caseína, ya que es más difícil su división debido al tipo de enlaces que presenta. En los quesos de leche de cabra la actividad de la quimosina hacia las α_1 -caseína y β -caseína es mayor que en los quesos de leche de vaca (Prados Siles, 2005). El coagulante vegetal *Cynara cardunculus* L. contiene proteinasas que pueden romper todos los enlaces de determinadas regiones de la α_1 -caseína y de la β -caseína. La quimosina, sin embargo, es más específica y actúa sobre enlaces concretos de la α_1 -caseína y de la β -caseína. Por tanto, el coagulante vegetal genera compuestos hidrofóbicos de mayor volumen que la quimosina (Bravo Bolívar et al., 2023).

En la proteólisis secundaria se hidrolizan los péptidos por la acción de las bacterias de los cultivos de iniciación, o de los cultivos de afinado y generan otros péptidos de menor volumen y aminoácidos. Estos elementos resultantes de la hidrólisis constituyen parte del nitrógeno no proteico (NNP) y marcarán la intensidad proteolítica. Las proteinasas y peptidasas de los cultivos de iniciación proceden de bacterias mesófilas de los géneros *Lactococcus* y *Leuconostoc* y termófilas de *Lactobacillus* y *Streptococcus thermophilus* (Sousa et al., 2001). En los cultivos de afinado estas enzimas pertenecen fundamentalmente al género *Lactobacillus*. El contenido proteico de la leche puede ser hidrolizado por cualquiera de estos cultivos, pero cada uno de ellos presenta especificidad para la degradación de las distintas fracciones de las proteínas. De este modo, *Lactobacillus bulgaricus* degrada mejor la β -caseína, mientras que *Lactobacillus helveticus* la α -caseína. El grado de hidrólisis de *Streptococcus thermophilus* es inferior a la de los *Lactococcus* y no incide sobre

las caseínas del queso. Los cultivos de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *diacetylactis*, presentan una capacidad de hidrólisis comparable con *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, pero menor que la mayoría de los cultivos de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (Walstra et al., 2006).

Así, los péptidos formados durante la proteólisis primaria dan lugar a sabores básicos positivos o negativos en los quesos en función de los compuestos generados, apareciendo el sabor amargo por la presencia de péptidos hidrofóbicos (Mikulec et al., 2010). Los productos finales de la proteólisis, los aminoácidos, que a su vez pueden formar alcoholes o ácidos, participan en el desarrollo aromático del queso. También la proteólisis puede originar aminas biógenas como histamina, putrescina y cadaverina (McSweeney, 2017; Schirone et al., 2022).

2.3. Calidad sensorial

La calidad del queso depende de muchos factores, algunos vinculados a la composición de la leche (aspectos genéticos: especie, raza y animal, estado y número de lactación, tipo de parto, alimentación y salud animal, época de cría, etc.) y otros relacionados con el proceso tecnológico (leche cruda o pasteurizada, enzimas de coagulación y parámetros de coagulación, moldeado, escurrido, salado, maduración, ahumado, etc.) y las condiciones de almacenamiento (Fresno et al., 2023).

El queso de cabra se distingue por sus características sensoriales únicas en comparación con quesos elaborados a partir de otras especies tradicionales. Estas propiedades distintivas se deben a las variaciones en la composición de lípidos y proteínas del queso de cabra, las cuales están influenciadas por la dieta de las cabras y la época del año. Cuando las cabras se alimentan de forraje, la leche y el queso resultantes presentan un mayor contenido de grasa, ácidos grasos y un sabor más complejo en comparación con aquellos obtenidos de una dieta basada en concentrados (Álvarez et al., 2007). El tipo de forraje también afecta el sabor del queso, percibiéndose diferencias más notables en la leche que en el queso. El olor y aroma distintivos de los quesos de leche de cabra se debe a la presencia, principalmente, de ácidos grasos de cadena media (Kaffarnik et al., 2014), siendo los más abundantes el oleico, palmítico, esteárico, cáprico y mirístico en diversas proporciones. Las diferentes razas de cabras producen leche con compuestos

volátiles diferentes, lo que puede afectar el sabor final del queso (Talavera & Chambers, 2016). Durante mucho tiempo se pensó que el ácido octanoico era el principal responsable del aroma "a cabra", pero investigaciones posteriores han demostrado que existen diversos compuestos volátiles que producen también este aroma característico, como son el hexanoico, nonanoico, decanoico, octanoico-4-metilo y un compuesto no identificado que coeluye con el ácido decanoico. No obstante, de entre todos estos compuestos, el ácido graso libre más potente en el sabor del queso de cabra es el ácido octanoico-4-etilo, el cual tiene un umbral de percepción mucho más bajo que otros ácidos grasos de cadena media (Salles et al., 2002). Las lactonas, como δ -octalactona y δ -dodecalactona, también se consideran como importantes compuestos de olor en los quesos de leche de cabra (Curioni & Bosset, 2002).

En cuanto a las operaciones que más influyen en el flavor del queso, destaca la etapa de maduración, debido a las intensas reacciones de lipólisis y proteólisis que tienen lugar en ella (Morgan & Gaborit, 2001). El tiempo, la temperatura y la humedad de la maduración determinan el desarrollo del flavor. Numerosos expertos coinciden en señalar que durante el proceso de maduración del queso se observa un aumento en la intensidad del olor/aroma, la persistencia, los sabores salado y ácido, así como en las sensaciones de picor y pungencia, todo ello atribuido a la actividad bioquímica que se produce durante este período (Álvarez et al., 2007; Cabezas et al., 2006; Fresno & Álvarez, 2012; Tejada et al., 2006). Así, en los quesos curados, además de la familia láctica (leche fresca, cuajada/nata, mantequilla, yogur) que es la dominante o exclusiva de los quesos frescos, aparecen otras familias de olor/aroma como la tostada (bizcocho, toffee, chocolate/café), la afrutada (frutos secos) y otras (propiónico, butírico, acético) como consecuencia de las reacciones enzimáticas que transforman los componentes del queso en otros componentes aromáticos cuya proporción y naturaleza dependen de la tecnología de elaboración del queso. Otras familias presentes en el queso son la familia animal y la especiada (de la Haba Ruiz et al., 2017; Ruiz Pérez-Cacho et al., 2019)

La textura del queso es un factor crucial para establecer la identidad de producto y la percepción del consumidor (Buffa, Trujillo, et al., 2001) y ésta, al igual que otras propiedades sensoriales, está influenciada por las particularidades de la leche utilizada y el proceso de elaboración tecnológica. Con relación a la leche de partida, la alimentación del animal modifica la relación grasa/proteína que afecta a la

textura del queso. Una ración, rica en pasto aumenta el contenido graso en la leche debido a la alta ingesta de fibra, mejorando la textura de la pasta y confiriendo un aspecto cremoso al queso (de la Haba Ruiz et al., 2017). Respecto al proceso tecnológico, los mayores cambios se observan en la etapa de maduración debido a las reacciones de proteólisis. Así, en los quesos de pasta prensada a medida que la maduración progresa, disminuye la humedad, elasticidad, solubilidad y cremosidad y aumenta la dureza de los quesos (Ruiz Pérez-Cacho et al., 2019). Si analizamos la influencia del tipo de cuajo, se observa como éste afecta a la mayoría de los atributos de textura. Varios autores (Ruiz Pérez-Cacho et al., 2019; Tejada et al., 2006) observaron que los de cuajo animal son más duros, menos cremosos y más granulados que los de cuajo vegetal.

2.3.1. Procedimiento de cata del queso

Las normas ISO 22935-1 (2009a) y 22935-2 (2009b) para la leche y productos lácteos establecen los requisitos para la formación de catadores y las condiciones necesarias para realizar el análisis sensorial de estos productos.

Panel de cata

Las personas que participen como catadores deben hacerlo de manera voluntaria y ser seleccionadas, entrenadas y evaluadas por el jefe del panel. Para la prueba, se recomienda contar con un grupo de al menos 8 a 12 catadores. El catador deberá comportarse como un auténtico observador sensorial, dejando a un lado sus gustos personales para dar cuenta únicamente de las sensaciones que percibe.

Sala de cata

Esta sala debe reunir las condiciones establecidas en la norma ISO 8589 (2007) en cuanto a infraestructuras y equipamiento.

Preparación de muestras

El responsable del ensayo debe codificar las muestras de quesos con tres dígitos al azar para salvaguardar su anonimato. Es importante prestar especial atención a la forma y tamaño de las muestras, procurando que sean lo más similares

posible para evitar cualquier sesgo derivado de la zona del queso de la que se toma la muestra. El método de corte del queso varía según su tipo (blando, de pasta prensada, etc.) y su forma y tamaño, y existen diferentes herramientas para ello: desde cuchillos grandes para la mayoría de los quesos, hasta hilos de acero inoxidable para cortar grandes ruedas de queso, pasando por cuchillos de dos mangos para las pastas duras, guillotinas o liras que se utilizan para cortar sin desmenuzar las pastas más frágiles (blandas y frescas). El corte debe representar fielmente el queso en su totalidad. Para los quesos cilíndricos y redondos, el método de corte se realiza en forma de cuñas, similar a las tartas, comenzando desde el centro. Estas cuñas se cortan en porciones, pudiendo retirar o mantener la corteza. Una vez cortadas, las muestras se presentan en un recipiente que esté libre de olores y sabores extraños, y que cuente con una tapa. La temperatura de las muestras se sitúa en un intervalo entre 14 ± 4 °C, siendo necesario estabilizar la muestra durante al menos una hora a esta temperatura antes de realizar el análisis.

Requisitos del ensayo

Es fundamental llevar a cabo el ensayo sensorial dentro de un horario apropiado, siendo recomendable realizarlo dos horas después del desayuno o antes de la comida principal. Se recomienda limitar el número de quesos a evaluar por sesión a 7-8, y proporcionar un tiempo de descanso entre muestras para eliminar los residuos de la anterior. Un período de descanso adecuado sería de aproximadamente cinco minutos, durante los cuales se puede enjuagar la boca con agua (Chamorro & Losada, 2002).

Fichas de cata

Es necesario que el catador disponga de fichas donde pueda registrar los resultados de su evaluación. La estructura de estas fichas variará dependiendo del tipo de prueba sensorial realizada (descriptiva, discriminante o hedónica). En el caso del análisis sensorial descriptivo, la ficha de perfil deberá incluir secciones para los atributos de apariencia, flavor y textura.

Vocabulario sensorial

La norma propone un listado con los atributos de apariencia, flavor y textura para el análisis sensorial de estos productos.

2.3.2. Atributos sensoriales en el queso

Apariencia

En la evaluación de la apariencia externa de los quesos, se consideran aspectos como la forma, el tamaño y la corteza. En cuanto a la forma, debido a la amplia variedad de quesos disponibles, pueden encontrarse formas diversas, desde geométricas básicas como el cilindro o el paralelepípedo, hasta formas esféricas, piramidales o troncocónicas. En ocasiones, los quesos pueden tener formas que evocan otros objetos o productos, como discoidales, en forma de bala, pera, seta o gorro de cocinero, o priforme (como la tetilla). Los bordes y las caras pueden ser rectos o redondeados, y las caras superiores e inferiores pueden ser planas o abombadas (cóncavas o convexas), mientras que las caras laterales pueden ser rectas o curvas (cóncavas o convexas). Es importante que la apariencia externa del queso sea regular, sin defectos ni deformaciones. El tamaño y peso de los quesos también varían ampliamente, desde piezas pequeñas típicas de quesos de cabra franceses y de pastas blandas, hasta grandes piezas de la familia de las pastas prensadas y cocidas (Chamorro & Losada, 2002).

En Andalucía, los quesos presentan una amplia variedad de tamaños, siendo los más comunes entre 1,5 y 3 kg. La corteza varía según el tipo de queso (fresco, maduro), la tecnología utilizada en su elaboración (pasta blanda, pasta prensada) y el tipo de maduración (mohos, bacterias). Puede ser inexistente en quesos frescos, fina en quesos de pasta blanda y gruesa o muy gruesa en quesos prensados y cocidos. La corteza puede presentarse lisa o estriada, y puede estar natural, con mohos, con especias, ahumada, parafinada, teñida, encerada, cubierta de cenizas, etc. El color de la corteza puede variar desde blanco hasta negro, pasando por diferentes tonalidades de amarillo, naranja y gris, entre otros.

Respecto a la apariencia interna de los quesos, se evalúan dos zonas: la más cercana a la superficie (corteza/halo/aureola/cerco) y el resto (pasta). Los atributos considerados en la zona cercana a la corteza incluyen el espesor y el color (intensidad). En la pasta, se analizan el color (tono e intensidad), el brillo (relacionado

con el contenido de agua o grasa del queso), que puede variar de mate a brillante, y otros atributos relacionados con la textura, características de la superficie y características táctiles (de la Haba Ruiz et al., 2017). Las características de superficie del queso comprenden la presencia o ausencia de elementos de ruptura, como cristales, ojos y aberturas, cuya forma, tamaño, número y distribución en la pasta son evaluados. Los ojos son cavidades que pueden estar dispersas en la masa del queso, pudiendo ser de origen mecánico o biológico. En un queso elaborado con leche pasteurizada y sin la adición de microorganismos para la formación de ojos, la pasta debe ser cerrada, pudiendo presentar algunos pequeños orificios de contorno irregular y tamaño variable, denominados ojos mecánicos o granulares. Los ojos de origen biológico se originan por el desarrollo de microorganismos en el queso y suelen tener forma redondeada y borde liso al ser cortados. Las aberturas pueden ser grietas o fisuras, con origen tecnológico o biológico, como las grietas debidas a un enfriamiento inadecuado durante el moldeado o la maduración incorrecta del queso, y las fisuras cavernosas causadas por bacterias del género *Clostridium spp.* Según estas características de superficie, la pasta puede ser ciega, compacta y prensada, abierta, agrietada, cerrada y compacta, cerrada y blanda, friable o con láminas y estrías. Por último, las características táctiles se evalúan mediante los dedos e incluyen el grado de rugosidad, humedad y elasticidad de la superficie. La rugosidad se determina deslizando el dedo índice sobre la superficie del queso, indicando la presencia o ausencia de granos y su intensidad. La humedad se verifica observando si hay una película líquida en la superficie, lo que indica si el queso está seco o húmedo. La elasticidad se evalúa comprimiendo la muestra entre los dedos y observando si recupera su forma inicial, determinando si el queso es plástico o elástico (Chamorro & Losada, 2002; Fresno Baquero & Álvarez Ríos, 2007).

Flavor

En la evaluación del flavor del queso se consideran el olor, el aroma, los sabores básicos, las sensaciones trigeminales, la persistencia y el retrogusto. Para evaluar el olor, se acerca una muestra a la nariz para percibir los olores característicos, intentando identificar los predominantes. Se sugiere partir la muestra por la mitad cerca de la nariz y aspirar para percibir la intensidad del olor. En la valoración del olor, se analiza la impresión general y las notas olfativas, clasificadas en familias como lácticas, vegetales, florales, afrutadas, tostadas, animales, especiadas y otras. La evaluación del aroma se realiza al masticar el queso para

liberar los compuestos aromáticos y percibirlos en el bulbo olfativo por vía retronasal, siguiendo el mismo procedimiento que en la valoración del olor. La evaluación de los sabores básicos se realiza durante la masticación del queso, analizando los sabores dulce, salado, ácido y amargo, siendo los más comunes el ácido y el salado. Las sensaciones trigeminales se evalúan en nariz (pungencia) y en boca (picante, astringente y refrescante). La persistencia se refiere a la continuidad de la percepción olfato-gustativa después de deglutir el queso, y puede estar asociada a notas olfativas, sabores básicos y/o sensaciones trigeminales. El retrogusto es la sensación olfato-gustativa que surge después de deglutir el queso y puede diferir de las sensaciones percibidas mientras estaba en la boca, pudiendo o no presentarse (de la Haba Ruiz et al., 2017).

Textura

En la evaluación de la textura bucal del queso se consideran cuatro tipos de atributos: mecánicos (dureza, cohesión y adherencia), geométricos (granulosidad), de composición (humedad y cremosidad) y otros atributos (solubilidad). En la evaluación de los atributos mecánicos, se analiza la dureza del queso, es decir, la resistencia que ofrece al ser deformado, lo que permite determinar si es blando, firme o duro. Esta característica se evalúa al comprimir la muestra entre los molares. La cohesión indica el grado de deformación del queso antes de romperse. Si se rompe sin deformarse, como suele ocurrir en quesos muy curados, se considera frágil o friable. Si se deforma antes de romperse, se evalúa si es tierno o masticable. Por otro lado, si se deforma, pero no se rompe, se considera gomoso. La adherencia se refiere a la fuerza necesaria para desprender el queso del paladar y los dientes, variando desde poco adherente hasta muy adherente. En cuanto a los atributos geométricos, se evalúa únicamente el tamaño y número de partículas formadas durante la masticación, determinando si el queso es harinoso, arenoso o granuloso. En quesos más maduros o curados, pueden aparecer cristales durante la masticación. En la valoración de los atributos de composición, se analiza la humedad del queso, que se determina por la cantidad de agua absorbida o liberada durante la masticación, clasificándose los quesos como secos o húmedos en función de esto. La cremosidad está relacionada con el contenido graso del queso y se determina analizando la sensación grasa percibida al aplastar el queso entre la lengua y el paladar. En la evaluación de otros atributos de textura, la solubilidad se mide observando la facilidad o dificultad del queso para disolverse en la saliva, siendo los quesos frescos y tiernos

más solubles que los más curados debido a su mayor humedad (de la Haba Ruiz et al., 2017).

2.4. Sellos de calidad de Quesos de cabra DOP en España

España dispone de un rico patrimonio quesero que se deriva de una gran variabilidad climática, orográfica, de razas y de metodologías de elaboración. Los quesos se encuentran catalogados en 80 quesos tradicionales sin figura de calidad reconocida, 27 amparados bajo Denominaciones de Origen Protegidas (DOP) y 3 con Indicaciones Geográficas Protegidas (IGP). Por especies, las figuras de calidad se pueden desglosar en:

- Queso de mezcla de diversas especies: 5 DOP y 2 IGP.
- Queso de vaca: 9 DOP.
- Queso de oveja: 6 DOP y 1 IGP.
- Queso de cabra: 7 DOP.

Las DOP de quesos de cabra corresponden al Queso Palmero y Queso Majorero en las Islas Canarias, al Queso Camerano en La Rioja, al Queso Ibores y Queso de Acehuche en Extremadura y finalmente al Queso de Murcia y al Queso de Murcia al Vino en la región de Murcia (MAPA, 2023a).

DOP Queso Palmero

La Denominación de Origen Protegida “Queso Palmero” fue creada en 2002. Son los más grandes de España en cuanto a peso, variando desde los 750 gramos hasta los 15 kilogramos. Además, su diámetro debe ser de 2 a 4 veces mayor que su altura. Su aspecto exterior es cilíndrico, con los laterales lisos y las caras planas con cuadrículas, de color blanco en los frescos y de amarillo a marrón oscuro en los curados y ahumados (con bandas características de mayor coloración). En el aspecto al corte se puede apreciar la pasta compacta (en ocasiones con ojos pequeños y de origen mecánico), de color blanca y brillante y se vuelve marfil y mate con la maduración. En el aspecto olfato-gustativo, destaca el origen caprino limpio. Los más frescos y tiernos son suaves mientras que los más madurados tienen descriptores de mantequilla, hierba o cuajo caprino. Además, son ácidos y picantes. El ahumado le

aporta aromas de los materiales vegetales utilizados, como cáscara de almendras, pino canario y tuneras (ICCA, 2023).

DOP Queso Majorero

El “Queso Majorero” cuenta con el reconocimiento de la Denominación de Origen Protegida desde 1996, constituyendo la primera DOP para quesos de cabra que se obtuvo en las Islas Canarias y en España. Se elabora en la isla de Fuerteventura, con leche de cabra cruda o sometida a pasteurización, a la que se puede añadir en ocasiones leche de oveja para quesos madurados. Tienen forma cilíndrica y rombos grabados en sus laterales que imitan la pleita de palmera usada tradicionalmente. Pueden ser tiernos, semicurados o curados y pueden afinarse con coberturas de aceite, pimentón o gofio. Exteriormente tienen forma cilíndrica, con una altura entre 6 a 9 cm y diámetro de 15 a 35 cm y su peso está comprendido entre 1 y 6 kg. En el aspecto interior, la pasta es compacta y de color blanco en los quesos con menor maduración y marfil para semicurados y curados. Los quesos tiernos tienen un perfil olfato-gustativo suave y los quesos de mayor maduración presentan descriptores ácidos y algo picantes (ICCA, 2023)

DOP Queso de Ibores

Es un queso elaborado al sureste de Cáceres (Extremadura) con leche cruda de cabra, cuya Denominación de Origen Protegida fue concedida por la Unión Europea en 2005. Tiene forma cilíndrica, caras planas y un canto plano o ligeramente curvado. Su diámetro está comprendido entre 11 y 15 cm, con una altura de 5 a 9 cm, y su peso de 650 a 1.200 g. El aspecto exterior es liso y de color amarillo céreo hasta ocre apagado en cortezas naturales y las coberturas de pimentón y aceite suelen ser habituales. La pasta presenta un color blanco marfil y su textura es algo friable, elástica y húmeda con pocos ojos de reducido tamaño y una distribución no homogénea (Junta de Extremadura, 2023).

DOP Queso Camerano

Se circunscribe a la Comunidad Autónoma de la Rioja y obtuvo la Denominación de Origen Protegida en 2009. Se utiliza para su elaboración leche de cabra y cuajo animal de cabrito. Tiene forma de torta cilíndrica con las caras planas y laterales curvados. Dispone de un grabado característico de la cilla de mimbre, que constituía el molde. Tiene reducido tamaño y un peso entre 200 y 1.200 gramos. La

intensidad olfato gustativa se incrementa en los quesos con mayor maduración. Tiene notas saladas y ligeramente ácidas los menos madurados y algo ácido, salado y amargo en los de larga maduración (La Rioja, 2023).

DOP Queso de Murcia

El nombre de esta Denominación de Origen Protegida se debe a la región donde se producen los quesos y fue concedida en 2001. Pueden ser elaborados con leche cruda o pasteurizada de cabra Murciano Granadina. Son quesos prensados y de coagulación enzimática, frescos o madurados (mínimo dos meses de curación). Tienen forma cilíndrica y caras con grabado de pleita para los quesos frescos y lisas para los madurados. Su corteza oscila de amarillo céreo a ocre en quesos con mayor maduración. Su pasta puede tener algunos ojos de diverso tamaño no distribuidos homogéneamente. En queso fresco su perfil sensorial se caracteriza por descriptores de la familia láctica con baja intensidad, sabor dulce y salado medio. En curados la pasta tiene color de blanco mate a ocre en los más madurados y su perfil aromático se caracteriza por ser de intensidad media alta, con notas a mantequilla, a caprino, frutos secos y caramelo, sabor algo ácido y salado medio (Región de Murcia, 2023a).

DOP Queso de Murcia al vino

Esta Denominación de Origen, concedida simultáneamente junto con “Queso de Murcia” en 2001, ampara quesos prensados de pasta lavada elaborados con leche pasteurizada de cabra de la raza Murciano-Granadina. En el aspecto exterior tienen las paredes lisas ligeramente curvadas y cortezas de color granate procedente de introducir los quesos en vino tinto de las Denominaciones de Origen Murcia, Jumilla, Yecla y Bullas, a lo largo de su maduración. Al corte, son quesos de pasta ciega y de color blanco apagado a amarillo en las piezas más curadas. La acidez inicial de los quesos más tiernos disminuye con la maduración a la vez que aumenta el salado y la intensidad de olor/aroma (Región de Murcia, 2023b).

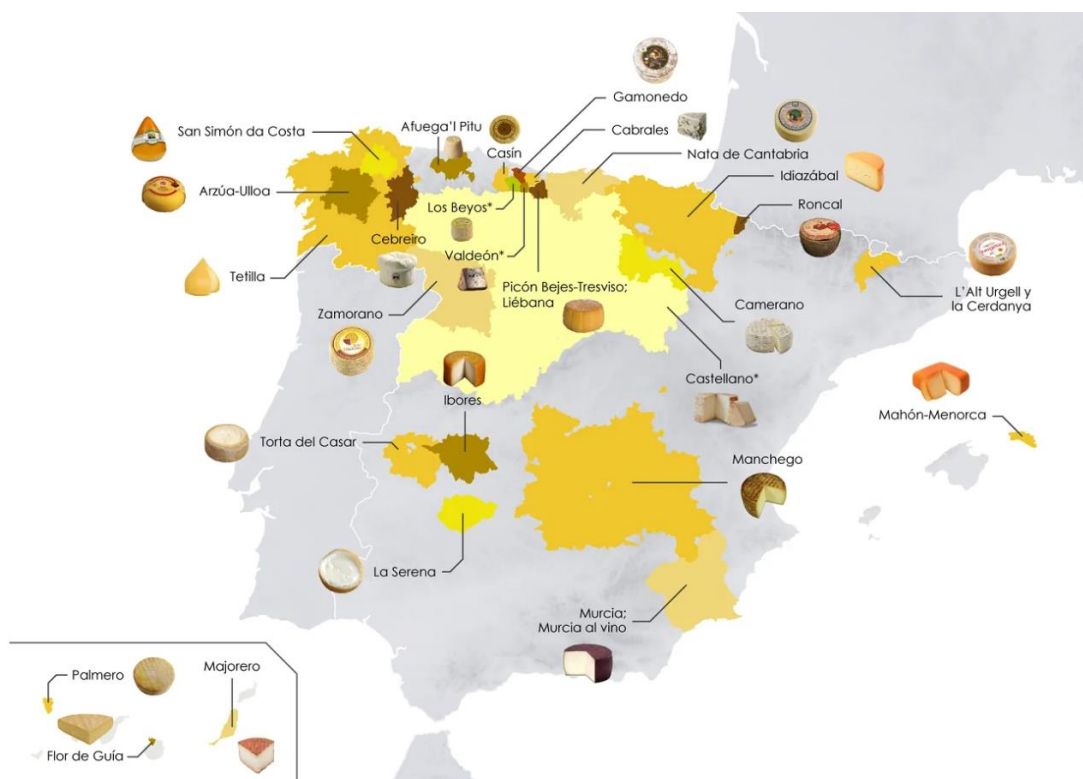


Figura 2. Denominaciones de Origen de Quesos de España (MAPA, 2017)

3. CULTIVOS Y ENZIMAS COAGULANTES EMPLEADOS EN LA ELABORACIÓN DE QUESO

3.1. Cultivos

Durante el proceso de fabricación del queso se pueden emplear dos categorías diferentes de cultivos microbianos: los cultivos primarios o de iniciación y los cultivos secundarios o de maduración. Los de iniciación incluyen las bacterias lácticas (BAL) que intervienen en la producción de acidez durante la elaboración y el envejecimiento del queso y los de maduración, que incluyen levaduras, mohos y diversas bacterias (como los lactobacilos heterofermentativos) necesarios para el afinado del queso.

3.1.1. Cultivos de iniciación

Los cultivos iniciadores o de arranque son bacterias capaces de multiplicarse en la leche y llevar a cabo la fermentación láctica durante la cual se consume lactosa (azúcar mayoritario en la leche) y se produce ácido láctico y otros compuestos que

influyen en las características del queso. En la actualidad, la mayoría de los quesos se elaboran adicionando diferentes especies de bacterias lácticas y sólo algunas variedades de queso tradicionales se fabrican únicamente aprovechando la microbiota propia de la leche cruda. La actividad acidificante tiene gran importancia al inicio del proceso productivo ya que actúa conservando y protegiendo al queso frente a la proliferación de otros microorganismos indeseados. Sin embargo, se debe vigilar de forma estricta la dosificación de los cultivos iniciadores para que el proceso de acidificación esté controlado. La dosis óptima frecuentemente no coincide con las recomendaciones establecidas en la ficha técnica del fabricante, que realiza simulaciones con otras tipologías de queso. La concentración final en la leche no debe exceder 4,5-5,0 log UFC/mL (Tabla, R., 2019).

Los cultivos iniciadores pueden ser clasificados según su complejidad, temperatura óptima de desarrollo, o funcionalidad. Hoy en día, todos los cultivos de iniciación disponibles proceden de cultivos naturales (o artesanales) que tienen una composición no definida, es decir, contienen una mezcla variada de diferentes especies y/o cepas o de cultivos iniciadores comerciales conocidos denominados iniciadores de cepas mixtas. Estos cultivos comerciales se obtienen a partir de los mejores cultivos iniciadores naturales y se reproducen bajo condiciones controladas por instituciones especializadas, como centros de investigación láctea o empresas de fermentos comerciales, para luego distribuirse a las empresas lácteas (McSweeney, 2017). Si bien la composición de los iniciadores de cepas mixtas es incierta, su reproducción bajo condiciones más controladas, con un mínimo de transferencias, ayuda a reducir la variabilidad inherente asociada con el uso de iniciadores artesanales.

Los cultivos iniciadores naturales y las cepas mixtas comerciales, debido a su larga historia, se conocen como iniciadores tradicionales en contraposición a los cultivos iniciadores de cepas definidas, que se componen de una o más cepas. Estos cultivos son también seleccionados, mantenidos, producidos y distribuidos por empresas e instituciones especializadas. Debido a su rendimiento optimizado y altamente reproducible y su alta resistencia a los fagos, han sustituido a los iniciadores tradicionales en la producción de muchas variedades de queso, incluidas algunas variedades europeas con Denominación de Origen Protegida (DOP). El desarrollo de sistemas de defensa contra fagos en la fabricación de queso ha evolucionado de la selección tradicional de cepas a la introducción de cepas

genéticamente mejoradas. Esta transición se ha debido a la presión de producción en la fabricación a gran escala y la disponibilidad de sistemas naturales de transferencia genética. Ahora, se emplean cepas industriales con resistencia natural a los fagos para mejorar el control de estos agentes en la producción de queso (Engels et al., 2017). Las cepas genéticamente mejoradas no son consideradas organismos genéticamente modificados y no tienen restricciones en su uso. Sin embargo, son rechazadas comercialmente, aunque mejoren características como autólisis, aroma y resistencia a fagos. A pesar de ello, las empresas de cultivos iniciadores continúan dependiendo de programas de selección y se benefician de los avances en tecnologías “ómicas” que se aplican a las bacterias lácticas (Derkx et al., 2014).

El uso de cultivos iniciadores naturales en la producción de queso supone la utilización de suero o leche de lotes anteriores para inocular el nuevo producto y/o la aplicación de presión selectiva, que puede incluir tratamiento térmico, temperatura de incubación y pH bajo. No se toman precauciones especiales para evitar la contaminación de la leche cruda o del entorno de producción de queso, y el control sobre los medios y las condiciones de cultivo durante la reproducción de los iniciadores es limitado. Por lo tanto, en cada planta de transformación, los iniciadores naturales son una mezcla evolutiva y no definida de diferentes cepas y especies de bacterias lácticas, cuya composición y rendimiento están influenciados por las condiciones selectivas durante la incubación (McSweeney, 2017).

Los iniciadores no definidos suelen agruparse en dos categorías principales, mesófilos y termófilos. Los iniciadores mesófilos se cultivan típicamente a temperaturas de 30°C o menos y se emplean en la elaboración de quesos de pasta prensada no cocida. Se pueden subdividir según su capacidad para fermentar el citrato y la tipología de cepas que contienen. Por ejemplo, los iniciadores "O" negativos al citrato incluyen cepas de *Lactococcus lactis* subespecie *lactis* y *Lactococcus lactis* subespecie *cremoris* que no fermentan el citrato pero producen ácido láctico. Además, hay iniciadores L, D o DL que, además de cepas de *Lactococcus lactis* que no fermentan el citrato, también pueden contener cepas de *Leuconostoc* que sí lo hacen (cultivos L), cepas de *Lactococcus lactis* que fermentan el citrato (cultivos D), o una combinación de ambas especies que fermentan el citrato (cultivos DL), siendo estos últimos los más comunes entre los iniciadores mesofílicos. Por otro lado, los iniciadores termófilos se cultivan tradicionalmente a 42°C y se

emplean en la elaboración de ciertas variedades de queso de pasta hilada, cocida o semicocida, siendo principalmente compuestos por *Streptococcus thermophilus* solo o en combinación con lactobacilos termofílicos como *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *lactis* y *Lactobacillus helveticus* (Chen, 2019; Fuquay et al., 2011).

La variedad de bacterias lácticas (BAL), que son la base de la mayoría de los cultivos iniciadores lácticos utilizados actualmente, ha experimentado un notable aumento en los últimos años. El uso de tecnologías de secuenciación y otras herramientas asociadas, "ómicas", ha transformado por completo la investigación de este importante grupo de organismos, al facilitar una comprensión integral de su diversidad y al proporcionar el desarrollo de cepas optimizadas o nuevas, así como de los procesos industriales implicados (McSweeney, 2017; Papadimitriou et al., 2020). Tres especies del grupo LAB utilizadas como cultivos iniciadores comerciales se consideran mesófilas, *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris* y *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. y las especies de bacterias lácticas (BAL) que constituyen los cultivos iniciadores termofílicos son *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus spp.*(Fox et al., 2017).

Tipos de cultivos iniciadores

Lactococcus lactis

Microorganismo mesófilo comúnmente encontrado en numerosos cultivos para la elaboración industrial o artesanal de quesos. Un examen inicial del genoma sugirió que este organismo había evolucionado para adaptarse especialmente al ambiente complejo y rico en nutrientes presente en la leche. Se identificaron vías biosintéticas para los 20 aminoácidos, aunque algunas de ellas no estaban completamente activas. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* se diferencia de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* por la posibilidad de desarrollarse a 40 °C, su mayor resistencia a la sal (4%), la capacidad de hidrolizar la arginina y su actividad glutamato descarboxilasa (Hayaloglu, 2016). Además, cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (denominadas como "*biovar diacetilactis*") tienen la capacidad de co-metabolizar glucosa y citrato para generar componentes aromáticos a través de la ruta del diacetilo/acetoina y son denominadas citrato positivo (Cit+). Cuantitativamente las cepas de *Lactococcus lactis* que no metabolizan el citrato (Cit-) suponen alrededor del 90 % de los microorganismos presentes en los cultivos en la elaboración de queso, mientras que

las cepas de *Lactococcus lactis* Cit+ y los *Leuconostoc* comprenden aproximadamente el 10 % restante. En función de la proporción relativa en la que se encuentren en la preparación comercial se manifestarán unas u otras propiedades (Laroute et al., 2017).

Leuconostoc spp.

La especie exacta de *Leuconostoc* encontrada en cultivos iniciadores no se conoce con precisión. Comprende bacterias mesófilas heterofermentativas que se desarrollan en estrecha simbiosis con la población de *Lactococcus*, lo que resulta beneficioso desde el punto de vista tecnológico para la producción de compuestos aromáticos característicos de los quesos. Entre estos compuestos se incluyen el diacetilo y la acetoina, que se generan a partir del citrato. Además, estas bacterias tienen la capacidad de producir CO₂ (que origina ojos en los quesos) y dextranos. Solo dos tipos de *Leuconostoc* se encuentran vinculados a los cultivos iniciadores lácticos: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* y *Leuconostoc lactis*. Se distinguen por su capacidad para fermentar diferentes tipos de carbohidratos. *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, no puede generar suficiente acidez en la leche para originar su coagulación. Sin embargo, *Leuconostoc lactis* puede lograrlo. En los cultivos iniciadores comerciales, las especies de *Leuconostoc* se combinan con *Lactococcus* cuando se busca además de la acidificación, la producción de diacetilo y dióxido de carbono. Las cepas de *Leuconostoc* no prosperan en medios con alto contenido de fosfato que inhiben los fagos (Chen, 2019; Fox et al., 2017) .

Streptococcus thermophilus

Streptococcus thermophilus es la especie de mayor importancia utilizada como cultivo iniciador termófilo en industrias lácteas para la elaboración de queso. Se inocula habitualmente para acidificar en la elaboración de quesos de pasta cocida o semicocida, donde la temperatura de proceso inactiva a los cultivos mesófilos. En quesos de cabra, a temperaturas de proceso inferiores a 40 °C se utiliza para mejorar la textura, ya que estos quesos habitualmente presentan una pasta quebradiza con una maduración prolongada. El único tipo de *Streptococcus* que resulta útil en la industria láctea es el *Streptococcus thermophilus*. A pesar de su similitud genética con los estreptococos orales (*S. salivarius*), se considera una especie distinta. Sus

características distintivas incluyen su resistencia al calor, su capacidad para crecer a 52°C y su habilidad para fermentar solo ciertos tipos de carbohidratos. En la mayoría de los productos lácteos que se someten a altas temperaturas durante la fermentación (superiores a los 40°C), la acidificación se produce gracias al crecimiento conjunto de *Streptococcus thermophilus* y especies de *Lactobacillus*. Aunque *Streptococcus thermophilus* posee varios tipos de enzimas proteolíticas, su capacidad proteolítica es limitada (McSweeney, 2017).

Lactobacillus spp.

Constituye el género más diverso de bacterias ácido-lácticas (BAL), con más de 150 especies. Las principales especies de interés en la industria láctea como iniciadores o complementos en la producción de productos lácteos fermentados son los lactobacilos heterofermentativos facultativos, como *Lactobacillus delbrueckii* y *Lactobacillus helveticus*. En los últimos años se ha incrementado el interés de utilizar este género en los cultivos de maduración, dentro de las bacterias lácticas no iniciadoras, debido a su influencia en el desarrollo del sabor y la calidad del producto. Estos lactobacilos heterofermentativos facultativos son comúnmente del grupo *L. casei* e incluyen especies taxonómicamente relacionadas como *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus rhamnosus*. En consecuencia, se destaca la creciente importancia de las cepas no iniciadoras en el desarrollo de la calidad del producto (Anastasiou et al., 2022). *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* se utiliza en la producción de quesos de pasta cocida (El Kafsi et al., 2014). La capacidad de metabolizar una variedad más amplia de carbohidratos, que incluye varios azúcares de origen vegetal como maltosa, manosa, sacarosa y trehalosa, distingue a *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* de la subespecie *bulgaricus*. *Lactobacillus helveticus* se caracteriza por su capacidad para reducir el amargor y promover el desarrollo aromático del queso (Moser et al., 2017; Widyastuti et al., 2014). También genera compuestos bioactivos a partir de proteínas de la leche. Se utiliza en elaboraciones tradicionales de quesos de larga maduración, aunque en la actualidad se emplea en diversas tipologías de fabricaciones como potenciador de sabor y promotor de productos probióticos (Douillard & De Vos, 2014).

3.1.2. Cultivos de maduración

Tradicionalmente se utilizaban pocos cultivos secundarios en la elaboración de quesos, como el *Penicillium roqueforti* en quesos de pasta azul, ya que proliferaban por contaminación natural, tanto de la leche como del entorno de elaboración. Sin embargo, la mejora en la higiene y la búsqueda de una mayor estandarización y rapidez en la maduración han reducido la diversidad microbiana y, en algunos casos, la complejidad aromática. En la actualidad, una amplia gama de microorganismos, conocidos como cultivos secundarios, desempeñan un papel crucial en la maduración del queso y en el desarrollo de sus características sensoriales. Esta microbiota secundaria, compuesta por bacterias lácticas no iniciadoras, propionibacterias, corineformes, estafilococos, levaduras y mohos, exhibe una notable diversidad tanto taxonómica como funcional. A diferencia de las BAL, que actúan principalmente al inicio de la elaboración del queso, los cultivos secundarios se desarrollan durante la maduración, modulando el sabor, la textura y el aroma del producto final (McSweeney, 2017).

En determinadas tecnologías de elaboración de queso de cabra, se inoculan durante el proceso de producción (en leche o sobre la cuajada) y provocan proteólisis y lipólisis en los quesos durante la etapa de afinado (Barriga & López, 2016). El crecimiento de los cultivos secundarios depende de parámetros como la salinidad, acidez, humedad relativa o temperatura de las salas de elaboración y de maduración.

Tipos de cultivos de maduración

Levaduras

Se encuentran en gran variedad de quesos, fundamentalmente en su superficie. Se inoculan en quesos madurados por mohos, en quesos de corteza lavada y en pastas blandas ya que facilitan el desarrollo de otros cultivos sensibles a la acidez. Se multiplican desde las primeras etapas de la elaboración del queso, durante el desuerado, después del moldeado y antes del salado. Su población suele alcanzar entre 10^6 y 10^8 UFC/cm² en la superficie del queso en los primeros 5 días, y se mantiene en ese nivel durante la maduración. En el interior del queso, su desarrollo es muy inferior. Las levaduras comerciales más utilizadas son *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus* y

Geotrichum candidum. Presentan condiciones de crecimiento y actividad proteolítica y lipolítica diferentes entre sí (Tabla 4).

Tabla 4. Características de las principales levaduras comerciales de maduración. Modificada (Fröhlich-Wyder et al., 2019).

	<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
Tolerancia a la sal (% NaCl)	<24	<2.5	<7.5
Rango de temperatura de crecimiento (°C)	5–35	5–35	5–42
Rango de pH de crecimiento	3–10	3–11	2,5–8,0
Capacidad proteólisis	+	++	+
Capacidad lipólisis	+	++	+
Formación de NH ₃	+	++	
Fermentación de lactosa	-	-	+
Fermentación de galactosa	-	-	+
Intensidad de aroma	+	++	+

La levadura *Debaryomyces hansenii* destaca por ser una levadura extremófila con una notable capacidad de adaptación, tolera la presencia de biocidas ambientes hipersalinos como el agua de mar y el suelo, y se encuentra presente en diversos alimentos, incluyendo productos lácteos fermentados, salmueras y bebidas alcohólicas. Estas características la convierten en una levadura ubicua y altamente tolerante a la sal, presente en la superficie de la mayoría de los quesos, incluso sin ser añadida deliberadamente. Es especialmente común en quesos azules, así como en cortezas lavadas y con moho. La especie muestra una tasa óptima de crecimiento entre 20°C y 25°C y puede crecer a 5-10°C. El rango de pH de crecimiento es amplio

y varía entre 3.0 y 10.0 (Cocolin et al., 2009; Gkatzionis et al., 2014; Schornsteiner et al., 2014; Wolfe et al., 2014).

Debaryomyces hansenii juega un papel crucial en la maduración del queso. Esta levadura asimila el lactato, un importante sustrato energético, y lo transforma en energía. La degradación del lactato por parte de *Debaryomyces hansenii* provoca la desacidificación, es decir, reduce la acidez en la superficie del queso, que estimula el crecimiento de mohos y bacterias de maduración aeróbicas y sensibles a los ácidos, que son importantes para el desarrollo de las características del queso. El control del pH favorece el proceso de proteólisis en quesos de pasta blanda. También muestra actividad lipolítica. Es capaz de producir productos alcalinos como amoníaco a partir de la desaminación de aminoácidos y presenta potencial para generar compuestos volátiles que contribuyen al aroma del queso, como aldehídos y alcoholes de cadena ramificada (Fröhlich-Wyder et al., 2019).

Las levaduras *Kluyveromyces lactis* y *Kluyveromyces marxianus* se distinguen por su habilidad para fermentar la lactosa, una característica poco común que las convierte en habitantes frecuentes de productos lácteos como leches fermentadas, yogur y quesos. En el ámbito quesero, estas levaduras forman parte de la microbiota tanto en la superficie como en el interior del queso, jugando un papel crucial en la maduración de diversas variedades. Su participación se concentra en las primeras etapas del proceso, donde fermentan la lactosa residual en la cuajada de queso. Sin embargo, su presencia se reduce después de pocos días de maduración (Cholet et al., 2007; Leclercq-Perlat et al., 2012).

La levadura *Geotrichum candidum* presenta dos morfotipos principales, uno similar a la levadura y otro de apariencia filamentosa blanca, lo que la sitúa en el límite entre las levaduras y los mohos (Eliskases-Lechner et al., 2011). Esta levadura posee una notable adaptabilidad, creciendo en un rango de temperatura entre 5°C y 35°C, con una temperatura óptima de 25°C. Su tolerancia al pH también es amplia, desde 3.0 hasta 11.0, con un pH ideal de 5.5. Prospera en condiciones microaerofílicas, permitiéndole habitar tanto la superficie como el interior del queso. En comparación con *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum* se considera menos tolerante a la sal. Esta sensibilidad varía según la cepa, con un rango de tolerancia entre 1% y 2,5% (p/v) de sal en el medio, por lo que su crecimiento puede verse limitado en determinados quesos. Su rápido crecimiento, especialmente al inicio de la maduración, la convierte en un actor importante en este proceso. Si bien

no metaboliza la lactosa, *Geotrichum candidum* sí puede metabolizar la galactosa. Además, las cepas presentes en el queso han demostrado la capacidad de crecer en lactato, lo que amplía su papel en la maduración. Se ha observado que *Geotrichum candidum* presenta una actividad lipolítica y proteolítica que varía según la cepa. Se ha comprobado que pueden descomponer la caseína y los péptidos, así como catabolizar aminoácidos, lo que resulta en la liberación de niveles elevados de amoníaco (Boutrou & Guéguen, 2005). Se postula que la generación de amoníaco es más significativa para el aumento del pH que la descomposición del lactato. *Geotrichum candidum* desempeña un papel importante en la creación de los sabores característicos del queso al producir alcoholes secundarios, compuestos fenólicos, NH₃, lactonas, ésteres, compuestos de azufre y cetonas metílicas (Bertuzzi et al., 2018).

Mohos

Se utilizan con frecuencia cultivos de mohos para quesos madurados con cortezas floridas o quesos azules. Existen 13 especies de mohos (Bourdichon et al., 2012) autorizados para la elaboración de queso: *Fusarium domesticum*, *Lecanicillium lecanii*, *Penicillium camemberti*, *Penicillium caseifulvum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium commune*, *Penicillium nalgiovense*, *P. roqueforti*, *Scopulariopsis flava*, *Sporendonema casei*, *Mucor mucedo*, *Mucor plumbeus* y *Mucor racemosus* (Hermet et al., 2012).

El conocimiento sobre comportamiento de los cultivos fúngicos en el queso es limitado. A diferencia de las bacterias o levaduras, el crecimiento de los mohos se basa en el desarrollo de una red micelial en lugar de la división de células individuales y por lo tanto, no es posible estimar su implantación utilizando unidades formadoras de colonias por centímetro cuadrado (UFC/cm²). A diferencia de las bacterias, el principal factor para controlar su crecimiento no es la temperatura, sino la actividad agua (a_w) (Carrillo-Inungaray et al., 2014).

Los cultivos de moho suelen disponer de actividad endopeptidasa y exopeptidasa que favorecen la proteólisis del queso (Pitt & Hocking, 2009), elevando el pH, modificando la textura del queso y produciendo aromas debido a la liberación de péptidos y aminoácidos (Ardö, 2011; Sousa et al., 2001). La actividad proteolítica de *Penicillium roqueforti* y *Penicillium camemberti* es similar e incluye la acción de

proteasas aspárticas. Sus peptidasas originan aminoácidos libres y disminuyen el amargor. Posteriormente se catabolizan produciendo amoníaco y otros compuestos volátiles. *Mucor spp.* tiene también actividad de proteasas, con influencia en el afinado del queso (M. Alves et al., 2002; M. H. Alves et al., 2005). Los mohos aumentan también la lipólisis en los quesos donde se implantan. *Penicillium camemberti* produce lipasa exocelular que es el principal agente lipolítico en quesos tipo Camembert (Molimard & Spinnler, 1996; Pitt & Hocking, 2009).

Bacterias

Las bacterias de maduración pueden ser aeróbicas o anaeróbicas facultativas, mesófilas, prefieren un pH alcalino y son tolerantes a la sal en niveles moderados. Sin embargo, no toleran bien la acidez.

Brevibacterium es el género de bacterias más comúnmente disponible y empleado en la producción de quesos de corteza lavada (Motta & Brandelli, 2002). *Brevibacterium linens* es aerobia, tolera la salinidad, pero no la acidez. Su temperatura idónea de desarrollo es entre 20 y 30°C y pH entre 6.5 y 8.5. El crecimiento de *Brevibacterium linens* en la superficie del queso se ve potenciado por la presencia de vitaminas, especialmente el ácido pantoténico y la biotina (Mounier et al., 2007). Genera pigmentación carotenoide y exhibe una variedad de colores, que van desde blanco crema hasta rojo oscuro, de su evolución y exposición a la luz. También se emplea en la producción de quesos para agilizar la maduración, gracias a sus diversas enzimas extracelulares e intracelulares, proteolíticas, lipolíticas y esterolíticas. Investigaciones recientes revelan que *Brevibacterium aurantiacum* es la especie predominante de *Brevibacterium* en los quesos de corteza lavada, mientras que *Brevibacterium linens* es poco común en la superficie de estos quesos.

El género *Staphylococcus* está formado por 45 especies, aerobias o facultativamente anaerobias y no muy exigentes nutricionalmente (Götz et al., 2006). Producen acidez a partir de glucosa. Son halotolerantes y se adaptan adecuadamente a ambientes ácidos. Se encuentran en mayor número al comienzo de la maduración antes de ser reemplazadas por *Actinobacteria spp.* después de 15 días de maduración (Cogan et al., 2014; Soares et al., 2011). Se han descrito en queso de leche de cabra cruda y queso suizo de maduración en superficie *Staphylococcus fleuretti* y *Staphylococcus succinus* subsp. *casei* (Place et al., 2003; Vernozy-Rozand et al., 2000).

Las especies *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium variable* y *Corynebacterium casei* aparecen frecuentemente en quesos de corteza lavada. *Corynebacterium casei* y *Corynebacterium variable* son las especies dominantes en las cortezas de queso, y ambas pueden tolerar altos niveles de sal (hasta un 8,0% de NaCl) y valores de pH por debajo de 4,9 (Brennan et al., 2002; Cogan et al., 2014). Estas bacterias también pueden metabolizar lactato, lo que les permite crecer desde el inicio de la maduración del queso sin la necesidad de la acción de levaduras (Schröder et al., 2011). Además, *Corynebacterium variable* es capaz de producir compuestos como acetoina, butanodiol y MTL, que contribuyen significativamente al sabor de los quesos de corteza lavada. Se suelen suministrar comercialmente como una mezcla con otros cultivos de maduración, como *Brevibacterium*, *Staphylococcus* y levaduras (*Debaryomyces* y *Geotrichum*).

Las bacterias del género *Propionibacterium* se inoculan en quesos con ojos, tipo suizo, aunque pueden participar en otras tipologías de quesos por su contribución aromática. Son bacterias mesófilas, termotolerantes, aunque muchas cepas pueden crecer lentamente a una temperatura baja (3°C), y de anaerobias a aerotolerantes (Thierry et al., 2005). El crecimiento óptimo ocurre en el rango de pH 6,5–7,0 y el más bajo, pH 5,0 para la mayoría de las cepas. *Propionibacterium freudenreichii* es capaz de sobrevivir y permanecer activo en varios entornos, incluidos los quesos, debido a su capacidad para acumular varios compuestos de almacenamiento de energía y carbono, como el polifosfato. Su desarrollo metabólico origina ácido propiónico principalmente. Sin embargo, son capaces de metabolizar muchas fuentes de carbono diferentes: azúcares, alcoholes y ácidos orgánicos. La biotina y el ácido pantoténico son factores esenciales para su crecimiento (Bourdichon et al., 2012).

Las bacterias del género *Lactobacillus spp.* no iniciadoras son lactobacilos heterofermentativos facultativos, como *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus*. Estos fermentan las hexosas en ácido láctico por la vía homofermentativa, mientras que las pentosas se convierten en ácido láctico y acetato por la vía heterofermentativa. Son tolerantes a la sal y a la acidez, facultativos anaerobios y por lo tanto crecen bastante bien en el queso. Solo una pequeña proporción de lactobacilos sobreviven a la pasteurización, y se incluyen como cultivos adjuntos de maduración en ciertas tecnologías queseras para potenciar el aroma y por las propiedades probióticas de algunos de ellos, como *Lactobacillus casei* o *Lactobacillus rhamnosus* (Douillard

et al., 2013). La descomposición de aminoácidos, especialmente aquellos con características aromáticas (fenilalanina, tirosina y triptófano), los aminoácidos de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina), y el aminoácido que contiene azufre, la metionina, juega un papel crucial en la formación del sabor del queso (Fitzsimons et al., 2001). Para que este proceso ocurra, es necesario que las células liberen las enzimas intracelulares responsables de este desarrollo de aroma. El número inicial en el queso es relativamente bajo, pero crecen rápidamente en los primeros días de maduración. El crecimiento depende de las cepas presentes, la temperatura de maduración y de la actividad agua (a_w) del queso (Fox et al., 2017).

3.2. Enzimas coagulantes

El cuajo y los coagulantes son preparaciones de enzimas proteolíticas que se han utilizado en la elaboración de queso durante miles de años. Tradicionalmente, el cuajo se ha obtenido de los estómagos de algunos rumiantes como vacas, cabras y ovejas. Estos extractos contienen enzimas proteolíticas, principalmente pepsina y quimosina, que descomponen las proteínas de la leche y provocan la formación de una cuajada. Más allá de los rumiantes, se han utilizado otras fuentes de coagulantes como los microorganismos. Algunos hongos y bacterias producen enzimas coagulantes como el hongo *Mucor miehei*, fuente principal de las enzimas microbianas. También han sido usadas ciertas plantas, como la papaya y la higuera, que contienen enzimas proteolíticas con capacidad coagulante (Fox et al., 2017). Existe un consenso actual sobre la nomenclatura de las enzimas coagulantes de la leche. El término "cuajo" se reserva para las preparaciones enzimáticas extraídas de estómagos de rumiantes. En cambio, las enzimas coagulantes de otras fuentes, como microorganismos o plantas, se denominan "coagulantes". Históricamente se han utilizado diversos tipos de cuajo y coagulantes en la elaboración de queso (Tabla 5), cuyas características han sido analizadas por diversos autores (Garg & Johri, 1994; Guinee & Wilkinson, 1992; M. K. Harboe, 1985, 1992; Wigley, 1996). La clasificación más efectiva del cuajo y los coagulantes se basa en su origen.

Tabla 5. Cuajos y coagulantes más comunes y sus componentes enzimáticos (Law & Tamime, 2010)

Origen	Fuente	Ejemplos de Cuajos y coagulantes	Componentes enzimáticos activos
Animal	Estómago bovino	Cuajo de ternero, cuajo de bovino adulto	Quimosina bovina a, b y c, pepsina a y gastricina
		Pasta de cuajo	Quimosina bovina a, b y c, pepsina a, gastricina y lipasa
	Estómago ovino	Cuajo de cordero, cuajo ovino.	Quimosina y pepsina ovina
	Estómago caprino	Cuajo caprino de cabrito, cuajo caprino	Quimosina y pepsina caprina
Microbiano	<i>Rhizomucor miehei</i>	Coagulante tipo L, TL, XL, and XLG/XP	Proteinasa aspártica de <i>Rhizomucor miehei</i>
	<i>Cryphonectria parasitica</i>	Coagulante parasitario.	Proteinasa aspártica de <i>Cryphonectria parasitica</i>
Quimosina producida por fermentación	<i>Aspergillus niger</i>	CHY-MAX™	Quimosina bovina B
		CHY-MAX™ M	Quimosina de camello
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i>	Maxiren	Quimosina bovina B
Vegetal	<i>Cynara cardunculus</i>	Cardo	Ciprosina 1, 2 y 3 y/ o cardosina A y B

Conocer las propiedades del cuajo y los coagulantes es crucial para la industria quesera, especialmente con la gran variedad de productos y mezclas disponibles. Las enzimas coagulantes, aunque similares ya que pertenecen al mismo grupo de proteinasas aspárticas, tienen pequeñas diferencias que impactan su aplicación, lo que dificulta su análisis (McSweeney, 2017). Es fundamental analizar la fuerza, composición enzimática, identidad y pureza del cuajo por razones de calidad y

económicas. Los métodos analíticos permiten a los productores comparar productos y a la industria elegir el adecuado para cada queso.

La fuerza se mide generalmente en unidades Soxhlet, Berridge o IMCU (Andrén, 1998). Las unidades Soxhlet son fáciles de entender, ya que corresponden al volumen de leche que un volumen de preparación enzimática puede coagular en 40 minutos a 35°C, y se expresa en ratios, por ejemplo, 1:15.000. Pero dependen del pH y la calidad de la leche y además no se utilizan estándares de referencia. Las unidades Berridge (RU), se definen como la actividad que coagula 10 mL de leche estandarizada en 100 segundos a 30°C. Este procedimiento contempla un pH inferior al de la mayoría de los quesos y un contenido de calcio anormalmente alto, que no refleja su comportamiento real en la elaboración de queso. El método estándar internacional para medir la fuerza es el método IDF, desarrollado por ISO e IDF. Este método mide el tiempo de coagulación de la leche a pH 6,5 y la expresa en unidades IMCU, utilizando estándares de referencia con la misma composición enzimática que la muestra. Además de la fuerza, la composición enzimática, identidad y pureza del cuajo también son importantes para la calidad del queso. Los métodos para analizar estas características incluyen electroforesis, cromatografía e inmunoensayos. Este conocimiento es esencial para la producción de quesos de alta calidad y para la seguridad alimentaria.

Tabla 6. Equivalencia entre diferentes unidades de actividad de cuajo de bovino (M. Harboe et al., 2010).

	IMCU	Soxhlet units	RU
1 mg Quimosina A	291	1:24.400	168
1 mg Quimosina B	223	1:18.750	130
1 mg Pepsina	81	1:5.500	59
1 IMCU Quimosina A		1:85	0,58
1 IMCU Quimosina B		1:85	0,58
1 IMCU Pepsina		1:70	0,73

3.2.1. Cuajo animal

El cuajo natural obtenido de los rumiantes consiste en una combinación de diversas especies moleculares y variantes genéticas de la quimosina que es una proteasa aspártica. La quimosina, en condiciones adecuadas de pH y de temperatura, descompone el enlace péptido Phe105-Met106 de la κ -caseína liberando la sección terminal hidrofílica de esta proteína (caseinomacropéptido) al suero de la leche. Como resultado de la reducción de las fuerzas de repulsión, las micelas de caseína se unen formando la red tridimensional del coágulo.

La quimosina es una enzima gástrica que se secreta en forma de su zimógeno en la mucosa del abomaso de rumiantes recién nacidos y jóvenes. Históricamente, la coagulación de la leche se lograba vertiendo extractos enzimáticos que se obtenían al remojar secciones de estómago seco en suero durante la noche, en la leche del tanque. Los estómagos secos de ternero o cordero, utilizados principalmente en la producción artesanal o en la elaboración de quesos con denominación de origen, aún se pueden encontrar en algunos proveedores comerciales (Moschopoulou et al., 2006). Dado que las condiciones de elaboración de los cuajos artesanales pueden ser muy diversas, es importante tener en cuenta también la fracción no enzimática presente en el extracto (Rolet-Répécaud et al., 2013).

Los cuajos de origen animal contienen, además de quimosina, otra proteasa aspártica denominada pepsina. Su cantidad en el cuajo depende de la dieta del animal y de su edad al momento del sacrificio. Mientras que la quimosina rompe principalmente el caseinomacropéptido de la κ -caseína en el enlace péptido Phe105-Met106, la pepsina es menos específica y puede hidrolizar otros enlaces peptídicos que contienen residuos de Leu, Phe, Tyr o Val (Agudelo et al., 2004).

Los cuajos comerciales disponibles tienen un contenido de quimosina que oscila entre el 50% y el 97%. La quimosina de ternero se presenta en tres variantes genéticas. La quimosina A y la quimosina B difieren únicamente en el aminoácido ubicado en la posición 254, que puede ser asparagina o glicina, respectivamente (Kumar et al., 2010). Aunque la quimosina A exhibe una mayor actividad enzimática, tiende a experimentar degradación autocatalítica. Por otro lado, la tercera forma alélica, quimosina C, fue identificada como un producto de degradación de la quimosina A y se ha demostrado que posee una actividad de coagulación de la leche

más pronunciada. Sin embargo, la escasez del gen responsable limita la presencia de quimosina C en el cuajo comercial.

Además de la quimosina de ternero, también se obtienen cuajos de importancia tecnológica de otros rumiantes como el cordero, cabrito y búfalo. La quimosina de cordero, similar en tamaño a la de ternero, tiene una sensibilidad similar al calcio y al pH, pero una menor dependencia de la temperatura (Rogelj et al., 2001). La quimosina de cabrito presenta su máxima actividad de coagulación a pH 5,5 y se considera térmicamente estable hasta 55°C (Kumar et al., 2006). En cuanto a la quimosina de búfalo, parte de su secuencia de aminoácidos es idéntica a la de la quimosina de ternero, y se ha detectado que tiene la mayor proporción de actividad de coagulación respecto a la actividad proteolítica a 30°C. La pasta de cordero es un tipo especial de cuajo animal utilizado en la elaboración de quesos con denominación de origen en algunos países mediterráneos (Ferrandini et al., 2012). Se elabora tradicionalmente con estómagos de corderos recién sacrificados, llenos de leche, que luego se muelen, secan, salan y maduran (Addis et al., 2008). La actividad enzimática de la pasta de cordero se ve afectada por las condiciones de sacrificio y la temperatura de maduración. Contiene una alta cantidad de esterases que facilitan la lipólisis y la formación de ácidos grasos libres que intensifican el sabor del queso durante la maduración (Addis et al., 2005).

Desde la década de 1960, se ha buscado alternativas al cuajo animal debido a diversos factores como su disponibilidad, costo, calidad y demandas de consumidores específicos. Estos sustitutos deberían actuar de forma similar al cuajo natural en condiciones de pH y temperatura definidas, presentando una alta especificidad para coagular la κ -caseína (mayor actividad de coagulación que actividad proteolítica general) y una termolabilidad similar al cuajo natural. Actualmente, existen tres tipos de sustitutos que se utilizan con regularidad en la elaboración de queso, dependiendo de la región y el tipo de queso: coagulantes microbianos, coagulantes vegetales y quimosina producida por fermentación.

3.2.2. Coagulantes microbianos

Los coagulantes derivados de microorganismos son enzimas proteolíticas producidas por microorganismos no modificados genéticamente. Estas enzimas son

capaces de inducir la coagulación y gelificación de la leche de manera similar a la quimosina. Sin embargo, en muchos casos, las proteasas de los coagulantes microbianos son menos específicas que la quimosina. Esto significa que pueden degradar otras proteínas además de la caseína, lo que puede tener consecuencias negativas. Una alta actividad proteolítica general durante el cuajado puede provocar la pérdida de productos de degradación proteica en el suero lo que reduce el rendimiento de queso. Además, la fracción de enzima activa que permanece en el queso puede contribuir a la proteólisis durante la maduración. Esta proteólisis puede generar cantidades excesivas de péptidos hidrofóbicos pequeños, que a su vez causan un sabor amargo en el queso (Crabbe, 2004).

Existen diversos microorganismos que pueden producir enzimas coagulantes de la leche (Garg & Johri, 1994). Entre ellos, los más importantes en la industria láctea son tres especies fúngicas: *Rhizomucor miehei*, *Rhizomucor pusillus* (antes *Mucor pusillus*) y *Cryphonectria parasitica* (antes *Endothia parasitica*). El coagulante de *C. parasitica* es el menos utilizado y caracterizado debido a su alta actividad proteolítica general, lo que significa que degrada una gran cantidad de proteínas, especialmente la β -caseína (Broome et al., 2006), lo que puede tener un impacto negativo en la calidad del queso. El coagulante microbiano más utilizado en la elaboración de queso es el de *Rhizomucor miehei*. Este coagulante existe en cuatro tipos, todos ellos más proteolíticos que la quimosina (Law & Tamime, 2010). El tipo L es el tipo nativo, estable al calor. El tipo TL se fabrica por oxidación de la enzima nativa, es lábil al calor, más dependiente del pH y ligeramente menos proteolítico que el tipo L. El tipo XL se fabrica por una oxidación más fuerte que el tipo TL, es extra lábil al calor, más dependiente del pH y ligeramente menos proteolítico que el tipo TL. Finalmente, el tipo XLG o XP es una forma purificada cromatográficamente del tipo XL, con propiedades funcionales similares al tipo XL pero con menos impurezas no enzimáticas.

3.2.3. Quimosina producida por fermentación

La quimosina recombinante producida por fermentación microbiana es una alternativa a la quimosina de ternero natural. Esta tecnología se ha utilizado con éxito en la producción de queso durante muchos años, con una participación de mercado de hasta el 90% en algunos países (Rolet-Répécaud et al., 2013). La quimosina recombinante se puede producir a partir de diversos microorganismos como

bacterias, levaduras y hongos (Kumar et al., 2010). La elección del microorganismo determina si la quimosina se libera directamente al caldo de fermentación o se encapsula en inclusiones celulares (Vallejo et al., 2008; Vega-Hernández et al., 2004). La producción de quimosina recombinante implica la activación, purificación y, en algunos casos, lisis celular. Los métodos de purificación incluyen filtración, precipitación (Mule et al., 2009), floculación, centrifugación (M. Harboe et al., 2005) y cromatografía. También se han desarrollado métodos para producir quimosina recombinante en cultivos de células vegetales (Van Rooijen et al., 2008).

Además de la quimosina bovina recombinante, se han producido otras quimosinas recombinantes de animales como ovejas, cabras y búfalos de agua (Vallejo et al., 2008). La quimosina recombinante de camello es una enzima particularmente interesante con mayor actividad de coagulación, menor actividad proteolítica general y mayor estabilidad térmica que la quimosina bovina (Langholm Jensen et al., 2013; Møller et al., 2012). Esta enzima, originariamente destinada a la coagulación de la leche de camella (no sensible a la quimosina bovina), se ha utilizado con éxito en la producción de diversos tipos de queso.

3.2.4. Coagulantes vegetales

El uso de extractos vegetales como coagulantes en la elaboración de queso tiene una larga historia. La primera referencia escrita al respecto data del año 50 a.C., donde se menciona la utilización de cardo, semillas de cártamo o los flujos de la higuera para este fin (Roseiro et al., 2003). Los coagulantes de origen vegetal son una alternativa a los coagulantes tradicionales de origen animal o microbiano y pueden ser de interés para personas con restricciones religiosas o vegetarianas que no pueden consumir productos de origen animal (Amira et al., 2017; Fresno et al., 2023; Mohsin et al., 2024).

Las proteasas vegetales que se utilizan para coagular la leche pueden provenir de diversas partes de las plantas como frutas, hojas, flores, semillas, látex y rizomas. Incluso se pueden extraer de partes no comestibles de las plantas (Shah et al., 2014). Las semillas de loto y calabaza son dos ejemplos de fuentes de proteasas vegetales con un alto poder coagulante y que producen quesos con características sensoriales favorables (Saxena & Sasmal, 2021). Si bien existen muchas plantas cuyas enzimas pueden coagular la leche, muchas de ellas no son adecuadas para la producción de

queso debido a su alta actividad proteolítica. Esta actividad excesiva puede tener consecuencias negativas sobre el perfil sensorial del queso al generar péptidos amargos y sobre el rendimiento del queso por la degradación excesiva de las proteínas de la leche (Nicosia et al., 2022).

Existen siete tipos de proteasas, clasificadas según su composición y mecanismo de acción. Sin embargo, solo las proteasas aspárticas, de cisteína y de serina tienen la capacidad de coagular la leche (Pontual et al., 2012).

Tabla 7. Fuentes y tipos de coagulantes vegetales (Mohsin et al., 2024).

Fuente	Parte de la planta	Proteasa
<i>Cynara cardunculus</i>	Flor	Aspártica
<i>Cynara scolymus</i>	Flor, raíz	Aspártica
<i>Salpichroa origanifolia</i>	Fruto	Aspártica
<i>Withania coagulans</i>	Fruto	Aspártica
<i>Helianthus annuus</i>	Semilla	Aspártica
<i>Ficus religiosa</i>	Látex	Serina
<i>Solanum dubium</i>	Semilla	Serina
<i>Streblus asper</i>	Látex	Serina
<i>Cucumis melo L.</i>	Fruto	Serina
<i>Euphorbia prunifolia</i>	Látex	Serina
<i>Solanum elaeagnifolium</i>	Fruto	Serina
<i>Ficus carica</i>	Látex	Cisteína
<i>Calotropis gigantea</i>	Tallo, hojas	Cisteína
<i>Calotropis procera</i>	Hojas	Cisteína
<i>Actinidia chinensis</i>	Fruto	Cisteína
<i>Carica papaya</i>	Látex	Cisteína
<i>Ananas comosus</i>	Fruto	Cisteína
<i>Zingiber officinale</i>	Rizoma	Cisteína

El cardo *Cynara cardunculus L. subsp. flavescens* es la principal fuente de enzimas coagulantes de origen vegetal a nivel mundial. El extracto acuoso obtenido de sus flores se ha utilizado durante años en la elaboración de queso artesanal. Esta enzima es efectiva en la coagulación de la leche y permite obtener quesos de alto valor por su sabor y calidad (Fernández-Salguero et al., 2002). Así, las flores de esta planta autóctona de la península ibérica se han utilizado durante mucho tiempo para la elaboración de quesos de oveja artesanales (Abellán et al., 2012; Ordiales, Benito,

et al., 2013; Sales-Gomes & Lima-Costa, 2008; Sousa & Malcata, 2002). Estos quesos presentan una textura suave y mantecosa, un sabor ligeramente amargo y picante y una licuefacción en el centro (Feijoo-Siota & Villa, 2010; Galán et al., 2008, 2012a; Pereira et al., 2008; Pino et al., 2009).

Se suelen utilizar las flores del cardo desecas al Sol para preparar los extractos acuosos con capacidad coagulante (Roseiro et al., 2003). Sin embargo, la fuerza proteolítica y las fracciones de enzimas de estos extractos varían ampliamente debido a la falta de estandarización en los procesos de secado y extracción (Rolet-Répécaud et al., 2013). Se han realizado diversos intentos para estandarizar los coagulantes de *Cynara*, como la congelación, la liofilización o la inmovilización por adsorción (Pino et al., 2009; Prados et al., 2007; Tejada et al., 2008). Recientemente se han desarrollado nuevos métodos para mejorar el rendimiento y la clasificación de los extractos de cardo Ordiales et al. (2012).

4. PRODUCTOS SIN LACTOSA

4.1. Tendencias de consumo en la industria láctea

Los productos sin lactosa constituyen el segmento de mayor crecimiento de la industria láctea y no sólo por razones clínicas, sino también por su rentabilidad y expansión en el mercado como productos innovadores (Natrella et al., 2023) de hecho, la declaración de propiedades saludables es una de las más utilizadas en los lanzamientos de nuevos productos lácteos (Dekker et al., 2019). La Unión Europea considera los productos lácteos bajos en lactosa o sin lactosa alimentos funcionales (Szabó et al., 2021). En los últimos cinco años, ha habido una creciente diversificación de la variedad de productos lácteos sin lactosa. Durante este periodo, la leche y el yogur destacaron como los productos lácteos sin lactosa más habituales, pero se ha observado un crecimiento en la disponibilidad de mantequilla y queso sin lactosa (Li et al., 2023). Dentro de los quesos, muchos tipos presentan de forma natural un contenido muy bajo de lactosa (<0,1%), como es el caso de los quesos de larga maduración (McSweeney, 2004). Dependiendo del tipo de queso, la mayor parte de la lactosa se suele perder durante el proceso de desuerado, aunque para las personas intolerantes a la lactosa, la fracción retenida en la cuajada puede ser excesivamente alta (Li et al., 2023), siendo los quesos frescos los que contienen mayor cantidad de lactosa (Gille et al., 2018).

Hasta el momento, no hay una ley universal que regule el etiquetado de los productos “delactosados”, definidos como “sin lactosa” o “bajos en lactosa”, y sus umbrales relativos (Facioni et al., 2021). Por este motivo, la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) ha establecido que un producto alimenticio etiquetado como “sin lactosa” debe contener menos de un 0,01% de lactosa y uno bajo en lactosa, un 1%, basándose en distintas disposiciones comunitarias (Reglamento UE nº1169/2011, Reglamento UE nº609/2013) y un Dictamen científico de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, de 10 de septiembre de 2010. Estos porcentajes tan bajos sitúan a España en el grupo de países más exigentes respecto a la recomendación sobre el contenido de lactosa presente en productos comercializados con las denominaciones “bajo contenido de lactosa” y “sin lactosa” (Tabla 8).

Tabla 8. Regulación sobre el umbral de lactosa en diferentes países de la UE (EFSA, 2010).

País	Sin lactosa	Bajo en lactosa
Dinamarca	10 mg/100 g	1 g/100 g
Estonia	10 mg/100 g	1 g/100 g
Finlandia	10 mg/100 g	1 g/100 g
Noruega	10 mg/100 g	1 g/100 g
Suecia	10 mg/100 g	1 g/100 g
Alemania	100 mg/100 g	-
Eslovenia	100 mg/100 g	-
Hungría	100 mg/100 g o mL	-
Irlanda	Sin presencia	1 g/100 g

4.2. Intolerancia a la lactosa

La lactosa es un carbohidrato que se encuentra de forma exclusiva en la leche de los mamíferos. Se compone de dos unidades de monosacáridos, glucosa y galactosa, unidos mediante un enlace glicosídico β (1-4). Su fórmula molecular es $C_{12}H_{22}O_{11}$, y su nombre sistemático es β -d-galactopiranosil-(1-4)-d-glucosa. Debido a que la glucosa puede existir en dos formas (α -piranosa y β -piranosa), la lactosa puede encontrarse en dos formas anoméricas en soluciones acuosas: α -lactosa y β -lactosa. La concentración de lactosa presente en la leche varía considerablemente entre diferentes especies (Tabla 9), aunque en términos generales, el contenido

promedio de lactosa en la leche de la mayoría de los mamíferos utilizados en la industria lechera a nivel mundial es similar, oscilando entre el 4,3% y el 4,8%.

Tabla 9. Contenido medio de lactosa y agua en leche de distintos mamíferos (McSweeney et al., 2022).

Fuente	Lactosa (%)	Agua (%)
Vaca	4,6	87,3
Búfala	4,8	82,8
Cabra	4,3	86,7
Oveja	4,8	82,0
Camella	4,5	87,0
Humana	7,5	87,1

La lactosa tiene varias funciones claves en la producción de leche: determina el volumen de leche producido, contribuye a la presión osmótica de la leche y es crucial para el rendimiento lácteo y la síntesis de oligosacáridos. Además, el proceso de síntesis de lactosa, al utilizar la glucosa disponible, tiene efectos notables en la producción de otros componentes importantes de la leche como la secreción de α -lactoalbúmina (McSweeney et al., 2022).

Las características de la lactosa son, en su mayoría, similares a las de otros azúcares. Actúa como azúcar reductor, lo que significa que posee un grupo carbonilo libre o potencialmente libre (un grupo aldehído en el caso específico de la lactosa), pudiendo participar en la reacción de Maillard (pardeamiento no enzimático) con formación de polímeros marrones y alteraciones en el color, la generación de compuestos con sabores no deseados o sedimentaciones (Fox et al., 2017). En comparación con otros azúcares, la lactosa exhibe un nivel de dulzura relativamente bajo: se requiere al menos tres veces más lactosa que sacarosa para alcanzar la misma percepción de dulzura en soluciones acuosas al 1% o al 5%. Estas características no tienen un impacto significativo en el queso de larga maduración ya que parte de la lactosa se consume durante el proceso de fabricación o en las etapas iniciales de maduración (McSweeney et al., 2022).

La lactasa es la enzima encargada de hidrolizar la lactosa en sus dos monosacáridos, los cuales pueden ser absorbidos a nivel intestinal. La glucosa se emplea para generar energía mientras que la galactosa contribuye al desarrollo cerebral de los bebés y a la producción de glicolípidos y glicoproteínas. La actividad de la lactasa disminuye mayormente después del destete en la mayoría de los mamíferos, y esta disminución está regulada genéticamente (Brown-Esters et al., 2012; Suri et al., 2019). Esta enzima se localiza en las caras externas de la membrana plasmática de las células epiteliales de las microvellosidades del intestino delgado. La intolerancia a la lactosa se presenta en aquellas personas que no disponen de suficiente lactasa en su organismo para hidrolizar la lactosa. En consecuencia, la lactosa dietética no digerida ingresa al intestino grueso, donde actúa como un sustrato fermentable para la microflora del colon y causa diarrea osmótica y otros síntomas. Un porcentaje alto de adultos en el mundo (70%) es intolerante a la lactosa, existiendo una gran variabilidad dependiendo de la zona geográfica. En países africanos, asiáticos y sudamericanos la prevalencia de intolerancia a la lactosa en adultos oscila entre el 50% y el 90%, en contraste con las tasas del 5% al 15% en países europeos y norteamericanos (Misselwitz et al., 2013). Los adultos que presentan deficiencia de lactasa generalmente conservan entre un 10% y un 30% de la actividad de lactasa intestinal. Solo experimentan síntomas cuando consumen cantidades suficientes de lactosa que exceden los mecanismos compensatorios del colon (Arias et al., 2018). Sin embargo, en un 25% de la población la actividad de la lactasa permanece a lo largo de toda la vida, lo cual también está determinado genéticamente (He et al., 2007, 2008; Swallow, 2003).

La malabsorción de lactosa ocurre cuando la lactosa sin digerir llega al colon y es fermentada por la microflora colónica, generando una carga osmótica que resulta en la producción de ácidos grasos de cadena corta y gases como dióxido de carbono, metano e hidrógeno. Estos procesos pueden desencadenar síntomas de trastornos gastrointestinales, como gases, distensión abdominal, calambres, vómitos, náuseas y diarrea conocidos como intolerancia a la lactosa (Szilagyi & Ishayek, 2018). La incapacidad de absorber adecuadamente la lactosa se considera un requisito previo para desarrollar intolerancia a la lactosa o a alimentos que la contienen. Sin embargo, el umbral de tolerancia a la lactosa en la dieta puede variar entre individuos (Suri et al., 2019) debido a factores como la cantidad consumida, la actividad residual de la lactasa (Swallow, 2003), el tiempo de tránsito intestinal (Zhao et al., 2010), la composición de la microflora colónica y la interacción con otros componentes

dietéticos. Varios autores han señalado que hay una correlación directa entre la cantidad ingerida de lactosa y la intensidad de los síntomas (Brown-Esters et al., 2012; Corgneau et al., 2017). La lactosa en cantidades pequeñas, inferiores a 12 g, no genera síntomas, pero cantidades entre 20 y 50 g pueden provocar síntomas significativos. El tratamiento de la intolerancia a la lactosa implica limitar el consumo de alimentos que contienen lactosa o ingerirla en cantidades reducidas (J. Singh & Vyas, 2022). Los síntomas típicos de intolerancia a la lactosa generalmente se manifiestan entre 30 minutos y 2 horas después de la ingesta de alimentos que contienen lactosa. Dado que los síntomas gastrointestinales después de consumir leche o productos lácteos pueden ser ambiguos, se prefieren las pruebas diagnósticas para identificar con mayor precisión las causas subyacentes de los síntomas (Brown-Esters et al., 2012).

La intolerancia a la lactosa es una condición generalmente considerada benigna por la mayoría de los expertos y médicos de atención primaria. Sin embargo, varios estudios indican que sufrir esta condición está asociado con una reducción significativa en la calidad de vida. Por lo tanto, es crucial que se realice un diagnóstico preciso y que se brinden recomendaciones o tratamientos adecuados para los pacientes afectados (He et al., 2008). De las pruebas disponibles para diagnosticar la intolerancia a la lactosa, la más útil es la biopsia duodenal (Arias et al., 2018). Existen varias pruebas alternativas que se pueden llevar a cabo para llegar al diagnóstico de intolerancia a la lactosa. Sin embargo, la más comúnmente utilizada y relativamente accesible es la prueba de hidrógeno espirado con sobrecarga de lactosa (TH). Este examen mide el nivel de hidrógeno o, en algunos casos, metano en el aire espirado por el paciente, como resultado de la fermentación bacteriana en el colon de la lactosa no absorbida. Se considera que la prueba es indicativa de intolerancia cuando los niveles de hidrógeno en el aire espirado, ajustados por la concentración de CO₂, superan los 20 partes por millón (ppm) o los niveles de metano superan los 12 ppm (Casellas et al., 2016).

Barr (2013) descubrió que los individuos con intolerancia a la lactosa consumen niveles más bajos de calcio, aproximadamente 739 mg/día, lo cual está por debajo de la ingesta dietética recomendada (IDR) de 1000 mg/día. Esta disminución en la ingesta se relaciona con problemas de salud ósea, hipertensión y un mayor riesgo de diabetes mellitus (Pasin & Comerford, 2015). Es crucial considerar que excluir la leche y los productos lácteos de la dieta puede llevar al desarrollo de carencias de

micronutrientes y minerales. Estos productos son una fuente significativa de nutrientes como calcio, fósforo, colina, vitamina B₁₂, vitamina A y riboflavina (Dekker et al., 2019).

4.3. Métodos de reducción de la lactosa en productos lácteos

Existen varias formas de reducir la concentración de lactosa en la leche. La forma más común es la vía enzimática mediante el tratamiento de la leche con la enzima lactasa (De Albuquerque et al., 2021). Otra forma es la filtración con membranas como la ultrafiltración, la nanofiltración, la ósmosis inversa y la electrodiálisis. En el caso de los quesos, también el lavado de la cuajada reduce significativamente la lactosa residual en el producto final.

4.3.1. Reducción de la lactosa por vía enzimática

La enzima β -galactosidasa descompone la lactosa de la leche en glucosa y galactosa (Churakova et al., 2019). Este proceso influye en la degradación de las proteínas de la leche ya que los monosacáridos derivados de la hidrólisis de la lactosa participan en la reacción de Maillard con una velocidad superior a la lactosa, dando lugar a un oscurecimiento en los productos sin lactosa más acentuado (Naranjo et al., 2013).

En la producción de leche sin lactosa la lactasa se puede añadir antes o después del tratamiento térmico: pre-hidrólisis y post-hidrólisis. En el método de pre-hidrólisis, la lactasa se introduce en un recipiente con leche cruda y se deja incubar durante aproximadamente 24 horas a temperaturas bajas (4-8 °C) para prevenir el deterioro microbiano antes del tratamiento térmico. Este proceso requiere una mayor cantidad de lactasa en comparación con la post-hidrólisis y la enzima debe conservar su actividad a temperaturas bajas. La ventaja de este método frente al de post-hidrólisis es que esta enzima se inactiva por el tratamiento térmico posterior de la leche, reduciéndose su actividad secundaria proteolítica y de arilsulfatasa (Dekker et al., 2019). En cuanto a la post-hidrólisis, la lactasa se incorpora de manera aséptica a la leche tratada térmicamente en cantidades inferiores a las de la pre-hidrólisis. Este método requiere, sin embargo, una alta calidad de la enzima lactasa para evitar su actividad secundaria proteolítica y de arilsulfatasa (Dekker et al., 2019).

Las enzimas utilizadas de manera comercial comprenden lactasas ácidas y lactasas neutras. Mientras que las lactasas ácidas se destinan como complementos nutricionales y descomponen la lactosa en el estómago, las lactasas neutras son empleadas en el ámbito comercial para la producción de productos sin lactosa. Estas enzimas pueden ser extraídas de fuentes microbianas, vegetales y animales con fines comerciales, aunque la fuente más frecuentemente empleada son los microorganismos, dada su mayor eficiencia productiva, lo que conlleva a una reducción en el costo del producto final (Saqib et al., 2017). La β -galactosidasa disponible comercialmente se extrae a partir, principalmente, de cepas de *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Kluyveromyces lactis* y *Kluyveromyces fragilis* y su actividad óptima se encuentra a pH alrededor de 7,0 y temperaturas comprendidas entre 35 y 40 °C (Liu et al., 2019). Su investigación y aislamiento continúa siendo un área de interés para la industria láctea que requieren enzimas que se adapten mejor a las condiciones de procesado de los productos lácteos. En esta línea, la inmovilización de enzimas es una técnica ampliamente empleada para mejorar la estabilidad de la enzima y prevenir la contaminación del producto. Este método permite evitar la desnaturalización de la enzima durante el procesamiento de alimentos en diversas condiciones de temperatura y pH, lo que abre la posibilidad de reutilizar la enzima en múltiples ocasiones (Erich et al., 2015).

4.3.2. Filtración por membranas

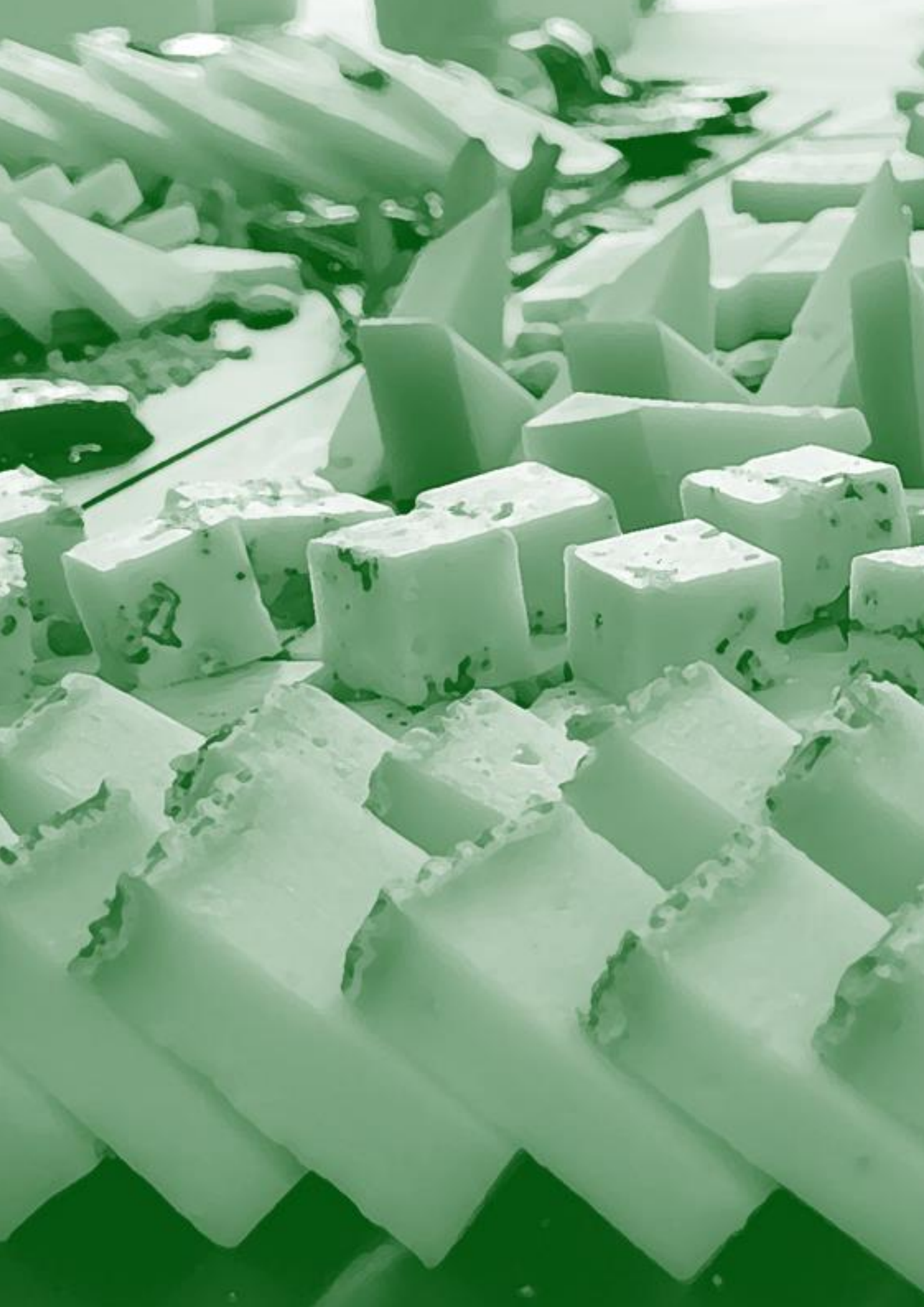
Otro método para la separación de la lactosa en la leche es la filtración por membranas. El desafío principal en la eliminación de lactosa de la leche se centra en la separación efectiva de proteínas y lactosa debido a la amplia distribución de tamaños de las proteínas en la leche. Durante los procesos de ultrafiltración y nanofiltración, las proteínas y las grasas quedan retenidas, mientras que la lactosa y las moléculas pequeñas pueden atravesar las membranas. En la práctica industrial, las membranas de ultrafiltración de polímeros son comúnmente preferidas debido a su facilidad de preparación y rentabilidad (Qi et al., 2022)..

4.3.3. Lavado de cuajada

En el caso de los quesos, el lavado de la cuajada reduce significativamente el contenido de lactosa, minerales, proteínas séricas y ácido láctico, disminuyendo la posterior bajada del pH (Hou et al., 2012). Durante el proceso de lavado, los

constituyentes solubles presentes en los espacios intersticiales entre las partículas del coágulo son eliminados de manera eficiente, mientras que los que se encuentran dentro del propio coágulo están condicionados por el propio proceso de difusión. La velocidad de difusión está influenciada por las características de las fases líquidas (agua de lavado y suero) y de la cuajada. Con relación a las fases líquidas, influye el nivel de turbulencia, la viscosidad y la concentración relativa de sólidos solubles en el agua de lavado en comparación con la del suero retenido en la cuajada. Con respecto a la cuajada, factores como el tamaño de poro, la tortuosidad, la interconectividad de los canales y el tamaño real de las partículas del coágulo tienen efecto sobre la difusión. El coágulo resultante de la coagulación enzimática presenta una mayor densidad en comparación con el formado por coagulación ácida, lo que dificulta su proceso de lavado. El lavado de la cuajada se utiliza también para reducir la temperatura de la cuajada, inhibir la sinéresis y modificar la textura (Hou et al., 2014).

El lavado de la cuajada constituye, sin embargo, una fase de coste considerable debido al consumo de agua y a la gestión posterior del suero en la quesería siendo necesario optimizar la intensidad del lavado que debe ajustarse a las características deseadas en el queso (Delorme et al., 2021).





HIPÓTESIS DE PARTIDA Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS DE PARTIDA Y OBJETIVOS

La tendencia de consumo de productos de proximidad ha aumentado notablemente en los últimos años. Esto puede ser debido en parte, al creciente interés de la sociedad por la cultura gastronómica y al auge del turismo rural que permite el consumo de estos productos en la misma zona de producción. Entre los productos agroalimentarios locales destaca el queso. Andalucía cuenta con un rico patrimonio quesero, cuya base es la leche de cabra de razas Malagueña, Murciano-Granadina, Florida y Payoya, que aún perduran debido al modelo de producción sostenible, que ha propiciado el mantenimiento de estas razas ganaderas autóctonas, muy bien adaptadas al territorio.

Otro aspecto de creciente interés en nuestra sociedad es la preocupación por la salud y el bienestar. Esto ha provocado la demanda de alimentos sin lactosa, sin gluten, bajos en azúcares y/o grasas y de alimentos funcionales, en general, como instrumentos de protección de la salud. En los últimos años se ha producido un aumento en la demanda de leches y quesos sin lactosa y bebidas vegetales en sustitución de la leche, debido a la intolerancia a la lactosa de la población. Como resultado, los productos sin lactosa representan el segmento de más rápido crecimiento de las industrias lácteas y no sólo por razones clínicas sino también por su rentabilidad y expansión en el mercado como productos innovadores. De hecho, la declaración de propiedades saludables es una de las más utilizadas en los lanzamientos de nuevos productos lácteos. Por otro lado, la escasez y el alto precio del cuajo animal, restricciones religiosas (islamismo y judaísmo) y otros factores relacionados con dietas vegetarianas y veganas de algunos consumidores han promovido el uso de coagulantes vegetales en la elaboración de queso.

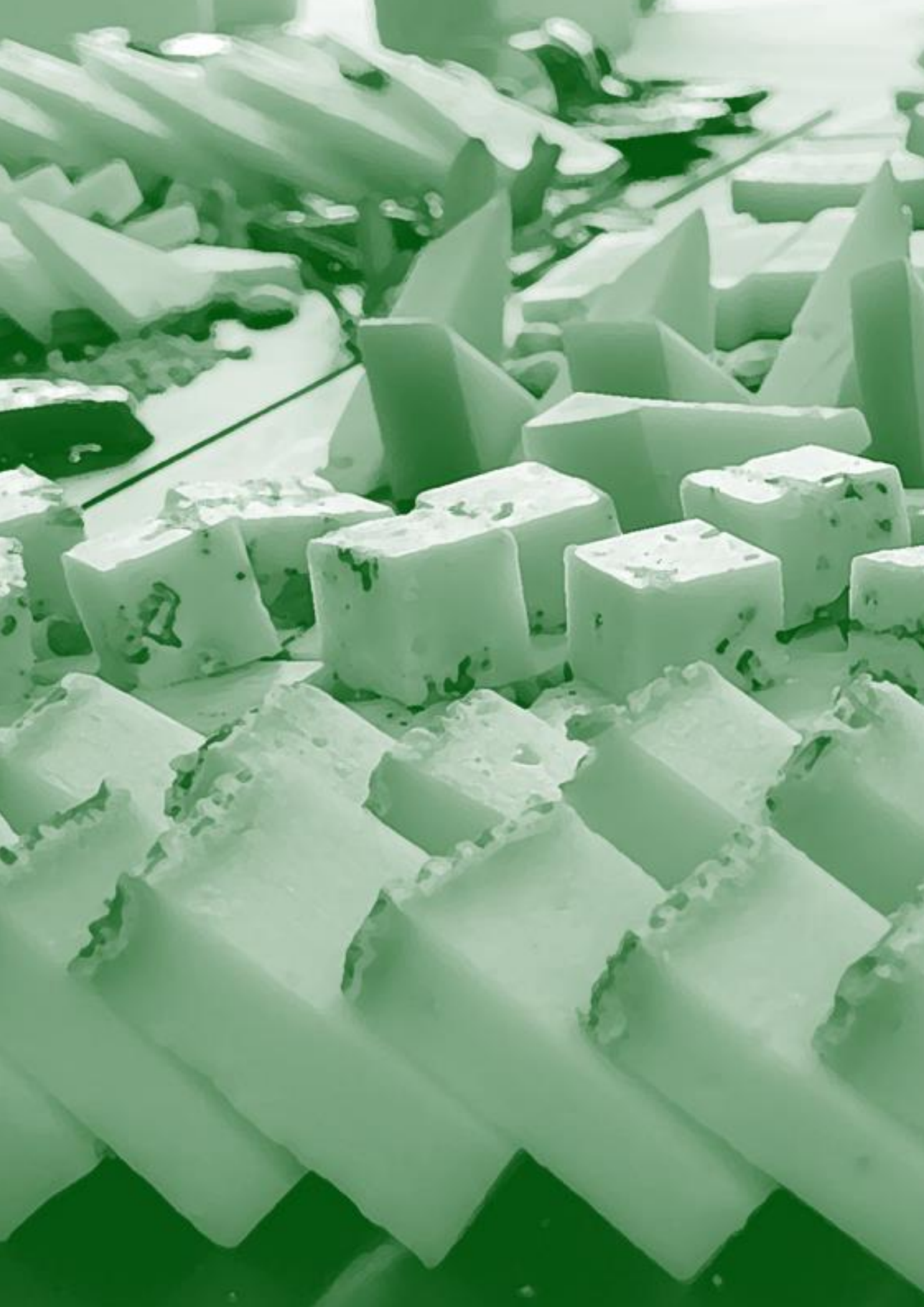
Las pequeñas y medianas empresas lácteas andaluzas no tienen un nivel de conocimiento tecnológico adecuado para desarrollar productos lácteos adaptados a las nuevas necesidades del consumidor. Además, los productos sin lactosa comercializados en la actualidad tienen escasa calidad sensorial y son pocos los estudios científicos que abordan esta problemática.

En este contexto se plantea el presente trabajo que tiene como objetivo general evaluar el efecto de la reducción de lactosa en la composición y en la calidad

sensorial de los quesos de cabra andaluces. Para abordar este objetivo general, se planten tres objetivos específicos:

1. Evaluar el grado de innovación de las queserías artesanales y la demanda de quesos por parte de los consumidores, con un estudio de caso en la región de Andalucía (España). Para ello: (I) Se analizan 80 queserías representativas de la totalidad del sector quesero artesano andaluz con la ayuda de un cuestionario previamente establecido, (II) Se realiza un estudio sobre una población de 1.529 consumidores habituales de queso, de ambos sexos y diferentes edades, procedentes de distintas zonas de Andalucía con la ayuda también de un cuestionario y (III) Se analizan si las queserías cubren las demandas de los consumidores. Este objetivo fue abordado en la investigación que dio lugar al artículo incluido como Capítulo I: López Ruiz, Á.L.; Ruiz Pérez-Cacho, P.; Galán-Soldevilla, H.; Camuñez Ruiz, J.; Ureña Cámara L.P.; Ruiz Morales, F.d.A (2024). Mediterranean artisanal cheese factory: Innovatvation and diversification in front of consumers. Artículo en preparación para la revista Small Ruminant Research.
2. Evaluar el efecto de la reducción de lactosa sobre las características fisicoquímicas y sensoriales del queso de cabra semiduro de la raza Murciano-Granadina. Para ello: (I) Se investigan las dosis de lactasa a añadir a la leche para obtener un queso libre en lactosa (< 0,01%) y (II) Se seleccionan las dosis de lactasa para tengan lugar los procesos típicos de fermentación y maduración en el queso y obtener quesos libres en lactosa con un perfil sensorial similar al queso tradicional. Este objetivo fue abordado en la investigación que dio lugar al artículo incluido como Capítulo II: López Ruiz, Á.L.; Ruiz Morales, F.d.A.; Ruiz Pérez-Cacho, P.; Galán-Soldevilla, H. (2023). Effect of Lactose-reduction in Murciano-Granadina semi-hard goat cheese on physicochemical and sensory characteristics. *Foods*,12, 996. <https://doi.org/10.3390/foods12050996>.
3. Evaluar el efecto de la reducción de lactosa sobre la composición y el perfil sensorial de quesos de cabra de pasta blanda de leche cruda de Murciano-Granadina elaborados con coagulante vegetal (*Cynara cardunculus* L.). Para ello: (I) Se ensayan diferentes cultivos iniciadores y de maduración y parámetros tecnológicos (temperaturas y humedades relativas) para obtener un queso de cabra de pasta blanda similar a las tortas extremeñas y (II) se

estudia el efecto de la reducción de lactosa en estos quesos. Para esta segunda meta, se realizaron varios ensayos para optimizar la cantidad de lactasa a añadir a la leche para obtener un queso sin lactosa con un perfil sensorial similar a los controles. Este objetivo fue abordado en la investigación que dio lugar al artículo incluido como Capítulo III: López Ruiz, Á.L.; Ruiz Morales, F.d.A.; Ruiz Pérez-Cacho, P.; Galán-Soldevilla, H. (2024). Physical-chemical and sensory characteristics of a soft goat cheese made with plant coagulant (*Cynara cardunculus*, L.) with and without lactose. Artículo enviado a la revista: LWT-Food Science and Technology.





CAPÍTULOS

Mediterranean artisanal cheese factory: Innovativeness and diversification in front of consumers

López Ruiz A.L.^{1,2}, Ruiz Pérez-Cacho P.¹, Galán H.¹, Camuñez, J.⁴; Ureña Cámara L.P.³; Ruiz Morales F.A.^{3*}

¹Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

²Centro IFAPA Hinojosa del Duque, 14270 Córdoba, Spain

³Centro IFAPA Camino de Purchil, 18004 Granada, Spain

⁴Departamento de Economía Aplicada, Universidad de Sevilla, Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales, 41018 Sevilla, Spain

* Corresponding author at: Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica, IFAPA Camino de Purchil, 18004 Granada, Spain. E-mail address: franciscoa.ruiz@juntadeandalucia.es (Ruiz Morales F.A.)

ABSTRACT

At present, the evolution of consumer demands in dairy products has changed, so that not only do their hygienic-sanitary requirements have to be observed, but, also, so do other obligations, related to health, the environment, easy use, or originality. The small dairy companies often have difficulties in carrying out the latter. This work assesses the artisanal cheese firms' ability to adapt to diversification demands with a study of a case in the region of Andalusia (Spain). For this purpose, 80 surveys were made in some of those cheese making firms to measure their levels of differentiation in the manufacture of their products. Also, to assess the demand of consumers for the diversification of cheese and dairy products, 1529 questionnaires were used. Seven diversification indices were taken to perform a hierarchical cluster analysis, both cheese firms and of the consumers, generating 5 clusters in each group interviewed. The study reveals a discrepancy between the demands in diversification of the consumers, focused on INDV3-Cheese made with new technologies (blue, lactic or plant coagulants), and the cheese firms with a greater diversification centred on INDV2-Cheeses with additives.

Adopting innovations that respect authenticity and improve the diversification of artisanal cheese firms by means of the transfer of knowledge and market studies could improve competitiveness in these enterprises.

KEYWORDS: functional dairy products, innovations, marketing, caprine.

1. INTRODUCTION

Milk and dairy product consumption is considered to be a source of essential elements for human nutrition due to, among other reasons, their high content in proteins, minerals, and vitamins (Moreno-Rojas et al., 2010). There is strong evidence that milk and its products are important sources of nutrients, some of which are especially vital at certain stages of life (Givens, 2020). To be specific, the consumption of fermented dairy products is beneficial for human health, mainly for their hypocholesterolemic, antioxidant, skeletal, hypotensor and immunological effects, and those on the intestinal microbiota. In turn, they have anticancerigenous, immunomodulatory and antiallergic properties (García-Burgos et al., 2020).

The first signs of a fermented dairy product being made go back to approximately 10,000 years ago, in the Near East (Kongo & Malcata, 2016). The remains found, and later analysed, date from the fifth to seventh millenium B.C., with highlights like the arrival of cheese to Europe (Evershed et al., 2008). Currently, cheese and dairy products are identity markers for many cultures world-wide (Berno & Fusté-Forné, 2020). A multitude of types of cheese and dairy products are made from the milk of different animals (sheep, goat, cow, horse, reindeer, etc.) and diverse provenances like France, Italy, Nepal, New Zealand, the United States, or Spain of course, all of them with a traditional production process (Berno & Fusté-Forné, 2020).

Despite the controversy generated in various agrifood sectors around products designated as being traditional, following Gellynck & Kühne (2010), traditional dairy products can be defined as those, labelled or unlabelled, that comply with four criteria: 1) the key production stages of a traditional cheese product have to be carried out in a certain area; ii) its recipe (ingredients), origin of raw material, and/or making process, should be authentic; iii) it should have been commercially available for at least 50 years; and iv) it should form part of the gastronomic patrimony of the territory. According to the data offered by the European Union, a total of 259 cheeses with a protected Designation of Origin and a Protected Geographical Indication comply with those criteria (European Commission, 2024).

However, traditional food producers face the challenge of improving the safety, salubrriousness and functionality of their products in accordance with market demands by means of different innovations that permit them to maintain, and even broaden, their actual area in a highly competitive and globalized market, especially the

European one and its gradually more extensive regulations (Givens, 2020). Actually, the European consumers themselves are encouraging those changes by increasingly demanding more functional foods, that are not only tasty but also healthy (Sloan, 2020), and that, in turn, are respectful of animal welfare and sustainability (Stampa et al., 2020).

Nevertheless, consumers sometimes demonstrate a certain resistance to adopting innovations, especially when they are associated with sophisticated technologies or are too recent (Mani & Chouk, 2018). This effect is more pronounced in the case of foods, in which the influence of sociodemographic or cultural aspects, lifestyles or individual neophilia/neophobia, could be fundamental (Reilly, 2018). Corroborating these results, Kühne et al. (2010) report that European consumers of traditional foods are in favour of the innovations that enhance their authenticity and origin and improve their shelf life, but that they reject those that may affect the sensorial properties of the product.

Within the global context of the dairy sector, Andalusia is a basic actor as it is the second region in goat's milk production in the European Union (EUROSTAT, 2024), and is where goat's and sheep's milk cheese has traditionally been manufactured. A total of 10 traditional varieties of goat's and 5 of sheep's milk cheeses has been recognized (de la Haba Ruiz et al., 2017). In addition to cheeses, these firms have traditionally made other dairy products, mainly yoghurt and cottage cheese (Ares Cea, 2009).

The cheese factories found in this region transform between 500 and 2,500 litres daily, and are considered as being small artisan cheese factories (Pantoja et al., 2017). Andalusia's cheese industry is characterized by the elaboration of cheeses with goat's milk, mainly from local breeds. Despite being a national and European leader in goat's milk production, the region's cheeses do not have any distinguishing differentiated quality labels (PDO, PGI or TSG). However, Andalusia possesses a rich, traditional cheese patrimony that is highly valued by consumers. Cow's milk production is also significant, and is mainly intended for direct consumption. Some cheese firms near large cities transform it into fresh cow's milk cheeses or those blended with goat's milk, and in semi-cured cheeses with cow's, goat's and sheep's milk. Although there is a scant volume of sheep's milk, the production of sheep's milk cheese is rising and some pure sheep's milk cheeses, or the latter mixed with goat's milk, are being made (Ruiz Morales, 2012).

Andalusia's traditionally consumes goat's milk cheese (sometimes sheep's milk or a mixture), and it is enzymatic, with different degrees of ripening, made with raw or pasteurized non standardized milk. It is made with goat kid's whey, and cloths are used to deposit the curd into moulds with a marked discoidal format and esparto matting imprint. The rind usually develops presents itself as brushed with a natural rind. However, within the innovation adoption processes in the dairy sector, the dominant national agrifood system tends to underestimate artisanal food value chains, that are often sustained by production models that are rooted in rural and/or mountain áreas (Ruiz Morales, 2012), presenting a real problem for most of the Andalusian artisanal cheese makers.

The principal objective of this work is to evaluate the adaptation capacity of artisanal cheese factories to meet the present demands of consumers about diversification of dairy products.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Design and data collection

2.1.1. Dairy industries

An online survey was designed based on other dairy industry characterization studies. It was done using the tool Google Forms (Alphabet Co., Mountain View, CA) from the Google Docs platform (Google, 2022) for its potential and multiplatform accessibility (Anderson, 2019).

The questionnaire consisted of 22 items divided into 5 sections: i) Sociodemographic data of the producer (2 items); ii) Enterprise data from the cheese manufacturer (10 items); iii) Typology of the cheeses made (3 items); iv) Offer of cheeses (5 items) y v) Offer of other dairy products (2 items).

From the data collected, and to assess the degree of innovation taking the Traditional Cheese of Andalusia Description, 6 directed diversification indices and one diversification global index were defined: i) INDV1 – Functional cheeses (Lactose-free, light, low salt content, and gluten-free cheeses);; ii) INDV2 – Cheeses with flavoured rind or paste (olive oil, aromatic herbs and spices, alcoholic beverage, lard, and wheat bran); iii) INDV3 – Cheeses made with new technologies (lactic, mould in

rind, blue and plant coagulant); iv) INDV4 – Cheeses in different formats (cheese spread, cheese pate, grated cheese, pyramids, dice, bûche of large cheeses, medallions and cheesy chocolates, cheese selection and cheese boards); v) INDV5 – Cheese with quality labels (Andalusia Quality, 100% local breed, Organic, Natural Park); and vi) INDV6 – Products differing from cheese (desserts, cow's milk yoghurt, sheep's milk yoghurt, goat's milk yoghurt, kefir, goat's curd, sheep's curd, cottage cheese, goat's milk, sheep's milk, and other dairy products). In addition to a global index grouping the six items defined above (INDV-Total).

Populations targeted in this study was: 80 artisanal cheese factories and farms in Andalusia out of the 124 entered in the General Sanitary Register of Food Companies and Foods.

Data were collected between April and May, 2022.

2.1.2. Consumers

An online survey was conducted, based on other market studies with consumers (Newberry & Israel, 2017). For this purpose, the tool Google Forms (Alphabet Co., Mountain View, CA) from the platform docs.google (Google, 2022) was employed for its potential and multiplatform accessibility (Anderson, 2019).

The questionnaire consisted of 23 items divided into 3 sections: i) sociodemographic data (6 items); ii) cheese consumption habits (6 items); iii) shopping habits and knowledge of the diversification existing in the cheese sector (10 items).

The total population consulted came from the region of Andalusia, which, according to the latest census statistics, reaches 8,584,147 people (Instituto de Estadística y Cartografía de Andalucía, 2022), and which, therefore, for statistical purposes, can be considered as being infinite. Thus, in order to ensure the representativeness of the sample with respect to the Andalusian population, (Arias-Gómez et al., 2016), a proportional stratified random sampling was made, establishing maximum response quotas for the demographic variables of sex, province of residence, employment situation, and income level (Instituto de Estadística y Cartografía de Andalucía, 2022), assuming a 95.5% level of confidence

and a sampling precision of $\pm 5\%$ until reaching a minimum sample of 400 valid replies.

Data were collected between 21 March and 18 April 2022. The exclusion criteria established (Arias-Gómez et al., 2016) were as follows: being under age, residing outside Andalusia, and not being a cheese consumer. Also, throughout the questionnaire, a control question was posed, in order to eliminate the participants who were not giving it sufficient attention.

A total of 1563 answers were obtained. The design tool used removed those participants not complying with the criteria established, as well as those who replied erroneously to the control question. “Straight-liners” (those interviewees who always gave the same value) and those who replied too fast (Zhang & Conrad, 2014) were removed. Finally, 1529 correct answers were analysed.

2.2. Cluster analysis.

Starting from the data obtained, both from the cheese factories and the consumers, a hierarchical cluster analysis was performed following Ward’s Euclidean distance method, considering diversification indices defined, i.e. INDV1, INDV2, INDV3, INDV4, INDV5 INDV6 and INDV-Total, for its construction.

For the case of the cheese factories, the cluster analysis revealed 5 groups with 48 factories in the first group, 9 in the second, 17 in the third, 5 in the fourth and 1 in the last group (Table 3).

Likewise, for the consumers, the analysis also triggered 5 clusters: the first group with 60 consumers, the second with 108, the third 97, the fourth 598, and the fifth with 696 (Table 4).

For a better display of the differences, the centroids of these 5 clusters were calculated, using the indices employed for their construction (Table 1 and 2), both for the cheese factories and for the consumers.

Table 1. Centroids for the CHEESE FACTORY clusters, using diversification indices.

Cluster	INDV1	INDV2	INDV3	INDV4	INDV5	INDV6
1	0.1167	0.2411	0.0208	0.0875	0.0458	0.0436
2	0.0889	0.2857	0.5833	0.1667	0.0222	0.0404
3	0.0588	0.2689	0.2941	0.1765	0.0824	0.0856
4	0.0000	0.6857	0.0000	0.1400	0.3200	0.0545
5	0.6000	0.5714	1.0000	0.3000	0.0000	0.0000

Table 2. Centroids for the CONSUMER clusters, using diversification indices.

Cluster	INDV1	INDV2	INDV3	INDV4	INDV5	INDV6
1	0.17583	0.16577	0.35313	0.11500	0.15875	0.10558
2	0.15992	0.18376	0.76044	0.13403	0.14489	0.13683
3	0.23568	0.18526	0.75117	0.34413	0.21221	0.16070
4	0.17273	0.19607	1.00000	0.14711	0.24132	0.17240
5	0.13043	0.22104	0.80652	0.12261	0.53043	0.19887

2.3. Dairy product diversification

In order to see answer to the diversification of the dairy products offered by the cheese factories, and those demanded by the consumers, clusters of both groups were jointly represented graphically in order to view the distances between those of the two groups. As each cluster is defined by a vector of 6 coordinates, in order to display them in the plane, we proceeded to reduce the dimensions by means of a factorial analysis, with the principal component method and a varimax rotation (Acal et al., 2020). Thus, to each cluster of one group or the other, we assigned a pair of coordinates, corresponding to the factorial score of the first factor, in the first coordinate, and to that of the second factor in the second coordinate.

The weight of each index in the construction of the two factors is given in the Table 3.

Table 3. Matrix of rotated component ^a

	Component	
	1	2
INDV1		0.885
INDV2	-0.683	
INDV3		0.838
INDV4		0.818
INDV5	0.720	
INDV6	0.985	

Extraction method: principal component analysis.

Rotation method: Varimax with Kaiser normalization Kaiser.

As it can be seen that, in the first component, the indices with the highest weight are INDV2, INDV5 and INDV6., whereas, in the second one, they are INDV1, INDV3, INDV4. The graphical representation (Figure 1) shows that in the horizontal axis three indices that are furthest from the centre are arranged: they define the first component. However, in the vertical axis those three indices are furthest from the centre: they define the second component.

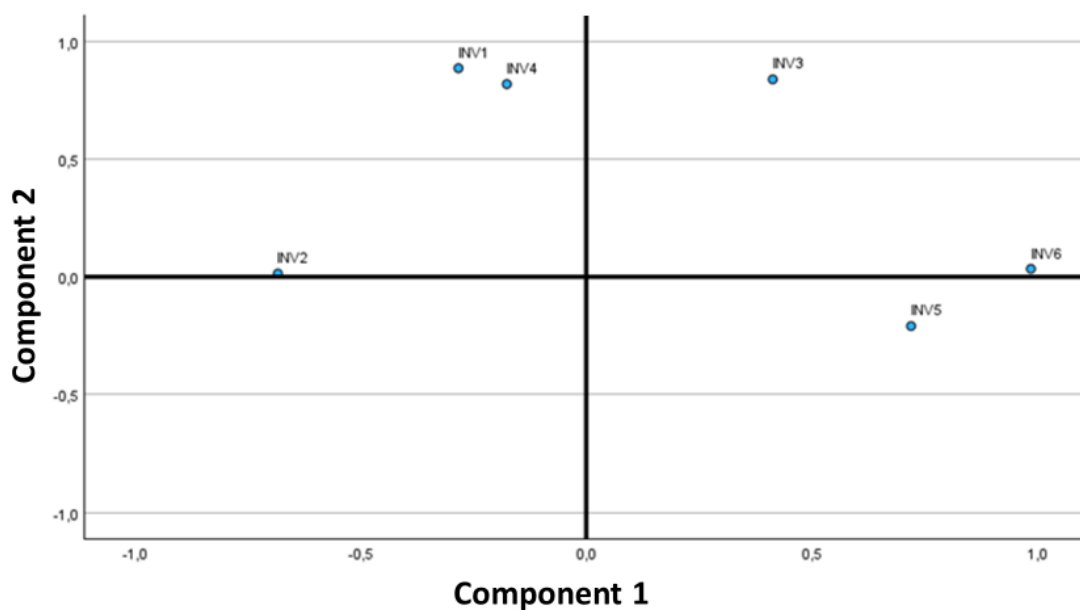


Figure 1. Graph of Diversification for the principal components calculated.

3. RESULT

3.1. Cheese factories

The k-means cluster analysis provided five groups with perfectly distanced centroids, grouping cheese factories with clear common characteristics in each cluster. The descriptive characteristics of the main indexes are presented in Table 4, together with the results obtained in each of the clusters.

Table 4. Description and dairy diversification indices for each cheese factory clusters (mean±SE)

	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4	Cluster 5
N	48	9	17	5	1
% Cheese factories	60	11.25	21.25	6.25	1.25
Owner's gender					
♂ (%)	58	44.4	76.5	100	100
♀ (%)	42	55.5	23.5	0	0
Owner's age					
Between 18 and 30 years (%)	20.8	22.2	23.5	20.0	0.0
Between 31 and 50 years (%)	54.2	66.7	64.7	40.0	0.0
Over 50 years (%)	25.0	11.1	11.8	40.0	100.0
Age of factory (years)***	11.29 ± 8.49 ^b	8.16 ± 5.93 ^b	7.65 ± 8.45 ^b	14.40 ± 11.57 ^{ab}	25 ^a
Number of employees	4.81 ± 4.79	7.22 ± 9.65	3.65 ± 5.05	9.40 ± 4.93	5
Innovation					
INDV 1***	0.1167 ± 0.1692 ^b	0.0889 ± 0.1452 ^b	0.0588 ± 0.0940 ^b	0.0000 ± 0.0000 ^b	0.6000 ± 0.000 ^a
INDV 2*	0.2411 ± 0.1747 ^c	0.2857 ± 0.1750 ^c	0.2689 ± 0.1418 ^c	0.6857 ± 0.0639 ^a	0.5714 ± 0.0000 ^b
INDV 3***	0.0208 ± 0.0698 ^d	0.5833 ± 0.1250 ^b	0.2941 ± 0.0982 ^c	0.0000 ± 0.0000 ^d	1.0000 ± 0.0000 ^a
INDV 4*	0.0875 ± 0.1044 ^b	0.1667 ± 0.0707 ^b	0.1765 ± 0.1437 ^b	0.1400 ± 0.0548 ^b	0.3000 ± 0.0000 ^a
INDV 5*	0.0458 ± 0.1110 ^a	0.0222 ± 0.0667 ^{ab}	0.0824 ± 0.1237 ^a	0.3200 ± 0.1789 ^a	0.0000 ± 0.0000 ^b
INDV 6*	0.0435 ± 0.0701 ^a	0.0404 ± 0.0660 ^{ab}	0.0856 ± 0.1040 ^a	0.0545 ± 0.0813 ^{ab}	0.0000 ± 0.0000 ^b
INDV TOTAL***	0.0925 ± 0.0637 ^c	0.1979 ± 0.0843 ^b	0.1610 ± 0.0620 ^b	0.2000 ± 0.0392 ^b	0.4119 ± 0.0000 ^a

^{a, b} Values with different letters in the same row were significantly different: * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

The most important characteristics of the groups forming clusters were:

Cluster 1: Cheese factories with no diversification: This is the most numerous group (n: 48-60%) with the lowest global diversification value and slightly standing out above the other groups in diversification in quality brands (INDV5) and dairy products differing from cheese (INDV6).

Cluster 2: Factories producing cheeses with new technologies. This is a small group of cheese factories (n: 9-11.25%), in which the production of cheeses with new technologies (INDV3-lactic, blue, or plant coagulant) is the most prominent diversification.

Cluster 3: Cheese factories with scant diversification. This is a medium group of factories (n:17 – 21.25%), in which the total diversification rate is low, they only stand out for their diversification compared to other groups in quality brands (INDV5) and dairy products that are different from cheese (INDV6).

Cluster 4: Cheese factories making flavoured cheeses with quality brands.. This is a small group of factories (n:5 – 6.25%), with a low total diversification rate, with the making of flavoured cheeses standing out (INDV2) and those that are included in quality brands (INDV5).

Cluster 5: Factories producing functional cheeses. This group is formed by only one cheese factory that has the highest global diversification index, and particularly for producing functional cheeses (INDV1), flavoured cheeses (INDV2) and those with different formats (INDV4).

3.2. Consumers

The k-means cluster analysis provided five groups with perfectly distanced centroids, grouping consumers with clear common characteristics in each cluster. The descriptive characteristics of the main variables are presented in Table 5, together with the results obtained in each of the clusters.

Table 5. Sociodemographic variables, consumption habits and purchase of dairy products, demand for dairy product diversification for each consumer cluster (mean±SE).

	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4	Cluster 5
N	60	108	97	598	696
Gender					
♀	60 ± 6 ^{ab}	64 ± 5 ^a	45 ± 5 ^b	60 ± 2 ^{ab}	58 ± 2 ^{ab}
♂	40 ± 6.4 ^{ab}	36 ± 4.6 ^b	55 ± 5.1 ^a	40 ± 2.1 ^{ab}	42 ± 1.9 ^{ab}
Age					
Between 18 and 30 years ***	35 ± 6.2 ^b	83 ± 3.6 ^a	3 ± 1.8 ^d	23 ± 1.8 ^{bc}	12 ± 1.2 ^{cd}
Between 31 and 50 años ***	50 ± 6.5 ^a	10 ± 2.9 ^b	58 ± 5.0 ^a	52 ± 2.1 ^a	64 ± 1.8 ^a
Over 50 ***	15 ± 4.6 ^{bc}	6 ± 2.4 ^c	39 ± 5.0 ^a	25 ± 1.8 ^{ab}	25 ± 1.6 ^{ab}
Members in the family					
1-2 persons ***	17 ± 4.9 ^{bc}	10 ± 2.9 ^c	41 ± 5.0 ^a	30 ± 1.9 ^{ab}	30 ± 1.7 ^{ab}
3-4 persons*	68 ± 6.1 ^a	62 ± 4.7 ^{ab}	48 ± 5.1 ^b	56 ± 2.1 ^{ab}	57 ± 1.9 ^{ab}
5 persons or more **	15 ± 4.6 ^b	28 ± 4.3 ^a	10 ± 3.1 ^b	14 ± 1.5 ^b	13 ± 1.3 ^b
Employment situation					
Unemployed **	17 ± 4.9 ^{ab}	23 ± 4.1 ^a	5 ± 2.3 ^c	11 ± 1.3 ^{bc}	13 ± 1.3 ^{abc}
Student ***	20 ± 5.2 ^b	72 ± 4.3 ^a	0.0 ± 0.0 ^c	12 ± 1.4 ^b	0.0 ^c
Worker/pensioner ***	63.0 ± 6.3 ^c	5 ± 2.0 ^d	95 ± 2.3 ^a	77 ± 4.9 ^b	87 ± 1.3 ^{ab}
Income					
< 1000 €	17 ± 4.9	20 ± 3.9	11 ± 3.2	13 ± 1.4	11 ± 1.2
1000 – 3000 €	75 ± 5.6	63 ± 4.7	65 ± 4.9	67 ± 2.0	68 ± 1.8
+ 3000 €*	8 ± 3.6 ^b	17 ± 3.6 ^{ab}	24 ± 4.3 ^a	20 ± 1.7 ^{ab}	21 ± 1.5 ^{ab}
Animal species					
Consumes cow's milk products	42 ± 6.4	34 ± 4.6	31 ± 4.7	43 ± 2.1	36 ± 1.8
Consumes sheep's milk*	38 ± 6.3 ^b	55 ± 4.8 ^{ab}	55 ± 5.1 ^{ab}	61 ± 2.1 ^a	56 ± 1.9 ^a
Consumes goat's milk *	55 ± 6.5 ^c	41 ± 4.8 ^d	69 ± 4.7 ^b	95 ± 0.9 ^a	26 ± 1.7 ^e
Consumes mixture*	70 ± 6.0 ^a	14 ± 3.3 ^c	9 ± 3.0 ^c	51 ± 2.1 ^b	48 ± 1.9 ^b
Consumption frequency					
Low	2.0 ± 1.7	6 ± 2.2	4 ± 2.0	3 ± 0.8	4 ± 0.7
Medium-high	98 ± 1.7	94 ± 2.2	96 ± 2.0	97 ± 0.8	96 ± 0.7
Degree knowledge of cheese					
Low D ***	77 ± 5.5 ^a	64 ± 4.6 ^{ab}	58 ± 5.0 ^b	48 ± 2.1 ^b	57 ± 1.9 ^b
Med./high D ***	23 ± 5.5 ^b	36 ± 4.6 ^{ab}	42 ± 5.0 ^{ab}	52 ± 2.1 ^a	43 ± 1.9 ^{ab}
Innovation					
INDV 1	0.1967 ± 0.1114	0.1759 ± 0.0090	0.1876 ± 0.1128	0.1665 ± 0.0051	0.1787 ± 0.037
INDV 2	0.1643 ± 0.0066	0.1759 ± 0.0097	0.1841 ± 0.0118	0.1992 ± 0.050	0.1757 ± 0.0034
INDV 3 ***	0.6375 ± 0.2996 ^b	0.6366 ± 0.2700 ^b	0.6701 ± 0.2731 ^{ab}	0.7289 ± 0.1010 ^a	0.6358 ± 0.0099 ^b
INDV 4 **	0.2050 ± 0.0195 ^a	0.1491 ± 0.0136 ^b	0.1381 ± 0.0138 ^b	0.1736 ± 0.0067 ^{ab}	0.1466 ± 0.0052 ^b
INDV 5 ***	0.1533 ± 0.0160 ^b	0.1796 ± 0.0149 ^b	0.1938 ± 0.0161 ^{ab}	0.2496 ± 0.0083 ^a	0.1739 ± 0.0060 ^b
INDV 6 ***	0.1106 ± 0.0153 ^b	0.1288 ± 0.0098 ^{ab}	0.1209 ± 0.0106 ^{ab}	0.1618 ± 0.0057 ^a	0.1334 ± 0.0045 ^{ab}
INDV Global ***	0.2446 ± 0.0098 ^b	0.2410 ± 0.0080 ^b	0.2491 ± 0.0084 ^b	0.2799 ± 0.0036 ^a	0.2407 ± 0.0029 ^b

*a, b Values with different letters on the same row were significantly different: *: p<0.05, **: p<0.01, *** p<0.001*

The most important characteristics of the groups forming clusters were:

Cluster 1: Interested in new cheese formats. This is a small group (n:60-3.92%), female, middle-aged, with an average income, it consumes mixed milk cheese, selects according to price, and has a low degree of cheese knowledge. From the diversifications described, this is the group with the highest demand for different cheese formats, with INDV cheeses made with new technologies being those presenting the highest score.

Cluster 2: Traditional consumers of sheep's milk cheese (n: 108-7.06%). This is a small group (n: 108-7.06%), of young people, mostly female and students, consuming sheep's milk cheese, selecting it for its ripening stage and animal species, considering that they have a low degree of cheese knowledge. This group is, together with Group 5, the one that is positioned with lower diversification indices, INDV3-cheeses, being those with the highest value.

Cluster 3: Consumers of goat-sheep milk cheeses and with an intermediate diversification demand (n: 97 – 6.34%). It is a small-sized group (n: 97 – 6.34%), of predominantly male adults. Their consumption criteria are based on the animal species and the ripening degree, consuming goat's and sheep's milk cheeses. They present intermediate demands in comparison with the rest of the groups as regards different technologies, quality marks and dairy products differing from cheese. INDV3 Cheeses made with new technologies are those giving the highest score.

Cluster 4: Consumers who demand diversification (n: 598 – 39.11%). This is a large group (n: 598 – 39.11%) of mostly female adults. They consume goat's and sheep's milk cheese. They choose it for quality and have an average-high knowledge of cheese. They display the highest demand for diversification of all the groups with respect to different technologies, presentation formats, quality labels and dairy products different from cheese, INDV 3 reporting the highest score.

Cluster 5: Consumers demanding little diversification (n: 696 – 45.51%). This is the largest group (n: 696 – 45.51%), of mostly middle-aged females, who consume sheep's milk and mixed milk cheeses. The cheese's quality is the most outstanding attribute in their choice. Together with Group 2, it is the one placed with low diversification demand indices in dairy products, with INDV3-Cheeses made with new technologies again presenting the highest value.

3.1. Relationship between consumer demand and cheese factory offers.

By taking the two factors generated for each cluster, a graph has been drawn of them in two dimensions, both factories and consumers (Figure 2).

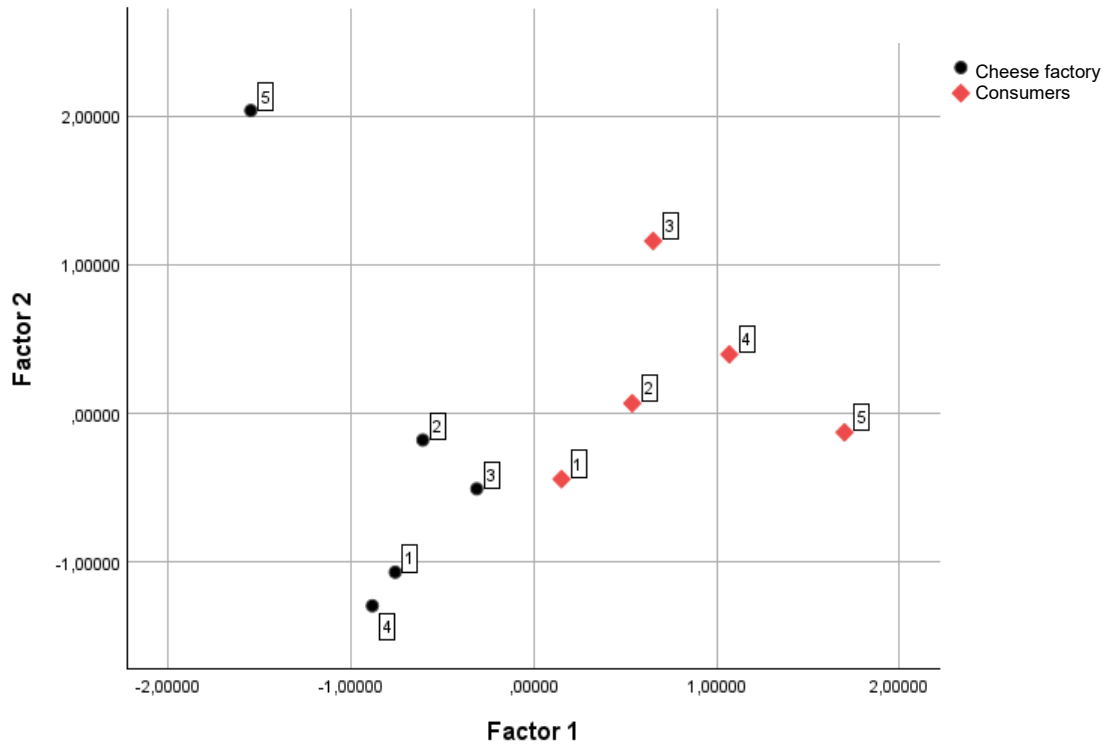


Figure 2. Graph of cheese factory and consumer clusters showing the diversification offer and demand.

In the horizontal axis (Factor 1), all the consumer clusters are further to the right than those of the cheese factories. Thus, with respect to that axis (INDV2, INDV5 and INDV6), it can be said that the consumers opt for more diversification than that offered by the factories.

In the vertical axis (Factor 2), some cheese factory and consumer clusters are superimposed. Thus, consumer Cluster 1 almost coincides with cheese factory Cluster 3, and consumer Cluster 2 with factory Cluster 2. Cheese factory Cluster 5 is over and above all the consumer clusters. Let us remember that this second factor is defined by INDV1, INDV3 and INDV4.

4. DISCUSSION

Diverse studies have characterized the structure of the artisanal cheese making sector from different angles (Álvarez et al., 2009; de la Haba Ruiz et al., 2016; Miguel et al., 2015; Necula et al., 2024; Rey Gómez & Ares Cea, 2005; Ruiz Morales, 2012; Tendero & Bernabéu, 2005), but in no case taking into account diversification of manufactured dairy products as the principal characterization factor. In the past few years, dairy product production has been accompanied by an incipient urge towards innovation and diversification. Several factors have contributed to this change, among which have been the evolution of consumer preferences, the training of small producers in diversification facilitating the manufacture of new products, and easy access to the new technologies (Guiné et al., 2021; Pilone et al., 2015; Ruiz Morales, 2021).

In the classification made in this work, based on the diversification for the artisanal cheese factories, what merits attention is their low diversification level, since four of the 5 clusters take values of between 0.0925 and 0.2000, and only 1 cluster, a cheese factory one, gives a value of 0.4119 of this index, out of a total of 1. This corresponds to the low global diversification demand of consumers, with similar indices between clusters of between 0.2407 and 0.2799, out of a total of 1. This contrasts with the general opinion of consumers in other similar studies, who declare that they are open to accepting technological innovations and differentiation in cheeses provided that they are perceived as being safe and risk-free (Martin et al., 2024a). Several authors have followed the same argument, confirming that innovations that increase or maintain the cheese's authenticity are generally well accepted by consumers, whereas those that reduce its traditional image are not (Almli et al., 2011). Neither do consumers accept those innovations that involve the genetic manipulation of the animals from which the milk is obtained (for example: embryo transfer techniques or *in vitro* fertilization).

4.1. INDV1: Functional cheeses

According to Guiné et al. (2020), among the sectors which have experienced the greatest development in diversity and in their amount of functional foods, the dairy sector stands out most. However, the functional dairy products present in the market are chiefly produced from cow's milk, whereas those made with goat's or sheep's milk are not so widespread. Despite this, products coming from small ruminants are

currently considered to be of great interest for their intrinsic nutritional properties (Lai et al., 2020). Due to the need for lactose-intolerant consumers to have adequate nutritional options, the market for lactose-free dairy products is increasing. At present, there are three principal methods for reducing lactose content: enzymatic hydrolysis of lactose; membrane filtration; and fermentation (Li et al., 2023). In keeping with the current market demands, other researchers have studied low lactose content cheese enriched with prebiotics by means of the conversion of lactose into galacto-oligosaccharides with the addition of exogenous lactase (Raza et al., 2021), or lactose-free cheese by washing the curd as in the making of mozzarella (Natrella et al., 2023). There are also other options in the market for the partial or complete substitution of some components of the cheese for other analogous ones (Kamath et al., 2022). Similarly, at an artisanal level, there have been functional innovations like in the obtaining of Pecorino sheep's milk cheese, in which the rules for lactose-free cheeses are complied with by incorporating lactase (Pulinas et al., 2017).

The values reached by the cheese factories in this study for dairy products related to actions on the consumers' health are relatively low (between 0 and 0.1167), except for Cluster 5, in which a score of 0.600 was obtained. These values show that the diversification in the attributes of functional cheeses (INDV1) is not yet widely employed by artisanal cheese factories, which may also be influenced by the technology and the volatility of the market, with a high percentage of failure in the new products, since between 70 and 90 % of the new products that improve health exit the market within the first two years after being launched (Bimbo et al., 2017).

As for the consumers, the bibliography consulted shows the existence of a gender dimension in the acceptance and preference on the part of the consumers (Costell et al., 2010). In addition, and in line with the results of this study, higher levels of acceptance of functional products were observed in women than in men (Baker et al., 2022). The demands from the consumers of the five clusters generated by INDV1 "*Functional foods*" were between 0.1970 and 0.1665, with no significant differences between clusters in this differentiation.

4.2. INDV 2: Flavoured Cheeses

Many traditional cheeses contain additives in their rind to give them flavours. These additives can be used to preserve the cheese, diversify its flavour, or for aesthetic reasons (López Ruiz et al., 2018). Several cheeses with quality labels

incorporate some additive into their rind, like the DPO Cheese of Murcia with wine, the PDO Majorero Cheese with red pepper, and the PDO L'Exquis Herve Cheese, with beer. Other additives include smoke, ash, chocolate, nuts, vegetables and fruit.

Other natural additives of a plant origin (herbs, species, plants) are essential ingredients in the manufacture of cheese or during the ripening in the rind. As well as adding aromatic complexity, they can also prolong its shelf life, improve its appearance, and contributing antioxidant and antimicrobial properties. Some examples of cheeses with these additives are those with chili, pepper, parsley, dill, horseradish, ginger, clove and essential oils. The amount of additives is usually below 1% of the curd (Hayaloglu, 2022). They are added after draining the whey, mixing them with the curd to spread them uniformly (El-Sayed et al., 2020; Lončar et al., 2024).

Currently, additives are also employed to improve the cheese's functionality. For instance, the extract of a mango leaf can improve the properties of mozzarella cheese, or lemon rind in the production of Paneer cheese (Parafati et al., 2023; Yashvantha et al., 2020).

Consumers seek cheeses with different flavours and natural ingredients. Herbs and spices added to cheese rinds not only improve their flavour but also enhance their visual attraction, making the products more appetizing to consumers (El-Sayed & Youssef, 2019). This growing interest for innovation and diversity in the dairy milieu has triggered a notable increase in popularity of flavoured cheeses (Racette & Drake, 2022).

The diversity index INDV2 for "Flavoured Cheeses" constitutes the majority diversification presented by the cheese factories in Clusters 1 (n=48), 4 (n=5) and 5 (n=1). Significant differences were found for this innovation index in the factories, and the value of Cluster 4 (0.6857) being the highest of all the innovation indices studied. Cluster 1 (0.2411) gave a lower value for INDV2. However, among the groups of consumers, no significant differences were observed for this diversification variable, with values of between 0.1643 and 0.1992. Analysing cheese factories and consumer clusters, it was noted that the producers offer more flavoured products than those demanded by the consumers. This may be because traditional Andalusian cheese factories make cheeses covered with rind as a mode of preservation and/or differentiation (de la Haba Ruiz, 2017; Puchades, 2013). Therefore, this innovation

variable should not be a priority for the development of new products in Andalusian dairies.

4.3. INDV 3: Cheeses with new technologies

Cheese is currently being manufactured with different technologies that differ from the traditional enzymatic pressed paste made in Andalusia (Spain), like, for example, blue paste cheese, cheese with a lactic coagulation, or that made with a plant coagulant.

In spite of frequently being a segment of a small market, blue vein cheeses are being increasingly demanded, and enrich the cheese varieties available (Ferroukhi et al., 2024; López-Díaz et al., 2023). Regarding lactic coagulation cheeses, these are usually associated with French-style goat's milk cheese. They are soft and made with milk that is coagulated mainly due to the lactic acid produced by the starting culture. The consumption of goat's milk cheeses in French households has multiplied by four in the last two decades, because of their sensory characteristics and their connection with the territory (Moatsou & Park, 2017; Raynal-Ljutovac et al., 2011). On the other hand, the use in cheese making of plant coagulants has been widely adopted in artisanal cheese making, responding to the preferences of consumers who seek products free from ingredients derived from genetically modified organisms (GMO) (Colombo et al., 2021), and meets the demand for an alternative to animal curd in diverse markets, including the vegetarian one (Fresno et al., 2023; Mohsin et al., 2024), and for religious restrictions (Bathmanath et al., 2019; Kumar & Sasmal, 2020).

Within the innovations related to the adoption of the new cheese factory technologies in this study, and with respect to INDV 3, significant differences have been found between the cheese factory clusters, with the highest score being that for Cluster 5 (in which the factories use all the technologies described). This is followed by Cluster 2, in which, despite presenting low values for the rest of the indices, for INDV 3, a value of 0.5833 is notable. Cluster 3 comes third, with the lowest value (0.0208), and, subsequently, Clusters 1 and 4, in which it can be considered that no cheeses are being made with new technologies. In contrast, the consumers do grant importance to this indicator, according to the clusters obtained, with the highest value for Cluster 4 (0.7289), followed by Cluster 3 (0.6701). In agreement with other prior studies (López Ruiz et al., 2023), there is a slight improvement for the sector in the

demands for new cheese factory technologies from consumers, and their still timid adoption by the artisanal dairy industry.

4.4. INDV 4: New formats

The dairy industry is diversifying its offer with cheeses sliced, diced, creamy and in other formats. The mechanical properties of the curd in making different cheese varieties limits their form and weight (McSweeney, 2017). Nevertheless, the introduction of new technologies, like lactic coagulation, has permitted the creation of cheeses in novel shapes (triangular, pyramidal, round) (Eldesouky et al., 2016). Also, grated cheese is a format with a high sales percentage for different types of cheese (Mancini et al., 2019; Meals et al., 2020).

There is a tendency nowadays to consume foods “on the go”, favoured by the smaller package units, (Mania et al., 2018). Consumers also choose pre-packed cheese, in portions and presliced, for convenience, and for visual signs in food experience. Besides, cheese in smaller portions is an appropriate instrument for their nutritional education and development of healthy eating habits (Richonnet-Dubuis & Cassuto, 2012).

The values obtained from the index INDV 4 “New formats” for the cheese factories are low ones of between 0.3 and 0.0875, for the making of cheeses with different formats. The highest score corresponds to Cluster 5, the one presenting the greatest diversification. For the rest of the groups the values are lower, and no significant differences were observed. Regarding the consumers, the INDV4 index value is also a low one, i.e. between 0.2050 and 0.1381, with Cluster 1, the most numerous, being the one presenting the highest score, with significant differences from Clusters 2, 3 and 5, but not from Cluster 4. Thus, the cheese factories possess certain margins to improve their competitiveness, in order to facilitate the consumption of cheese in smaller portions, and increase the consumer’s acceptance of it in new forms and presentations (Almli et al., 2011; Hutchins & Hurley, 2024).

4.5. INDV 5: Cheeses with quality labels

In the last decade, there has been a growing demand for cheeses and other artisanal products made employing traditional making processes, strictly related to their native territory (Aquilanti et al., 2023). So much so that, at present, the EU quality

systems (represented by protection concepts like PDO, PGI and TSG) are an important reference for customers (Velčovská & Sadílek, 2015). However, there are no cheeses with these quality guarantee labels in Andalusia, so that the cheese factories cannot use this mode of diversification. Other labels that have increased their market presence are those of cheeses and dairy products produced in organic (Ruiz Morales et al., 2019). This label, under the European *Regulation (EU) 2018/848 for organic production and labelling of organic products*, is a diversification tool for cheese factories whose milk proceeds from grazing animals, since their conversion is relatively easy (Mena et al., 2010). It is a fact that consumers do choose products certified as being organic as they consider them to be healthier and pollutant-free, of a better sensorial quality, and also for ethical and environmental reasons (Baudry et al., 2017).

The values obtained in the INDV5 index “Quality labels” are low ones except for Cluster 4 formed by a small number of cheese factories and a value of 0.3. The values for the rest of the clusters are between 0.0824 and 0. Therefore, the diversification of artisanal cheese factories in the context of the quality labels established has not taken place. As for the consumers, the demand for diversification through different quality labels presented significant differences between groups. The highest scores for INDV5 appear in Clusters 3 and 4, and especially in 4 (0.2496), with significant differences from Clusters 1, 2 and 5, with scores of 0.1533 and 0.1796. In keeping with other studies (Baudry et al., 2017) it was confirmed that the growth of this consumer group is in constant increase, so that diversification with this quality label should be taken into account by the factories.

4.6. Other dairy products

As well as cheese, some artisanal cheese factories produce other dairy products that increase their diversification, like yoghurt, kefir or desserts, among others (Ruiz et al., 2012, , (Mandolesi et al., 2024; Petrova et al., 2021; P. K. Singh & Shah, 2017).

Unlike other products such as milk or cheese, the consumption of other products derived from milk has remained stable, or with minimal price rises in the past few years (FAOSTAT, 2022), so that the consumers’ demand has also stayed steady.

Regarding the manufacture of other dairy products apart from cheese in the case of the cheese factories studied, INDV6 was the diversification index with the lowest score. The score for all the clusters was very low, 0 for the lowest value and 0.0856 for the highest one. As mentioned previously, innovation had the lowest values, so that the artisanal cheese factories are practising it. The highest score appears in Cluster 3, defined as “Low diversification” and in Cluster 1 “Cheese factories with no diversification”, with significant differences only with Cluster 5, in which, although it gives high diversification values in the other indices, except for INDV5, only cheese and no other products is manufactured. For the small cheese factories, making other products different from cheese becomes difficult because of, among other reasons, the logistics required for having different production lines (A. E. García et al., 2018; Lavelli & Beccalli, 2022).

In the case of the consumers’ demand for diversification of dairy products other than cheese, the scores obtained for each cluster gave significant differences between some of them. The same as occurred in the case of the cheese factories, there were those presenting lower values for diversification demands. The cluster with the highest score was 4 “Consumers demanding diversification” although its value was lower for this cluster than that of all the innovations valued, 0.1618: Cluster 4 presented significant differences from Cluster 1, but not from the rest of the clusters. Their scores were between 0.1106 and 0.1334.

5. CONCLUSIONS

Current consumers demand products linked to their territory, in which artisanal cheese makers are in an optimal position. The differentiation in this manufacture should be a strategy for increasing the resilience of the cheese factories, without losing the attributes related to typicality, territoriality, and the organoleptic characteristics of the cheeses and dairy products.

The diversification of artisanal cheeses is generally scant, and, except for flavoured cheeses (typical of the study area), it is below what consumers are demanding.

Despite the increasing demand for functional dairy products in the market, artisanal cheese factories have very limited offers of these products. New technology transfer actions are necessary to boost these products.

Cheese made via new technologies, like blue cheese or lactic coagulation ones, is demanded by consumers, and there is a minimal number of cheese factories doing so. So, the competitiveness of the artisanal cheese factories could increase if they adopted these innovations in manufactured products.

Diversification via new cheese formats is a strategy to encourage cheese consumption, and consumers are demanding it. However, artisanal cheese factories do not offer many new formats, fewer than those requested by consumers.

The quality label option is a guarantee for consumers buying cheese, and their demand is higher than the values presented by the artisanal cheese factories. The latter should apply themselves to the adoption of some of these available labels that are tied up with the environment and the territoriality.

Artisanal cheese factories are mainly devoted to making cheeses, excluding other dairy products. Although the consumers' demand for this differentiation is modest, it is higher than that offered by the factories.

There is a limited adoption of innovations in the manufacturing process of cheeses and dairy products in small enterprises, like in artisanal cheese factories. It would therefore be necessary to create transfer tools and training directed at them, in order to facilitate the innovation and diversification of the products made.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are extremely grateful for the participation of all the cheese makers and consumers.

FUNDING

This work has been done under the project TRANSFORMA 2019-2021 "Challenges for Andalusian livestock farming systems and their products" (RESGAP)", financed by the European Regional Development Fund within the Operative Programme FEDER of Andalusia 2014-2020.

REFERENCES

Almli, V.L., Næs, T., Enderli, G., Sulmont-Rossé, C., Issanchou, S., Hersleth, M., 2011. Consumers' acceptance of innovations in traditional cheese. A comparative study in France and Norway. *Appetite* 57, 110–120. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2011.04.009>

Álvarez, S., González, R., Calero, P., Fernández, G., Fresno, M., 2009. Majorero PDO cheese production systems: Cheese making and comercialization 261–264.

Anderson, J., 2019. Frequent Feedback through Google Forms. *PRIMUS* 29, 124–137. <https://doi.org/10.1080/10511970.2017.1411408>

Ares Cea, J. L. (2009). La actividad quesera artesanal en Andalucía. *Ganadería*, Diciembre 09-enero 10.

Arias-Gómez, J., Villasís-Keever, M.Á., Miranda-Novales, M.G., 2016. El protocolo de investigación III: la población de estudio. *RAM* 63, 201–206. <https://doi.org/10.29262/ram.v63i2.181>

Baker, M., Lu, P., Parrella, J., Leggette, H., 2022. Consumer Acceptance toward Functional Foods: A Scoping Review. *IJERPH* 19, 1–2. <https://doi.org/10.3390/ijerph2004010001>

Bathmanath, R., Yahya, Y.A.C., Yusoff, M.M., Vejayan, J., 2019. Utilizing Coagulant Plants in the Development of Functional Dairy Foods and Beverages: A Mini Review. *J. of Biological Sciences* 19, 259–271. <https://doi.org/10.3923/jbs.2019.259.271>

Baudry, J., Péneau, S., Allès, B., Touvier, M., Hercberg, S., Galan, P., Amiot, M.-J., Lairon, D., Méjean, C., Kesse-Guyot, E., 2017. Food Choice Motives When Purchasing in Organic and Conventional Consumer Clusters: Focus on Sustainable Concerns (The NutriNet-Santé Cohort Study). *Nutrients* 9, 88. <https://doi.org/10.3390/nu9020088>

Berno, T., Fusté-Forné, F., 2020. Imaginaries of cheese: revisiting narratives of local produce in the contemporary world. *Annals of Leisure Research* 23, 608–626. <https://doi.org/10.1080/11745398.2019.1603113>

Bimbo, F., Bonanno, A., Nocella, G., Viscecchia, R., Nardone, G., De Devitiis, B., Carlucci, D., 2017. Consumers' acceptance and preferences for nutrition-modified and functional dairy products: A systematic review. *Appetite* 113, 141–154. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.02.031>

Colombo, M.L., Cimino, C.V., Bruno, M.A., Hugo, A., Liggieri, C., Fernández, A., Vairo-Cavalli, S., 2021. Artichoke cv. Francés flower extract as a rennet substitute: effect on textural, microstructural, microbiological, antioxidant properties, and sensory acceptance of miniature cheeses. *J Sci Food Agric* 101, 1382–1388. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10749>

Costell, E., Tárrega, A., Bayarri, S., 2010. Food Acceptance: The Role of Consumer Perception and Attitudes. *Chem. Percept.* 3, 42–50. <https://doi.org/10.1007/s12078-009-9057-1>

de la Haba Ruiz, M.A., 2017. Caracterización físico-química y sensorial de los quesos artesanos andaluces (PhD Thesis). Universidad de Córdoba.

de la Haba Ruiz, M.A., Ruiz Pérez-Cacho, P., Dios Palomares, R., Galán-Soldevilla, H., 2016. Classification of artisanal Andalusian cheeses on physicochemical parameters applying multivariate statistical techniques. *Dairy Sci. & Technol.* 96, 95–106. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0242-5>

Eldesouky, A., Mesías, F.J., Elghannam, A., Gaspar, P., Escribano, M., 2016. Are packaging and presentation format key attributes for cheese consumers? *International Dairy Journal* 61, 245–249. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.06.011>

El-Sayed, S.M., Ibrahim, O.A., Kholif, A.M.M., 2020. Characterization of novel Ras cheese supplemented with Jalapeno red pepper. *J Food Process Preserv* 44. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14535>

El-Sayed, S.M., Youssef, A.M., 2019. Potential application of herbs and spices and their effects in functional dairy products. *Heliyon* 5, e01989. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01989>

European Commission, 2024. Registro de indicaciones geográficas de la UE [WWW Document]. URL <https://ec.europa.eu/agriculture/eambrosia/geographical-indications-register/> (accessed 4.20.24).

EUROSTAT, 2024. Milk collection and dairy products obtained [WWW Document]. URL <https://ec.europa.eu/eurostat> (accessed 2.20.24).

Evershed, R.P., Payne, S., Sherratt, A.G., Copley, M.S., Coolidge, J., Urem-Kotsu, D., Kotsakis, K., Özdoğan, M., Özdoğan, A.E., Nieuwenhuys, O., Akkermans, P.M.M.G., Bailey, D., Andeescu, R.-R., Campbell, S., Farid, S., Hodder, I., Yalman, N., Özbaşaran, M., Bıçakçı, E., Garfinkel, Y., Levy, T., Burton, M.M., 2008. Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature* 455, 528–531. <https://doi.org/10.1038/nature07180>

FAOSTAT, 2022. Food Balances [WWW Document]. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Disponible en línea: URL <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>

Ferroukhi, I., Chassard, C., Mardon, J., 2024. A comprehensive overview of blue-veined cheeses. *International Dairy Journal* 154, 105926. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.105926>

Fresno, M., Argüello, A., Torres, A., Castro, N., Álvarez, S., Sepe, L., 2023. Invited review. Milk clotting enzymes: A transcendental decision in goat's milk cheese quality. *Small Ruminant Research* 229, 107147. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.107147>

García, A.E., Peralta, D.M.R., Rodríguez, A.I.B., 2018. Factores estratégicos de la innovación y mercado en queserías artesanales de México. *Revista Venezolana de Gerencia* 23.

García-Burgos, M., Moreno-Fernández, J., Alférez, M.J.M., Díaz-Castro, J., López-Aliaga, I., 2020. New perspectives in fermented dairy products and their health

relevance. *Journal of Functional Foods* 72, 104059. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104059>

Gellynck, X., Kühne, B., 2010. Horizontal and Vertical Networks for Innovation in the Traditional Food Sector. *International Journal on Food System Dynamics* Vol 1, 123-132 Pages. <https://doi.org/10.18461/IJFSD.V1I2.124>

Givens, D.I., 2020. MILK Symposium review: The importance of milk and dairy foods in the diets of infants, adolescents, pregnant women, adults, and the elderly. *Journal of Dairy Science* 103, 9681–9699. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18296>

Google, 2022. Create, edit, and format. [WWW Document]. Alphabet, Mountain View, California, Estados Unidos. URL https://support.google.com/docs/topic/6063584?hl=en&ref_topic=1360904 (accessed 10.7.22).

Guiné, R.P.F., Florença, S.G., Barroca, M.J., Anjos, O., 2021. The duality of innovation and food development versus purely traditional foods. *Trends in Food Science & Technology* 109, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.010>

Guiné, R.P.F., Florença, S.G., Barroca, M.J., Anjos, O., 2020. The Link between the Consumer and the Innovations in Food Product Development. *Foods* 9, 1317. <https://doi.org/10.3390/foods9091317>

Hayaloglu, A.A., 2022. Cheese with Herbs, Spices and Condiments, in: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press, pp. 137–145.

Hutchins, D.A., Hurley, R.A., 2024. A systematic review of articles influencing United States retail cheese packaging, labeling, and market trends related to cheese in the marketplace and cheese during consumption. *Journal of Dairy Science* S0022030224007240. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23977>

Instituto de Estadística y Cartografía de Andalucía, 2022. *Indicadores Andalucía y Provincias* [WWW Document]. Junta de Andalucía, Sevilla, España. URL <https://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadisticaycartografia> (accessed 10.7.22).

Kamath, R., Basak, S., Gokhale, J., 2022. Recent trends in the development of healthy and functional cheese analogues-a review. *LWT* 155, 112991. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112991>

Kongo, J.M., Malcata, F.X., 2016. Cheese: Types of Cheeses – Soft, in: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, pp. 768–773. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00132-X>

Kühne, B., Vanhonacker, F., Gellynck, X., Verbeke, W., 2010. Innovation in traditional food products in Europe: Do sector innovation activities match consumers' acceptance? *Food Quality and Preference* 21, 629–638. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.03.013>

Kumar, A., Sasmal, S., 2020. Rheological and physico-chemical properties of milk gel using isolate of pumpkin (*Cucurbita moschata*) seeds: A new source of milk clotting peptidase. *Food Hydrocolloids* 106, 105866. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105866>

Lai, G., Pes, M., Addis, M., Pirisi, A., 2020. A Cluster Project Approach to Develop New Functional Dairy Products from Sheep and Goat Milk. *Dairy* 1, 154–168. <https://doi.org/10.3390/dairy1020010>

Lavelli, V., Beccalli, M.P., 2022. Cheese whey recycling in the perspective of the circular economy: Modeling processes and the supply chain to design the involvement of the small and medium enterprises. *Trends in Food Science & Technology* 126, 86–98. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.06.013>

Li, A., Zheng, J., Han, X., Yang, S., Cheng, S., Zhao, J., Zhou, W., Lu, Y., 2023. Advances in Low-Lactose/Lactose-Free Dairy Products and Their Production. *Foods* 12, 2553. <https://doi.org/10.3390/foods12132553>

Lončar, B., Pezo, L., Iličić, M., Kanurić, K., Vukić, D., Degenek, J., Vukić, V., 2024. Modeling and Optimization of Herb-Fortified Fresh Kombucha Cheese: An Artificial Neural Network Approach for Enhancing Quality Characteristics. *Foods* 13, 548. <https://doi.org/10.3390/foods13040548>

López Ruiz, Á.L., Barriga Velo, D., Pedregosa Cabrero, Á., Ruiz Morales, F.D.A., 2018. Diversificación en la producción láctea artesanal: queso de cabra con aditivos. *Málaga Ganadera*.

López Ruiz, Á.L., Ruiz Morales, F.D.A., Ruiz Pérez-Cacho, P., Galán Soldevilla, H., 2023. Effect of Lactose-Reduction in Murciano-Granadina Semi-Hard Goat Cheese on Physicochemical and Sensory Characteristics. *Foods* 12, 996. <https://doi.org/10.3390/foods12050996>

López-Díaz, T.M., Alegría, Á., Rodríguez-Calleja, J.M., Combarros-Fuertes, P., Fresno, J.M., Santos, J.A., Flórez, A.B., Mayo, B., 2023. Blue Cheeses: Microbiology and Its Role in the Sensory Characteristics. *Dairy* 4, 410–422. <https://doi.org/10.3390/dairy4030027>

Mancini, M.C., Arfini, F., Guareschi, M., 2019. Innovation and typicality in localised agri-food systems: the case of PDO Parmigiano Reggiano. *BFJ* 121, 3043–3061. <https://doi.org/10.1108/BFJ-10-2018-0662>

Mandolesi, S., Naspetti, S., Arsenos, G., Caramelle-Holtz, E., Latvala, T., Martin-Collado, D., Orsini, S., Ozturk, E., Zanolli, R., 2024. Consumer attitudes, motivations and barriers towards sheep and goat dairy products. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 36, 100917. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2024.100917>

Mani, Z., Chouk, I., 2018. Consumer Resistance to Innovation in Services: Challenges and Barriers in the Internet of Things Era. *J of Product Innov Manag* 35, 780–807. <https://doi.org/10.1111/jpim.12463>

Mania, I., Delgado, A.M., Barone, C., Parisi, S., 2018. Food Packaging Materials in the Cheesemaking Field, in: *Traceability in the Dairy Industry in Europe*. Springer International Publishing, Cham, pp. 141–145. https://doi.org/10.1007/978-3-030-00446-0_9

MAPA, 2022. Informe de consumo alimentario [WWW Document]. URL <https://www.mapa.gob.es>. (accessed 3.21.24).

Martin, C., Harel-Oger, M., Garric, G., Marette, S., 2024. Impact of sensory properties and their appreciation on willingness to pay for innovative cheeses with health benefits. *Food Quality and Preference* 118, 105207. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2024.105207>

McSweeney, P.L.H., 2017. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Elsevier, Boston, MA.

Meals, S.E., Schiano, A.N., Drake, M.A., 2020. Drivers of liking for Cheddar cheese shreds. *Journal of Dairy Science* 103, 2167–2185. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16911>

Miguel, E., Álvarez Teno, A., Iriondo de Hond, M., Mancho, C., 2015. Caracterización sensorial de los quesos de Madrid. Diferencias en la percepción sensorial y utilidad del análisis sensorial para la descripción de las propiedades de textura de los quesos. XVI Jornadas sobre Producción Animal Tomo II, 651–653.

Moatsou, G., Park, Y.W., 2017. Goat Milk Products: Types of Products, Manufacturing Technology, Chemical Composition, and Marketing, in: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W., Wendorff, W.L. (Eds.), *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Wiley, pp. 84–150. <https://doi.org/10.1002/9781119110316.ch2.3>

Mohsin, A.Z., Norsah, E., Marzlan, A.A., Abd Rahim, M.H., Meor Hussin, A.S., 2024. Exploring the applications of plant-based coagulants in cheese production: A review. *International Dairy Journal* 148, 105792. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105792>

Moreno-Rojas, R., Sánchez-Segarra, P.J., Cámara-Martos, F., Amaro-López, M.A., 2010. Multivariate analysis techniques as tools for categorization of Southern Spanish cheeses: nutritional composition and mineral content. *Eur Food Res Technol* 231, 841–851. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1338-z>

Natrella, G., Gambacorta, G., Faccia, M., 2023. An attempt at producing a “lactose-free” directly acidified mozzarella (high moisture type) by curd washing and pressing: A chemical and sensory study. *International Dairy Journal* 136, 105499. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105499>

Necula, D., Ungureanu-Iuga, M., Ognean, L., 2024. Beyond the Traditional Mountain Emmental Cheese in “Țara Dornelor”, Romania: Consumer and Producer Profiles, and Product Sensory Characteristics. *Agriculture* 14, 621. <https://doi.org/10.3390/agriculture14040621>

Pantoja, V., Mena, Y., Ruiz Morales, F.A., 2017. Diversificación De La Comercialización De Quesos De Cabra A Través Del Maridaje Con Diferentes Tipologías De Miel.

Parafati, L., Siracusa, L., Pesce, F., Restuccia, C., Fallico, B., Palmeri, R., 2023. Mango (*Mangifera indica* L.) young leaf extract as brine additive to improve the functional properties of mozzarella cheese. *Food Chemistry* 425, 136474. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136474>

Petrova, P., Ivanov, I., Tsigoriyna, L., Valcheva, N., Vasileva, E., Parvanova-Mancheva, T., Arsov, A., Petrov, K., 2021. Traditional Bulgarian Dairy Products: Ethnic Foods with Health Benefits. *Microorganisms* 9, 480. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030480>

Pilone, V., De Lucia, C., Del Nobile, M.A., Contò, F., 2015. Policy developments of consumer’s acceptance of traditional products innovation: The case of environmental sustainability and shelf life extension of a PGI Italian cheese. *Trends in Food Science & Technology* 41, 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.005>

Puchades, L.P., 2013. Anexo I. Condiciones técnicas para la elaboración de queso artesano en Andalucía.

Pulinas, L., Spanu, C., Idda, I., Ibba, I., Nieddu, G., Viridis, S., Scarano, C., Piras, F., Spano, N., Sanna, G., De Santis, E.P.L., 2017. Production of farmstead lactose-free Pecorino di Osilo and ricotta cheeses from sheep’s milk. *Ital J Food Safety* 6. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2017.6353>

Racette, C.M., Drake, M.A., 2022. Consumer perception of natural hot-pepper cheeses. *Journal of Dairy Science* 105, 2166–2179. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20808>

Raynal-Ljutovac, K., Le Pape, M., Gaborit, P., Barrucand, P., 2011. French goat milk cheeses: An overview on their nutritional and sensorial characteristics and their impacts on consumers' acceptance. *Small Ruminant Research* 101, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.026>

Raza, A., Iqbal, S., Shah, F.-H., Ahmad, Z., Rehman, M.A., Waseem, M., Usman, M., 2021. Conversion of milk lactose to galacto-oligosaccharides by enzymes to produce prebiotic enriched cheese. *Future Foods* 4, 100097. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100097>

Reilly, S., 2018. Taste neophobia, in: *Food Neophobia*. Elsevier, pp. 77–109. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101931-3.00005-7>

Rey Gómez, A.M., Ares Cea, J.L., 2005. Caracterización empresarial y tecnológica de las queserías artesanales en Andalucía. *Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC)* 188–191.

Richonnet-Dubuis, C., Cassuto, D.A., 2012. Benefit of individual cheeses portions in dietary education of children. *Médecine and nutrition* 48. <https://doi.org/DOI: 10.1051/mnut/201248201>

Ruiz Morales, 2012. Comercialización quesos tradicionales andaluces. . Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura, Pesca y Medioambiente.

Ruiz Morales, F. de A., 2021. Consumidores y quesos andaluces. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible, Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica, Sevilla.

Ruiz Morales, F. de A., Aguilar, P., Pleguezuelos, J., Sayadi, S., Ramal, E., Navarro, L., 2013. Valoración sensorial de postres lácteos caprinos por consumidores especializados. *Málaga Ganadera* 42, 8–11.

Ruiz Morales, F. de A., Castel Genís, J.M., Guerrero, Y.M., 2019. Current status, challenges and the way forward for dairy goat production in Europe. *Asian-Australas J Anim Sci* 32, 1256–1265. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0327>

Singh, P.K., Shah, N.P., 2017. Other Fermented Dairy Products, in: *Yogurt in Health and Disease Prevention*. Elsevier, pp. 87–106. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00005-5>

Sloan, E., 2020. Instant nutrition, everyday performance foods, and health-enhancing food processing are among the trends defining the functional food and beverage sector. *Food Technology* 72.

Stampa, E., Schipmann-Schwarze, C., Hamm, U., 2020. Consumer perceptions, preferences, and behavior regarding pasture-raised livestock products: A review. *Food Quality and Preference* 82, 103872. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103872>

Tendero, A., Bernabéu, R., 2005. Preference structure for cheese consumers: A Spanish case study. *British Food Journal* 107, 60–73. <https://doi.org/10.1108/00070700510579144>

Velčovská, Š., Sadílek, T., 2015. Certification of cheeses and cheese products origin by EU countries. *British Food Journal* 117, 1843–1858. <https://doi.org/10.1108/BFJ-10-2014-0350>

Yashvantha, R., Pinto, S., Patel, D., Paul, P., 2020. Manufacture and Evaluation of Paneer Using Lemon Rinds as a Value Added Ingredient. *IRJPAC* 1–12. <https://doi.org/10.9734/irjpac/2020/v21i1930272>

Zhang, C., Conrad, F.G., 2014. Speeding in Web Surveys: The tendency to answer very fast and its association with straightlining.

Effect of Lactose-Reduction in Murciano-Granadina Semi-Hard Goat Cheese on Physicochemical and Sensory Characteristics

Ángel Luis López Ruiz^{1,2}, Francisco de Asís Ruiz Morales³, Pilar Ruiz Pérez-Cacho^{1,*} and Hortensia Galán-Soldevilla¹

¹Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

²Centro IFAPA Hinojosa del Duque, 14270 Córdoba, Spain

³Centro IFAPA Camino de Purchil, 18004 Granada, Spain

Índices de calidad: Este estudio ha sido publicado en la revista *Foods*, doi.org/10.3390/foods12050996, situada dentro de la categoría Food science and technology. Journal Rank: JCR - Q1 (Food Science & Technology) / CiteScore - Q1 (Health Professions (miscellaneous))

ABSTRACT

Semi-hard pressed goat's cheese, a traditional matured cheese in Andalusia, has a residual lactose content that may affect people with intolerance to that carbohydrate. Nowadays, lactose-free dairy products are characterized by presenting a scant sensory quality, far removed from their traditional profile for their pronounced sweet and bitter taste and aroma related to Maillard reactions. The aim of this work was to make a cheese with a similar sensory profile to that of the traditional Andalusian one but without lactose. For this purpose, the doses of the enzyme lactase that would be necessary to add to the milk were investigated so that, during the manufacturing of the cheese, there would remain enough lactose for the starter cultures to trigger lactic fermentation and, in turn, to spark the cheese's own maturity processes. The results show that the combined action of lactase (0.125 g/L, 0.250 g/L, 0.5 g/L, and 1 g/L) and of the lactic bacteria reduces the final content of lactose to below 0.01%, complying with the European Authority of Food Safety's recommendations for considering the cheeses as being under the denomination "lactose-free". The physicochemical and sensory values resulting from the different batches of cheese obtained indicate that the lowest dose studied (0.125 g/L) had very similar ones to those of the control cheese.

KEYWORDS

Dairy product; lactose-free product; physicochemical composition; sensory profile

1. INTRODUCTION

Most of the world's adult population is intolerant to lactose, with some authors having reported as much as 70%, although there is a great geographical variability. In northern, southern, and western Europe, the lactose malabsorption prevalence was 28% (Storhaug et al., 2017). Lactose intolerance occurs when the body is unable to produce the necessary amount of lactase and, consequently, undigested dietary lactose enters the large intestine, where it acts as a fermentable substrate for the colonic microflora and causes osmotic diarrhea and other symptoms (Suchy, 2010).

The food industry has recently developed a wide range of products for people with this type of intolerance. However, rules for low-lactose foods are currently not harmonized in the European Union. In either case, the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) has established that a food product labeled as "lactose-free" should have less than 0.01% lactose and 1% for low-lactose products (AESAN., 2020). In this context, the dairy industry is responding to consumer demands by offering a wide range of low-lactose or lactose-free dairy products.

Lactose can be removed from dairy products by hydrolyzing it in the milk by means of the β galactosidase enzyme, which converts lactose into glucose and galactose; or with the prior ultrafiltration of the milk, followed by the action of the lactase enzyme (Dekker et al., 2019; Ugidos-Rodríguez et al., 2018). The hydrolysis of lactose can influence both the technological and the sensory properties of products (Pulinas et al., 2017). Considerable efforts have been dedicated to studying low/lactose-free milk in recent years (Adhikari et al., 2010; Chapman et al., 2001; Jansson et al., 2014; Jensen et al., 2015; Messia et al., 2007; Nielsen et al., 2017), whereas the characterization of other lactose-free dairy products has received very little attention. In fact, cheeses have been very little studied (Cincotta et al., 2021; Pulinas et al., 2017; Shakeel-Ur-Rehman et al., 2004) and, as far as we know, there are no studies on lactose-free or lactose-reduced goat cheeses. Lactose-free dairy products are characterized by their pronounced sweet and bitter taste and aroma related to Maillard reactions (Adhikari et al., 2010; Cincotta et al., 2021; Jansson et al., 2014; Troise et al., 2016).

Andalusia has a large variety of excellent quality cheeses linked to the territory of origin, and they are made in small, artisanal, cheese factories with goat milk from Andalusia's indigenous breeds (Malagueña, Murciano-Granadina, Florida, Payoya),

this being the main Spanish goat milk-producing region, with 45% of the national production. These kinds of cheeses are artisanal products made of raw/pasteurized milk, usually curded with animal rennet, pressed, salted, and ripened over different periods of time, depending on the final product manufactured (de la Haba Ruiz et al., 2016). The Andalusian artisanal dairy industry is interested in expanding its market with innovative new products, among which are lactose-free ones, that could be attractive to a considerable number of consumers demanding healthy products. That is why it is important to understand the sensory characteristics of lactose-reduced or lactose-free goat cheese as compared to traditional goat cheese.

In this context, this work has proposed as its main aim to evaluate the effect of lactose-reduction on the physicochemical and sensory characteristics of Murciano-Granadina semi-hard goat cheese to obtain a lactose-free cheese with a similar sensory profile to traditional ones.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Lactose removal process

The commercially available enzyme GODO YNL2 (Danisco, France) produced by *Kluyveromyces lactis* was used in the present study. The conditions of the enzymatic hydrolysis of lactose in goat's milk were preliminarily assessed on a laboratory scale. Thus, in order to elect the most suitable dose of lactase for making these cheeses, the amount of residual lactose remaining in the milk after the addition of lactase, and in the cheese after its manufacture, without adding starter cultures, was investigated. The starting-out raw milk had an initial lactose content of 4.75 g/100 ml milk and, after the addition different lactase doses (0.25, 0.5, 1 and 2 g/l milk) and incubation for 1 hour, the lactose content was reduced in the milk to 2.31, 1.26, 0.33 and 0.05 g/100 ml, and to 0.47, 0.08, 0.02 and 0.01 g/100 g in the cheese, respectively. The control cheese maintained a residual amount of lactose of 2.37 g/100 g cheese. As expected, the lactose concentration decreased in accordance with the increase in the lactase concentration added to the milk previously pasteurized. The addition of lactase at a concentration of 0.25 g/l reduced the lactose concentration in milk by 50%, whereas a concentration of lactase of 2.0 g/l was needed to reduce the concentration of lactose in the cheese to below 0.01%. Therefore, the highest dose of lactase in the milk was rejected (2 g/l milk) as it was considered that too little lactose would remain available for the ferments to act during

the cheese's maturation, and that the characteristic aromas of this type of cheese would develop. Thus, a lower dose than those assayed was selected (0.125 g/l milk) as it was believed that the amount of residual lactose in the milk would be sufficient to produce the cheese's aromas during its fermentation, and leave a final lactose value in the cheese beneath the one permitted in the legislation, i.e. <0.01% (AESAN., 2020). Thus, for this study, the doses 0.125, 0.25, 0.50 and 1.0 g lactase/l of milk were established.

2.2. Cheese processing

Cheeses were produced in the Pilot Plant of the Agricultural Research Training Centre in Hinojosa del Duque (Cordoba, Spain) by a traditional manufacturing method as described by De la Haba et al. (2016). The experiment was conducted using Murciano-Granadina whole pasteurized goat milk (72°C/20 sec.). Milk was cooled to 31°C, and the starter cultures (Choozit MA 4001, DANISCO, France), together with the commercial lactase enzyme (GODO YNL2, Danisco, France) at the dosage selected in the preliminary study (0.125, 0.25, 0.50 and 1.0 g/L), were added directly to the milk, and incubated for 60 min. Then, calcium chloride (0.30 mL/L of milk, Laboratorios Arroyo-Spain), and kid rennet (0,32 mL/ L - 1:10.000, Cuajos Caporal, Spain), sufficient to coagulate the milk within 50 min, were also added. The curds were subsequently cut to obtain grains of about 4–6 mm and submitted to slow, continuous mixing to increase the temperature to 36°C. Then, the curd was drained off and molded into pieces of 0.5 kg. Cheeses were pressed (0.5-2.0 bar) for 90 min. After reaching a pH of 5.5, they were demolded, and then immersed in brine (17 ° Baume at 10 °C for 65 min.). Finally, they were ripened in chambers during 48 h at 10 °C and 70% HR, and during 45 days at 12°C and 85% HR.

Therefore, the experimental design comprised 4 different cheese formulations made with increasing lactase doses (0.125, 0.25, 0.50 y 1.0 g lactase/l milk), and a control, at three different times of the year (spring, summer, and the fall). In all, 45 cheeses were made (4 doses and the control x 3 cheeses x 3 times).

2.3. Chemical composition

The milk's basic chemical composition (TS, fat, protein) was analyzed with a Milkoskan™ FT (Fourier transform infrared spectrometry) in Foss equipment (Foss Electric, Hillerød, Denmark). In addition, a somatic cell count (SCC) was obtained

using a Fossomatic™ 7 (Foss Electric, Hillerød, Denmark), and total bacterial counts were measured with BactoScan™ (Foss Electric, Hillerød, Denmark). Finally, lactose content was determined using Liquid Chromatography coupled to Pulsed Amperometric Detection (LC-PAD).

In the cheese, its pH, fat, TS, lactose, and sodium chloride contents were measured. The pH was analyzed with a pH meter (HANNA FHT-803) with a pH electrode. Fat content was measured according to ISO/IDF methods (ISO 3433:2008/IDF 222:2008; 2008). TS, and sodium chloride contents were determined following the official method (AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed., 1999). The sodium chloride content was analyzed using back titration with potassium thiocyanate to determine the concentration of chloride ions in the solution based on the Volhard method. Lactose content was also measured using a LC-PAD. Three cheeses from each batch were analyzed. All the determinations were made in duplicate, and each pair of data was averaged.

2.4. Sensory profile

The sensory profile was outlined following Ruiz Pérez-Cacho et al. (2019). The analyses were performed in the Sensory Laboratory of the Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos at the Universidad de Córdoba (Spain), which is equipped in accordance with ISO 8586:2012 (2012). The samples were prepared at least 2 h before their analysis, so that they reached a temperature ranging between 16 and 18 °C. They were cut into triangular-shaped portions (0.5 cm thick 9 6–7 cm length) and presented in closed, disposable Petri dishes. Each taster received two portions of cheese per sample, one to evaluate its color intensity and texture, and the other its flavor. Eight highly trained panelists from the Córdoba University Sensory Laboratory collaborated in this research. The panel previous experience in the sensory analysis of cheeses (Guzmán et al., 2020; Ruiz Pérez-Cacho et al., 2019). Testing was performed in the sensory test area under the conditions specified in the standard ISO 22935-2:2009|IDF 99-2:2009 (2009, p. 22935). All the analyses were conducted in the morning. Thirty attributes were analyzed: one for appearance, 21 for flavor (8 for odor-orthonasal perception, 8 for aroma-retronasal perception, 4 basic tastes and persistence) and 8 for texture. Between tastings, the assessors were able to drink mineral water to clean their taste buds.

2.5. Data Processing and Statistical Analysis

All the statistical tests were performed with the SPSS 17 program. A basic descriptive statistical analysis (mean and standard deviation) and a one-way ANOVA were applied for the milk's nutritional composition. In addition, a basic descriptive statistical analysis, and a two-way ANOVA (season x doses) were carried out for each cheese's physicochemical and sensory characteristic. To test mean differences, Tukey tests at 95% confidence level ($p < 0.05$) were used.

3. RESULTS

3.1. Chemical composition

3.1.1. Milk chemical composition

Table 1 reports mean values, standard deviation, and analysis of variance (season) for total solids (TS), fat, proteins, fat/proteins, lactose, somatic cells, and total bacterial count of the raw goat's milk collected from spring (S1), summer (S2) and the fall (S3).

Table 1. Mean values, standard deviation, and analysis of variance (season) of physicochemical parameters, somatic cell count and total bacterial count of raw goat's milk.

*Season	**TS (g/100 ml)	Fat (g/100 ml)	Proteins (g/100 ml)	Fat/ proteins	Lactose (g/100 ml)	**SCC (Log ₁₀ /ml)	**TBC (Log ₁₀ cfu/ml)
S 1	13.8 ±0.06 ^a	4.84 ±0.09 ^a	3.51 ±0.07 ^a	1.38 ±0.04 ^a	4.75 ±0.03 ^a	6.02 ±0.06	4.37 ±0.22
S 2	12.7 ±0.04 ^b	4.08 ±0.09 ^b	3.31 ±0.04 ^b	1.23 ±0.03 ^b	4.59 ±0.02 ^b	6.01 ±0.04	4.28 ±0.19
S 3	13.0 ±0.11 ^c	4.26 ±0.18 ^c	3.43 ±0.09 ^c	1.24 ±0.03 ^b	4.67 ±0.05 ^c	6.03 ±0.04	4.48 ±0.16
F P	91.3 <0.001	149.8 <0.001	29.1 <0.001	82.0 <0.001	76.8 <0.001	ns	ns

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's Multiple Range Test. * S1: spring; S2: summer; S3: the fall. **TS (Total Solids); SCC (Somatic Cell Count); TBC (Total Bacterial Count)

The TS, fat, protein, and lactose contents of milk ranged from 12.7 to 13.8; 4.08 to 4.84; 3.31 to 3.51 and, 4.59 to 4.75 g/100 ml milk, respectively. In general, the TS, fat, and protein contents of the milk used for the manufacture of our cheeses fall within the range for Murciano-Granadina goat milk (Blasco et al., 2016; V. García et al., 2016; Pizarro et al., 2019). A significant change in the milk composition was observed between batches for all the parameters studied ($p < 0.001$) except SSC and TBC, with the highest values in all the parameters for milk collected in the spring and the lowest for the milk collected in the summer.

The chemical composition of raw goat's milk depends on many factors like the management system of the goats and/or climate conditions (Pino et al., 2021; Raynal-Ljutovac et al., 2008; Serrapica et al., 2020). Pino et al. (Pino et al., 2021) showed that seasonality had a significant effect on milk fat and lactose, significantly decreasing the fat percentage from January to March, whereas it was quite constant until June. The lactose content was nearly constant throughout the investigated period, although a significantly low value was detected in June. However, in Spain, in the Pedroches district (Córdoba), most Murciano-Granadina goat herds follow an intensive regime, so that the changes in their milk's gross composition is due to their reproduction management and to climate conditions. The milk is of an exceptional hygienic quality since its total bacterial count was found to be much lower than that of the legal limit established by European regulations, i.e. $< 500.000 \text{ Log}_{10} \text{ cfu/ml}$ (European Commission, 2004).

3.1.2. Cheese chemical composition

Table 2 shows mean values, standard deviation, and analysis of variance (season \times doses) of Murciano-Granadina semi-hard cheese's physicochemical parameters. The pH, TS, fat, Fat/TS and NaCl content values found in our study for cheeses made from Murciano-Granadina goats' milk were like those reported for these cheeses in an earlier study for Artisanal Andalusian cheeses (de la Haba Ruiz et al., 2016). With regard to the pH, significant differences were observed ($p < 0.001$), due both to the variability itself in the composition of the raw milk (season), and to the lactase doses employed, which start from milk with different amounts of lactose, that influence fermentation and, therefore, the lactic acid production responsible for the regulation of the cheese's pH (Shakeel-Ur-Rehman et al., 2004). Thus, the lowest lactase doses corresponded to lower pH because of a higher acidification. With respect to the dry extract (TS), there were also significant differences between

seasons and lactose doses due to the variability in the chemical composition of the raw milk (Table 1). Increased fat and protein contents in the milk influenced cheese yield not only for the larger amount of nutrients available, but also for the improved efficiency of the recovery in the curd of all the nutrients (Pazzola et al., 2019).

Table 2. Means values, standard deviation, and analysis of variance (season x doses) of physicochemical parameters.

Parameter	*Season (S)	**Doses (D)	F
pH	S1: 5.16 ± 0.08a	D1: 5.05 ± 0.03a	S: 51.57*** D: 158.9*** SxD: ns
	S2: 5.17 ± 0.07a	D2: 5.11 ± 0.02b	
	S3: 5.11 ± 0.06b	D3: 5.14 ± 0.03c	
		D4: 5.19 ± 0.04d	
		D5: 5.24 ± 0.04e	
Total Solids (TS) (g/100 g cheese)	S1: 61.0 ± 1.2a	D1: 60.4 ± 0.6a	S: 29.5*** D: 5.90*** SxD: 6.17***
	S2: 59.7 ± 0.6b	D2: 60.2 ± 0.7ab	
	S3: 59.9 ± 0.5b	D3: 59.9 ± 0.5ab	
		D4: 59.6 ± 0.6b	
		D5: 60.3 ± 1.6a	
Fat (g/100 g cheese)	S1: 30.0 ± 1.8a	D1: 31.1 ± 1.0	S: 16.7*** D: ns SxD: ns
	S2: 31.4 ± 0.5b	D2: 32.0 ± 1.2	
	S3: 32.1 ± 0.4b	D3: 30.9 ± 1.7	
		D4: 31.0 ± 1.4	
		D5: 31.4 ± 1.0	
Fat/ TS (g/100 g TS)	S1: 49.1 ± 2.8a	D1: 51.5 ± 1.9	S: 28.2*** D: ns SxD: ns
	S2: 52.6 ± 0.9b	D2: 53.1 ± 2.0	
	S3: 53.6 ± 0.7b	D3: 51.6 ± 3.1	
		D4: 52.0 ± 2.3	
		D5: 52.2 ± 2.6	
NaCl (g/100 g cheese)	S1: 1.35 ± 0.23ab	D1: 1.44 ± 0.14a	S: 5.70** D: 7.10** SxD: 5.20**
	S2: 1.41 ± 0.11a	D2: 1.43 ± 0.15a	
	S3: 1.30 ± 0.08b	D3: 1.31 ± 0.12ab	
		D4: 1.31 ± 0.14ab	
		D5: 1.29 ± 0.14b	
Lactose (g/100 g cheese)	S1: 0.03 ± 0.04	D1: 0.04 ± 0.03	
	S2: < 0.01	D2: < 0.01	
	S3: < 0.01	D3: < 0.01	
		D4: < 0.01	
		D5: < 0.01	

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's Multiple Range Test. * S1: spring; S2; summer; S3: fall

** Lactase doses (g/l milk): D1=control; D2=0.125; D3=0.25; D4=0.5; D5=1.0

With respect to the content in fat and Fat/TS, a lower fat content ($30,0 \pm 1,8$) should be noted in the cheeses made with March milk than in those made with July and October milk (31.4 ± 0.5 and 32.1 ± 0.4 , respectively). This was because, in Spain, in artisanal goat cheese manufacturers, the milk is not standardized in fatty matter. Thus, the spring milk presented a high fat/protein ratio (38 ± 0.04 , Table 1), that caused a reduction in the fat retention in the cheese during its transformation (Guinee T. P., 2002). So, for these parameters, only significant differences between seasons ($p < 0.001$) were observed since the milk's delactosing process in itself did not affect the content in fat. In relation to the salt content, significant differences ($p < 0.01$) were noted between seasons and between lactose doses. This could be due to the absorption of salt during the salting stage diminishing as the pH increased (Guinee T. P., 2002). Finally, as for the lactose content, all the cheeses made with lactose-free milk, regardless of the lactose dose added, presented a residual lactose level of under the 0.01% stipulated by the Spanish Agency of Food Safety and Nutrition for lactose-free products (AESAN., 2020). Another important fact is that only cheeses made with spring milk gave lactose levels above the limit established. Therefore, the cheese's composition (Table 2) is more affected by the milk (season), and the pH by its delactosing degree (doses).

3.2. Cheese sensory profile

Table 3 and Table 4 show means values, standard deviation, and analysis of variance (season x doses) of Murciano-Granadina semi-hard cheese flavor attributes. The results show that lactose-free cheeses present the same qualitative flavor profile as traditional cheese (control), except for the sweet taste peculiar to lactose-free cheeses (Table 4). This could be due to the hydrolysis of lactose to glucose and galactose in the milk, which gives a sweeter taste to the milk and that can participate in Maillard reactions (Adhikari et al., 2010; Chapman et al., 2001). Similarly to our findings, Shakeel-Ur-Rehman et al. (Shakeel-Ur-Rehman et al., 2004) observed an increase in a sweet taste for lactose-free Cheddar cheese with respect to traditional Cheddar cheese. Leite et al. (Leite et al., 2021) showed that lactose-free stuffed coalho cheese achieved the highest acceptance rates among consumers due to its sweet taste.

Regarding the quantitative flavor profile (Tables 3 and 4), the results of the ANOVA analyses showed that the effect of the lactase dose used in the delactosing of the milk was more marked than the seasonal variability itself of the milk in most of

the flavor attributes, except for yogurt odor/aroma. Ruiz Pérez-Cacho et al. (2019) observed that the aroma of yogurt in artisanal Andalusian cheeses made with Murciano-Granadina goats' milk was associated with that goat breed. The cheeses with the highest doses of lactase presented a stronger intensity of odor/aroma of butter and cake; they were sweeter and more bitter and less acid or salty. Some researchers suggest that lactose-free dairy products are more likely to undergo a Maillard reaction due to the presence of a larger amount of reducing sugars, and an increased level of free amino acids than a product containing unhydrolyzed lactose. They also observed that the degree of proteolysis was significantly higher in the lactose-hydrolyzed products compared to the conventional dairy ones, releasing bitter-tasting peptides responsables for their bitter taste (Cincotta et al., 2021; Jansson et al., 2014; Nielsen et al., 2017; Troise et al., 2016). In the same way, other authors have highlighted the increase in sweet and bitter flavors in Cheddar (Shakeel-Ur-Rehman et al., 2004) and in mozzarella lactose-free cheeses (Cincotta et al., 2021). Lastly, in our study, cheeses with the highest dose of the enzyme (1 g/l milk) were also described as having a chemical taint and a metallic aftertaste, that could be attributed to the enzyme itself.

Table 3. Means values, standard deviation, and ANOVA (season x doses) of odor/aroma attributes.

Attribute	*Season (S)	**Doses (D)	F
Overall Int. odor	S1: 5.6 ± 0.6	D1: 5.2 ± 0.7 ^a	S: ns D: 3.53* SxD ns
	S2: 5.8 ± 0.4	D2: 5.9 ± 0.2 ^b	
	S3: 5.9 ± 0.4	D3: 6.0 ± 0.4 ^{ab}	
		D4: 5.9 ± 0.1 ^{ab}	
Butter odor		D5: 5.8 ± 0.2 ^{ab}	S: 5.71* D: 21.6*** SxD: 9.8***
	S1: 5.1 ± 0.5 ^a	D1: 4.5 ± 0.4 ^a	
	S2: 4.5 ± 1.4 ^b	D2: 3.3 ± 1.9 ^b	
	S3: 4.5 ± 1.4 ^b	D3: 5.5 ± 0.7 ^{ac}	
		D4: 5.2 ± 0.4 ^{ac}	
Yogurt odor		D5: 5.1 ± 0.3 ^{ac}	S: 34.8*** D: ns SxD: ns
	S1: 3.9 ± 0.3 ^a	1: 4.7 ± 1.1	
	S2: 5.2 ± 0.9 ^b	2: 5.2 ± 1.0	
	S3: 5.5 ± 0.5 ^b	3: 4.9 ± 0.8	
		4: 5.1 ± 0.9	
Cake odor		5: 4.3 ± 0.7	S: 7.42** D: 18.9*** SxD: 2.84*
	S1: 5.3 ± 0.5 ^a	1: 4.0 ± 0.9 ^a	
	S2: 4.9 ± 0.6 ^{ab}	2: 4.8 ± 0.5 ^b	
	S3: 4.7 ± 1.0 ^b	3: 5.6 ± 0.4 ^c	
		4: 5.5 ± 0.2 ^c	
Overall Int. aroma		5: 5.0 ± 0.4 ^{bc}	S: 25.8*** D: 3.92* SxD: ns
	S1: 5.0 ± 0.3 ^a	1: 5.5 ± 0.7 ^{ab}	
	S2: 5.6 ± 0.4 ^b	2: 5.5 ± 0.3 ^{ab}	
	S3: 5.7 ± 0.3 ^b	3: 5.7 ± 0.5 ^a	
		4: 5.2 ± 0.2 ^b	
Butter aroma		5: 5.4 ± 0.2 ^{ab}	S: ns D: 95.0*** SxD: ns
	S1: 3.9 ± 0.8	1: 3.0 ± 0.1 ^a	
	S2: 3.8 ± 0.8	2: 3.5 ± 0.5 ^b	
	S3: 3.9 ± 1.0	3: 3.1 ± 0.1 ^{ab}	
		4: 4.7 ± 0.2 ^c	
Yogurt aroma		5: 4.9 ± 0.3 ^c	S: 12.5** D: 26.4*** SxD: ns
	S1: 4.5 ± 1.0 ^a	1: 5.1 ± 0.8 ^{ab}	
	S2: 5.0 ± 0.9 ^b	2: 5.4 ± 0.2 ^{ab}	
	S3: 5.3 ± 0.5 ^b	3: 5.6 ± 0.4 ^b	
		4: 5.0 ± 0.3 ^a	
Cake aroma		5: 3.7 ± 0.7 ^c	S: ns D: 191.5*** SxD: ns
	S1: 2.8 ± 2.4	1: -	
	S2: 2.6 ± 2.3	2: -	
	S3: 2.8 ± 2.5	3: 4.6 ± 0.7 ^a	
		4: 4.6 ± 0.4 ^a	
		5: 4.5 ± 0.3 ^a	

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's multiple range test, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. 1 Season means include the values for the control cheeses, S1: spring; S2: summer; S3: fall. Include the values for the control cheeses Lactase dose (g/L milk): C = control; D1 = 0.125; D2 = 0.25; D3 = 0.5; D4 = 1.0.

Table 4. Means values, standard deviation, and ANOVA (season x doses) of basic tastes and persistence.

Attribute	*Season (S)	**Doses (D)	F
Sweet		1: -	
	S1: 2.6 ± 2.3	2: -	S: ns
	S2: 2.5 ± 2.2	3: 4.1 ± 0.5 ^a	D: 296.0***
	S3: 2.6 ± 2.3	4: 4.0 ± 0.1 ^a	SxD: ns
		5: 4.9 ± 0.4 ^b	
Acid		1: 5.4 ± 0.4 ^a	
	S1: 5.1 ± 1.1	2: 6.0 ± 0.3 ^a	S: ns
	S2: 5.1 ± 0.7	3: 5.5 ± 0.4 ^a	D: 28.6***
	S3: 5.1 ± 0.6	4: 4.5 ± 0.1 ^b	SxD: ns
		5: 4.1 ± 0.5 ^b	
Salty		1: 3.8 ± 0.2 ^a	
	S1: 2.8 ± 1.0 ^a	2: 3.9 ± 0.9 ^a	S: 13.7***
	S2: 3.9 ± 0.9 ^b	3: 4.0 ± 1.2 ^a	D: 9.96***
	S3: 3.9 ± 1.0 ^b	4: 3.7 ± 1.4 ^a	SxD: 3.23*
		5: 2.2 ± 0.2 ^b	
Bitter		1: 2.0 ± 0.2 ^a	
	S1: 3.0 ± 1.3 ^a	2: 3.4 ± 0.3 ^b	S: 50.2***
	S2: 3.6 ± 1.5 ^b	3: 3.2 ± 0.5 ^b	D: 488.5***
	S3: 3.6 ± 1.4 ^b	4: 4.0 ± 0.9 ^c	SxD: 13.9***
		5: 5.6 ± 0.2 ^d	
Persistence		1: 4.8 ± 0.2 ^a	
	S1: 4.0 ± 0.7 ^a	2: 3.8 ± 0.6 ^b	S: 17.3***
	S2: 4.4 ± 0.3 ^b	3: 4.5 ± 0.5 ^a	D: 25.8***
	S3: 4.6 ± 0.4 ^b	4: 4.0 ± 0.2 ^b	SxD: 4.23**
		5: 4.8 ± 0.3 ^a	

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p>0.05$) according to Tukey's Multiple Range Test. * S1: spring; S2: summer; S3: fall. ** Lactase dose (g/l milk): D1=control; D2=0.125; D3=0.25; D4=0.5; D5=1.0

Table 5 shows means values, standard deviation, and analysis of variance (season x doses) of Murciano-Granadina semi-hard cheese color intensity and texture attributes. The same as in the flavor profile, the ANOVA analyses results showed that the effect of the lactase dose was more significant than the seasonal variability of the milk itself, i.e. in its color intensity and in most of its texture attributes, except

chewiness. Thus, the cheeses with the highest doses of lactase were: darker, elastic, soft, tender, moist, soluble, and creamy, and their grain size was smaller than that of traditional cheese (control) due to the cheese's lower acidification (Table 2). Other authors also observed differences in texture between traditional cheeses and cheeses free from, or with reduced, lactose. Shakeel-Ur-Rehman et al. (2004) described a softer texture in the lactose-reduced Cheddar than in the control. Cincotta et al. (2021) found a more elastic texture and moist in lactose-free Mozzarella cheese than in the traditional one. Regarding the seasonal variability of the milk (season), the cheeses made from spring milk were darker, and had a more elastic, softer, more tender, and soluble texture than cheeses made from summer or fall milk. This could be related to the actual composition of the milk (Table 1), with the highest values in all the parameters (fat, protein, and lactose) for milk collected from spring batches.

Table 5. Means values, standard deviation, and ANOVA (season x doses) of color intensity and texture attributes.

Attribute	*Season	**Doses	F
Color int.	1: 3.6±0.9 ^a	1: 2.6±0.4 ^a	S: 14.4 ^{***} D: 27.1 ^{***} S*D: 7.6 ^{***}
	2: 3.1±0.4 ^b	2: 2.7±0.3 ^a	
	3: 3.1±0.4 ^b	3: 2.9±0.3 ^a	
		4: 3.9±0.4 ^b	
		5: 3.7±0.9 ^b	
Elasticity	1: 3.2±1.1 ^a	1: 3.1±0.6 ^a	S: 89.4 ^{***} D: 128.6 ^{***} S*D: 8.43 ^{***}
	2: 4.0±0.8 ^b	2: 2.8±0.6 ^b	
	3: 4.3±0.8 ^c	3: 4.1±1.1 ^c	
		4: 4.2±0.3 ^c	
		5: 5.0±0.3 ^d	
Hardness	1: 3.7±0.5 ^a	1: 4.5±0.3 ^a	S: 4.77 [*] D: 23.1 ^{***} S*D: ns
	2: 4.0±0.5 ^b	2: 4.2±0.3 ^a	
	3: 4.0±0.6 ^b	3: 4.2±0.3 ^a	
		4: 3.4±0.2 ^b	
		5: 3.4±0.2 ^b	
Chewiness	1: 2.8±0.4 ^a	1: 3.4±0.3 ^a	S: 60.3 ^{***} D: 26.3 ^{***} S*D: 6.65 ^{**}
	2: 3.4±0.3 ^b	2: 3.7±0.4 ^b	
	3: 3.5±0.5 ^b	3: 3.2±0.8 ^{ac}	
		4: 2.9±0.2 ^c	
		5: 2.9±0.2 ^c	
Adhesiveness	1: 2.9±0.6 ^a	1: 2.9±0.7 ^{ab}	S: 4.30 [*] D: 8.02 ^{**} S*D: 5.87 ^{**}
	2: 3.2±0.3 ^b	2: 3.5±0.3 ^c	
	3: 2.9±0.6 ^{ab}	3: 2.9±0.5 ^{ab}	
		4: 3.1±0.4 ^{bc}	
		5: 2.6±0.3 ^a	
Granularity	1: 2.2±0.6 ^a	1: 3.0±0.3 ^a	S: 18.8 ^{***} D: 18.3 ^{***} S*D: ns
	2: 2.7±0.5 ^b	2: 2.8±0.4 ^{ab}	
	3: 2.7±0.3 ^b	3: 2.4±0.4 ^{bc}	
		4: 2.1±0.2 ^c	
		5: 2.2±0.5 ^c	
Moisture	1: 5.1±0.7	1: 4.2±0.7 ^a	S: ns D: 29.6 ^{***} S*D: ns
	2: 5.3±0.9	2: 4.5±0.4 ^a	
	3: 5.3±1.0	3: 5.6±0.5 ^b	
		4: 5.6±0.4 ^b	
		5: 6.1±0.2 ^b	
Solubility	1: 5.2±0.7 ^a	1: 5.0±0.3 ^a	S: 11.1 ^{**} D: 44.0 ^{***} S*D: 4.2 ^{**}
	2: 5.7±0.8 ^b	2: 4.5±0.4 ^a	
	3: 5.7±1.0 ^b	3: 5.8±0.6 ^b	
		4: 6.1±0.7 ^{bc}	
		5: 6.3±0.3 ^c	
Creamy	1: 4.0±0.7	1: 3.3±0.7 ^a	S: ns D: 16.4 ^{***} S*D: ns
	2: 4.3±1.0	2: 3.6±0.4 ^a	
	3: 4.5±1.0	3: 4.9±0.5 ^b	
		4: 4.5±0.4 ^b	
		5: 5.2±0.7 ^b	

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p>0.05$) according to Tukey's Multiple Range Test. * S1: spring; S2; summer; S3: fall. ** Lactase dose (g/l milk): D1=control; D2=0.125; D3=0.25; D4=0.5; D5=1.0

Means of each lactase dose for each sensory attribute are shown as spider-web diagrams in Figure 1. The Murciano-Granadina semi-hard goat cheese sensory profile obtained in our study coincides with that observed in an earlier study for Artisanal Andalusian cheeses (Ruiz Pérez-Cacho et al., 2019). Thus, this artisanal cheese (Figure 1-D1) is characterized by being pale in color, with olfactory notes of yogurt, butter and cake, an acidic, salty taste, a medium persistence, and a soft, tender and creamy texture, with a low solubility. It should be noted that the sensory profiles of the cheeses made with the highest doses of lactase (Figure 1-D4 and D5) are different from those of traditional cheese, and have a profile more like that described by other authors for cheeses with reduced lactose or lactose-free, with accentuated sweet and bitter tastes and elastic, soft and moist textures (Cincotta et al., 2021; Shakeel-Ur-Rehman et al., 2004). Conversely, the sensory profile of the cheese made with the lowest dose of lactase (Figure 1-D2) was the same as that of the control cheese. Accordingly, it could be assumed that, with that dose, enough residual lactose remains in the cheese to acidify and develop the cheese's aromas during its fermentation, and that the final lactose value in the cheese is below the one permitted in the legislation, <0.01% (AESAN., 2020).

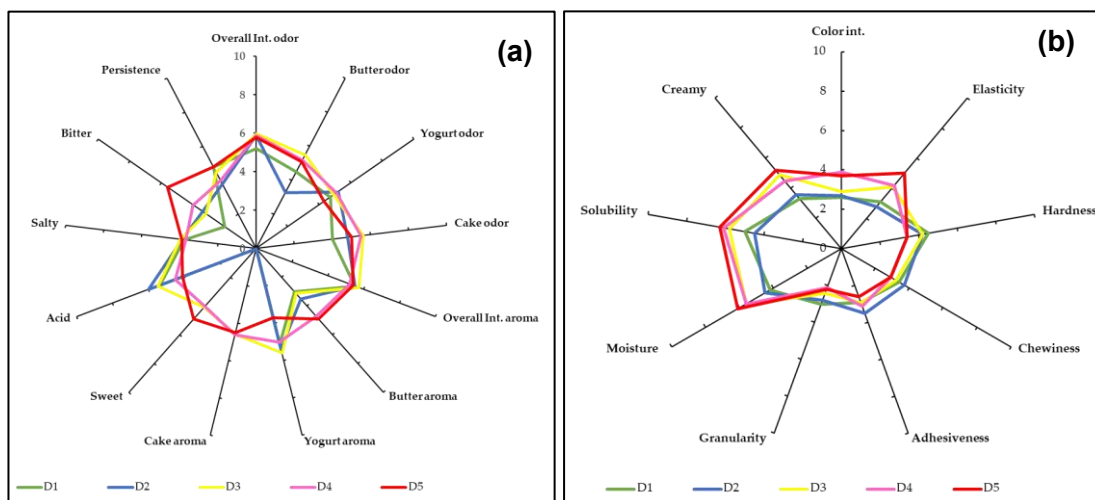


Figure 1. Quantitative profile of control and lactose-free Murciano-Granadina semi-hard goat cheese at different lactase doses (D1=control; D2=0.125 g/100 ml milk; D3=0.25 g/100 ml milk; D4=0.5 g/100 ml milk; D5=1.0 g/100 ml milk). (a): Flavor profile; (b): Texture profile.

4. CONCLUSIONS

The results show that it is possible to make a lactose-free cheese with a similar sensory profile to that of traditional cheese. For this purpose, it is necessary to optimize the amount of lactase to be added to the milk, so that sufficient lactose remains in the cheese for the typical fermentation and maturation processes to take place. This work serves as a basis for producing other types of cheeses, either lactose-free or with reduced lactose, that are similar to the traditional ones, with milk from other species, breeds and/or technological methods.

ACKNOWLEDGEMENT

We express our gratitude to the GrupoSens panel members, University of Cordoba (Spain), for their voluntary participation.

FUNDING

This work has been done under the project TRANSFORMA 2019-2021 “Challenges for Andalusian livestock farming systems and their products” (RESGAP), financed by the European Regional Development Fund within the Operative Programme FEDER of Andalusia 2014-2020, and the University of Córdoba-Spain (Sensory Studies Laboratory-GrupoSens, AGR-020).

REFERENCES

- Adhikari, K., Dooley, L. M., Chambers, E., & Bhumiratana, N. (2010). Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in the United States. *LWT - Food Science and Technology*, 43(1), 113-118. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.017>
- AESAN. (2020). Conditions of use of the mentions “lactose-free” and “low lactose” content in Spain. 2020. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/interpretaciones/nutricionales/sin_lactosa.pdf
- AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed. (1999). Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA. <https://www.aoac.org/>

- Blasco, E., Gomez, E. A., Vicente, C., Vidal, G., & Peris, C. (2016). Factors affecting milking speed in Murciano-Granadina breed goats. *Journal of Dairy Science*, 99(12), 10102-10108. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10869>
- Chapman, K. W., Lawless, H. T., & Boor, K. J. (2001). Quantitative Descriptive Analysis and Principal Component Analysis for Sensory Characterization of Ultrapasteurized Milk. *Journal of Dairy Science*, 84(1), 12-20. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74446-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74446-3)
- Cincotta, F., Condurso, C., Tripodi, G., Merlino, M., Prestia, O., Stanton, C., & Verzera, A. (2021). Comparison of lactose free and traditional mozzarella cheese during shelf-life by aroma compounds and sensory analysis. *LWT*, 140, 110845. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110845>
- de la Haba Ruiz, M. A., Ruiz Pérez-Cacho, P., Dios Palomares, R., & Galán-Soldevilla, H. (2016). Classification of artisanal Andalusian cheeses on physicochemical parameters applying multivariate statistical techniques. *Dairy Science & Technology*, 96(1), 95-106. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0242-5>
- Dekker, P., Koenders, D., & Bruins, M. (2019). Lactose-Free Dairy Products: Market Developments, Production, Nutrition and Health Benefits. *Nutrients*, 11(3), 551. <https://doi.org/10.3390/nu11030551>
- García, V., Rovira, S., Boutoial, K., Ferrandini, E., & López, M. B. (2016). Physicochemical, microbiological, textural and sensory changes during the ripening of pasteurised goat milk cheese made with plant coagulant (*Cynara scolymus*). *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), 96-102. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12225>
- Guinee T. P. (2002). The functionality of cheese as an ingredient: A review. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57(2), 79-91.
- Guzmán, J. L., Delgado Pertíñez, M., Galán Soldevilla, H., Ruiz Pérez-Cacho, P., Polvillo Polo, O., Zarazaga, L. Á., & Avilés Ramírez, C. (2020). Effect of Citrus By-product on Physicochemical Parameters, Sensory Analysis and Volatile Composition of Different Kinds of Cheese from Raw Goat Milk. *Foods*, 9(10), 1420. <https://doi.org/10.3390/foods9101420>
- ISO 3433:2008/ IDF 222:2008; (2008). Cheese. Determination of Fat Content. Van Gulik Method. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland,. <https://shop.fil-idf.org/products/milk-and-milk-products-guidance-on-sampling>

- ISO 8586:2012; (2012). Sensory Analysis. General Guidelines for the Selection, Training and Monitoring of Selected Assessors and Expert Sensory Assessors. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland,.
- ISO 22935-2:2009|IDF 99-2:2009; (2009). Milk and Milk Products. Sensory Analysis. Part 2: Recommended methods for sensory evaluation. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland,.
- Jansson, T., Jensen, H. B., Sundekilde, U. K., Clausen, M. R., Eggers, N., Larsen, L. B., Ray, C., Andersen, H. J., & Bertram, H. C. (2014). Chemical and Proteolysis-Derived Changes during Long-Term Storage of Lactose-Hydrolyzed Ultrahigh-Temperature (UHT) Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(46), 11270-11278. <https://doi.org/10.1021/jf504104q>
- Jensen, S., Jansson, T., Eggers, N., Clausen, M. R., Larsen, L. B., Jensen, H. B., Ray, C., Sundgren, A., Andersen, H. J., & Bertram, H. C. (2015). Storage-induced changes in the sensory characteristics and volatiles of conventional and lactose-hydrolyzed UHT processed milk. *European Food Research and Technology*, 240(6), 1247-1257. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2427-9>
- Leite, A. C. S., Cortez, N. M. dos S., Albuquerque, S. S. M. C. de, Shinohara, N. K. S., Macedo, I. M. E., & Andrade, S. A. C. (2021). Development of stuffed coalho cheese in the traditional, lactose-free and probiotic-added formulations. *Ciência Rural*, 51(5), e200049. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200049>
- Messia, M. C., Candigliota, T., & Marconi, E. (2007). Assessment of quality and technological characterization of lactose-hydrolyzed milk. *Food Chemistry*, 104(3), 910-917. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.045>
- Nielsen, S. D., Jansson, T., Le, T. T., Jensen, S., Eggers, N., Rauh, V., Sundekilde, U. K., Sørensen, J., Andersen, H. J., Bertram, H. C., & Larsen, L. B. (2017). Correlation between sensory properties and peptides derived from hydrolysed-lactose UHT milk during storage. *International Dairy Journal*, 68, 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.12.013>
- Pazzola, M., Stocco, G., Dettori, M. L., Bittante, G., & Vacca, G. M. (2019). Effect of goat milk composition on cheesemaking traits and daily cheese production. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 3947-3955. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15397>
- Pino, A., Liotta, L., Caggia, C., Chiofalo, V., De Nardo, F., Zumbo, A., Todaro, A., & Randazzo, C. L. (2021). Effect of seasonality on physico-chemical and

- microbiological properties of nicastrese milk and artisanal cheese. *FEMS Microbiology Letters*, 368(10), fnab055. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab055>
- Pizarro, M. G., Landi, V., Navas González, F. J., León, J. M., & Delgado, J. V. (2019). Non-parametric analysis of the effects of α S1-casein genotype and parturition non-genetic factors on milk yield and composition in Murciano-Granadina goats. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 1021-1034. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1611388>
- Pulinas, L., Spanu, C., Idda, I., Ibba, I., Nieddu, G., Viridis, S., Scarano, C., Piras, F., Spano, N., Sanna, G., & De Santis, E. P. L. (2017). Production of farmstead lactose-free Pecorino di Osilo and ricotta cheeses from sheep's milk. *Italian Journal of Food Safety*, 6(1). <https://doi.org/10.4081/ijfs.2017.6353>
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., & Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79(1), 57-72. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.009>
- Regulation of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin, 853/2004/EC. In: *Official Journal of the European Union*, L 139, 30/04/2004.
- Ruiz Pérez-Cacho, P., Haba Ruiz, M. A., Dios-Palomares, R., & Galán-Soldevilla, H. (2019). Linear regression models for estimating the effect of technological factors on the sensory characteristics of goat cheeses. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(7), 2396-2407. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14151>
- Serrapica, F., Masucci, F., Di Francia, A., Napolitano, F., Braghieri, A., Esposito, G., & Romano, R. (2020). Seasonal Variation of Chemical Composition, Fatty Acid Profile, and Sensory Properties of a Mountain Pecorino Cheese. *Foods*, 9(8), 1091. <https://doi.org/10.3390/foods9081091>
- Shakeel-Ur-Rehman, Waldron, D., & Fox, P. F. (2004). Effect of modifying lactose concentration in cheese curd on proteolysis and in quality of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 14(7), 591-597. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.11.008>
- Storhaug, C. L., Fosse, S. K., & Fadnes, L. T. (2017). Country, regional, and global estimates for lactose malabsorption in adults: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2(10), 738-746. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(17\)30154-1](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30154-1)

- Suchy, F. J. (2010). National Institutes of Health Consensus Development Conference: Lactose Intolerance and Health. *Annals of Internal Medicine*, 152(12), 792. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-152-12-201006150-00248>
- Troise, A. D., Bandini, E., De Donno, R., Meijer, G., Trezzi, M., & Fogliano, V. (2016). The quality of low lactose milk is affected by the side proteolytic activity of the lactase used in the production process. *Food Research International*, 89, 514-525. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.021>
- Ugidos-Rodríguez, S., Matallana-González, M. C., & Sánchez-Mata, M. C. (2018). Lactose malabsorption and intolerance: A review. *Food & Function*, 9(8), 4056-4068. <https://doi.org/10.1039/C8FO00555A>

Physicochemical and sensory characteristics of a soft goat's milk cheese made with plant coagulant (*Cynara cardunculus*, L.), and with or without lactose

Ángel Luis López Ruiz^{1,2}, Francisco de Asís Ruiz Morales³, Pilar Ruiz Pérez-Cacho^{1,*} and Hortensia Galán-Soldevilla¹

¹Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

²Centro IFAPA Hinojosa del Duque, 14270 Córdoba, Spain

³Centro IFAPA Camino de Purchil, 18004 Granada, Spain

* Corresponding author at: Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, 14071 Córdoba, Spain.

E-mail address: pilar.ruiz@uco.es (Pilar Ruiz Pérez-Cacho)

ABSTRACT

Soft goat's milk cheeses with and without lactose using plant coagulant (*Cynara cardunculus* L.), were manufactured to meet the demands of consumers who request local, and healthy, products. A mixture of starter and ripening cultures promoted this texture. Different doses of the enzyme lactase (0.25, 0.50 and 0.75 g/L) were tested in order to make lactose-free cheeses. The best results were obtained with lactase at a concentration of 0.25 g/L. These cheeses were characterized by notes of butter, yoghurt, vegetable, cake, nut, vomit, and goat olfactory and a bitter taste, and a moist, soluble, creamy, and spreadable texture.

KEYWORDS

dairy products, Murciano-Granadina, lactose-free and sensory profile

1. INTRODUCTION

Traditionally, Andalusian cheese is a semi-hard or hard goat's milk cheese made with animal rennet in small artisanal cheese factories (de la Haba Ruiz et al., 2016; Ruiz Pérez-Cacho et al., 2019). In recent years, these small local dairies have been making other types of cheeses with different textures. The use of plant coagulants in cheese manufacture is an increasingly widespread practice, due to: the scarcity and high price of animal rennet; some religious factors (Islamism and Judaism); and others related to the vegetarianism of some consumers (Bathmanath et al., 2019; Ben Amira et al., 2017; Fresno et al., 2023). In the Pedroches region (Córdoba-Andalusia), because of the traditional use of cardoon (*Cynara cardunculus* L.), and that area's climate conditions (de la Haba Ruiz, 2017; Fernández-Salguero & Sanjuán, 1999; Galán et al., 2012b), cheese makers are beginning to produce similar soft goat cheeses to Extremadura-Spain (Delgado-Martínez et al., 2019; Martín et al., 2022; Ordiales, Martín, et al., 2013) and Alentejo-Portugal ewes milk ones (Gomes et al., 2019). To date, no research papers on these soft cheeses have been published. In addition, according to Fresno et al. (2023), in the last decades, much effort has been spent on studying the properties of plant coagulants as an alternative to other coagulant enzymes, but there are few studies on how the latter might affect the sensory properties of these cheeses.

Lactose intolerance is a widespread problem that scientists and food industries have had to address during the past few years. Lactose-free dairy segments have been increasing significantly and are arousing interest, not only for clinical reasons, but also for their profitable and expanding market as innovative products. As a result, lactose-free dairy products now constitute the fastest growing market in the dairy industry (Dekker et al., 2019; Natrella et al., 2023). However, lactose-free dairy products are characterized by presenting a scant sensory quality, far removed from their traditional profile for their pronounced sweet and bitter taste and aroma related to Maillard reactions (López et al., 2023). No universal law regulating the labelling of "delactosed" products, defined as "lactose-free" or "low-lactose", and their relative thresholds, has been defined yet (Facioni et al., 2021) in either case. Nevertheless, the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) has established that a food product labelled as being "lactose-free" should contain less than 0.01% lactose, and a low-lactose one, 1% for (AESAN, 2020).

The present work aimed to evaluate the composition and sensory profile of Murciano-Granadina goat's raw milk soft cheeses made with plant coagulant (*Cynara cardunculus* L.), and to study the effect of lactose reduction on these cheeses. Regarding the latter option, several cheese making trials were performed to optimize the amount of lactase to be added to the milk to obtain a lactose-free cheese with a similar sensory profile to the control ones.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Plant coagulant, starter cultures, ripening cultures, and lactase enzyme.

A plant coagulant extract from *Cynara cardunculus* L. was obtained by macerating the flowers in chlorine-free water for 12 hours at room temperature, isolated from the light. The resulting extract was filtered twice through a cheesecloth and was added directly to the milk vat (50 g of flowers/100 L milk).

The starter culture Choozit MA 4001 (Danisco, France) was used in the present study as freeze-dried, concentrated (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *Diacetylactis*, and *Streptococcus thermophilus*). To establish the dosage, a dilution of the lactic starter with UHT milk was made in glass bottles sterilized in an autoclave, according to the manufacturers' instructions.

Two types of commercial ripening cultures were used: *Debaryomyces hansenii* ('Swing Yeast LAF 3' Christian Hansen, Hoersholm, Denmark), available as freeze-dried, concentrated, and *Geotrichum candidum* (Swing GEO CA' Christian Hansen, Hoersholm, Denmark) in liquid form. Doses of different ripening cultures were also made following the manufacturers' instructions.

The commercially available enzyme GODO YNL2 (Danisco, France) produced by *Kluyveromyces lactis* was employed in the present study. The 0.25, 0.50 and 0.75 g lactase/L milk doses were fixed in accordance with previous studies (López Ruiz et al., 2023).

2.2. Cheese making procedure and sampling

2.2.1. Murciano-Granadina soft cheese

Raw Murciano-Granadina goat's milk was used to manufacture different types of soft cheese at the Pilot Plant in the Agricultural Research Training Centre in Hinojosa del Duque (Cordoba, Spain). Two types of cheese were made in keeping with Extremadura-Spain soft cheese making process (Delgado-Martínez et al., 2019; Ordiales, Martín, et al., 2013) using different cultures: one type employing only the starter culture (A), and a second one both the starter and ripening cultures (B).

(A) Milk was heated to 27°C, and the commercial starter (0.5 U /100L of milk) was added directly to it and incubated for 45 min. Then, the coagulant extract (50 g of flowers/100 L of milk) was added and, after 90 min, the curd was cut to obtain grains of about 6-8 mm and submitted to slow, continuous mixing without increasing the temperature. Next, the curd was drained off and moulded into 0.5 kg portions. The cheeses were pressed (0.5-1.5 bar) for 60 min. After reaching a pH of 6.0, they were salted by rubbing with medium sized type salt (Continental products, Spain). Afterwards, they were kept in chambers for 24 h at 3-4°C and 95% H_R to maintain the shape of the cheese, and then they were demoulded and preserved under these conservation conditions for 7 more days. Finally, they were ripened in chambers for 52 days at 8-10°C °C and 85% H_R.

(B) Milk was heated to 27°C, and the commercial starter (0.5 U /100L of milk) and ripening cultures (0.1 U /100L of milk) were added directly to the milk and incubated for 45 min. Then, the coagulant extract (50 g of flowers/100 L of milk) was incorporated and, after 90 min, the curd was cut to obtain grains of about 6-8 mm and submitted to slow, continuous mixing without increasing the temperature. Next, the curd was drained off and moulded into 0.5 kg portions, and the cheeses were pressed (0.5-1,5 bar) for 60 min. After reaching a pH of 6.0, they were salted by rubbing with medium-sized type salt, (Continental products, Spain). Afterwards, they were kept in chambers for 24 h at 3-4°C and 95% H_R to maintain the shape of the cheese, and next they were demoulded and preserved under these conservation conditions for 11 more days. Finally, they were ripened in chambers for 48 days at 10-12 °C and 85% H_R.

Each type of cheese (A, B) was elaborated in duplicate and three types of cheese were analysed.

2.2.2. *Lactose-free Murciano-Granadina soft cheese*

Milk was heated to 27°C, and the commercial lactase enzyme at the dosage selected (0.25, 0.50 and 0.75 g/L) was added directly to the milk and kept for 15 minutes and then the commercial starter (0.5 U /100L of milk) and ripening cultures (0.1 U /100L of milk) were added and incubated for 45 min. Then, the experiment was conducted as in the previous section (2.2.1-B). Each type of cheese (Control-C, 0.25, 0.50 and 0.75 g/L) was made in triplicate and three cheeses of each type were analysed. In all, there were 36 cheeses (3 doses and the control x 3 batch x 3 cheeses).

2.3. **Physicochemical parameters**

The basic chemical composition of the milk and cheese was analysed following the methodology described in a previous work (López Ruiz et al., 2023). The milk's composition (total solids (TS), fat, protein) was analysed with a Milkoskan™ FT (Fourier transform infrared spectrometry) in Foss equipment (Foss Electric, Hillerød, Denmark). In addition, a somatic cell count (SCC) was obtained using a Fossomatic™ 7 (Foss Electric, Hillerød, Denmark), and total bacterial counts were measured with BactoScan™ (Foss Electric, Hillerød, Denmark). Finally, the lactose content was determined by liquid chromatography coupled with pulsed amperometric detection (LC-PAD) (Metrohm 930 Compact IC Flex, Herisau, Switzerland). Cheese samples were analysed by the following methods: pH with a pH meter (HANNA FHT-803) with a pH electrode; total solids (TS) and sodium chloride by official methods (AOAC, 1999) expressed as fat in TS, by the Van Gulik method (ISO/IDF, 2008), and the lactose content was also determined using Liquid Chromatography coupled with Pulsed Amperometric Detection-LC-PAD (Metrohm 930 Compact IC Flex, Herisau, Switzerland). Three cheeses from each batch were analysed. All the determinations were made in duplicate, and each pair of data was averaged.

2.4. **Sensory profile**

The methodology followed is based on the ISO (13299, 2016; 22935-2, 2009) and Ruiz Pérez-Cacho et al. (2019). The analyses were performed in the Sensory Laboratory of the Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos at the Universidad de Córdoba (Spain), which is equipped in accordance with ISO (8589, 2007). The sample was prepared as follows: the upper crust of the cheese was

removed, then the paste was homogenized with a spatula, and between 20-25 g of sample per taster was taken, serving it at a temperature ranging between 14 and 16°C directly in a closed, disposable Petri dish. Eight highly-trained panellists from the Córdoba University Sensory Laboratory collaborated in this research, all of whom had previous experience in the sensory analysis of cheese (Guzmán et al., 2020b; López Ruiz et al., 2023; Ruiz Pérez-Cacho et al., 2019). Twenty-three attributes were analysed: 19 for flavour (8 for odour-orthonasal perception, 6 for aroma-retronasal perception, 3 for basic tastes, 1 trigeminal sensation and persistence), and 8 for texture. Between tastings, the assessors were able to drink mineral water to clean their taste buds. Each sample was first analysed for odour without touching the sample; spreadability was then assessed by spreading the cheese in the Petri dish with a spoon, again assessing its odour. Next, a sample was taken to evaluate the aromas, basic tastes, trigeminal sensation, and persistence in the mouth. Finally, in another sample, mouth texture attributes were analysed.

2.5. Data Processing and Statistical Analysis

All the statistical tests were performed with the SPSS 17 programme. A basic descriptive statistical analysis (mean and standard deviation) was applied for the nutritional composition of the milk and cheese, and for the latter's sensory analysis. For the lactose-free cheese, a basic descriptive statistical analysis, and a two-way ANOVA (batch x doses) were carried out for each cheese's physicochemical and sensory characteristics. To test mean differences, Tukey tests at a 95% confidence level ($p < 0.05$) were applied.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Murciano-Granadina soft cheeses

The average pH value, gross chemical composition, somatic cell count (SCC) and total bacterial count (TBC) of the raw goat's milk were: 6.62 ± 0.05 pH, 14.1 ± 0.57 % total solids (TS), 3.65 ± 0.14 % total protein, 4.93 ± 0.40 % fat content, 4.87 ± 0.07 % lactose, 5.98 ± 0.08 Log₁₀/mL SCC and 4.31 ± 0.12 Log₁₀ cfu/mL TBC, respectively. All the physicochemical parameters fell within the range for Murciano-Granadina goat's milk (Blasco et al., 2016; V. García et al., 2016; López Ruiz et al., 2023).

The acidification curves of the cheeses made only with starter culture (A) and with the mixture of starter and ripening cultures (B) throughout ripening (1, 15, 30, 45 and 60 days) are shown in Figure 1. A more pronounced decrease in pH was observed in type A cheeses, with pH values of below 5.0, than in cheeses with a mixture of starter and ripening cultures (B). The low pH values complicated the proteolysis of these cheeses, so that they did not achieve their soft and spreadable texture characteristic. In soft cheeses with enzymatic coagulation, the proteolysis generated by lactic bacteria and yeasts modulates the acidification curve by consuming lactic acid, and generating alkaline compounds (Martín et al., 2022; Ordiales et al., 2014).

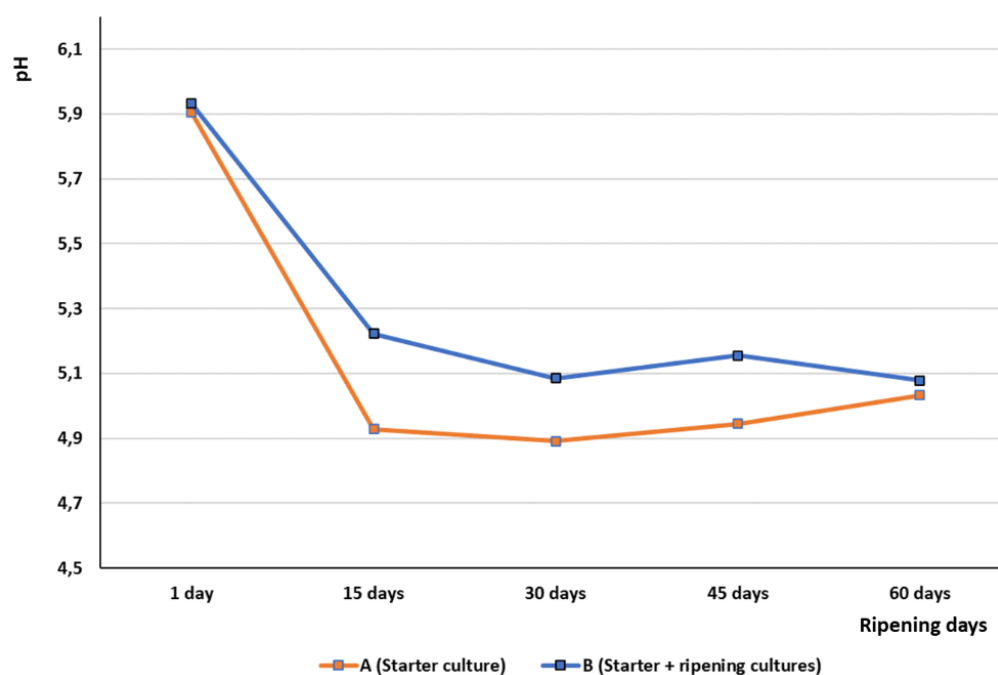


Figure 1. pH evolution throughout ripening of Murciano-Granadina soft cheese made using different cultures. (A) Starter culture; (B) Starter and ripening cultures.

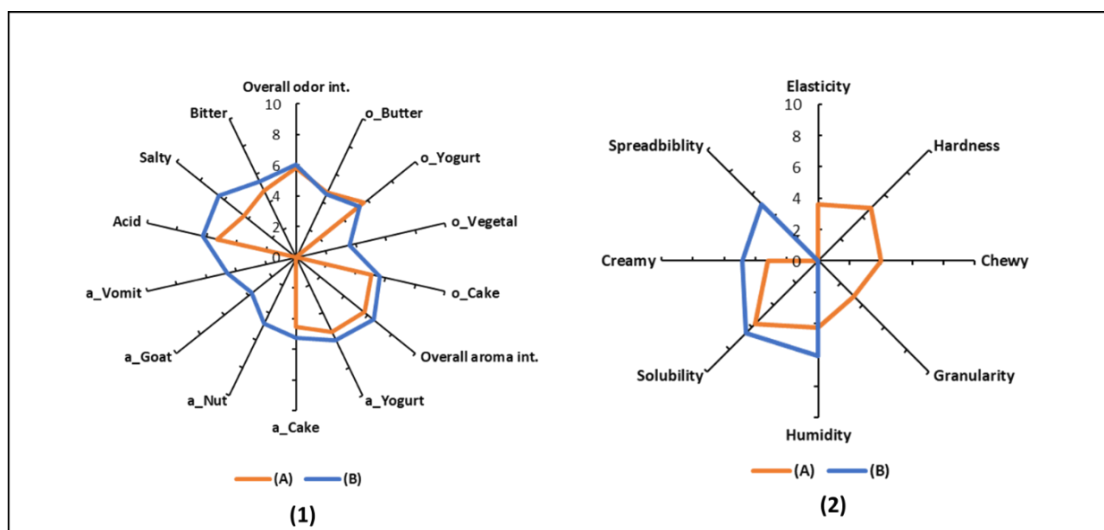


Figure 2. Quantitative profile of Murciano-Granadina soft cheese (A) Starter culture (B) Starter and ripening cultures. (1) Flavor profile; (2) texture profile.

Figure 2 shows the sensory profile as a spider-web graph of Murciano-Granadina soft cheese (A, B). It was observed that the cheese made with the mixture of cultures (B) had a more intense and complex odour/aroma profile than cheese made only with the starter culture (A), and a creamy, spreadable, texture. Yeasts, and mainly *Debaryomyces hansenii*, contribute to aroma development and to the texture of dairy products due to the role they play in the proteolysis, lipolysis, and fermentation of residual lactose during the ripening of some cheeses (McSweeney, 2004; Padilla et al., 2014).

In view of these results, the mixture of cultures (B) was selected to make the soft cheese.

The average pH value and gross chemical composition of Murciano-Granadina soft cheese manufactured with the mixture of starter and ripening cultures were: 5.07 pH, 50.6 % total solids (TS), 47.6% fat content, 1.65% sodium chloride, and 0.05 % lactose. In general, the physicochemical parameters found in our study are lower than those published for Extremadura-Spain soft cheese (Martín et al., 2022; Ordiales et al., 2014) made with ewes' milk, and for Andalusian Murciano-Granadina semi-hard goat cheese (de la Haba Ruiz et al., 2016). The sensory results show a flavour profile with olfactory notes of butter, yoghurt, cake, nut, vomit, and goat, similar to those of Andalusian Murciano-Granadina semi-hard goat cheese (Ruiz Pérez-Cacho et al.,

2019), a vegetable odour, and a bitter taste that is typical of plant coagulant cheeses (Ben Amira et al., 2017; Fresno et al., 2023; Tejada et al., 2006) and a moist, soluble, creamy and spreadable texture such as the soft cheese from Extremadura-Spain (F. Delgado et al., 2010; Ordiales, Martín, et al., 2013).

Detailed information on gross chemical composition and sensory results of the analyzed Murciano-Granadina soft cheese samples are given in Table 1 and Table 2 of the Supplementary Information.

3.2. Lactose-free Murciano-Granadina soft cheese

Table 1 gives the mean values, standard deviation, and analysis of variance (batch) for TS, fat, proteins, fat/proteins and lactose contents, somatic cells, and total bacterial count of the raw goat's milk collected. The TS, fat, proteins, fat/proteins, lactose contents and somatic cells, and total bacterial count of the milk ranges were 13.9–14.4, 4.81-5.16, 3.58-3.72, 1.32-1.39, 4.80-4.87 g/100 g milk, 5.95-6.03 Log₁₀/ml and 4.25-4.37 Log₁₀ cfu/ml, respectively. A significant change in the milk's composition was observed between batches for all the parameters studied ($p < 0.001$), with the highest values in TS, fat, and proteins for batch 1.

Table 1. Mean values, standard deviation, and analysis of variance (batch) of physicochemical parameters, somatic cell count and total bacterial count of Murciano-Granadina raw goat's milk.

¹ Batch	² TS (g/100 ml)	Fat (g/100 ml)	Proteins (g/100 ml)	Fat/ proteins	Lactose (g/100 ml)	² SCC (Log ₁₀ /ml)	² TBC (Log ₁₀ cfu/ml)
B 1	14.4 ± 0.12 ^a	5.16 ± 0.09 ^a	3.72 ± 0.07 ^a	1.39 ± 0.03 ^a	4.87 ± 0.08 ^a	5.97 ± 0.09 ^a	4.25 ± 0.18 ^a
B 2	14.0 ± 0.52 ^b	4.82 ± 0.37 ^b	3.58 ± 0.09 ^b	1.35 ± 0.07 ^b	4.87 ± 0.09 ^a	5.95 ± 0.07 ^a	4.32 ± 0.23 ^{ab}
B 3	13.9 ± 0.52 ^b	4.81 ± 0.36 ^b	3.64 ± 0.15 ^c	1.32 ± 0.05 ^c	4.80 ± 0.05 ^b	6.03 ± 0.05 ^b	4.37 ± 0.15 ^b
F	249.9	253.0	105.5	127.2	17.1	38.1	4.99
p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.05

¹Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's multiple range test, ²TS (total solids); ²SCC (somatic cell count); ²TBC (total bacterial count).

Table 2 presents the mean values, standard deviation, and analysis of variance (batch x doses) for the physicochemical parameters of Murciano-Granadina soft cheese (control) and lactose-free soft cheeses. The columns correspond to the factors studied (batch and doses), and the rows to the analytical parameters determined (pH, TS, fat/TS, NaCl and lactose). Finally, the results of the analysis of variance (F and p value) are shown. The doses 0.25, 0.50 and 0.75 g lactase/L of milk were established according to a previous study on Murciano-Granadina semi-hard goat cheese (López Ruiz et al., 2023). Cheese made with lower lactase doses than 0.25 g/L had a higher lactose value than that established by Spanish regulations, (< 0.01%, AESAN, 2020) for being considered a lactose-free cheese, and cheese with doses above 0.75 g/L presented an accentuated bitter-sweet taste, and a chemical off-flavour. The TS and fat/TS of lactose-free Murciano-Granadina soft cheese was more affected by its original raw milk composition, and the pH and sodium chloride by its degree of delactosation. In relation to pH, the highest lactase doses (0.75 g/L milk) corresponded to the highest pH because of their lower acidification. All the cheeses, regardless of the lactose dose added, presented a residual lactose level of under 0.01% in keeping with current Spanish regulations for lactose-free products (AESAN, 2020).

Table 2. Mean values, standard deviation, and analysis of variance (batch x doses) of lactose-free Murciano-Granadina soft cheese's physicochemical parameters.

Parameter	¹ Batch (B)	² Doses (D)	F
pH	B1: 5.21 ± 0.13 B2: 5.21 ± 0.09 B3: 5.24 ± 0.11	C: 5.11 ± 0.03 ^a D1: 5.21 ± 0.13 ^b D2: 5.24 ± 0.05 ^b D3: 5.33 ± 0.05 ^c	B: ns D: 42.9*** BxD: 7.6***
Total Solids (TS) (g/100 g cheese)	B1: 51.2 ± 0.45 ^a B2: 52.0 ± 0.65 ^b B3: 51.8 ± 0.68 ^b	C: 51.7 ± 1.04 D1: 51.6 ± 0.47 D2: 51.7 ± 0.50 D3: 51.7 ± 0.55	B: 12.3*** D: ns BxD: 4.7***
Fat/ TS (g/100 g TS)	B1: 47.7 ± 0.74 ^a B2: 49.3 ± 1.37 ^b B3: 48.1 ± 0.94 ^b	C: 48.0 ± 0.93 D1: 48.8 ± 1.27 D2: 48.6 ± 1.48 D3: 48.1 ± 1.03	B: 14.8*** D: ns BxD: ns
NaCL (g/100 g cheese)	B1: 1.59 ± 0.18 ^a B2: 1.36 ± 0.09 ^b B3: 1.33 ± 0.11 ^b	C: 1.52 ± 0.12 ^a D1: 1.34 ± 0.11 ^b D2: 1.34 ± 0.09 ^b D3: 1.51 ± 0.24 ^a	B: 92.7*** D: 35.6*** BxD: 12.1***
Lactose (g/100 g cheese)	B1: < 0.01 B2: < 0.01 B3: < 0.01	C: 0.06 ± 0.02 D1: < 0.01 D2: < 0.01 D3: < 0.01	B: - D: - BxD: -

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's multiple range test, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ¹ Batch means include the values for the control cheeses. ² Lactase dose (g/L milk): C = control; D1 = 0.25; D2 = 0.50; D3 = 0.75.

Tables 3, 4 and 5 show mean values, standard deviation, and analysis of variance (batch x doses) of Murciano-Granadina soft cheese (control) and the lactose-free soft cheese's sensory attributes.

Table 3. Mean values, standard deviation, and analysis of variance (batch x doses) of lactose-free Murciano-Granadina soft cheese's odour attributes.

Attribute	¹ Batch (B)	² Doses (D)	F
Overall odour intensity	B1: 6.7 ± 0.8 ^a B2: 5.8 ± 0.7 ^b B3: 6.3 ± 0.8 ^c	C: 6.1 ± 0.9 D1: 6.2 ± 1.0 D2: 6.4 ± 0.8 D3: 6.3 ± 0.7	B: 40.5 ^{***} D: 4.70 ^{**} BxD: 34.50 ^{***}
Butter odour	B1: 4.5 ± 1.0 ^a B2: 4.5 ± 1.2 ^a B3: 3.4 ± 0.7 ^b	C: 4.6 ± 0.5 D1: 4.0 ± 1.3 D2: 4.2 ± 1.4 D3: 4.0 ± 1.1	B: 14.3 ^{***} D: ns BxD: ns
Yoghurt odour	B1: 6.3 ± 0.7 ^a B2: 5.0 ± 0.9 ^b B3: 5.4 ± 1.3 ^b	C: 5.3 ± 1.0 D1: 5.7 ± 1.1 D2: 5.5 ± 1.3 D3: 5.7 ± 0.9	B: 32.9 ^{***} D: 4.28 ^{**} BxD: 6.73 ^{***}
Vegetal odour	B1: 3.4 ± 0.6 ^a B2: 3.9 ± 0.6 ^b B3: 3.4 ± 0.6 ^a	C: 3.6 ± 0.6 D1: 3.8 ± 0.7 D2: 3.4 ± 0.7 D3: 3.5 ± 0.6	B: 10.8 ^{***} D: 3.13 [*] BxD: 5.89 ^{***}
Heated milk odour	B1: 3.6 ± 3.2 ^a B2: 2.9 ± 2.9 ^b B3: 2.0 ± 2.0 ^c	C: - D1: - D2: 5.8 ± 1.2 ^a D3: 5.2 ± 1.1 ^b	B: 73.7 ^{***} D: 1539.2 ^{***} BxD: 33.1 ^{***}
Cake odour	B1: 4.4 ± 3.1 ^a B2: 3.3 ± 2.1 ^b B3: 3.2 ± 2.0 ^b	C: 5.6 ± 1.3 ^a D1: 4.6 ± 1.2 ^b D2: 4.7 ± 1.3 ^b D3: -	B: 38.3 ^{***} D: 294.1 ^{***} BxD: 7.43 ^{***}
Toffee odour	B1: 1.2 ± 2.0 ^a B2: 1.7 ± 3.0 ^b B3: 1.5 ± 2.6 ^b	C: - D1: - D2: - D3: 5.7 ± 1.4	B: 27.6 ^{***} D: 1457.6 ^{***} BxD: 30.5 ^{***}

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's multiple range test, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ¹ Batch means include the values for the control cheeses. ² Lactase dose (g/L milk): C = control; D1 = 0.25 D2 = 0.50; D3 = 0.75.

Table 4. Mean values, standard deviation, and analysis of variance (batch x doses) of lactose-free Murciano-Granadina soft cheese's flavour attributes.

Attribute	¹ Batch (B)	² Doses (D)	F
Overall aroma intensity	B1: 7.1 ± 0.4 ^a B2: 6.3 ± 0.7 ^b B3: 6.5 ± 0.6 ^b	C: 6.5 ± 0.6 D1: 6.6 ± 0.6 D2: 6.5 ± 0.8 D3: 6.7 ± 0.5	B: 26.9*** D: ns BxD: 4.65***
Yoghurt aroma	B1: 6.7 ± 0.6 ^a B2: 5.0 ± 0.6 ^b B3: 6.1 ± 0.8 ^c	C: 6.0 ± 0.9 ^a D1: 5.9 ± 1.1 ^a D2: 6.1 ± 1.0 ^a D3: 5.4 ± 0.9 ^b	B: 91.0*** D: 7.46*** BxD: ns
Nut aroma	B1: 1.9 ± 2.3 ^a B2: 2.6 ± 2.7 ^b B3: 1.9 ± 2.0 ^a	C: 4.8 ± 0.9 D1: 4.4 ± 0.6 D2: - D3: -	B: 38.7*** D: 1654.5*** BxD: 19.6***
Cake aroma	B1: 3.9 ± 2.6 B2: 3.7 ± 2.2 B3: 3.6 ± 2.1	C: 5.3 ± 0.8 D1: 5.0 ± 0.7 D2: 4.9 ± 0.7 D3: -	B: 5.07** D: 531.3*** BxD: ns
Goat aroma	B1: 4.0 ± 0.5 B2: 4.1 ± 0.6 B3: 3.9 ± 0.8	C: 3.7 ± 0.7 ^a D1: 4.1 ± 0.3 ^b D2: 3.7 ± 0.6 ^a D3: 4.5 ± 0.5 ^c	B: ns D: 23.4*** BxD: 3.90*
Vomit aroma	B1: 4.9 ± 1.1 ^a B2: 5.6 ± 0.9 ^b B3: 6.2 ± 0.6 ^c	C: 4.6 ± 1.0 ^a D1: 5.4 ± 1.2 ^b D2: 5.8 ± 0.7 ^c D3: 6.3 ± 0.5 ^d	B: 81.7*** D: 63.8*** BxD: 26.3***
Sweet taste	B1: 2.2 ± 1.9 ^a B2: 2.1 ± 2.2 ^a B3: 1.7 ± 1.7 ^b	C: - D1: - D2: 3.8 ± 0.6 D3: 3.9 ± 0.5	B: 27.3*** D: 1379.8*** BxD: 15.5***
Acid taste	B1: 5.8 ± 1.0 B2: 5.4 ± 0.7 B3: 5.7 ± 0.7	C: 6.3 ± 0.6 ^a D1: 5.4 ± 0.7 ^b D2: 5.0 ± 1.0 ^{bc} D3: 5.7 ± 0.4 ^{bd}	B: ns D: 8.35*** BxD: ns
Salty taste	B1: 6.9 ± 1.0 ^a B2: 5.2 ± 1.1 ^b B3: 5.2 ± 0.9 ^b	C: 6.4 ± 1.2 ^a D1: 5.3 ± 0.9 ^b D2: 5.0 ± 1.2 ^b D3: 6.3 ± 1.3 ^a	B: 65.3*** D: 28.6*** BxD: 11.1***
Bitter taste	B1: 6.0 ± 0.7 ^a B2: 5.8 ± 0.7 ^b B3: 5.5 ± 0.4 ^b	C: 5.5 ± 0.6 ^a D1: 5.5 ± 0.5 ^a D2: 6.0 ± 0.7 ^b D3: 6.1 ± 0.6 ^b	B: 8.26*** D: 9.61*** BxD: 5.53***
Astringent	B1: 5.9 ± 1.2 ^a B2: 4.4 ± 1.4 ^b B3: 4.2 ± 0.9 ^b	C: 4.4 ± 1.5 ^a D1: 5.1 ± 0.7 ^b D2: 4.7 ± 1.1 ^{ab} D3: 5.4 ± 1.1 ^b	B: 34.2*** D: 8.06*** BxD: 11.5***
Persistence	B1: 6.6 ± 0.9 ^a B2: 6.1 ± 0.8 ^b B3: 5.5 ± 0.8 ^c	C: 5.8 ± 1.1 ^a D1: 6.3 ± 0.8 ^a D2: 6.0 ± 1.0 ^{ac} D3: 6.5 ± 0.8 ^{bd}	B: 21.2*** D: 6.62** BxD: 5.32***

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's multiple range test, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ¹ Batch means include the values for the control cheeses. ² Lactase dose (g/L milk): C = control; D1 = 0.25 D2 = 0.50; D3 = 0.75.

Table 5. Mean values, standard deviation, and analysis of variance (batch x doses) of lactose-free Murciano-Granadina soft cheese's texture attributes

Attribute	¹ Batch (B)	² Doses (D)	F
Spreadability	B1: 6.3 ± 1.8 ^a B2: 6.8 ± 0.9 ^b B3: 6.6 ± 0.8 ^b	C: 5.1 ± 1.3 ^a D1: 6.7 ± 0.8 ^b D2: 7.4 ± 0.4 ^c D3: 7.2 ± 0.7 ^c	B: 8.22 ^{***} D: 153.6 ^{***} BxD: 45.9 ^{***}
Humidity	B1: 6.9 ± 0.8 ^a B2: 6.4 ± 1.1 ^b B3: 6.6 ± 0.8 ^b	C: 6.1 ± 0.6 ^a D1: 6.2 ± 1.2 ^a D2: 7.3 ± 0.7 ^b D3: 7.0 ± 0.6 ^b	B: 10.4 ^{***} D: 28.2 ^{***} BxD: 19.4 ^{***}
Solubility	B1: 7.2 ± 0.9 ^a B2: 7.0 ± 0.7 ^a B3: 6.7 ± 0.8 ^b	C: 6.5 ± 0.9 ^a D1: 6.8 ± 0.8 ^a D2: 7.5 ± 0.5 ^b D3: 7.1 ± 0.6 ^b	B: 7.05 [*] D: 15.1 ^{***} BxD: 8.18 ^{***}
Creamy	B1: 5.1 ± 0.6 ^a B2: 4.8 ± 0.6 ^b B3: 4.7 ± 0.4 ^b	C: 4.8 ± 0.8 ^a D1: 5.3 ± 0.3 ^b D2: 4.8 ± 0.4 ^a D3: 4.7 ± 0.4 ^a	B: 14.1 ^{***} D: 11.6 ^{***} BxD: 12.9 ^{***}

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's multiple range test, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ¹ Batch means include the values for the control cheeses. ² Lactase dose (g/L milk): C = control; D1 = 0.25 D2 = 0.50; D3 = 0.75

The ANOVA analyses results (Tables 3 and 4) showed that the effect of the lactase dose was more significant than the variability of the milk itself (batch) in heated milk odour, toffee odour and cake odour/aroma and a sweet basic taste, while the characteristic yoghurt odour/aroma of cheeses made with Murciano-Granadina breed milk was associated with the milk's composition (López Ruiz et al., 2023). Cheeses made with the lowest dose of lactase (0.25 g/L) presented a similar flavour profile to that of the control cheeses, whereas those with the highest lactase doses (0.50 and 0.75 g/L) displayed toasty olfactory notes that are characteristic of lactose-free cheeses due to the Maillard browning reactions (Adhikari et al., 2010; Chapman et al., 2001; López Ruiz et al., 2023). Furthermore, the cheeses with the highest doses had a more bitter taste than the control cheese, and the cheese with the lowest dose, due to a greater proteolytic activity, released bitter-tasting peptides responsible for their bitter taste (Cincotta et al., 2021; Nielsen et al., 2017; Shakeel-Ur-Rehman et al., 2004).

With respect to the texture profile (Table 5), the ANOVA analysis demonstrated that all the attributes were more affected by the lactase dose than by the starting milk, except for “creamy”, with all the cheeses presenting a humid, soluble, creamy, and spreadable texture. It was also observed that the cheeses with the highest doses of lactase exhibited a moister, more soluble, and easier to spread texture than the control cheese.

4. CONCLUSIONS

The results showed that it was possible to make a soft goat’s milk cheese using plant coagulant and a mixture of starter and ripening cultures similar to Extremadura-Spain and Alentejo-Portugal ones. In addition, the results obtained revealed the feasibility of obtaining a lactose-free product at an artisanal level by optimizing the dose of lactase added to the starting milk to obtain a lactose-free cheese with a similar sensory profile to the control ones. This work could serve as a basis for producing cheeses adapted to the new needs of consumers with milk from other species or cheese making procedures.

ACKNOWLEDGEMENT

We express our gratitude to the GrupoSens panel members, University of Cordoba (Spain), for their voluntary participation.

FUNDING

The PhD research of A.L.R. was funded by the Government of Andalusia (Spain) (FEDER, PP.TRA.TRA2019.008 and PP.TRA23.TRA2023.016) and the University of Córdoba-Spain (Sensory Studies Laboratory-GrupoSens, AGR-020).

REFERENCES

Adhikari, K., Dooley, L. M., Chambers, E., & Bhumiratana, N. (2010). Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in the United States. *LWT -Food Science and Technology*, 43(1), Article 1. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.017>

- AESAN. (2020). Conditions of use of the mentions “lactose-free” and “low lactose” content in Spain. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/interpretaciones/nutricionales/sin_lactosa.pdf. Accessed October 1, 2022.
- AOAC. (1999). *Official Methods of Analysis*, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA. <https://www.aoac.org/>
- Bathmanath, R., Yahya, Y. A. C., Yusoff, M. M., & Vejayan, J. (2019). Utilizing Coagulant Plants in the Development of Functional Dairy Foods and Beverages: A Mini Review. *Journal of Biological Sciences*, 19(3), Article 3. <https://doi.org/10.3923/jbs.2019.259.271>
- Ben Amira, A., Besbes, S., Attia, H., & Blecker, C. (2017). Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S76-S93. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1289959>
- Blasco, E., Gomez, E. A., Vicente, C., Vidal, G., & Peris, C. (2016). Factors affecting milking speed in Murciano-Granadina breed goats. *Journal of Dairy Science*, 99(12), Article 12. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10869>
- Chapman, K. W., Lawless, H. T., & Boor, K. J. (2001). Quantitative Descriptive Analysis and Principal Component Analysis for Sensory Characterization of Ultrapasteurized Milk. *Journal of Dairy Science*, 84(1), Article 1. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74446-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74446-3)
- Cincotta, F., Condurso, C., Tripodi, G., Merlino, M., Prestia, O., Stanton, C., & Verzera, A. (2021). Comparison of lactose free and traditional mozzarella cheese during shelf-life by aroma compounds and sensory analysis. *LWT*, 140, 110845. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110845>
- de la Haba Ruiz, M. A., Ruiz Pérez-Cacho, P., Dios Palomares, R., & Galán-Soldevilla, H. (2016). Classification of artisanal Andalusian cheeses on physicochemical parameters applying multivariate statistical techniques. *Dairy Science & Technology*, 96(1), Article 1. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0242-5>

- Dekker, P., Koenders, D., & Bruins, M. (2019). Lactose-Free Dairy Products: Market Developments, Production, Nutrition and Health Benefits. *Nutrients*, 11(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/nu11030551>
- Delgado, F., Rodríguez-Pinilla, J., González-Crespo, J., Rosario, R., & Roa, I. (2010). Proteolysis and texture changes of a Spanish soft cheese ('Torta del Casar') manufactured with raw ewe milk and vegetable rennet during ripening. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(3), 512-519. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02157.x>
- Delgado-Martínez, F. J., Carrapiso, A. I., Contador, R., & Ramírez, M. R. (2019). Volatile compounds and sensory changes after high pressure processing of mature "Torta del Casar" (raw ewe's milk cheese) during refrigerated storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.11.004>
- Facioni, M. S., Dominici, S., Marescotti, F., Covucci, R., Taglieri, I., Venturi, F., & Zinnai, A. (2021). Lactose Residual Content in PDO Cheeses: Novel Inclusions for Consumers with Lactose Intolerance. *Foods*, 10(9), 2236. <https://doi.org/10.3390/foods10092236>
- Fernández-Salguero, J., & Sanjuán, E. (1999). Influence of vegetable and animal rennet on proteolysis during ripening in ewes' milk cheese. *Food Chemistry*, 64, 177-183. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00149-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00149-6)
- Fresno, M., Argüello, A., Torres, A., Castro, N., Álvarez, S., & Sepe, L. (2023). Invited review. Milk clotting enzymes: A transcendental decision in goat's milk cheese quality. *Small Ruminant Research*, 229, 107147. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.107147>
- Galán, E., Cabezas, L., & Fernández-Salguero, J. (2012). Proteolysis, microbiology and sensory properties of ewes' milk cheese produced with plant coagulant from cardoon *Cynara cardunculus*, calf rennet or a mixture thereof. *International Dairy Journal*, 25(2), Article 2. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.02.001>
- García, V., Rovira, S., Boutoial, K., Ferrandini, E., & López, M. B. (2016). Physicochemical, microbiological, textural and sensory changes during the

- ripening of pasteurised goat milk cheese made with plant coagulant (*Cynara scolymus*). *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), Article 1. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12225>
- Gomes, S., Belo, A. T., Alvarenga, N., Dias, J., Lage, P., Pinheiro, C., Pinto-Cruz, C., Brás, T., Duarte, M. F., & Martins, A. P. L. (2019). Characterization of *Cynara cardunculus* L. flower from Alentejo as a coagulant agent for cheesemaking. *International Dairy Journal*, 91, 178-184. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.09.010>
- Guzmán, J. L., Delgado Pertíñez, M., Galán Soldevilla, H., Ruiz Pérez-Cacho, P., Polvillo Polo, O., Zarazaga, L. Á., & Avilés Ramírez, C. (2020). Effect of Citrus By-product on Physicochemical Parameters, Sensory Analysis and Volatile Composition of Different Kinds of Cheese from Raw Goat Milk. *Foods*, 9(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/foods9101420>
- ISO 3433/IDF 222 (2008). Cheese. Determination of Fat Content. Van Gulik Method. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland.
- ISO 8589 (2007). Sensory Analysis. General Guidance for the design of the test rooms. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland.
- ISO 13299 (2016). Sensory Analysis. Methodology. General Guidance for Establishing a Sensory Profile. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland.
- ISO 22935-2/IDF 99-2 (2009). Milk and Milk Products. Sensory Analysis. Part 2: Recommended Methods for Sensory Evaluation. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland.
- López Ruiz, Á. L., Ruiz Morales, F. d. A., Ruiz Pérez-Cacho, P., & Galán Soldevilla, H. (2023). Effect of Lactose-Reduction in Murciano-Granadina Semi-Hard Goat Cheese on Physicochemical and Sensory Characteristics. *Foods*, 12(5), 996. <https://doi.org/10.3390/foods12050996>
- Martín, I., Rodríguez, A., García, C., & Córdoba, J. J. (2022). Evolution of Volatile Compounds during Ripening and Final Sensory Changes of Traditional Raw

Ewe's Milk Cheese "Torta del Casar" Maturated with Selected Protective Lactic Acid Bacteria. *Foods*, 11(17), 2658. <https://doi.org/10.3390/foods11172658>

McSweeney, P. L. H. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 127-144. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00147.x>

Natrella, G., Gambacorta, G., & Faccia, M. (2023). An attempt at producing a "lactose-free" directly acidified mozzarella (high moisture type) by curd washing and pressing: A chemical and sensory study. *International Dairy Journal*, 136, 105499. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105499>

Nielsen, S. D., Jansson, T., Le, T. T., Jensen, S., Eggers, N., Rauh, V., Sundekilde, U. K., Sørensen, J., Andersen, H. J., Bertram, H. C., & Larsen, L. B. (2017). Correlation between sensory properties and peptides derived from hydrolysed-lactose UHT milk during storage. *International Dairy Journal*, 68, 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.12.013>

Ordiales, E., Martín, A., Benito, M. J., Fernández, M., Casquete, R., & De Guía Córdoba, M. (2014). Influence of the technological properties of vegetable rennet (*Cynara cardunculus*) on the physicochemical, sensory and rheological characteristics of 'Torta del Casar' cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 67(3), 402-409. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12129>

Ordiales, E., Martín, A., Benito, M. J., Hernández, A., Ruiz-Moyano, S., & Córdoba, M. D. G. (2013). Role of the microbial population on the flavor of the soft-bodied cheese Torta del Casar. *Journal of Dairy Science*, 96(9), 5477-5486. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6587>

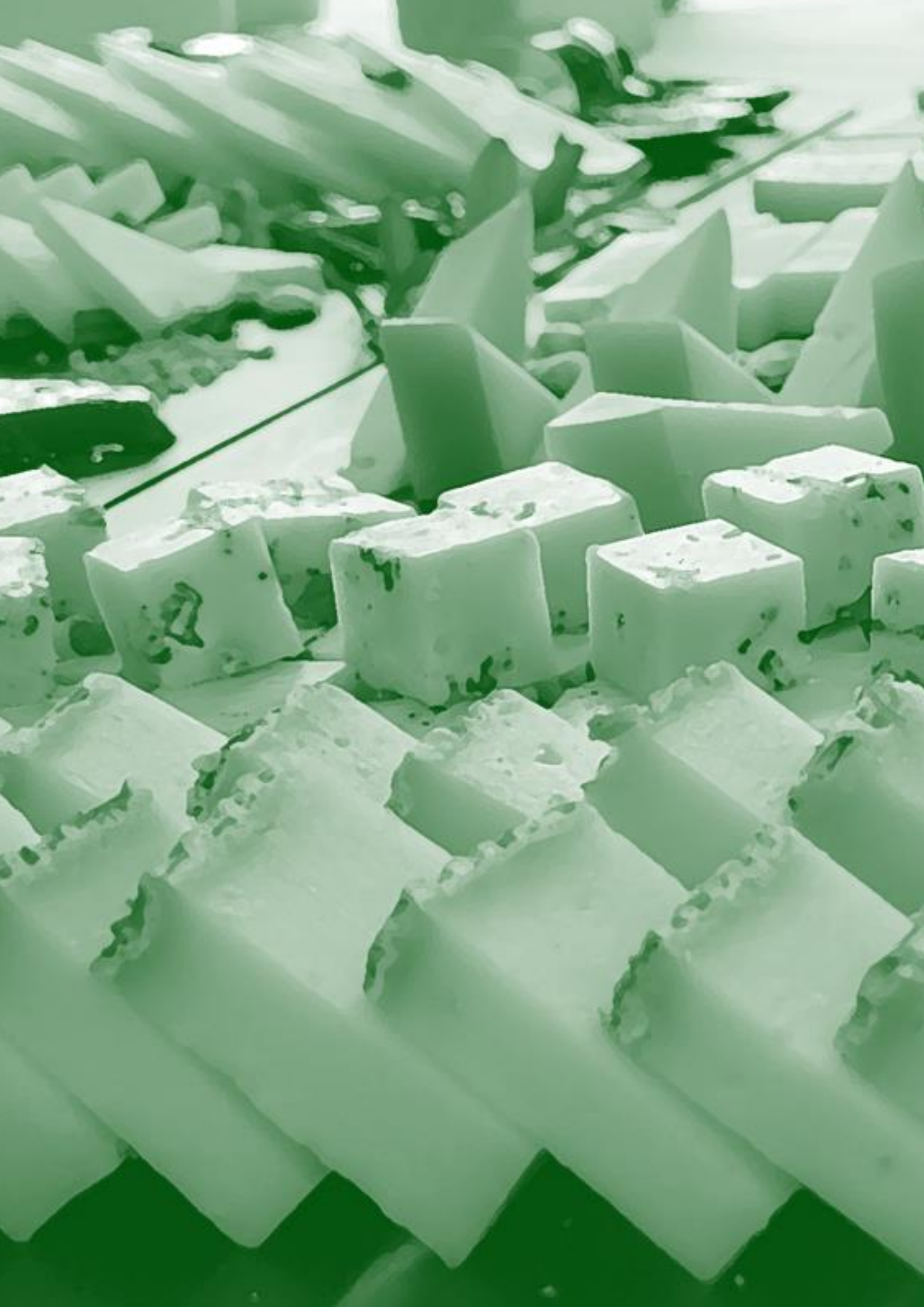
Padilla, B., Belloch, C., López-Díez, J. J., Flores, M., & Manzanares, P. (2014). Potential impact of dairy yeasts on the typical flavour of traditional ewes' and goats' cheeses. *International Dairy Journal*, 35(2), Article 2. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.11.002>

Ruiz Pérez-Cacho, P., Haba Ruiz, M. A., Dios-Palomares, R., & Galán-Soldevilla, H. (2019). Linear regression models for estimating the effect of technological factors on the sensory characteristics of goat cheeses. *International Journal of*

Food Science & Technology, 54(7), 2396-2407.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.14151>

Shakeel-Ur-Rehman, Waldron, D., & Fox, P. F. (2004). Effect of modifying lactose concentration in cheese curd on proteolysis and in quality of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 14(7), Article 7.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.11.008>

Tejada, L., Abellán, A., Cayuela, J. M., & Martínez-Cacha, A. (2006). Sensorial characteristics during ripening of the Murcia al vino goat's milk cheese: The effect of the type of coagulant used and the size of the cheese. *Journal of Sensory Studies*, 21(3), 333-347. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2006.00069.x>





DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

Los productos sin lactosa representan el segmento de más rápido crecimiento de las industrias lácteas y no sólo por razones clínicas sino también por su rentabilidad y expansión en el mercado como productos innovadores. En la actualidad, los productos sin lactosa comercializados tienen una escasa calidad sensorial y además son pocos los estudios científicos que abordan esta problemática (Dekker et al., 2019; Natrella et al., 2023). La presente tesis doctoral contribuye a un mejor conocimiento sobre el efecto que tiene la reducción de lactosa en la leche, por hidrólisis enzimática, sobre la calidad sensorial de los quesos de cabra. Los resultados obtenidos demuestran que la optimización de las dosis de lactasa permite obtener quesos sin lactosa con un perfil sensorial similar al de los quesos control. Esta investigación sirve de base para elaborar otros tipos de quesos, ya sean deslactosados o con lactosa reducida, similares a los tradicionales, con leche de otras especies, razas y/o métodos tecnológicos. Esta Tesis se articula en tres capítulos: en el Capítulo I se analiza el nivel de innovación de las queserías andaluzas y la demanda de quesos de los consumidores andaluces; en el Capítulo II se aborda el efecto de la reducción de lactosa sobre las características fisicoquímicas y sensoriales del queso de cabra tradicional andaluz y en el Capítulo III se estudia la reducción de lactosa sobre la composición y el perfil sensorial de quesos de cabra de pasta blanda elaborados con coagulante vegetal (*Cynara cardunculus* L.).

Como investigación previa al estudio de quesos funcionales sin lactosa se evaluó el grado de innovación de las queserías artesanas andaluzas y la demanda de quesos por parte de los consumidores andaluces, utilizando el método de la prospección (Capítulo I). En este trabajo se analizaron 80 queserías representativas de la totalidad del sector quesero artesano andaluz (que consta de 124 industrias) con la ayuda de un cuestionario previamente establecido. El cuestionario utilizado incluyó 22 variables divididas en 4 apartados diferentes: características sociodemográficas, variables relacionadas con el proceso tecnológico, variables relacionadas con la promoción y comercialización de sus productos y variables relacionadas con el nivel de innovación de los productos ofertados. Por otro lado, se realizó un estudio sobre una población de 1.529 consumidores habituales de queso, de ambos sexos y diferentes edades, procedentes de distintas zonas de Andalucía. Los consumidores fueron entrevistados siguiendo un cuestionario de 23 variables

estructurado en 3 partes: en la primera se estudian sus características sociodemográficas; en la segunda se examinan variables relacionadas con la intención de compra y los hábitos de consumo y en la tercera se evalúa el grado de conocimiento que tienen de otras tipologías de queso (brie, rulo de cabra, queso azul, queso bajo en grasa o en lactosa, etc.) diferentes a los quesos artesanos andaluces.

A partir de los datos recopilados de los queseros y de los datos extraídos de los consumidores, se seleccionaron 6 variables de innovación dirigidas y una de innovación global para evaluar el grado de innovación de las queserías y las demandas de nuevos productos por parte de los consumidores andaluces: i) INNV1 - Quesos funcionales (Quesos sin lactosa, light, bajo contenido en sal y sin gluten); ii) INNV2 – Quesos aromatizados en corteza o pasta (aceite de oliva, hierbas aromáticas-especias, bebida alcohólica en corteza, manteca de cerdo y salvado de trigo; iii) INNV3 – Quesos elaborados con nuevas tecnologías (láctica, moho en corteza, azul y coagulante vegetal); iv) INNV4 – Quesos con diferentes formatos y presentaciones (crema de queso fundido, pate de queso, queso rallado, pirámides, dados, rulo quesos grandes, medallones y bombones de queso, surtido y tablas); v) INNV5 – Queso con distintivos de calidad (Calidad Andalucía, Raza 100% autóctona, Ecológico, Parque Natural); vi) INNV6 - Productos distintos al queso (postres, yogur de vaca, yogur de oveja, yogur de cabra, kéfir, cuajada de cabra, cuajada de oveja, requesón, leche de cabra, leche de oveja y otros productos lácteos) y una variable global de agrupación de las seis variables de innovación definidas (INNV-Total).

Tras realizar un análisis clúster de productores y de consumidores, se obtuvieron en ambos 5 agrupaciones o clústeres. Respecto a las queserías, los resultados mostraron el bajo nivel de innovación que tienen (0,5 del total de 1 para la variable innovación global) siendo las innovaciones principales las de “Quesos aromatizados” y las de “Quesos de nuevas tecnologías”. Respecto a la innovación “Quesos funcionales”, sólo un grupo formado por una única quesería está trabajando en este ámbito de forma habitual (0,6 del total de 1). El análisis de clúster con los datos de los consumidores mostró una baja demanda de nuevos productos en todas las variables analizadas excepto en la variable “Quesos de nuevas tecnologías” (0,64-0,73). Para la innovación de “Quesos funcionales” los valores obtenidos se encuentran entre 0,17 y 0,20, quedando por encima de la obtenida para esta variable por las queserías. Del análisis conjunto de los resultados de las queserías y los consumidores andaluces se observa como la demanda del consumidor no está

siendo cubierta por las queserías, por lo que se hace necesario crear conocimiento para ser transferido al sector quesero andaluz. En esta Tesis doctoral se ha considerado de interés estudiar los quesos funcionales sin lactosa.

La estructura y las características de las queserías andaluzas han sido analizadas en diversos estudios (de la Haba Ruiz et al., 2016; Rey Gómez & Ares Cea, 2005; Ruiz Morales, 2012). Se distinguen por su carácter familiar, abastecimiento de leche de su propia ganadería o de ganaderos locales y elaboración mayoritaria de quesos puros de cabra de razas autóctonas. La leche empleada suele ser pasteurizada, dando lugar a una variedad de quesos frescos y curados. En su proceso de elaboración, se utiliza principalmente cuajo animal, y la comercialización se limita al ámbito local, aprovechando canales tradicionales de venta. Sin embargo, la tradición se ha visto acompañada, en los últimos años, de un impulso hacia la innovación y la diversificación. Diversos factores han contribuido a este cambio, entre ellos los nuevos patrones de consumo y la formación de los queseros andaluces en tecnologías innovadoras que faciliten la elaboración de nuevos productos (Ruiz Morales, 2021).

Sin embargo, en el caso de los productos tradicionales, surge una aparente dicotomía entre innovación y tradición (Guiné et al., 2020; Martin et al., 2023). Lejos de ser excluyentes, la innovación y la tradición pueden coexistir armoniosamente. La innovación no implica renunciar a la tradición, sino aprovecharla como base para desarrollar productos y servicios que respondan a las necesidades actuales sin perder la esencia tradicional (Kühne et al., 2010). Los consumidores de quesos tradicionales aceptan y están dispuestos a pagar más por las innovaciones que conserven el carácter auténtico de estas producciones y no modifiquen sus propiedades sensoriales (Guiné et al., 2020; Martin et al., 2024b).

El análisis sensorial se ha convertido en una herramienta fundamental para la industria agroalimentaria. La evaluación de los alimentos a través de los sentidos es esencial para garantizar la calidad y el desarrollo de nuevos productos, así como para optimizar procesos y equipos. El criterio fundamental en el que se basa el consumidor al comprar productos es en su calidad sensorial. Por tanto, el control de estas características es de una gran importancia tanto desde un punto de vista tecnológico como económico ya que condiciona el éxito o el fracaso en el mercado (Carbonell-Barrachina, 2007; Sharif et al., 2017; Świąder & Marczewska, 2021).

A raíz de los resultados obtenidos en el primer estudio de esta tesis doctoral, se planteó obtener el queso de cabra tradicional andaluz sin lactosa con un perfil sensorial similar al del queso tradicional (Capítulo II). El queso de cabra tradicional andaluz es un queso artesanal que se elabora con leche cruda o pasteurizada, de pasta prensada, coagulación enzimática generalmente con cuajo animal, con distintos grados de maduración (tierno, semicurado, curado, viejo y añejo) y con corteza natural o recubrimientos tradicionales (aceite de oliva, especias, hierbas aromáticas, vino, salvado de trigo o manteca de cerdo). Andalucía dispone de un importante patrimonio quesero con diversos quesos tradicionales asociados al territorio, muy valorados por los consumidores (de la Haba Ruiz, 2017). Esta región cuenta con una gran variedad de razas caprinas autóctonas (Malagueña, Murciano-Granadina, Florida y Payoya) bien adaptadas al territorio que aún perduran debido al modelo de producción sostenible (Castel et al., 2011). En la provincia de Córdoba, la raza caprina más extendida es la Murciano-Granadina.

La mayoría de la población adulta en el mundo es intolerante a la lactosa (70%), existiendo una gran variabilidad dependiendo de la zona geográfica. En países africanos, asiáticos y sudamericanos la prevalencia de intolerancia a la lactosa en adultos oscila entre el 50% y el 90%, en contraste con las tasas del 5% al 15% en países europeos y norteamericanos (Storhaug et al., 2017). La intolerancia a la lactosa se presenta en aquellas personas que no disponen de suficiente lactasa en su organismo para hidrolizar la lactosa. En consecuencia, la lactosa dietética no digerida ingresa al intestino grueso, donde actúa como un sustrato fermentable para la microflora del colon y causa diarrea osmótica y otros síntomas (Suchy, 2010).

En los últimos años, la atención se ha centrado en la leche sin lactosa o baja en lactosa (Chapman et al., 2001; Nielsen et al., 2017), mientras que otros productos lácteos como el queso han sido poco estudiados (Cincotta et al., 2021; Pulinas et al., 2017; Shakeel-Ur-Rehman et al., 2004). De hecho, hasta la fecha no existen trabajos sobre quesos de cabra sin lactosa o bajos en lactosa. El perfil sensorial de los productos lácteos sin lactosa se distingue por un sabor dulce y amargo intenso y aromas característicos asociados a las reacciones de Maillard (Cincotta et al., 2021; Jansson et al., 2014; Troise et al., 2016). Para que los productos sin lactosa sean atractivos para un número considerable de consumidores es importante que estos tengan una calidad sensorial adecuada.

La lactosa se puede eliminar de los productos lácteos hidrolizándola en la leche mediante la enzima β galactosidasa o con la previa ultrafiltración de la leche, seguida de la acción de la enzima lactasa (Pulinas et al, 2017; Deckker et al., 2019). En este estudio (Capítulo II) se utilizó la hidrólisis enzimática para eliminar la lactosa de la leche. Para ello, se investigó la dosis de lactasa necesaria para conseguir una cantidad de lactosa residual en la leche suficiente para desarrollar los aromas del queso, durante los procesos de fermentación y maduración, pero quedando en el producto final un valor de lactosa por debajo del permitido en la legislación (<0,01%; AESAN, 2020). Se partió de leche cruda con un contenido inicial en lactosa de 4,75 g/ 100 ml leche y tras la adición de diferentes dosis de lactasa (0,25, 0,5, 1 y 2 g/l leche) e incubación durante 1 h, ésta se redujo en la leche a 2,31, 1,26, 0,33 y 0,05 g/100 ml y en los quesos elaborados con esta leche y sin cultivos iniciadores a 0,47, 0,08, 0,02 y 0,01 g /100 g en el queso, respectivamente. El queso control mantenía una cantidad residual de lactosa de 2,37 g/100 g queso. Como era de esperar, la concentración de lactosa disminuyó a medida que aumentaba la concentración de lactasa en la leche de partida. La adición de lactasa a una concentración de 0,25 g/l redujo la concentración de lactosa en la leche en un 50% mientras que se necesitó una concentración de lactasa de 2,0 g/L para reducir la concentración de lactosa por debajo de 0,01 en el queso. Por tanto, se descartó la dosis más alta de lactosa en la leche (2 g /100g de leche) por considerar que queda poca lactosa disponible (0,05 g/100 ml leche) para que los fermentos actúen durante la maduración del queso y se eligió una dosis más baja que las ensayadas (0,125 g/100g de leche) por pensar que la cantidad de lactosa residual en la leche sería suficiente para obtener un queso deslactosado. Finalmente, para este estudio se seleccionaron las dosis de lactasa 0,125, 0,25, 0,50 y 1,0 g/l leche. Con las dosis de lactasa seleccionadas se elaboraron 4 lotes de queso semicurado a partir de leche pasteurizada de Murciano-Granadina deslactosada y un queso control utilizando bacterias lácticas comerciales como cultivo iniciador en tres momentos del año diferentes.

Los resultados obtenidos del análisis físico-químico mostraron que todos los parámetros analizados se encontraron dentro del rango publicado por otros autores para los quesos de cabra Murciano-Granadina (De la Haba et al., 2016). Los análisis de varianza (lote x dosis lactasa) aplicados para los parámetros de composición del queso indican que los contenidos en materia seca, grasa y cloruro sódico estaban más afectados por la composición de la leche de partida (lote) que por la dosis de lactasa añadida mientras que el grado de deslactosado (dosis lactasa) influía más en

el pH. Respecto al contenido en lactosa todos los quesos, excepto el control, presentaron valores inferiores a los permitidos por la legislación vigente independientemente de la dosis de lactasa utilizada. Con relación al análisis sensorial, los análisis de varianza (lote x dosis lactasa) indican que el efecto de la dosis de lactasa era más importante que la composición de la leche de partida en todos los atributos del flavor analizados excepto en la nota olfativa a yogur, característica de la raza caprina Murciano-Granadina (Ruiz Pérez-Cacho et al., 2019). Los quesos elaborados con la dosis menor de lactasa (0,125 g/l leche) mostraron un perfil sensorial similar al de los quesos control, definido por sus notas olfativas a yogur, mantequilla y bizcocho, sabor básico ácido y salado y una textura blanda, tierna y cremosa. Los quesos con las mayores dosis de lactasa tenían una mayor intensidad de olor/aroma a mantequilla, olor/aroma a bizcocho, sabor dulce y sabor amargo, presentando también un retrogusto químico y metálico. Algunos investigadores sugieren que los productos lácteos sin lactosa tienen alta probabilidad de sufrir reacciones de Maillard debido a la mayor cantidad de azúcares reductores y de aminoácidos libres que tienen en comparación con los productos con lactosa no hidrolizada. Estos mismos autores observaron también que el grado de proteólisis era significativamente mayor en los deslactosados en comparación con los lácteos convencionales, liberando péptidos responsables de su sabor amargo (Jansson et al., 2014; Troise et al., 2015; Nielsen et al., 2017; Cincotta et al., 2021). De la misma manera, otros autores han observado el efecto que tiene la hidrólisis de la lactosa sobre los sabores dulces y amargos de los quesos, aumentando su intensidad en los deslactosados respecto a los convencionales, tanto en el queso cheddar (Shakeel-Ur-Rehman et al., 2004) como en el mozzarella (Cincotta et al., 2021). Respecto a los atributos de textura analizados, el análisis de varianza realizado mostró que los quesos elaborados con las mayores dosis de lactasa fueron también más elásticos, blandos, tiernos, húmedos, solubles y cremosos que el queso control debido a su menor acidificación. Otros autores también observaron diferencias en la textura entre quesos convencionales y quesos sin lactosa o con lactosa reducida. Así, Shakeel-Ur-Rehman et al. (2004) describieron una textura más blanda en el queso cheddar reducido en lactosa que en el control y Cincotta et al. (2021) encontraron una textura más húmeda y elástica en el queso mozzarella sin lactosa que en el tradicional.

En la Figura 3 se presenta el perfil sensorial de los quesos control y deslactosados.

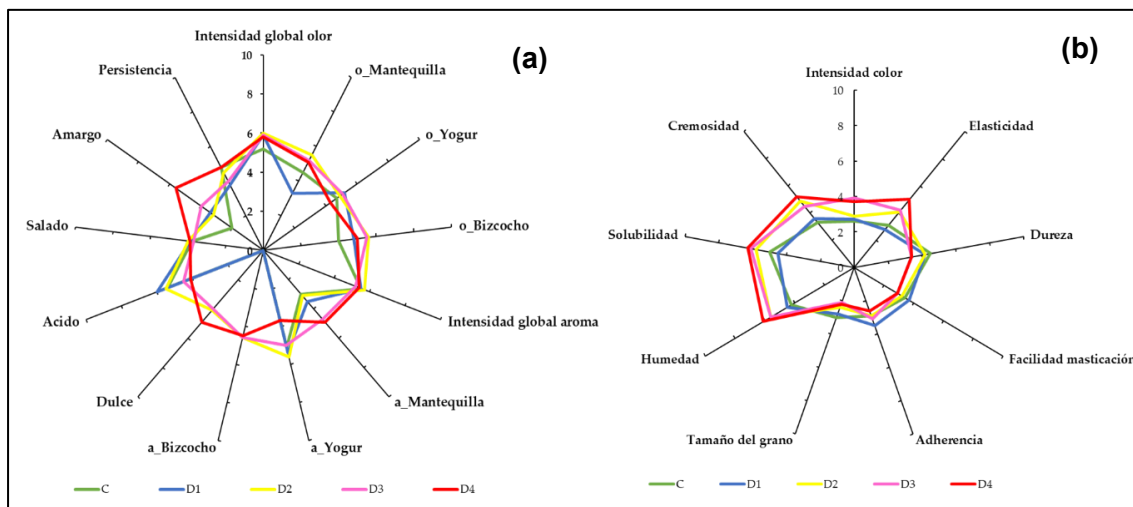


Figura 3. Perfil sensorial de los quesos semicurados de Murciano-Granadina control y con diferentes dosis de lactosa (C = control; D1 = 0,125 g/L leche; D2 = 0,25 g/L leche; D3 = 0,5 g/L leche; D4 = 1,0 g/L leche (a) Perfil flavor; (b) Perfil textura.

Considerando otra de las demandas de los consumidores (Capítulo I), quesos con nuevas tecnologías, se decide abordar un nuevo estudio de un queso de pasta blanda con coagulante vegetal y sin lactosa (Capítulo III). Se utiliza coagulante vegetal debido al aprovechamiento tradicional del cardo (*Cynara cardunculus* L.) en la comarca de Los Pedroches para elaborar queso (de la Haba Ruiz et al., 2016; Fernández-Salguero & Sanjuán, 1999; Galán et al. al., 2012) y al creciente interés en el uso de este tipo de coagulante por diversos factores: escasez y el alto precio del cuajo animal; restricciones religiosas (islamismo y judaísmo) o la demanda de alimentos vegetarianos o veganos (Bathmanath et al., 2019; Ben Amira et al., 2017; Fresno et al., 2023). Así, debido a la proximidad de la zona de Los Pedroches (Córdoba) con Extremadura, se plantea elaborar un queso de pasta blanda similar a las tortas extremeñas (Delgado-Martínez et al., 2019; Martín et al., 2022; Ordiales et al., 2013) y a los quesos de Alentejo-Portugal (Gomes et al., 2019).

Se elaboraron dos tipos de quesos de pasta blanda con leche cruda de la raza Murciano-Granadina en la Planta Piloto del Centro Hinojosa del Duque-IFAPA (Córdoba) utilizando diferentes cultivos. En el primero, se utilizó únicamente cultivo iniciador comercial (A) con una dosis de 0,5 U/100 litros de leche y se incubó durante 45 minutos antes de la incorporación del coagulante; la maduración se realizó en dos fases: una de 8 días en cámara entre 3-4°C y 95% H_R y otra de 52 días entre 8-10 °C

y 85 % H_R. En el segundo tipo de queso (B), se adicionó una mezcla de cultivos comerciales de iniciación (0,5U/100 litros leche) y de maduración (0,1U/100 litros leche); posteriormente se mantuvieron en cámaras durante 12 días a 3-4°C y 95% H_R y 48 días a 10-12 °C y 85% H_R. Los cultivos de maduración utilizados fueron una mezcla de *Debaryomyces hansenii* y *Geotrichum candidum*. En la Figura 4 se muestran las curvas de acidificación de ambos tipos de quesos (A y B) durante la maduración (1, 15, 30, 45 y 60 días). La elevada acidificación del queso tipo A, que alcanza a los 15 días de maduración valores de pH inferiores a 5,0, impide la proteólisis de estos quesos por lo que no se consigue la textura blanda y untada deseada de las tortas extremeñas (Figura 5) que si se obtiene en los quesos tipo B. Otros autores han observado que en quesos de pasta blanda de coagulación enzimática, la proteólisis generada por bacterias lácticas y levaduras modula la curva de acidificación al consumir ácido láctico y generar compuestos alcalinos (Martín et al., 2022; Ordiales et al., 2014).

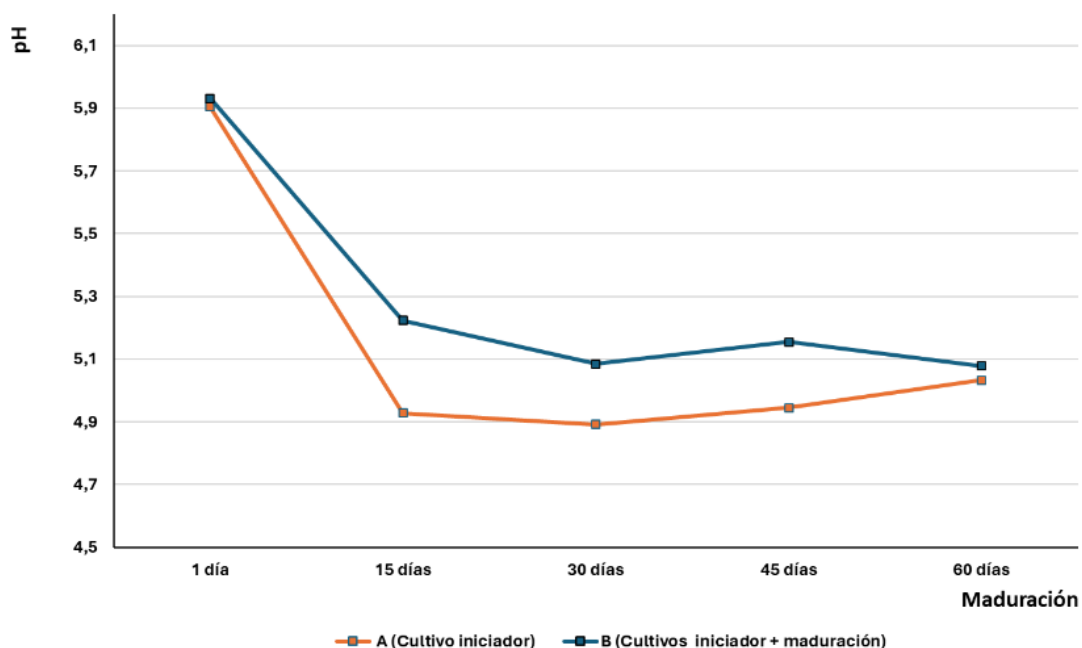


Figure 4. Evolución del pH a lo largo de la maduración del queso de cabra de la raza Murciano-Granadina de pasta blanda utilizando diferentes cultivos. (A) Cultivo de iniciación; (B) Mezcla de cultivos de iniciación y de maduración.

Además, se observó (Figura 5) que el queso elaborado con la mezcla de cultivos (B) tenía un perfil de olor/aroma más intenso y complejo que el queso elaborado sólo con el cultivo iniciador (A). Las levaduras, y principalmente *Debaryomyces hansenii*, contribuyen al desarrollo del aroma y la textura de los productos lácteos debido al papel que desempeñan en la proteólisis, lipólisis y fermentación de la lactosa residual durante la maduración de algunos quesos (McSweeney, 2004; Padilla et al., 2014).

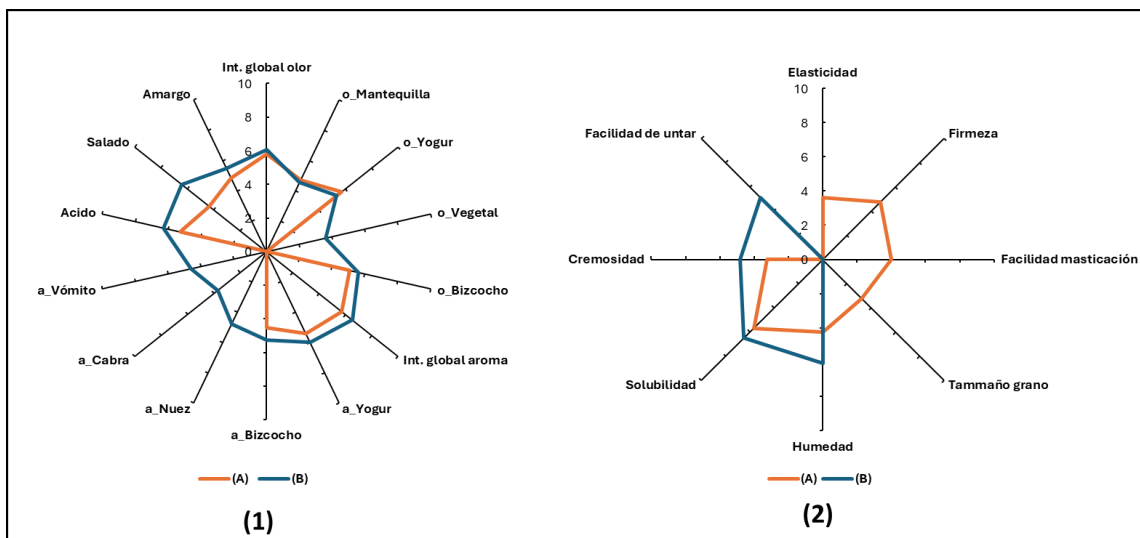


Figura 5. Perfil sensorial de los quesos de cabra de Murciano-Granadina de pasta blanda (A) Cultivo de iniciación (B) Mezcla de cultivos de iniciación y maduración. (1) Perfil del flavor; (2) Perfil de textura.

En base a estos resultados, se eligió la mezcla de cultivos iniciadores y de maduración para elaborar el queso de pasta blanda con coagulante vegetal. Este queso mostró un pH de 5,07, un contenido en sólidos totales de 50,6 %; un contenido en grasa del 47,6 %; un contenido en cloruro de sodio del 1,65 % y un contenido en lactosa del 0,05 % superior al necesario para ser etiquetado como un queso sin lactosa. En general, los parámetros fisicoquímicos encontrados en nuestro estudio son inferiores a los publicados para las tortas extremeñas elaboradas con leche de oveja (Martín et al., 2022; Ordiales et al., 2014) y para el queso tradicional de cabra Murciano-granadina andaluz (de la Haba Ruiz et al., 2016). En relación con su perfil sensorial (Figura 5-B), presentó notas olfativas a mantequilla, yogur, bizcocho, frutos secos, vómito y cabra, similares al del queso de cabra murciano-granadina tradicional andaluz (Ruiz Pérez-Cacho et al., 2019); un olor vegetal y un sabor amargo propio

de los quesos elaborados con coagulante vegetal (Ben Amira et al., 2017; Fresno et al., 2023; Tejada et al., 2006) y una textura húmeda, soluble, cremosa y untada como las tortas extremeñas (Delgado et al., 2010; Ordiales et al., 2013).

Seguidamente, se estudió el efecto de la reducción de la lactosa en la composición y en el perfil sensorial de este queso de pasta blanda. Para ello, se eligieron las dosis de 0,25, 0,50 y 0,75 g de lactasa por litro de leche de acuerdo con los resultados obtenidos en el Capítulo II (López Ruiz et al., 2023). En total se elaboraron 36 quesos (3 dosis de lactasa y control x 3 lotes x 3 quesos).

Los resultados obtenidos mostraron que fue posible elaborar un queso de cabra de pasta blanda con leche cruda utilizando coagulante vegetal y una mezcla de cultivos iniciadores y de maduración y sin lactosa similar al control. Los análisis de varianza (lote x dosis lactasa) aplicados a los parámetros de composición del queso indican que la materia seca y el contenido graso estaban más afectados por la composición de la leche de partida que por la dosis de lactasa añadida mientras que el grado de deslactosado (dosis lactasa) influía más en el pH y en el contenido en sal. Las dosis más altas de lactasa (0,75 g/L leche) correspondieron al pH más alto debido a su menor acidificación. Todos los quesos, independientemente de la dosis de lactosa añadida, presentaron un nivel de lactosa residual inferior al 0,01% de acuerdo con la normativa española vigente para productos sin lactosa (AESAN, 2020).

Los resultados del análisis sensorial (Figura 6) mostraron que el efecto de la dosis de lactasa fue más significativo que la propia composición de la leche (lote) en los atributos del flavor: olor a leche calentada, olor a caramelo, olor/aroma a bizcocho y en el sabor básico dulce, mientras que el olor/aroma característico a yogur se asoció con la composición de la leche (López Ruiz et al., 2023). Los quesos elaborados con la dosis más baja de lactasa (0,25 g/L) presentaron un perfil de flavor similar al de los quesos control, mientras que aquellos con las dosis más altas de lactasa (0,50 y 0,75 g/L) mostraron notas olfativas tostadas características de los quesos sin lactosa debido a las reacciones de pardeamiento de Maillard (Adhikari et al., 2010; Chapman et al., 2001; López Ruiz et al., 2023). Además, los quesos con dosis más altas tuvieron un sabor más amargo que el queso control y los quesos con la dosis más baja, debido a la mayor actividad proteolítica que libera péptidos responsables de su sabor amargo (Cincotta et al., 2021; Nielsen et al., 2017). Estos resultados coinciden con los obtenidos en el Capítulo II para el queso tradicional

andaluz son lactosa. Con respecto al perfil de textura (Figura 6-b), los resultados del análisis de varianza indicaron que todos los atributos se vieron más afectados por la dosis de lactasa que por la leche de partida, excepto el atributo “cremoso”, presentando todos los quesos una textura húmeda, soluble, cremosa y untable. También se observó que los quesos con mayores dosis de lactasa exhibieron una textura más húmeda, más soluble y fácil de untar que el queso control.

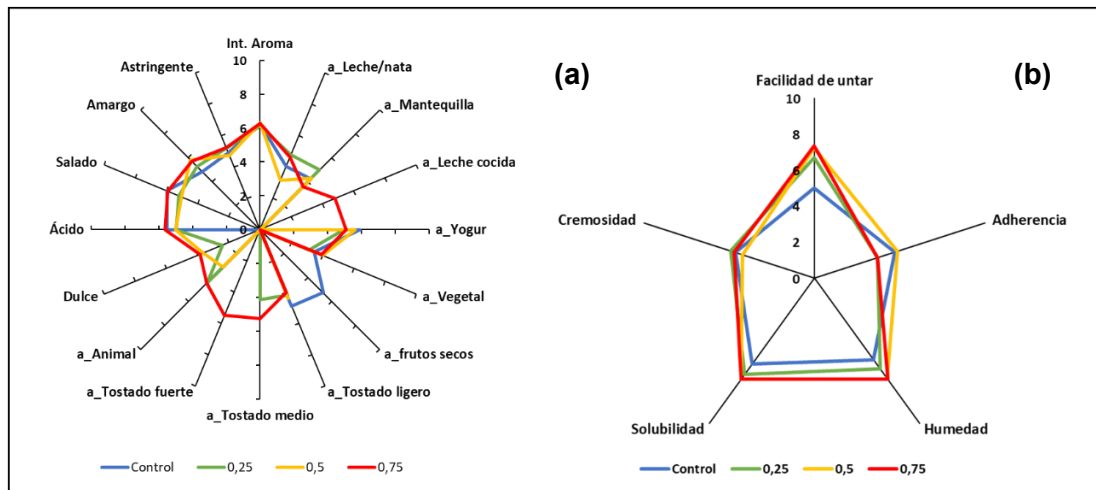


Figura 6. Perfil sensorial de los quesos Murciano-Granadina de pasta blanda control y con diferentes dosis de lactasa. (a) Perfil flavor; (b) Perfil textura.

Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral, fruto de la colaboración entre la Universidad de Córdoba (Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos) y el Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria-IFAPA (Centro Hinojosa del Duque), son fácilmente transferibles al sector lácteo andaluz al contribuir a un mejor conocimiento de los productos lácteos funcionales. Asimismo, subrayan la necesidad de seguir investigando en este ámbito de acuerdo con las nuevas necesidades del consumidor. Esta investigación también resalta la importancia que tiene el estudio de las características sensoriales de un producto antes de su distribución ya que de ellas depende su éxito en el mercado.





CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Conclusión primera. Las queserías artesanas andaluzas elaboran, principalmente, queso de cabra tradicional de corteza natural o con recubrimientos. Un reducido número de ellas fabrica, además, quesos de nuevas tecnologías (coagulación láctica, moho en corteza o queso azul) y únicamente una quesería de las estudiadas fabrica quesos funcionales de forma habitual.

Conclusión segunda. Los consumidores andaluces estudiados demandan, principalmente, quesos de nuevas tecnologías y muestran también interés por quesos funcionales, con distintivos de calidad, con diferentes formatos de presentación e incluso por productos lácteos diferentes al queso.

Conclusión tercera. Del análisis conjunto de los resultados de las queserías y los consumidores andaluces se observa como la demanda del consumidor no está siendo cubierta por las queserías. Por tanto, se hace necesario crear conocimiento para transferir al sector y facilitar la innovación y diversificación de los productos ofertados.

Conclusión cuarta. Una dosis de lactasa de 0,125 g/L de leche permite obtener un queso tradicional andaluz de Murciano-Granadina sin lactosa (<0,01 %) de composición y perfil sensorial similar al convencional.

Conclusión quinta. Es posible obtener un queso de pasta blanda con leche cruda de Murciano-Granadina y coagulante vegetal (*Cynara cardunculus* L.) similar a las tortas extremeñas, utilizando una mezcla de cultivos comerciales de iniciación y de maduración.

Conclusión sexta. Los quesos de pasta blanda con leche cruda de Murciano-Granadina elaborados con coagulante vegetal (*Cynara cardunculus* L.) se caracterizan por sus notas olfativas a mantequilla, yogur, vegetal, bizcocho, frutos secos, vómito y cabra; un sabor amargo y una textura húmeda, soluble, cremosa y unttable.

Conclusión séptima. Una dosis de lactasa de 0,25 g/L de leche permite obtener un queso de pasta blanda de Murciano-Granadina sin lactosa (<0,01 %) de composición y perfil sensorial similar al control.

Conclusión octava. Del análisis conjunto de los resultados obtenidos en los dos estudios de quesos sin lactosa, se observa como la dosis de lactasa afecta significativamente al pH y al perfil sensorial de los quesos, no influyendo en su composición. Esta investigación pone de manifiesto la importancia que tiene el estudio de las características sensoriales de un producto para que éste tenga éxito en el mercado.





REFERENCIAS

REFERENCIAS

- Abellán, A., Cayuela, J. M., Pino, A., Martínez-Cachá, A., Salazar, E., & Tejada, L. (2012). Free amino acid content of goat's milk cheese made with animal rennet and plant coagulant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *92*(8), 1657-1664. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5528>
- Acal, C., Aguilera, A. M., & Escabias, M. (2020). New Modeling Approaches Based on Varimax Rotation of Functional Principal Components. *Mathematics*, *8*(11), 2085. <https://doi.org/10.3390/math8112085>
- Addis, M., Piredda, G., Pes, M., Di Salvo, R., Scintu, M. F., & Pirisi, A. (2005). Effect of the use of three different lamb paste rennets on lipolysis of the PDO Pecorino Romano Cheese. *International Dairy Journal*, *15*(6-9), 563-569. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.07.018>
- Addis, M., Piredda, G., & Pirisi, A. (2008). The use of lamb rennet paste in traditional sheep milk cheese production. *Small Ruminant Research*, *79*(1), 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.002>
- Adhikari, K., Dooley, L. M., Chambers, E., & Bhumiratana, N. (2010). Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in the United States. *LWT - Food Science and Technology*, *43*(1), 113-118. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.017>
- AESAN. (2020). *Conditions of use of the mentions "lactose-free" and "low lactose" content in Spain*. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/interpretaciones/nutricionales/sin_lactosa.pdf
- AESAN. (2020). *Conditions of use of the mentions "lactose-free" and "low lactose" content in Spain. 2020*. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/interpretaciones/nutricionales/sin_lactosa.pdf

- Agudelo, R. A., Gauthier, S. F., Pouliot, Y., Marin, J., & Savoie, L. (2004). Kinetics of peptide fraction release during *in vitro* digestion of casein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(4), 325-332. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1662>
- Almli, V. L., Næs, T., Enderli, G., Sulmont-Rossé, C., Issanchou, S., & Hersleth, M. (2011). Consumers' acceptance of innovations in traditional cheese. A comparative study in France and Norway. *Appetite*, 57(1), Article 1. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2011.04.009>
- Álvarez, S., Fresno, M., Méndez, P., Castro, N., Fernández, J. R., & Sanz Sampelayo, M. R. (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(5), 2181-2188. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-506>
- Álvarez, S., González, R., Calero, P., Fernández, G., & Fresno, M. (2009). *Majorero PDO cheese production systems: Cheese making and comercialization*. 91, 261-264.
- Alves, M., Campos-Tataki, G., Porto, A., & Milanez, A. (2002). *Screening of Mucor spp. For the production of amylase, lipase, polygalacturonase and protease*. 33, 325-330.
- Alves, M. H., De Campos-Takaki, G. M., Okada, K., Pessoa, I. H. F., & Milanez, A. I. (2005). Detección de proteasas extracelulares en especies de Mucor. *Revista Iberoamericana de Micología*, 22(2), 114-117. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(05\)70020-6](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(05)70020-6)
- Anastasiou, R., Kazou, M., Georgalaki, M., Aktypis, A., Zoumpopoulou, G., & Tsakalidou, E. (2022). Omics Approaches to Assess Flavor Development in Cheese. *Foods*, 11(2), 188. <https://doi.org/10.3390/foods11020188>
- Anderson, J. (2019). Frequent Feedback through Google Forms. *PRIMUS*, 29(2), 124-137. <https://doi.org/10.1080/10511970.2017.1411408>

- Andrén, A. (1998). *Milk-clotting activity of various rennets and coagulants: Background and information regarding IDF standards*. 332, 9-14.
- AOAC. (1999). *Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA*. <https://www.aoac.org/>
- AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed. (1999). *Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA*. <https://www.aoac.org/>
- Ardö, Y. (2011). *Blue mold cheese*. 1, 767-772.
- Ares Cea, J. L. (2009). La actividad quesera artesanal en Andalucía. *Ganadería, Diciembre 09-enero 10*.
- Arias, D. F. A., Álvarez, D. F. C., & Muñoz, D. E. D. (2018). *Grupo de trabajo de la SEPD en hipolactasia/intolerancia a la lactosa/ malabsorción de lactosa*.
- Arias-Gómez, J., Villasís-Keever, M. Á., & Miranda-Navales, M. G. (2016). El protocolo de investigación III: La población de estudio. *Revista Alergia México*, 63(2), 201-206. <https://doi.org/10.29262/ram.v63i2.181>
- Baker, M., Lu, P., Parrella, J., & Leggette, H. (2022). Consumer Acceptance toward Functional Foods: A Scoping Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(1217), 1-2. <https://doi.org/10.3390/ijerph2004010001>
- Barr, S. I. (2013). Perceived lactose intolerance in adult Canadians: A national survey. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 38(8), 830-835. <https://doi.org/10.1139/apnm-2012-0368>
- Barriga, D., & López, A. L. (2016). *Materias primas auxiliares en la industria láctea*.
- Bathmanath, R., Yahya, Y. A. C., Yusoff, M. M., & Vejayan, J. (2019). Utilizing Coagulant Plants in the Development of Functional Dairy Foods and Beverages: A Mini Review. *Journal of Biological Sciences*, 19(3), Article 3. <https://doi.org/10.3923/jbs.2019.259.271>

- Baudry, J., Péneau, S., Allès, B., Touvier, M., Hercberg, S., Galan, P., Amiot, M.-J., Lairon, D., Méjean, C., & Kesse-Guyot, E. (2017). Food Choice Motives When Purchasing in Organic and Conventional Consumer Clusters: Focus on Sustainable Concerns (The NutriNet-Santé Cohort Study). *Nutrients*, *9*(2), 88. <https://doi.org/10.3390/nu9020088>
- Ben Amira, A., Besbes, S., Attia, H., & Blecker, C. (2017). Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review. *International Journal of Food Properties*, *20*(sup1), S76-S93. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1289959>
- Berno, T., & Fusté-Forné, F. (2020). Imaginaries of cheese: Revisiting narratives of local produce in the contemporary world. *Annals of Leisure Research*, *23*(5), 608-626. <https://doi.org/10.1080/11745398.2019.1603113>
- Bertuzzi, A. S., Walsh, A. M., Sheehan, J. J., Cotter, P. D., Crispie, F., McSweeney, P. L. H., Kilcawley, K. N., & Rea, M. C. (2018). Omics-Based Insights into Flavor Development and Microbial Succession within Surface-Ripened Cheese. *mSystems*, *3*(1), e00211-17. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00211-17>
- Bimbo, F., Bonanno, A., Nocella, G., Viscecchia, R., Nardone, G., De Devitiis, B., & Carlucci, D. (2017). Consumers' acceptance and preferences for nutrition-modified and functional dairy products: A systematic review. *Appetite*, *113*, 141-154. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.02.031>
- Blasco, E., Gomez, E. A., Vicente, C., Vidal, G., & Peris, C. (2016). Factors affecting milking speed in Murciano-Granadina breed goats. *Journal of Dairy Science*, *99*(12), 10102-10108. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10869>
- Bourdichon, N., Boyaval, P., Casaregola, S., Dupont, J., Farrokh, C., Frisvad, J., Hammes, W., Huys, G., Jany, J., Laulund, S., Ouwehand, A., Seto, Y., & Hansen, E. (2012). *The 2012 Inventory of Microbial Species With Technological Beneficial Role in Fermented Food Products. Safety Demonstration of Microbial Food Cultures (MFC) in Fermented Food Products.* 455.

- Boutrou, R., & Guéguen, M. (2005). Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. *International Journal of Food Microbiology*, 102(1), 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.028>
- Bravo Bolívar, M. S., Pasini, F., Marzocchi, S., Ravagli, C., & Tedeschi, P. (2023). Future Perspective and Technological Innovation in Cheese Making Using Artichoke (*Cynara scolymus*) as Vegetable Rennet: A Review. *Foods*, 12(16), 3032. <https://doi.org/10.3390/foods12163032>
- Brennan, N., Ward, A., Beresford, T., Fox, P., Goodfellow, M., & Cogan, T. (2002). *Biodiversity of the bacterial flora on the surface of a smear cheese*. 68, 820-830.
- Broome, M. C., Xu, X., & Mayes, J. (2006). *Proteolysis in Cheddar cheese made with alternative coagulants*. 61(2):85-87.
- Brown-Esters, O., Mc Namara, P., & Savaiano, D. (2012). Dietary and biological factors influencing lactose intolerance. *International Dairy Journal*, 22(2), 98-103. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.09.010>
- Buffa, M. N., Guamis, B., Pavia, M., & Trujillo, A. J. (2001). Lipolysis in cheese made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, 11(3), 175-179. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00044-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00044-9)
- Buffa, M. N., Trujillo, A. J., Pavia, M., & 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(11-12), 927-934. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00141-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00141-8)
- Cabezas, L., González-Viñas, M. A., Ballesteros, C., & Martín-Alvarez, P. J. (2006). Application of Partial Least Squares regression to predict sensory attributes of artisanal and industrial Manchego cheeses. *European Food Research and Technology*, 222(3-4), 223-228. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0016-z>
- Carbonell-Barrachina, Á. A. (2007). *Application of sensory evaluation of food to quality control in the spanish food industry*.

- Carrillo-Inungaray, M. L., Hidalgo-Morales, M., Rodríguez-Jimenes, G. D. C., García-Alvarado, M. Á., Ramírez-Lepe, M., Munguía, A. R., & Robles-Olvera, V. (2014). Effect of Temperature, pH and Water Activity on *Penicillium digitatum* Growth. *Journal of Applied Mathematics and Physics*, *02*(10), 930-937. <https://doi.org/10.4236/jamp.2014.210105>
- Casellas, F., Aparici, A., Pérez, M. J., & Rodríguez, P. (2016). Perception of lactose intolerance impairs health-related quality of life. *European Journal of Clinical Nutrition*, *70*(9), 1068-1072. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.80>
- Castel, J. M., Mena, Y., Ruiz, F. A., Camúñez-Ruiz, J., & Sánchez-Rodríguez, M. (2011). Changes occurring in dairy goat production systems in less favoured areas of Spain. *Small Ruminant Research*, *96*(2-3), 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.01.002>
- Chamorro, M. C., & Losada, M. M. (2002). *El análisis sensorial de los quesos*. A. Madrid Vicente.
- Chapman, K. W., Lawless, H. T., & Boor, K. J. (2001). Quantitative Descriptive Analysis and Principal Component Analysis for Sensory Characterization of Ultrapasteurized Milk. *Journal of Dairy Science*, *84*(1), 12-20. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74446-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74446-3)
- Chen, W. (Ed.). (2019). *Lactic Acid Bacteria: Bioengineering and Industrial Applications*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-7283-4>
- Cholet, O., Hénaut, A., Casaregola, S., & Bonnarme, P. (2007). Gene Expression and Biochemical Analysis of Cheese-Ripening Yeasts: Focus on Catabolism of L - Methionine, Lactate, and Lactose. *Applied and Environmental Microbiology*, *73*(8), 2561-2570. <https://doi.org/10.1128/AEM.02720-06>
- Churakova, E., Peri, K., Vis, J. S., Smith, D. W., Beam, J. M., Vijverberg, M. P., Stor, M. C., & Winter, R. T. (2019). Accurate analysis of residual lactose in low-lactose milk: Comparing a variety of analytical techniques. *International Dairy Journal*, *96*, 126-131. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.02.020>

- Cincotta, F., Conduro, C., Tripodi, G., Merlino, M., Prestia, O., Stanton, C., & Verzera, A. (2021). Comparison of lactose free and traditional mozzarella cheese during shelf-life by aroma compounds and sensory analysis. *LWT*, *140*, 110845. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110845>
- Cocolin, L., Nucera, D., Alessandria, V., Rantsiou, K., Dolci, P., Grassi, M. A., Lomonaco, S., & Civera, T. (2009). Microbial ecology of Gorgonzola rinds and occurrence of different biotypes of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, *133*(1-2), 200-205. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.003>
- Cogan, T. M., Goerges, S., Gelsomino, R., Larpin, S., Hohenegger, M., Bora, N., Jamet, E., Rea, M. C., Mounier, J., Vancanneyt, M., Guéguen, M., Desmasures, N., Swings, J., Goodfellow, M., Ward, A. C., Sebastiani, H., Irlinger, F., Chamba, J.-F., Beduhn, R., & Scherer, S. (2014). Biodiversity of the Surface Microbial Consortia from Limburger, Reblochon, Livarot, Tilsit, and Gubbeen Cheeses. En C. W. Donnelly (Ed.), *Cheese and Microbes* (pp. 219-250). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555818593.ch10>
- Colombo, M. L., Cimino, C. V., Bruno, M. A., Hugo, A., Liggieri, C., Fernández, A., & Vairo-Cavalli, S. (2021). Artichoke cv. Francés flower extract as a rennet substitute: Effect on textural, microstructural, microbiological, antioxidant properties, and sensory acceptance of miniature cheeses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *101*(4), 1382-1388. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10749>
- Corgneau, M., Scher, J., Ritie-Pertusa, L., Le, D. T. L., Petit, J., Nikolova, Y., Banon, S., & Gaiani, C. (2017). Recent advances on lactose intolerance: Tolerance thresholds and currently available answers. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(15), 3344-3356. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1123671>
- Costell, E., Tárrega, A., & Bayarri, S. (2010). Food Acceptance: The Role of Consumer Perception and Attitudes. *Chemosensory Perception*, *3*(1), 42-50. <https://doi.org/10.1007/s12078-009-9057-1>

- Crabbe, M. J. C. (2004). Rennets: General and Molecular Aspects. En *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (Vol. 1, pp. 19-45). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80061-7](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80061-7)
- Curioni, P. M. G., & Bosset, J. O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, 12(12), 959-984. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00124-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00124-3)
- De Albuquerque, T. L., De Sousa, M., Gomes E Silva, N. C., Girão Neto, C. A. C., Gonçalves, L. R. B., Fernandez-Lafuente, R., & Rocha, M. V. P. (2021). β -Galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Characterization, production, immobilization and applications - A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 191, 881-898. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.133>
- de la Haba Ruiz, M. A. (2017). *Caracterización físico-química y sensorial de los quesos artesanos andaluces* [PhD Thesis]. Universidad de Córdoba.
- de la Haba Ruiz, M. A., Ruiz Pérez-Cacho, P., Dios Palomares, R., & Galán-Soldevilla, H. (2016). Classification of artisanal Andalusian cheeses on physicochemical parameters applying multivariate statistical techniques. *Dairy Science & Technology*, 96(1), Article 1. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0242-5>
- de la Haba Ruiz, Ruiz Pérez-Cacho, P., & Galán Soldevilla, H. (2017). *Caracterización físico-química y sensorial de los quesos artesanos andaluces*.
- Dekker, P., Koenders, D., & Bruins, M. (2019). Lactose-Free Dairy Products: Market Developments, Production, Nutrition and Health Benefits. *Nutrients*, 11(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/nu11030551>
- Delgado, F. J., González-Crespo, J., Cava, R., & Ramírez, R. (2011). Proteolysis, texture and colour of a raw goat milk cheese throughout the maturation. *European Food Research and Technology*, 233(3), 483-488. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1536-3>
- Delgado, F., Rodríguez-Pinilla, J., González-Crespo, J., Rosario, R., & Roa, I. (2010). Proteolysis and texture changes of a Spanish soft cheese ('Torta del Casar')

- manufactured with raw ewe milk and vegetable rennet during ripening. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(3), 512-519. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02157.x>
- Delgado-Martínez, F. J., Carrapiso, A. I., Contador, R., & Ramírez, M. R. (2019). Volatile compounds and sensory changes after high pressure processing of mature "Torta del Casar" (raw ewe's milk cheese) during refrigerated storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.11.004>
- Delorme, É., Paysant, B., Trossat, P., Gaüzère, Y., & Beuvier, É. (2021). *Impacts of curd washing on the development of the functional properties of Raclette cheese*. IDF International Cheese science and Technology Symposium 2021.
- Derkx, P. M., Janzen, T., Sørensen, K. I., Christensen, J. E., Stuer-Lauridsen, B., & Johansen, E. (2014). The art of strain improvement of industrial lactic acid bacteria without the use of recombinant DNA technology. *Microbial Cell Factories*, 13(Suppl 1), S5. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S5>
- Douillard, F. P., & De Vos, W. M. (2014). Functional genomics of lactic acid bacteria: From food to health. *Microbial Cell Factories*, 13(Suppl 1), S8. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S8>
- Douillard, F. P., Ribbera, A., Järvinen, H. M., Kant, R., Pietiläinen, T. E., Randazzo, C., Paulin, L., Laine, P. K., Caggia, C., Von Ossowski, I., Reunanen, J., Satokari, R., Salminen, S., Palva, A., & De Vos, W. M. (2013). Comparative Genomic and Functional Analysis of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* Strains Marketed as Probiotics. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(6), 1923-1933. <https://doi.org/10.1128/AEM.03467-12>
- EFSA. (2010). Scientific Opinion on lactose thresholds in lactose intolerance and galactosaemia. *EFSA Journal*, 2010; 8(9):1777. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1777>
- El Kafsi, H., Binesse, J., Loux, V., Buratti, J., Boudebouze, S., Dervyn, R., Kennedy, S., Galleron, N., Quinquis, B., Batto, J.-M., Moumen, B., Maguin, E., & Van De Guchte, M. (2014). *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis* and ssp. *bulgaricus*: A

chronicle of evolution in action. *BMC Genomics*, 15(1), 407.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-407>

Eldesouky, A., Mesías, F. J., Elghannam, A., Gaspar, P., & Escribano, M. (2016). Are packaging and presentation format key attributes for cheese consumers? *International Dairy Journal*, 61, 245-249.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.06.011>

Eliskases-Lechner, F., Guéguen, M., & Panoff, J. M. (2011). *Geotrichum candidum*. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 4). Elsevier Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12374407-4.00365-4>

El-Sayed, S. M., Ibrahim, O. A., & Kholif, A. M. M. (2020). Characterization of novel Ras cheese supplemented with Jalapeno red pepper. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(7). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14535>

El-Sayed, S. M., & Youssef, A. M. (2019). Potential application of herbs and spices and their effects in functional dairy products. *Heliyon*, 5(6), e01989.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01989>

Engels, W., Dusterhoft, E.-M., & Huppertz, T. (2017). Starter Cultures for Cheese Manufacture. En *Reference Module in Food Science* (p. B9780081005965213838). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21383-8>

Erich, S., Kuschel, B., Schwarz, T., Ewert, J., Böhmer, N., Niehaus, F., Eck, J., Lutz-Wahl, S., Stressler, T., & Fischer, L. (2015). Novel high-performance metagenome β -galactosidases for lactose hydrolysis in the dairy industry. *Journal of Biotechnology*, 210, 27-37.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.06.411>

Etayo, I., Pérez Elortondo, F. J., Gil, P. F., Albisu, M., Virto, M., Conde, S., Rodríguez Barrón, L. J., Nájera, A. I., Gómez-Hidalgo, M. E., Delgado, C., Guerra, A., & 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. *Le Lait*, 86(6), 415-434. <https://doi.org/10.1051/lait:2006021>

- European Commission,. (2004). *Regulation of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin, 853/2004/EC. In: Official Journal of the European Union, L 139, 30/04/2004.*
- European Commission. (2024). *Registro de indicaciones geográficas de la UE.* <https://ec.europa.eu/agriculture/eambrosia/geographical-indications-register/>
- EUROSTAT. (2024). *Milk collection and dairy products obtained.* <https://ec.europa.eu/eurostat>
- Evershed, R. P., Payne, S., Sherratt, A. G., Copley, M. S., Coolidge, J., Urem-Kotsu, D., Kotsakis, K., Özdoğan, M., Özdoğan, A. E., Nieuwenhuysse, O., Akkermans, P. M. M. G., Bailey, D., Andeescu, R.-R., Campbell, S., Farid, S., Hodder, I., Yalman, N., Özbaşaran, M., Bıçakçı, E., ... Burton, M. M. (2008). Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature*, 455(7212), 528-531. <https://doi.org/10.1038/nature07180>
- Facioni, M. S., Dominici, S., Marescotti, F., Covucci, R., Taglieri, I., Venturi, F., & Zinnai, A. (2021). Lactose Residual Content in PDO Cheeses: Novel Inclusions for Consumers with Lactose Intolerance. *Foods*, 10(9), 2236. <https://doi.org/10.3390/foods10092236>
- FAOSTAT. (2021). *Crops and livestock products.* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Disponible en línea: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>
- FAOSTAT. (2022). *Food Balances.* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Disponible en línea: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>
- Feijoo-Siota, L., & Villa, T. (2010). *Native and Biotechnologically Engineered Plant Proteases with Industrial Applications* Lucía & Tomás G. Villa. Vol. 4, pag 1066-1088.

- Fernández-Salguero, J., & Sanjuán, E. (1999). Influence of vegetable and animal rennet on proteolysis during ripening in ewes' milk cheese. *Food Chemistry*, *64*, 177-183. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00149-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00149-6)
- Fernández-Salguero, J., Tejada, L., & Gómez, R. (2002). Use of powdered vegetable coagulant in the manufacture of ewe's milk cheeses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *82*(4), 464-468. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1066>
- Ferrandini, E., Castillo, M., De Renobales, M., Virto, M. D., Garrido, M. D., Rovira, S., & López, M. B. (2012). Influence of lamb rennet paste on the lipolytic and sensory profile of Murcia al Vino cheese. *Journal of Dairy Science*, *95*(6), 2788-2796. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4733>
- Ferrandini, E., López, M. B., Castillo, M., & Laencina, J. (2011). Influence of an artisanal lamb rennet paste on proteolysis and textural properties of Murcia al Vino cheese. *Food Chemistry*, *124*(2), 583-588. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.079>
- Ferroukhi, I., Chassard, C., & Mardon, J. (2024). A comprehensive overview of blue-veined cheeses. *International Dairy Journal*, *154*, 105926. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.105926>
- Fitzsimons, N. A., Cogan, T. M., Condon, S., & Beresford, T. (2001). Spatial and temporal distribution of non-starter lactic acid bacteria in Cheddar cheese. *Journal of Applied Microbiology*, *90*(4), 600-608. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01285.x>
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). *Fundamentals of Cheese Science*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9>
- Fresno Baquero, M., & Álvarez Ríos, S. (2007). *Análisis sensorial de los Quesos de Cabra de Pasta Prensada: Queso Majorero DOP y Queso Palmero DOP* (Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA)).
- Fresno, M., & Álvarez, S. (2012). Chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Majorero goat cheese. *International Journal of Dairy Technology*, *65*(3), 393-400. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2012.00842.x>

- Fresno, M., Argüello, A., Torres, A., Castro, N., Álvarez, S., & Sepe, L. (2023). Invited review. Milk clotting enzymes: A transcendental decision in goat's milk cheese quality. *Small Ruminant Research*, 229, 107147. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.107147>
- Fröhlich-Wyder, M.-T., Arias-Roth, E., & Jakob, E. (2019). Cheese yeasts. *Yeast*, 36(3), Article 3. <https://doi.org/10.1002/yea.3368>
- Fuquay, J. W., Fox, P. F., & McSweeney, P. L. (2011). *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). Elsevier Science & Technology.
- Galán, E., Cabezas, L., & Fernández-Salguero, J. (2012a). Proteolysis, microbiology and sensory properties of ewes' milk cheese produced with plant coagulant from cardoon *Cynara cardunculus*, calf rennet or a mixture thereof. *International Dairy Journal*, 25(2), Article 2. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.02.001>
- Galán, E., Cabezas, L., & Fernández-Salguero, J. (2012b). Proteolysis, microbiology and sensory properties of ewes' milk cheese produced with plant coagulant from cardoon *Cynara cardunculus*, calf rennet or a mixture thereof. *International Dairy Journal*, 25(2), Article 2. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.02.001>
- Galán, E., Prados, F., Pino, A., Tejada, L., & Fernández-Salguero, J. (2008). Influence of different amounts of vegetable coagulant from cardoon *Cynara cardunculus* and calf rennet on the proteolysis and sensory characteristics of cheeses made with sheep milk. *International Dairy Journal*, 18(1), 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.06.003>
- Gámiz Ramírez, P., García de Tena Fernández, A., Villegas Gómez, J. R., Alcántara Jurado, A., & Barba Capote, C. J. (2021). *Gestión integral de explotaciones de caprino de leche: Manual técnico para veterinarios oficiales*. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible.
- García, A. E., Peralta, D. M. R., & Rodríguez, A. I. B. (2018). Factores estratégicos de la innovación y mercado en queserías artesanales de México. *Revista Venezolana de Gerencia*, 23.

- García, V., Rovira, S., Boutoial, K., Ferrandini, E., & López, M. B. (2016). Physicochemical, microbiological, textural and sensory changes during the ripening of pasteurised goat milk cheese made with plant coagulant (*Cynara scolymus*). *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), 96-102. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12225>
- García-Burgos, M., Moreno-Fernández, J., Alférez, M. J. M., Díaz-Castro, J., & López-Aliaga, I. (2020). New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. *Journal of Functional Foods*, 72, 104059. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104059>
- Garg, S. K., & Johri, B. N. (1994). Rennet: Current trends and future research. *Food Reviews International*, 10(3), 313-355. <https://doi.org/10.1080/87559129409541005>
- Gellynck, X., & Kühne, B. (2010). Horizontal and Vertical Networks for Innovation in the Traditional Food Sector. *International Journal on Food System Dynamics*, Vol 1, 123-132 Pages. <https://doi.org/10.18461/IJFSD.V1I2.124>
- Gille, D., Walther, B., Badertscher, R., Bosshart, A., Brügger, C., Brühlhart, M., Gauch, R., Noth, P., Vergères, G., & Egger, L. (2018). Detection of lactose in products with low lactose content. *International Dairy Journal*, 83, 17-19. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.03.003>
- Gillis, J. C., Ayerbe, A., Lincet, D., Moineau, S., Roy, D., & Turgeon, S. (2018). *Le fromage* (4^a Édition). Tec & Doc Lavoisier.
- Givens, D. I. (2020). MILK Symposium review: The importance of milk and dairy foods in the diets of infants, adolescents, pregnant women, adults, and the elderly. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 9681-9699. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18296>
- Gkatzionis, K., Yunita, D., Linforth, R. S. T., Dickinson, M., & Dodd, C. E. R. (2014). Diversity and activities of yeasts from different parts of a Stilton cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 109-116. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.016>

- Gomes, S., Belo, A. T., Alvarenga, N., Dias, J., Lage, P., Pinheiro, C., Pinto-Cruz, C., Brás, T., Duarte, M. F., & Martins, A. P. L. (2019). Characterization of *Cynara cardunculus* L. flower from Alentejo as a coagulant agent for cheesemaking. *International Dairy Journal*, 91, 178-184. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.09.010>
- Google. (2022). *Create, edit, and format*. Alphabet, Mountain View, California, Estados Unidos. https://support.google.com/docs/topic/6063584?hl=en&ref_topic=1360904
- Götz, F., Bannerman, T., & Schleifer, K.-H. (2006). The Genera *Staphylococcus* and *Macroccoccus*. En M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, & E. Stackebrandt (Eds.), *The Prokaryotes* (pp. 5-75). Springer US. https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_1
- Grosclaude, F., Ricordeau, G., Martin, P., Remeuf, F., Vassal, L., & Bouillon, J. (1994). Du gène au fromage: Le polymorphisme de la caséine α_1 caprine, ses effects, son évolution. *INRA Prod. Anim.*, 7(3-19). <https://doi.org/10.20870/productions-animales.1994.7.1.4153>
- Guiné, R. P. F., Florença, S. G., Barroca, M. J., & Anjos, O. (2020). The Link between the Consumer and the Innovations in Food Product Development. *Foods*, 9(9), 1317. <https://doi.org/10.3390/foods9091317>
- Guiné, R. P. F., Florença, S. G., Barroca, M. J., & Anjos, O. (2021). The duality of innovation and food development versus purely traditional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 16-24. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.010>
- Guinee T. P. (2002). The functionality of cheese as an ingredient: A review. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57(2), 79-91.
- Guinee, T., & Wilkinson, M. (1992). *Rennet coagulation and coagulants in cheese manufacture*. 45, 94-104.
- Guzmán, J. L., Delgado Pertíñez, M., Galán Soldevilla, H., Ruiz Pérez-Cacho, P., Polvillo Polo, O., Zarazaga, L. Á., & Avilés Ramírez, C. (2020). Effect of Citrus

By-product on Physicochemical Parameters, Sensory Analysis and Volatile Composition of Different Kinds of Cheese from Raw Goat Milk. *Foods*, 9(10), 1420. <https://doi.org/10.3390/foods9101420>

Harboe, M., Broe, M. L., & Qvist, K. B. (2010). The Production, Action and Application of Rennet and Coagulants. En B. A. Law & A. Y. Tamime (Eds.), *Technology of Cheesemaking* (1.^a ed., pp. 98-129). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444323740.ch3>

Harboe, M. K. (1985). *Commercial aspects of aspartic proteases. Aspartic Proteinases and their Inhibitors*. 550-637.

Harboe, M. K. (1992). *Chymogen, a chymosin rennet manufactured by fermentation of Aspergillus niger. Fermentation-Produced Enzymes and Accelerated Ripening in Cheesemaking*. 269, 3-7.

Harboe, M., Maarten, V., Johansen, E., Rahbek-Nielsen, H., Larsen, R., & Rampilli, M. (2005). *Recombinant production, purification and characterization of active bovine chymosin C, and uses in cheese manufacturing*. (Patent WO 2005089040).

Hayaloglu, A. A. (2016). Cheese: Microbiology of Cheese. En *Reference Module in Food Science* (p. B9780081005965006752). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00675-2>

Hayaloglu, A. A. (2022). Cheese with Herbs, Spices and Condiments. En *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Third Edition, pp. 137-145). Academic Press.

He, T., Priebe, M. G., Zhong, Y., Huang, C., Harmsen, H. J. M., Raangs, G. C., Antoine, J.-M., Welling, G. W., & Vonk, R. J. (2007). Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. *Journal of Applied Microbiology*, 0(0), 071010063119001-???. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03579.x>

He, T., Venema, K., Priebe, M. G., Welling, G. W., Brummer, R. -J. M., & Vonk, R. J. (2008). The role of colonic metabolism in lactose intolerance. *European Journal*

- of Clinical Investigation*, 38(8), 541-547. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2008.01966.x>
- Hermet, A., Méheust, D., Mounier, J., Barbier, G., & Jany, J.-L. (2012). Molecular systematics in the genus *Mucor* with special regards to species encountered in cheese. *Fungal Biology*, 116(6), 692-705. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2012.04.002>
- Hou, J., Hannon, J. A., McSweeney, P. L. H., Beresford, T. P., & Guinee, T. P. (2012). Effect of curd washing on composition, lactose metabolism, pH, and the growth of non-starter lactic acid bacteria in full-fat Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 25(1), 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.12.015>
- Hou, J., Hannon, J. A., McSweeney, P. L. H., Beresford, T. P., & Guinee, T. P. (2014). Effect of curd washing on cheese proteolysis, texture, volatile compounds, and sensory grading in full fat Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 34(2), 190-198. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.08.008>
- Hougaard, A. B., Ardö, Y., & Ipsen, R. H. (2010). Cheese made from instant infusion pasteurized milk: Rennet coagulation, cheese composition, texture and ripening. *International Dairy Journal*, 20(7), 449-458. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.01.005>
- Hutchins, D. A., & Hurley, R. A. (2024). A systematic review of articles influencing United States retail cheese packaging, labeling, and market trends related to cheese in the marketplace and cheese during consumption. *Journal of Dairy Science*, S0022030224007240. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23977>
- ICCA. (2023). *Instituto Canario de Calidad Agroalimentaria*. https://www.ghttps://www.gobiernodecanarias.org/agp/icca/temas_calidad/que_sos/
- IDF. (2007). Coagulation of Milk: Processes and Characteristics. *International Dairy Federation*, 420.

- Instituto de Estadística y Cartografía de Andalucía. (2022). *Indicadores Andalucía y Provincias*. Junta de Andalucía, Sevilla, España. <https://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadisticaycartografia>
- ISO. (2007). *Ref. N° 8589. Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms*.
- ISO. (2009a). *Ref. N° 22935-1. Milk and milk products. Sensory analysis. Part 1: General guidance for the recruitment, selection, training and monitoring of assessors*.
- ISO. (2009b). *Ref. N° 22935-2. Milk and milk products. Sensory analysis. Part 2: Methodology. Recommended method for sensory evaluation of milk and milk products*.
- ISO 3433:2008/ IDF 222:2008; (2008). *Cheese. Determination of Fat Content. Van Gulik Method. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland*,. <https://shop.fil-idf.org/products/milk-and-milk-products-guidance-on-sampling>
- ISO, 3433:2008, & IDF, 222:2008. (2008). *Cheese. Determination of Fat Content. Van Gulik Method. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland*.
- ISO 8586:2012. (2012). *Sensory Analysis. General Guidelines for the Selection, Training and Monitoring of Selected Assessors and Expert Sensory Assessors. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland*,.
- ISO 22935-2:2009, IDF 99-2:2009. (2009). *Milk and Milk Products. Sensory Analysis. Part 2: Recommended methods for sensory evaluation. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland*,.
- Jansson, T., Jensen, H. B., Sundekilde, U. K., Clausen, M. R., Eggers, N., Larsen, L. B., Ray, C., Andersen, H. J., & Bertram, H. C. (2014). Chemical and Proteolysis-Derived Changes during Long-Term Storage of Lactose-Hydrolyzed Ultra-high-Temperature (UHT) Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(46), 11270-11278. <https://doi.org/10.1021/jf504104q>

- Jensen, S., Jansson, T., Eggers, N., Clausen, M. R., Larsen, L. B., Jensen, H. B., Ray, C., Sundgren, A., Andersen, H. J., & Bertram, H. C. (2015). Storage-induced changes in the sensory characteristics and volatiles of conventional and lactose-hydrolyzed UHT processed milk. *European Food Research and Technology*, 240(6), 1247-1257. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2427-9>
- Johnson, M. E., Chen, C. M., & Jaeggi, J. J. (2001). Effect of Rennet Coagulation Time on Composition, Yield, and Quality of Reduced-Fat Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*, 84(5), 1027-1033. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74562-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74562-6)
- Jooyandeh, H., Amarjeet, K., & Minhas, K. S. (2009). Lipases in dairy industry: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 46(3), 181-189.
- Junta de Andalucía. (2013). Anexo I. Condiciones técnicas para la elaboración de queso artesano en Andalucía. Orden nº 29/05/2013. Consejería de Agricultura y Pesca. *BOJA nº 108, 05.06.2013*.
- Junta de Extremadura. (2023). *DOP Queso Ibores*. <https://www.juntaex.es/w/dop-queso-ibores?inheritRedirect=true>
- Kaffarnik, S., Kayademir, Y., Heid, C., & Vetter, W. (2014). Concentrations of Volatile 4-Alkyl-Branched Fatty Acids in Sheep and Goat Milk and Dairy Products. *Journal of Food Science*, 79(11). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12673>
- Kamath, R., Basak, S., & Gokhale, J. (2022). Recent trends in the development of healthy and functional cheese analogues-a review. *LWT*, 155, 112991. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112991>
- Kongo, J. M., & Malcata, F. X. (2016). Cheese: Types of Cheeses – Soft. En *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 768-773). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00132-X>
- Kühne, B., Vanhonacker, F., Gellynck, X., & Verbeke, W. (2010). Innovation in traditional food products in Europe: Do sector innovation activities match consumers' acceptance? *Food Quality and Preference*, 21(6), 629-638. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.03.013>

- Kumar, A., Grover, S., Sharma, J., & Batish, V. K. (2010). Chymosin and other milk coagulants: Sources and biotechnological interventions. *Critical Reviews in Biotechnology*, 30(4), 243-258. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.483459>
- Kumar, A., & Sasmal, S. (2020). Rheological and physico-chemical properties of milk gel using isolate of pumpkin (*Cucurbita moschata*) seeds: A new source of milk clotting peptidase. *Food Hydrocolloids*, 106, 105866. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105866>
- Kumar, A., Sharma, J., Mohanty, A. K., Grover, S., & Batish, V. K. (2006). Purification and characterization of milk clotting enzyme from goat (*Capra hircus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 145(1), 108-113. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2006.06.010>
- La Rioja. (2023). *Marcas de calidad de La Rioja*. <https://www.larioja.org/agricultura/es/calidad-agroalimentaria>
- Lai, G., Pes, M., Addis, M., & Pirisi, A. (2020). A Cluster Project Approach to Develop New Functional Dairy Products from Sheep and Goat Milk. *Dairy*, 1(2), 154-168. <https://doi.org/10.3390/dairy1020010>
- Langholm Jensen, J., Mølgaard, A., Navarro Poulsen, J.-C., Harboe, M. K., Simonsen, J. B., Lorentzen, A. M., Hjernø, K., Van Den Brink, J. M., Qvist, K. B., & Larsen, S. (2013). Camel and bovine chymosin: The relationship between their structures and cheese-making properties. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*, 69(5), 901-913. <https://doi.org/10.1107/S0907444913003260>
- Laroute, V., Tormo, H., Couderc, C., Mercier-Bonin, M., Le Bourgeois, P., Coccagn-Bousquet, M., & Daveran-Mingot, M.-L. (2017). From Genome to Phenotype: An Integrative Approach to Evaluate the Biodiversity of *Lactococcus lactis*. *Microorganisms*, 5(2), 27. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5020027>
- Lavelli, V., & Beccalli, M. P. (2022). Cheese whey recycling in the perspective of the circular economy: Modeling processes and the supply chain to design the involvement of the small and medium enterprises. *Trends in Food Science & Technology*, 126, 86-98. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.06.013>

- Law, B. A., & Tamime, A. Y. (2010). *Technology of Cheesemaking* (2nd ed). Blackwell Publishing Ltd.
- Leclercq-Perlat, M.-N., Sicard, M., Trelea, I. C., Picque, D., & Corrieu, G. (2012). Temperature and relative humidity influence the microbial and physicochemical characteristics of Camembert-type cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, *95*(8), 4666-4682. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5368>
- Leite, A. C. S., Cortez, N. M. dos S., Albuquerque, S. S. M. C. de, Shinohara, N. K. S., Macedo, I. M. E., & Andrade, S. A. C. (2021). Development of stuffed coalho cheese in the traditional, lactose-free and probiotic-added formulations. *Ciência Rural*, *51*(5), e200049. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200049>
- Li, A., Zheng, J., Han, X., Yang, S., Cheng, S., Zhao, J., Zhou, W., & Lu, Y. (2023). Advances in Low-Lactose/Lactose-Free Dairy Products and Their Production. *Foods*, *12*(13), Article 13. <https://doi.org/10.3390/foods12132553>
- Liu, P., Xie, J., Liu, J., & Ouyang, J. (2019). A novel thermostable β -galactosidase from *Bacillus coagulans* with excellent hydrolysis ability for lactose in whey. *Journal of Dairy Science*, *102*(11), 9740-9748. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16654>
- Lončar, B., Pezo, L., Iličić, M., Kanurić, K., Vukić, D., Degenek, J., & Vukić, V. (2024). Modeling and Optimization of Herb-Fortified Fresh Kombucha Cheese: An Artificial Neural Network Approach for Enhancing Quality Characteristics. *Foods*, *13*(4), 548. <https://doi.org/10.3390/foods13040548>
- López, A. L., Pedregosa, A., Ureña, L. P., Ruiz, F. A., Valls, N., & Anglade, P. (2019). Afinado de quesos: Una operación básica por desarrollar en la tecnología quesera. *Industrias Lácteas Españolas*.
- López Ruiz, Á. L., Barriga Velo, D., Pedregosa Cabrero, Á., & Ruiz Morales, F. D. A. (2018). Diversificación en la producción láctea artesanal: Queso de cabra con aditivos. *Málaga Ganadera*, *52*.
- López Ruiz, Á. L., Ruiz Morales, F. D. A., Ruiz Pérez-Cacho, P., & Galán Soldevilla, H. (2023). Effect of Lactose-Reduction in Murciano-Granadina Semi-Hard Goat

Cheese on Physicochemical and Sensory Characteristics. *Foods*, 12(5), 996.
<https://doi.org/10.3390/foods12050996>

López-Díaz, T. M., Alegría, Á., Rodríguez-Calleja, J. M., Combarros-Fuertes, P., Fresno, J. M., Santos, J. A., Flórez, A. B., & Mayo, B. (2023). Blue Cheeses: Microbiology and Its Role in the Sensory Characteristics. *Dairy*, 4(3), 410-422.
<https://doi.org/10.3390/dairy4030027>

Mahaut, M., Jeantet, R., & Brulé, G. (2003). *Introducción a la tecnología quesera*. Acibia.

Mancini, M. C., Arfini, F., & Guareschi, M. (2019). Innovation and typicality in localised agri-food systems: The case of PDO Parmigiano Reggiano. *British Food Journal*, 121(12), 3043-3061. <https://doi.org/10.1108/BFJ-10-2018-0662>

Mandolesi, S., Naspetti, S., Arsenos, G., Caramelle-Holtz, E., Latvala, T., Martín-Collado, D., Orsini, S., Ozturk, E., & Zanolli, R. (2024). Consumer attitudes, motivations and barriers towards sheep and goat dairy products. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 36, 100917.
<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2024.100917>

Mani, Z., & Chouk, I. (2018). Consumer Resistance to Innovation in Services: Challenges and Barriers in the Internet of Things Era. *Journal of Product Innovation Management*, 35(5), 780-807. <https://doi.org/10.1111/jpim.12463>

Mania, I., Delgado, A. M., Barone, C., & Parisi, S. (2018). Food Packaging Materials in the Cheesemaking Field. En I. Mania, A. M. Delgado, C. Barone, & S. Parisi, *Traceability in the Dairy Industry in Europe* (pp. 141-145). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-00446-0_9

MAPA. (2017). *Quesos con Denominación de Origen Protegida de España* [Map].

MAPA. (2022a). *Caracterización del sector ovino y caprino de leche en España*.

MAPA. (2022b). *El sector ovino y caprino en cifras. Principales indicadores económicos*. <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y->

mercados-ganaderos/sectores-ganaderos/ovino-caprino/leche-de-oveja-y-cabra/default.aspx

MAPA. (2023a). *BUSCADOR DE DOP/IGP ESPAÑOLAS*.
<https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/calidad-diferenciada/dop-igp/Default.aspx>

MAPA. (2023b). *Informe de coyuntura del sector vacuno de leche*.

MAPA. (2023c). *Razas Ganaderas (ARCA)*.
<https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/arca/raza-autoctona.aspx>

MAPA. (2023d). *Vacuno lechero. Declaraciones de entregas de leche cruda a primero compradores*.
<https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/sectores-ganaderos/vacuno-lechero/default.aspx>

Martin, C., Harel-Oger, M., Garric, G., Le Loir, Y., Soler, L.-G., & Marette, S. (2023). Acceptability of a sustainable technological innovation applied to traditional soft cheese: Information concerning the benefits for health and the environment can compensate for a lower hedonic appreciation. *Food Quality and Preference*, *104*, 104753. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104753>

Martin, C., Harel-Oger, M., Garric, G., & Marette, S. (2024a). Impact of sensory properties and their appreciation on willingness to pay for innovative cheeses with health benefits. *Food Quality and Preference*, *118*, 105207. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2024.105207>

Martin, C., Harel-Oger, M., Garric, G., & Marette, S. (2024b). Impact of sensory properties and their appreciation on willingness to pay for innovative cheeses with health benefits. *Food Quality and Preference*, *118*, 105207. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2024.105207>

Martín, I., Rodríguez, A., García, C., & Córdoba, J. J. (2022). Evolution of Volatile Compounds during Ripening and Final Sensory Changes of Traditional Raw

Ewe's Milk Cheese "Torta del Casar" Matured with Selected Protective Lactic Acid Bacteria. *Foods*, 11(17), 2658. <https://doi.org/10.3390/foods11172658>

McSweeney, P. L. H. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 127-144. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00147.x>

McSweeney, P. L. H. (2017). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Elsevier.

McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., & O'Mahony, J. A. (Eds.). (2020). *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-48686-0>

McSweeney, P. L. H., O'Mahony, J. A., & Kelly, A. L. (Eds.). (2022). *Advanced Dairy Chemistry: Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-92585-7>

McSweeney, P. L. H., & Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80(3), 293-324. <https://doi.org/10.1051/lait:2000127>

Meals, S. E., Schiano, A. N., & Drake, M. A. (2020). Drivers of liking for Cheddar cheese shreds. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2167-2185. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16911>

Messia, M. C., Candigliota, T., & Marconi, E. (2007). Assessment of quality and technological characterization of lactose-hydrolyzed milk. *Food Chemistry*, 104(3), 910-917. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.045>

Miguel, E., Álvarez Teno, A., Iriando de Hond, M., & Mancho, C. (2015). Caracterización sensorial de los quesos de Madrid. Diferencias en la percepción sensorial y utilidad del análisis sensorial para la descripción de las propiedades de textura de los quesos. *XVI Jornadas sobre Producción Animal, Tomo II*, 651-653.

Mikulec, N., Habuš, I., Antunac, N., Vitale, L., & Havranek, J. (2010). The Influence of Peptides and Amino Acids on Cheese Flavor Formation. *Mljekarstvo*, 60.

- Ministerio de la Presidencia. (2006). Real Decreto 1113/2006, de 29 de septiembre, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos. *Boletín Oficial Del Estado (BOE)*, 239 de 06 de Octubre de 2006.
- Ministerio de la Presidencia. (2015). Real Decreto 818/2015, de 11 de septiembre, por el que se modifican los anexos I y II del Real Decreto 1113/2006. *Boletín Oficial Del Estado (BOE)*, 219 de 12 de Septiembre de 2015.
- Misselwitz, B., Pohl, D., Frühauf, H., Fried, M., Vavricka, S. R., & Fox, M. (2013). Lactose malabsorption and intolerance: Pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European Gastroenterology Journal*, 1(3), 151-159. <https://doi.org/10.1177/2050640613484463>
- Moatsou, G., & Park, Y. W. (2017). Goat Milk Products: Types of Products, Manufacturing Technology, Chemical Composition, and Marketing. En Y. W. Park, G. F. W. Haenlein, & W. L. Wendorff (Eds.), *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals* (1.^a ed., pp. 84-150). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119110316.ch2.3>
- Mohsin, A. Z., Norsah, E., Marzlan, A. A., Abd Rahim, M. H., & Meor Hussin, A. S. (2024). Exploring the applications of plant-based coagulants in cheese production: A review. *International Dairy Journal*, 148, 105792. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105792>
- Molimard, P., & Spinnler, H. (1996). *Review: Compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: Origins and properties*. 79, 169-184.
- Møller, K. K., Rattray, F. P., & Ardö, Y. (2012). Camel and Bovine Chymosin Hydrolysis of Bovine α_{s1} —And β -Caseins Studied by Comparative Peptide Mapping. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(45), 11421-11432. <https://doi.org/10.1021/jf302890h>
- Moreno-Rojas, R., Sánchez-Segarra, P. J., Cámara-Martos, F., & Amaro-López, M. A. (2010). Multivariate analysis techniques as tools for categorization of Southern Spanish cheeses: Nutritional composition and mineral content. *European Food Research and Technology*, 231(6), 841-851. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1338-z>

- Morgan, F., & Gaborit, P. (2001). The typical flavour of goat milk products: Technological aspects. *Society of Dairy Technology*. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2001.00006.x>
- Moschopoulou, E. E., Kandarakis, I. G., Alichanidis, E., & Anifantakis, E. M. (2006). Purification and characterization of chymosin and pepsin from kid. *Journal of Dairy Research*, 73(1), 49-57. <https://doi.org/10.1017/S0022029905001470>
- Moser, A., Berthoud, H., Eugster, E., Meile, L., & Irmeler, S. (2017). Detection and enumeration of *Lactobacillus helveticus* in dairy products. *International Dairy Journal*, 68, 52-59. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.12.007>
- Motta, A. S., & Brandelli, A. (2002). *Characterization of an antibacterial peptide produced by Brevibacterium linens*. 92, 63-70.
- Mounier, J., Rea, M. C., O'Connor, P. M., Fitzgerald, G. F., & Cogan, T. M. (2007). *Growth characteristics of Brevibacterium, Corynebacterium, Microbacterium, and Staphylococcus spp. Isolated from surface-ripened cheese*. 73, 7732-7739.
- Mukhiddinov, Q. A., Rakhimov, A. M., Saparov, D. E., Ait-Kaddour, A., & Sultanova, S. A. (2022). Investigation of the process of molding, pressing and salting hard and soft cheeses. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1076(1), 012060. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1076/1/012060>
- Mule, V., Mythili, P., Gopalakrishna, K., Ramana, Y., & Reddy, D. (2009). *Recombinant calf-chymosin and a process for producing the same*. (Patent US Patent US07,482,148.).
- Naranjo, G. B., Pereyra Gonzales, A. S., Leiva, G. E., & Malec, L. S. (2013). The kinetics of Maillard reaction in lactose-hydrolysed milk powder and related systems containing carbohydrate mixtures. *Food Chemistry*, 141(4), 3790-3795. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.093>
- Natrella, G., Gambacorta, G., & Faccia, M. (2023). An attempt at producing a “lactose-free” directly acidified mozzarella (high moisture type) by curd washing and pressing: A chemical and sensory study. *International Dairy Journal*, 136, 105499. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105499>

- Necula, D., Ungureanu-luga, M., & Ognean, L. (2024). Beyond the Traditional Mountain Emmental Cheese in “Țara Dornelor”, Romania: Consumer and Producer Profiles, and Product Sensory Characteristics. *Agriculture*, 14(4), 621. <https://doi.org/10.3390/agriculture14040621>
- Newberry, M. G., & Israel, G. D. (2017). Comparing Two Web/Mail Mixed-mode Contact Protocols to a Unimode Mail Survey. *Field Methods*, 29(3), 281-298. <https://doi.org/10.1177/1525822X17693804>
- Nicosia, F. D., Puglisi, I., Pino, A., Caggia, C., & Randazzo, C. L. (2022). Plant Milk-Clotting Enzymes for Cheesemaking. *Foods*, 11(6), 871. <https://doi.org/10.3390/foods11060871>
- Nielsen, S. D., Jansson, T., Le, T. T., Jensen, S., Eggers, N., Rauh, V., Sundekilde, U. K., Sørensen, J., Andersen, H. J., Bertram, H. C., & Larsen, L. B. (2017). Correlation between sensory properties and peptides derived from hydrolysed-lactose UHT milk during storage. *International Dairy Journal*, 68, 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.12.013>
- OECD-FAO. (2022).
- O'Mahony, J. A., & Fox, P. L. (1997). The relationship between pH and the retention of salt in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 80, 206-211. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75928-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75928-4)
- Ong, L., Dagastine, R. R., Kentish, S. E., & Gras, S. L. (2012). The effect of pH at renneting on the microstructure, composition and texture of Cheddar cheese. *Food Research International*, 48(1), 119-130. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.02.020>
- Ordiales, E., Benito, M. J., Martín, A., Fernández, M., Hernández, A., & De Guía Córdoba, M. (2013). Proteolytic effect of *Cynara cardunculus* rennet for use in the elaboration of ‘Torta del Casar’ cheese. *Journal of Dairy Research*, 80(4), 429-438. <https://doi.org/10.1017/S0022029913000411>
- Ordiales, E., Martín, A., Benito, M. J., Fernández, M., Casquete, R., & De Guía Córdoba, M. (2014). Influence of the technological properties of vegetable

rennet (*Cynara cardunculus*) on the physicochemical, sensory and rheological characteristics of 'Torta del Casar' cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 67(3), 402-409. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12129>

Ordiales, E., Martín, A., Benito, M. J., Hernández, A., Ruiz-Moyano, S., & Córdoba, M. D. G. (2012). Technological characterisation by free zone capillary electrophoresis (FCZE) of the vegetable rennet (*Cynara cardunculus*) used in "Torta del Casar" cheese-making. *Food Chemistry*, 133(1), 227-235. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.012>

Ordiales, E., Martín, A., Benito, M. J., Hernández, A., Ruiz-Moyano, S., & Córdoba, M. D. G. (2013). Role of the microbial population on the flavor of the soft-bodied cheese Torta del Casar. *Journal of Dairy Science*, 96(9), 5477-5486. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6587>

Padilla, B., Belloch, C., López-Díez, J. J., Flores, M., & Manzanares, P. (2014). Potential impact of dairy yeasts on the typical flavour of traditional ewes' and goats' cheeses. *International Dairy Journal*, 35(2), Article 2. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.11.002>

Pantoja, V., Mena, Y., & Ruiz Morales, F. A. (2017). *Diversificación De La Comercialización De Quesos De Cabra A Través Del Maridaje Con Diferentes Tipologías De Miel*.

Papademas, P., & Bintsis, T. (Eds.). (2017). *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics* (1.^a ed.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119046165>

Papadimitriou, K., Kline, K., Renault, P., & Kok, J. (2020). Omics and Systems Approaches to Study the Biology and Applications of Lactic Acid Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1786. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01786>

Parafati, L., Siracusa, L., Pesce, F., Restuccia, C., Fallico, B., & Palmeri, R. (2023). Mango (*Mangifera indica* L.) young leaf extract as brine additive to improve the functional properties of mozzarella cheese. *Food Chemistry*, 425, 136474. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136474>

- Park, Y. W. (2001). Proteolysis and Lipolysis of Goat Milk Cheese. *Journal of Dairy Science*, *84*, E84-E92. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70202-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70202-0)
- Pasin, G., & Comerford, K. B. (2015). Dairy Foods and Dairy Proteins in the Management of Type 2 Diabetes: A Systematic Review of the Clinical Evidence. *Advances in Nutrition*, *6*(3), 245-259. <https://doi.org/10.3945/an.114.007690>
- Pazzola, M., Stocco, G., Dettori, M. L., Bittante, G., & Vacca, G. M. (2019). Effect of goat milk composition on cheesemaking traits and daily cheese production. *Journal of Dairy Science*, *102*(5), 3947-3955. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15397>
- Pereira, C. I., Gomes, E. O., Gomes, A. M. P., & Malcata, F. X. (2008). Proteolysis in model Portuguese cheeses: Effects of rennet and starter culture. *Food Chemistry*, *108*(3), 862-868. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.050>
- Petrova, P., Ivanov, I., Tsigoriyna, L., Valcheva, N., Vasileva, E., Parvanova-Mancheva, T., Arsov, A., & Petrov, K. (2021). Traditional Bulgarian Dairy Products: Ethnic Foods with Health Benefits. *Microorganisms*, *9*(3), 480. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030480>
- Pilone, V., De Lucia, C., Del Nobile, M. A., & Contò, F. (2015). Policy developments of consumer's acceptance of traditional products innovation: The case of environmental sustainability and shelf life extension of a PGI Italian cheese. *Trends in Food Science & Technology*, *41*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.005>
- Pino, A., Liotta, L., Caggia, C., Chiofalo, V., De Nardo, F., Zumbo, A., Todaro, A., & Randazzo, C. L. (2021). Effect of seasonality on physico-chemical and microbiological properties of nicastrese milk and artisanal cheese. *FEMS Microbiology Letters*, *368*(10), fnab055. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab055>
- Pino, A., Prados, F., Galán, E., McSweeney, P. L. H., & Fernández-Salguero, J. (2009). Proteolysis during the ripening of goats' milk cheese made with plant coagulant or calf rennet. *Food Research International*, *42*(3), Article 3. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.12.009>

- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
- Pizarro, M. G., Landi, V., Navas González, F. J., León, J. M., & Delgado, J. V. (2019). Non-parametric analysis of the effects of α S1-casein genotype and parturition non-genetic factors on milk yield and composition in Murciano-Granadina goats. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 1021-1034. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1611388>
- Place, R. B., Hiestand, D., Gallmann, H. R., & Teuber, M. (2003). *Staphylococcus equorum* subsp. *Linens*, subsp. *Nov.*, A Starter Culture Component for Surface Ripened Semi-Hard Cheeses. *Systematic and Applied Microbiology*, 26(1), 30-37. <https://doi.org/10.1078/072320203322337281>
- Pontual, E. V., Carvalho, B. E. A., Bezerra, R. S., Coelho, L. C. B. B., Napoleão, T. H., & Paiva, P. M. G. (2012). Caseinolytic and milk-clotting activities from *Moringa oleifera* flowers. *Food Chemistry*, 135(3), 1848-1854. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.087>
- Prados, F., Pino, A., & Fernández-Salguero, J. (2007). Effect of a powdered vegetable coagulant from cardoon *Cynara cardunculus* in the accelerated ripening of Manchego cheese. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(5), 556-561. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01271.x>
- Prados Siles, F. (2005). *Estudio de las características bioquímicas, físico-químicas, microbiológicas y sensoriales de quesos tipo manchego elaborados con diversos tipos de coagulante*.
- Puchades, L. P. (2013). *Anexo I. Condiciones técnicas para la elaboración de queso artesano en Andalucía*.
- Pulinas, L., Spanu, C., Idda, I., Ibba, I., Nieddu, G., Viridis, S., Scarano, C., Piras, F., Spano, N., Sanna, G., & De Santis, E. P. L. (2017). Production of farmstead lactose-free Pecorino di Osilo and ricotta cheeses from sheep's milk. *Italian Journal of Food Safety*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2017.6353>

- Qi, T., Yang, D., Chen, X., Qiu, M., & Fan, Y. (2022). Rapid removal of lactose for low-lactose milk by ceramic membranes. *Separation and Purification Technology*, 289, 120601. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.120601>
- Racette, C. M., & Drake, M. A. (2022). Consumer perception of natural hot-pepper cheeses. *Journal of Dairy Science*, 105(3), 2166-2179. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20808>
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., & Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79(1), 57-72. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.009>
- Raynal-Ljutovac, K., Le Pape, M., Gaborit, P., & Barrucand, P. (2011). French goat milk cheeses: An overview on their nutritional and sensorial characteristics and their impacts on consumers' acceptance. *Small Ruminant Research*, 101(1-3), Article 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.026>
- Raza, A., Iqbal, S., Shah, F.-H., Ahmad, Z., Rehman, M. A., Waseem, M., & Usman, M. (2021). Conversion of milk lactose to galacto-oligosaccharides by enzymes to produce prebiotic enriched cheese. *Future Foods*, 4, 100097. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100097>
- Región de Murcia. (2023a). *Pliego de Condiciones de Queso de Murcia*. <https://quesosdemurcia.com/pdf/normativa/pliego-dop-quesos-de-murcia.pdf>
- Región de Murcia. (2023b). *Pliego de Condiciones de Queso de Murcia al Vino*. <https://quesosdemurcia.com/pdf/normativa/pliego-dop-quesos-de-murcia.pdf>
- Reilly, S. (2018). Taste neophobia. En *Food Neophobia* (pp. 77-109). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101931-3.00005-7>
- Rey Gómez, A. M., & Ares Cea, J. L. (2005). Caracterización empresarial y tecnológica de las queserías artesanales en Andalucía. *Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC)*, 188-191.
- RFEAGAS. (2023). RFEAGAS. <https://rfeagas.es/razas/>

- Richonnet-Dubuis, C., & Cassuto, D. A. (2012). Benefit of individual cheeses portions in dietary education of children. *Médecine and nutrition*, *48*(2). <https://doi.org/DOI: 10.1051/mnut/201248201>
- Rogelj, I., Perko, B., Francky, A., Penca, V., & Pungerčar, J. (2001). Recombinant Lamb Chymosin as an Alternative Coagulating Enzyme in Cheese Production. *Journal of Dairy Science*, *84*(5), 1020-1026. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74561-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74561-4)
- Rolet-Répécaud, O., Berthier, F., Beuvier, E., Gavoye, S., Notz, E., Roustel, S., Gagnaire, V., & Achilleos, C. (2013). Characterization of the non-coagulating enzyme fraction of different milk-clotting preparations. *LWT - Food Science and Technology*, *50*(2), 459-468. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.021>
- Roseiro, L. B., Barbosa, M., Ames, J. M., & Wilbey, R. A. (2003). Cheesemaking with vegetable coagulants—The use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, *56*(2), 76-85. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2003.00080.x>
- Ruiz Morales. (2012). Comercialización quesos tradicionales andaluces. *Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura, Pesca y Medioambiente.*
- Ruiz Morales, F. de A. (2021). *Consumidores y quesos andaluces.* Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible, Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica.
- Ruiz Morales, F. de A., Castel Genís, J. M., & Guerrero, Y. M. (2019). Current status, challenges and the way forward for dairy goat production in Europe. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *32*(8), Article 8. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0327>
- Ruiz Pérez-Cacho, P., de la Haba Ruiz, M. A., Dios-Palomares, R., & Galán-Soldevilla, H. (2019). Linear regression models for estimating the effect of technological factors on the sensory characteristics of goat cheeses.

- International Journal of Food Science & Technology*, 54(7), 2396-2407.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.14151>
- Sales-Gomes, M., & Lima-Costa, M. E. (2008). Immobilization of Endoproteases from Crude Extract of *Cynara cardunculus* L. Flowers. *Food Science and Technology International*, 14(3), 271-276. <https://doi.org/10.1177/1082013208095688>
- Salles, C., Sommerer, N., Septier, C., Issanchou, S., Chabanet, C., Garem, A., & Quéré, J. -L. L. (2002). Goat Cheese Flavor: Sensory Evaluation of Branched-Chain Fatty Acids and Small Peptides. *Journal of Food Science*, 67(2), 835-841. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10686.x>
- Saqib, S., Akram, A., Halim, S. A., & Tassaduq, R. (2017). Sources of β -galactosidase and its applications in food industry. 3 *Biotech*, 7(1), 79. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0645-5>
- Saxena, S., & Sasmal, S. (2021). Bio-prospecting of Waste Vegetable Resources for Isolation of Milk Clotting Proteases. *Journal of The Institution of Engineers (India): Series E*, 102(2), 293-298. <https://doi.org/10.1007/s40034-021-00220-6>
- Schirone, M., Visciano, P., Conte, F., & Paparella, A. (2022). Formation of biogenic amines in the cheese production chain: Favouring and hindering factors. *International Dairy Journal*, 133, 105420. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105420>
- Schornsteiner, E., Mann, E., Bereuter, O., Wagner, M., & Schmitz-Esser, S. (2014). Cultivation-independent analysis of microbial communities on Austrian raw milk hard cheese rinds. *International Journal of Food Microbiology*, 180, 88-97. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.010>
- Schröder, E., Maus, I., Trost, E., & Tauch, A. (2011). Complete genome sequence of *Corynebacterium variabile* DSM 44702 isolated from the surface of smear-ripened cheeses and insights into cheese ripening and flavor generation. 12, 545.
- Scott, R., Robinson, R. K., Wilbey, R. A., & Barrado, M. (2010). *Fabricación de queso/Cheesemaking practice*.

- Serrapica, F., Masucci, F., Di Francia, A., Napolitano, F., Braghieri, A., Esposito, G., & Romano, R. (2020). Seasonal Variation of Chemical Composition, Fatty Acid Profile, and Sensory Properties of a Mountain Pecorino Cheese. *Foods*, 9(8), 1091. <https://doi.org/10.3390/foods9081091>
- Shah, M. A., Mir, S. A., & Paray, M. A. (2014). Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheesemaking: A review. *Dairy Science & Technology*, 94(1), 5-16. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0144-3>
- Shakeel-Ur-Rehman, Waldron, D., & Fox, P. F. (2004). Effect of modifying lactose concentration in cheese curd on proteolysis and in quality of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 14(7), 591-597. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.11.008>
- Sharif, M. K., Butt, M. S., Sharif, H. R., & Nasir, M. (2017). *Sensory Evaluation and Consumer Acceptability*.
- SIMA. (2021). *Instituto de Estadística y Cartografía de Andalucía*. https://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadisticaycartografia/badea/operaciones/consulta/anual/40356?CodOper=b3_151&codConsulta=40356
- Singh, J., & Vyas, A. (Eds.). (2022). *Advances in dairy microbial products*. Woodhead Publishing.
- Singh, P. K., & Shah, N. P. (2017). Other Fermented Dairy Products. En *Yogurt in Health and Disease Prevention* (pp. 87-106). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00005-5>
- Skeie, S. B. (2014). Quality aspects of goat milk for cheese production in Norway: A review. *Small Ruminant Research*, 122(1-3), 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.07.012>
- Sloan, E. (2020). Instant nutrition, everyday performance foods, and health-enhancing food processing are among the trends defining the functional food and beverage sector. *Food Technology*, 72(4).

- Soares, J. C., Marques, M. R., Tavaría, F. K., Pereira, J. O., Malcata, F. X., & Pintado, M. M. (2011). Biodiversity and characterization of *Staphylococcus* species isolated from a small manufacturing dairy plant in Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, *146*(2), 123-129. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.008>
- Sousa, M. J., Ardö, Y., & McSweeney, P. L. H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, *11*(4-7), Article 4-7. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00062-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00062-0)
- Sousa, M. J., & Malcata, F. X. (2002). Advances in the role of a plant coagulant (*Cynara cardunculus*) in vitro and during ripening of cheeses from several milk species. *Le Lait*, *82*(2), Article 2. <https://doi.org/10.1051/lait:2002001>
- Stampa, E., Schipmann-Schwarze, C., & Hamm, U. (2020). Consumer perceptions, preferences, and behavior regarding pasture-raised livestock products: A review. *Food Quality and Preference*, *82*, 103872. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103872>
- Stocco, G., Pazzola, M., Dettori, M. L., Paschino, P., Bittante, G., & Vacca, G. M. (2018). Effect of composition on coagulation, curd firming, and syneresis of goat milk. *Journal of Dairy Science*, *101*(11), 9693-9702. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15027>
- Storhaug, C. L., Fosse, S. K., & Fadnes, L. T. (2017). Country, regional, and global estimates for lactose malabsorption in adults: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, *2*(10), 738-746. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(17\)30154-1](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30154-1)
- Suchy, F. J. (2010). National Institutes of Health Consensus Development Conference: Lactose Intolerance and Health. *Annals of Internal Medicine*, *152*(12), 792. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-152-12-201006150-00248>
- Suri, S., Kumar, V., Prasad, R., Tanwar, B., Goyal, A., Kaur, S., Gat, Y., Kumar, A., Kaur, J., & Singh, D. (2019). Considerations for development of lactose-free food. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, *15*, 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.jnim.2018.11.003>

- Swallow, D. M. (2003). Genetics of Lactase Persistence and Lactose Intolerance. *Annual Review of Genetics*, 37(1), 197-219. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.37.110801.143820>
- Świąder, K., & Marczewska, M. (2021). Trends of Using Sensory Evaluation in New Product Development in the Food Industry in Countries That Belong to the EIT Regional Innovation Scheme. *Foods*, 10(2), 446. <https://doi.org/10.3390/foods10020446>
- Szabó, E., Szakos, D., Kasza, Gy., & Ózsvári, L. (2021). Corrigendum: Analysis of the target group of lactose-free functional foods for product development. *Acta Alimentaria*, 50(4), 641. <https://doi.org/10.1556/066.2020.11168>
- Szilagyi, A., & Ishayek, N. (2018). Lactose Intolerance, Dairy Avoidance, and Treatment Options. *Nutrients*, 10(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/nu10121994>
- Tabla, R. (2019). *Elaboración de quesos de oveja de pasta blanda a partir de leche pasteurizada y cuajo vegetal*.
- Talavera, M., & Chambers, D. H. (2016). Flavor lexicon and characteristics of artisan goat cheese from the United States. *Journal of Sensory Studies*, 31(6), 492-506. <https://doi.org/10.1111/joss.12239>
- Tejada, L., Abellán, A., Cayuela, J. M., & Martínez-Cacha, A. (2006). Sensorial characteristics during ripening of the Murcia al vino goat's milk cheese: The effect of the type of coagulant used and the size of the cheese. *Journal of Sensory Studies*, 21(3), 333-347. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2006.00069.x>
- Tejada, L., Abellán, A., Cayuela, J. M., Martínez-Cacha, A., & Fernández-Salguero, J. (2008). Proteolysis in goats' milk cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Dairy Journal*, 18(2), Article 2. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.08.010>

- Tendero, A., & Bernabéu, R. (2005). Preference structure for cheese consumers: A Spanish case study. *British Food Journal*, 107(2), 60-73. <https://doi.org/10.1108/00070700510579144>
- Thierry, A., Maillard, M.-B., Richoux, R., Kerjean, J.-R., & Lortal, S. (2005). *Propionibacterium freudenreichii* strains quantitatively affect production of volatile compounds in Swiss cheese. *Le Lait*, 85(1-2), 57-74. <https://doi.org/10.1051/lait:2004036>
- Troise, A. D., Bandini, E., De Donno, R., Meijer, G., Trezzi, M., & Fogliano, V. (2016). The quality of low lactose milk is affected by the side proteolytic activity of the lactase used in the production process. *Food Research International*, 89, 514-525. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.021>
- Ugidos-Rodríguez, S., Matallana-González, M. C., & Sánchez-Mata, M. C. (2018). Lactose malabsorption and intolerance: A review. *Food & Function*, 9(8), 4056-4068. <https://doi.org/10.1039/C8FO00555A>
- Vallejo, J. A., Ageitos, J. M., Poza, M., & Villa, T. G. (2008). Cloning and Expression of Buffalo Active Chymosin in *Pichia pastoris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10606-10610. <https://doi.org/10.1021/jf802339e>
- Van Rooijen, G., Richard, K., Shen, Y., & Boothe, J. (2008). *Commercial production of chymosin in plants*. (Patent US07,390,936).
- Vega-Hernández, M. C., Gómez-Coello, A., Villar, J., & Claverie-Martín, F. (2004). Molecular cloning and expression in yeast of caprine prochymosin. *Journal of Biotechnology*, 114(1-2), 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.06.002>
- Velčovská, Š., & Sadílek, T. (2015). Certification of cheeses and cheese products origin by EU countries. *British Food Journal*, 117(7), 1843-1858. <https://doi.org/10.1108/BFJ-10-2014-0350>
- Vernozy-Rozand, C., Mazuy, C., Meugnier, H., Bes, M., Lasne, Y., Fiedler, F., Etienne, J., & Freney, J. (2000). *Staphylococcus fleurettii* sp. Nov., isolated from goat's milk cheeses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(4), 1521-1527. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-4-1521>

Walstra, P., Wouters, J., & Geurts, T. (2006). Food science and technology. *Taylor & Francis Group*.

Widyastuti, Y., Lisdiyanti, P., & Tisnadjaja, D. (2014). *Role of Lactobacillus helveticus on Flavor Formation in Cheese: Amino Acid Metabolism*. 18(1).

Wigley, R. C. (1996). Cheese and whey. *T. Godfrey & S. West*.

Wolfe, B. E., Button, J. E., Santarelli, M., & Dutton, R. J. (2014). Cheese Rind Communities Provide Tractable Systems for In Situ and In Vitro Studies of Microbial Diversity. *Cell*, 158(2), 422-433.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.041>

Yashvantha, R., Pinto, S., Patel, D., & Paul, P. (2020). Manufacture and Evaluation of Paneer Using Lemon Rinds as a Value Added Ingredient. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 1-12.
<https://doi.org/10.9734/irjpac/2020/v21i1930272>

Zhang, C., & Conrad, F. G. (2014). *Speeding in Web Surveys: The tendency to answer very fast and its association with straightlining*.

Zhao, J., Fox, M., Cong, Y., Chu, H., Shang, Y., Fried, M., & Dai, N. (2010). Lactose intolerance in patients with chronic functional diarrhoea: The role of small intestinal bacterial overgrowth. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 31(8), 892-900. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04252.x>