



Análisis sensorial, textural y actividad antioxidante de queso añejo de Zacazonapan durante la maduración

Sensory, textural analysis and antioxidant activity of añejo Zacazonapan cheese during ripening

Torres-Salas Verenice^{1*}, Hernández-Montes, Arturo¹ y Hernández-Rodríguez Blanca E.²

¹ Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo Km 38.5 carretera México-Texcoco, CP 56230 Chapingo, Estado de México, México; sensoarturo@gmail.com.

² Departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, CP 56230 Chapingo, Estado de México, México; blancaeli_hr@yahoo.com.mx.

ABSTRACT

Proteolysis during cheese ripening contributes to biopeptide generation and changes in sensory and textural characteristics. The aim of this work was to determine antioxidant capacity, as well as changes in the sensorial and textural characteristics of cheese from Zacazonapan, during ripening (0, 30, 95 and 180 d). At 95 d, the extracts of evaluated cheeses presented the highest soluble protein content. The degree of protein hydrolysis stood out at 95 (7.43 ± 0.34) and 180 d of ripening (6.44 ± 0.31 %). The DPPH free radical uptake was higher at 30 and 180 d (18.70 ± 0.48 and 19.92 ± 0.48 %, respectively), while the highest oxygen radical absorption capacity (ORAC) was recorded at 180 d. Concerning the sensory characteristics, cheeses with 180 d presented attributes such as bitter residual taste, foot odor, hardness, pungency, ripened cheese flavor and porous appearance; in addition to a hard and less cohesive texture.

Keywords: Zacazonapan; antioxidant activity; flash profile; texture; ripening.

RESUMEN

La proteólisis durante la maduración de los quesos contribuye a la generación de biopéptidos, y a cambios en las características sensoriales y texturales. El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad antioxidante, así como los cambios en las características sensoriales y texturales del queso añejo de Zacazonapan, durante la maduración (0, 30, 95 y 180 d). A los 95 d los extractos de los quesos evaluados presentaron el mayor contenido de proteína soluble. El grado de hidrólisis de proteínas destacó a los 95 (7.43 ± 0.34 %) y 180 d de maduración (6.44 ± 0.31 %). La captación del radical libre DPPH fue mayor a los 30 y 180 d (18.70 ± 0.48 y 19.92 ± 0.48 %, respectivamente), mientras que la mayor capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) se registró a los 180 d. Con respecto a las características sensoriales, los quesos con 180 d presentaron atributos como sabor residual amargo, olor a pies, dureza, pungencia, sabor a queso madurado y apariencia porosa; además de una textura dura y menos cohesiva.

Palabras clave: Zacazonapan; actividad antioxidante; perfil flash; textura; maduración.

INTRODUCCIÓN

Durante la maduración de los quesos, la proteólisis contribuye a la generación de péptidos, los cuales pueden ejercer alguna actividad biológica, ya sea antioxidante, antimicrobiana, antihipertensiva, opioide, antiangiogénica, etc. (Santiago-López *et al.*, 2018; Rafiq *et al.*, 2021). Los péptidos con actividad antioxidante son capaces de captar radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS) (Khan *et al.*, 2019). Este tipo de péptidos ha sido reportado en varios quesos alrededor del mundo (Dias da Silva *et al.*, 2019; Kariyawasam *et al.*, 2019; Timón *et al.*, 2019; Banihashemi *et al.*, 2020; Turan y Durak, 2022) y en el caso de quesos mexicanos las investigaciones más recientes se han realizado en quesos tales como el queso crema de Chiapas, el fresco, el cocido (Aguilar-Toalá *et al.*, 2022) y el panela (López-Villafaña *et al.*, 2023).

Por otro lado, la maduración permite que los quesos desarrollen características sensoriales determinadas en gran medida por los procesos bioquímicos que se llevan a cabo y por los factores que impactan la textura. Estos factores incluyen a los glóbulos de grasa, agua, minerales, bacterias y solutos disueltos como la lactosa, el ácido láctico, las sales solubles y los péptidos ocluidos dentro de la matriz de proteína, entre los cuales varias fuerzas moleculares (puentes de hidrógeno y disulfuro) pueden influir en la funcionalidad del queso (Lamichhane *et al.*, 2018; Domingues *et al.*, 2019). Las diferencias sensoriales entre productos pueden ser descritas y cuantificadas mediante un perfil sensorial, como el perfil Flash (Domingues *et al.*, 2019).

El queso añejo de Zacazonapan es un alimento tradicional mexicano producido en el suroeste del Estado de México, al ser un queso artesanal se elabora a pequeña escala, con leche cruda, bajo técnicas tradicionales y goza de prestigio social local (Aguilar-Toalá *et al.*, 2022). Investigaciones recientes en el queso añejo de Zacazonapan se han centrado en las emociones de sus consumidores (Torres-Salas y Hernández-Montes, 2021b), en los valores humanos (Torres-Salas y Hernández-Montes, 2021a), las comunalidades de significado para el queso (Torres-Salas y Hernández-Montes, 2020) y en la actividad antimicrobiana de sus extractos solubles (Torres-Salas, *et al.*, 2021). Sin embargo, no existe información sobre la producción de péptidos con actividad antioxidante, ni de las características sensoriales y texturales desarrolladas en

este queso durante la maduración. En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivos realizar un análisis composicional del queso añejo de Zacazonapan, determinar el grado de hidrólisis de las proteínas y la actividad antioxidante que poseen los péptidos generados en el transcurso de la maduración. Además, en este periodo se evaluaron los cambios en los atributos sensoriales del queso y sus características texturales instrumentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos analíticos

El reactivo de Bradford, albumina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés), L-leucina, 2, 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH, por sus siglas en inglés), 2,2'-Azobis (2-metilpropionamida) dihidrocloruro (AAPH, por sus siglas en inglés), fluoresceína y trolox correspondieron a la empresa Sigma-Aldrich (Minnesota, USA). El ácido 2, 4, 6-trinitrobenzeno-1-sulfónico (TNBS, por sus siglas en inglés) de la marca Fluka, Sigma-Aldrich (Steinheim, Suiza).

Obtención de muestras

Piezas de queso (un kilogramo) se obtuvieron de dos queserías de Zacazonapan, Estado de México, México (codificados como A y B). Las piezas para las tres repeticiones se elaboraron en días consecutivos, cada pieza se obtuvo de un lote de leche cuajada en la misma tina. Posteriormente, se almacenaron a 15 °C y una humedad relativa de 85 %, para muestrearse durante la maduración a los 0, 30, 95 y 180 d.

Análisis fisicoquímicos del queso

El pH se determinó con un potenciómetro Conductronic pH120 (Conductronic, Puebla, México) como lo describe Villegas (2004) y la actividad de agua (a_w) con el método reportado por Öztürk y Akin (2021b) mediante un equipo Aqualab Serie 3 (Decagon Devices Inc., Washington, USA). El análisis composicional se realizó con un analizador FoodScan™ Lab (FOSS Analytical AB, Hillerød, Dinamarca). Las determinaciones se realizaron por triplicado para los quesos de ambas fábricas, en los cuatro tiempos de maduración (0, 30, 95 y 180 d).

Extracción de compuestos solubles en agua

La extracción se realizó como lo describen Pritchard *et al.* (2010), con modificaciones. 250 g de queso se homogeneizaron con 750 mL de agua destilada durante 5 min en una licuadora (Osterizer, Wisconsin, USA). A continuación, la mezcla se agitó a 150 rpm durante 1 h a 40 °C en una incubadora orbital (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA). El pH se ajustó a 4.6 con HCl 1 M y la mezcla se centrifugó a 8801 g durante 10 min a 4 °C y se descartó tanto la capa superior de grasa como el sedimento. El extracto acuoso se filtró por gravedad a través de una capa de algodón y posteriormente utilizando papel Whatman No. 42, en condiciones de vacío. Los extractos se almacenaron a -20 °C y antes de cada prueba se centrifugaron a 3438 g durante 10 min a 4 °C (Centrifuga

Eppendorff 5810, Hamburgo, Alemania) y se filtraron usando papel Whatman 42.

Determinación de proteína soluble en extractos acuosos

La proteína soluble se cuantificó de acuerdo al método descrito por Bradford (1976). Una alícuota de 50 µL del extracto acuoso se mezcló con 1.5 mL de reactivo de Bradford. Después de 5 min, la absorbancia se leyó a 595 nm (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Scientific™, Massachusetts, USA). En el blanco se sustituyó el extracto por agua destilada. Bajo las mismas condiciones se preparó una curva estándar de BSA (0.1 - 1.4 mg/mL) y cada determinación se realizó por triplicado.

Determinación de grado de hidrólisis de proteínas

Este parámetro se determinó como lo describe Adler-Nissen (1979), con algunas modificaciones. Alícuotas de 64 µL de extracto acuoso se mezclaron con 1 mL de tampón de fosfato de sodio 0.2125 M a pH 8.2 y 0.5 mL de TNBS al 0.2 % (v/v). La mezcla se agitó e incubó en baño de agua (OVAN TL60E, Suministro Grupo Esper, S. L., USA) durante 30 min a 50 °C, bajo condiciones de oscuridad. Concluido el tiempo se adicionó 1 mL de Na₂SO₃ 0.1 M para detener la reacción y se dejó reposar 10 min. En el blanco se sustituyó la muestra por agua destilada. Bajo las mismas condiciones se construyó una curva estándar de L-leucina (0 - 6 mM). La absorbancia se midió a 420 nm (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Scientific™, Massachusetts, USA) y cada determinación se realizó por triplicado.

La hidrólisis total se realizó pesando 0.5 g del queso al tiempo cero de maduración y se adicionaron 2.5 mL de HCl 6 N, la mezcla de reacción se incubó a 100 °C durante 24 h (EC33, Ríos Rocha S. A., Ciudad de México, México). Después se adicionaron 2.5 mL de NaOH y la mezcla se filtró a través de papel Whatman No. 1. Al sobrenadante se aplicó la metodología descrita para los extractos acuosos. El porcentaje de grado de hidrólisis (% GH) se calculó con la ecuación 1:

$$\% GH = \frac{NH_{2tx} - NH_{2t0}}{NH_{2HT} - NH_{2t0}} \times 100 \quad (1)$$

Donde: NH_{2tx} = cantidad de grupos α-amino libres al tiempo x de maduración, NH_{2t0} = cantidad de grupos α-amino libres al tiempo 0 de maduración y NH_{2HT} = cantidad de grupos α-amino libres totales en la muestra de queso a los 0 d de maduración.

Determinación *in vitro* de la actividad antioxidante Captación del radical libre DPPH

La determinación se realizó como lo describe Hernández-Galán *et al.* (2017), con modificaciones. Un volumen de 0.5 mL de extracto acuoso (proteína 0.3 mg/mL) o agua destilada (blanco), se mezcló con 1.5 mL de DPPH 0.125 mM (en metanol al 80 % v/v) y se dejó reposar durante 60 min en la oscuridad. Enseguida, las muestras se centrifugaron a 3483 g durante 5 min a 4 °C (Centrifuga Eppendorff 5810, Ham-

burgo, Alemania) y la absorbancia se leyó a 515 nm (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Scientific™, Massachusetts, USA). El porcentaje de captación del radical DPPH se calculó con la ecuación 2:

$$\text{Captación del DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{Blanco}} - A_{\text{Extracto}}}{A_{\text{Blanco}}} \times 100 \quad (2)$$

Donde A_{Blanco} = absorbancia del blanco y A_{Extracto} = absorbancia del extracto soluble.

Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

La determinación se realizó según el método descrito por Dávalos *et al.* (2004), con algunas modificaciones. Un volumen de 25 μL del extracto acuoso, o tampón de fosfato de potasio 75 mM a pH 7.4 en el caso del blanco y el control, se mezcló con 150 μL de fluoresceína 1.4 μM (diluida 1:1000 con tampón de fosfato de potasio 75 mM, pH 7.4). La mezcla se incubó durante 20 min a 37 °C, enseguida se añadieron 25 μL de AAPH 0.15 M. Una vez iniciada la reacción, las lecturas de fluorescencia a 37 °C se tomaron en intervalos de 1 min durante 1 h, a una longitud de onda de excitación de 485 nm y 535 nm de emisión, mediante un equipo BioTek Synergy 2 (Winooski, Vermont, USA). Bajo las mismas condiciones se preparó una curva de trolox (5 a 100 μM). Los cálculos de las áreas bajo la curva de decaimiento de la fluorescencia (AUC) de los extractos acuosos y curva estándar de trolox, se determinaron con el software Gen5™ (1.11 versión 2005, Winooski, Vermont, USA) del equipo BioTek Synergy 2. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como μM equivalentes de trolox/mL de extracto.

Perfil flash del queso añejo de Zacazonapan

El método utilizado fue el descrito por Dairou y Sieffermann (2002), con modificaciones. Para la prueba se reclutaron a 17 estudiantes del Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH). En la primera sesión, a cada panelista se le presentaron las muestras del queso A y del B con 0, 30 y 180 d de maduración. Las seis muestras (dos cubos de queso de 1 x 1 x 1.5 cm por muestra) fueron presentadas de forma aleatoria y simultánea en vasos de plástico del No. 0, codificados con números aleatorios de tres dígitos. Posteriormente, a los panelistas se les pidió crear una lista de atributos para diferenciar las muestras. A continuación, se socializó y consensó la información en una lista de 14 atributos (color amarillo, apariencia porosa, olor a pies, aroma a leche ácida, firmeza o dureza (al presionar el queso con las muelas), desmoronable (en boca), arenosidad o granulosis, humedad, sabor salado, sabor ácido, sabor a queso madurado, pungencia o picor, sabor residual amargo, duración del sabor en la boca). En una segunda sesión, a cada panelista se le presentaron nuevamente las seis muestras simultáneamente (dos cubos de queso de 1 x 1 x 1.5 cm por muestra) y se le pidió jerarquizarlas para cada atributo utilizando una escala ordinal del 1 al 6, considerando 6 como la muestra con la mayor intensidad del atributo. Los panelistas tuvieron disponible agua y galletas habaneras clásicas (Gamesa®) para enjuagarse la boca entre muestras.

Análisis de perfil de textura (APT)

El APT se realizó con el método señalado por Hernández-Morales *et al.* (2010), mediante un analizador de textura TA Xt2i (Stable Micro Systems; Surrey, UK) con una celda de carga de 5 kg. Las muestras (cilindros de 10 mm de diámetro y de altura) se comprimieron uniaxialmente a una deformación del 50 % utilizando un disco de acrílico de 35 mm de diámetro (A/BE35) y una velocidad de pre-ensayo y post-ensayo del cabezal de 1 mm/s. Los datos de la doble compresión permitieron obtener curvas de fuerza/tiempo (Figura 1), a partir de las cuales se calcularon los parámetros del APT como: la dureza que es el pico de fuerza (F) del área uno (A1) de la primera compresión, la adhesividad representa el trabajo necesario para retirar el disco que comprime la muestra y corresponde al área tres (A3). La cohesividad definida como la propiedad que le permite al queso permanecer unido después de una primera compresión y se calcula como el cociente del área dos entre el área uno (A2/A1). La elasticidad se refiere a la habilidad del queso para retornar a su altura original después de una primera compresión y se calcula dividiendo la distancia dos entre la uno (D2/D1). Finalmente, la masticabilidad se refiere al trabajo necesario para realizar una doble compresión y corresponde al producto de $F * (A2/A1) * (D2/D1)$ (Rahman *et al.*, 2021).

Análisis estadístico

El diseño aplicado fue un completamente al azar con arreglo factorial, el cual consideró dos factores: queso (dos niveles A y B) y tiempo de maduración (cuatro niveles 0, 30, 95 y 180 d). Las medias se compararon con la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con $\alpha = 5 \%$, usando el programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute Inc., Carolina del Norte, USA). En el perfil flash se utilizó un diseño completamente al azar para seleccionar panelistas que mostrarán diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la mayoría de los atributos,

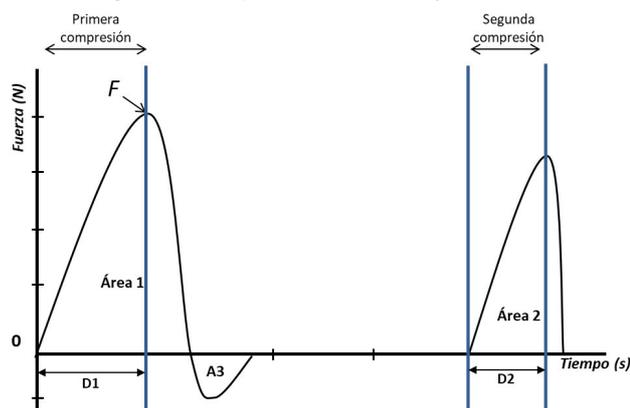


Figura 1. Curva de análisis de perfil de textura (APT). Los cálculos de las propiedades texturales: dureza = F (N), adhesividad = $A3$ (N·s), Cohesividad = $A2/A1$ (adimensional), elasticidad = $D1/D2$ (adimensional) y masticabilidad = dureza x cohesividad x elasticidad (N). Modificado de Rahman *et al.* (2021).

Figure 1. Texture profile analysis curve (TPA). Calculations of textural properties: hardness = F (N), stickiness = $A3$ (N·s), Cohesiveness = $A2/A1$ (dimensionless), elasticity = $D1/D2$ (dimensionless) and chewiness = hardness x cohesiveness x elasticity (N). Modified from Rahman *et al.* (2021).

mediante el programa SAS 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Con los datos de los panelistas seleccionados se realizó un análisis procrusteano generalizado (APG) mediante el programa XLSTAT versión 2014 (Addinsoft, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fisicoquímico del queso

El análisis estadístico indicó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto a los factores queso, tiempo de maduración y su interacción. En la figura 2 se muestran las variables de respuesta con diferencia significativa respecto al factor queso, en este caso, el queso B registró los mayores contenidos en proteína (28.33 %), sólidos totales (64.74 %) y sal (2.28 %). Esta última variable se asocia con la reducción de la actividad de agua (a_w) que, a su vez, regula el crecimiento microbiano afectando la actividad enzimática. En la maduración, la actividad enzimática sobre las proteínas es determinante en el desarrollo de compuestos del sabor y en la formación de péptidos de alto y mediano peso molecular, así como en la presencia de aminoácidos libres (Fox *et al.*, 2017; Tekin y Hayaloglu, 2022).

Por otra parte, el queso A presentó el mayor porcentaje de grasa (27.80 %) y de humedad (37.92 %) (Figura 2). Esta última variable se encuentra relacionada con las etapas del proceso de elaboración del queso, por ejemplo, las veces que la cuajada se corta y se drena, así como el número de veces que es molida antes de colocarse en los moldes (Hernández-Morales *et al.*, 2010).

Las variables que presentaron diferencia significativa, respecto al factor tiempo de maduración, se muestran en la Figura 3. La proteína en el tiempo 180 d presentó un incremento del 10.8 % comparado con el tiempo 0 d. Respecto al contenido de grasa se observó el mayor valor a los 180 d (29.59 %). En consecuencia, los sólidos totales incrementaron de 54.02 a 71.23 % durante el transcurso de la maduración.

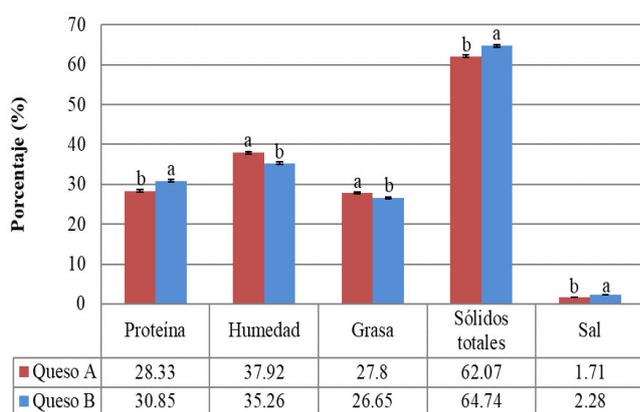


Figura 2. Composición de los quesos A y B. Los resultados se reportan como valores promedio (\pm error estándar) con diferencia significativa (DMS, $p \leq 0.05$) respecto al factor queso. Las letras a y b indican diferencia entre quesos.

Figure 2. Composition of cheeses A and B. The results are reported as mean values (\pm standard error) with a significant difference (DMS, $p \leq 0.05$) with respect to cheese factor. Letters a and b indicate difference between cheeses.

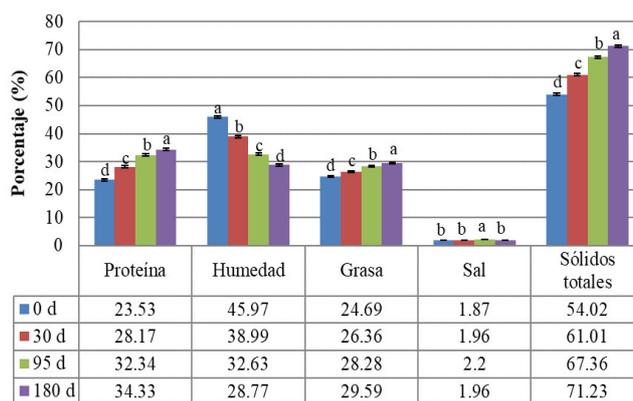


Figura 3. Composición de los quesos A y B. Los resultados se reportan como valores promedio (\pm error estándar) con diferencia significativa (DMS, $p \leq 0.05$) respecto al tiempo de maduración (0, 30, 95 y 180 d). Las letras a, b, c y d indican diferencia entre tiempos.

Figure 3. Composition of cheeses A and B. The results are reported as mean values (\pm standard error) with a significant difference (DMS, $p \leq 0.05$) regarding the ripening time (0, 30, 95 and 180 d). The letters a, b, c and d indicate difference between times.

Por otra parte, la humedad disminuyó 1.6 veces entre el tiempo inicial y el final de la maduración. Este comportamiento es similar al reportado en queso Provolone, donde la humedad promedio inicial fue 45.70 % y decreció hasta 34.73 % a los 270 d (Manzo *et al.*, 2019). La tendencia en las diversas variables de respuesta puede explicarse considerando que la elaboración de queso constituye un proceso de deshidratación, el cual está determinado por factores como la temperatura, sinéresis, acidificación de la pasta, trabajo mecánico, adición de sal y la maduración del queso. Estos factores favorecen la concentración de los principales componentes de la leche (proteína y grasa) y la pérdida de agua (Fox *et al.*, 2017; Tekin y Hayaloglu, 2022).

Referente a la interacción de factores queso-tiempo de maduración, el pH en el queso A disminuyó hasta 5.26 a los 30 d (Figura 4), mientras que en el queso B permaneció constante entre 5.31-5.39 (Figura 4). El descenso del pH está asociado con la lactosa residual, la cual es metabolizada en ácido láctico y otros ácidos orgánicos. Otros factores implicados en el comportamiento del pH son la relación ácido láctico y compuestos amortiguadores formados durante la proteólisis en el queso, así como la desaminación de aminoácidos y la conversión de ácidos grasos a metilcetonas (Manzo *et al.*, 2019; Ruvalcaba-Gómez *et al.*, 2020; Tekin y Hayaloglu, 2022).

Otra variable de respuesta importante durante la maduración es la actividad de agua (a_w), la cual debe mantenerse en un mínimo de 0.92 para favorecer el crecimiento de los microorganismos presentes en el queso (Fox *et al.*, 2017). En el queso añejo de Zacazonapan al finalizar la maduración (180 d) la a_w disminuyó a 0.93 en el queso A y 0.90 en el queso B (Figura 4). Este comportamiento ha sido observado en queso Tulum, el cual presentó una a_w de 0.942 a los siete días de elaboración, mientras que a los 180 d de maduración fue de 0.888 (Öztürk *et al.*, 2021b), los autores relacionaron este cambio con la disminución de la humedad. Por otra parte, el contenido de sal afecta la a_w

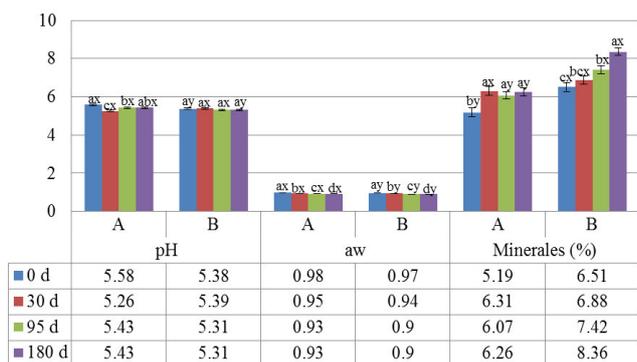


Figura 4. pH, actividad de agua (a_w) y minerales de los quesos A y B a los 0, 30, 95 y 180 d de maduración. Los resultados se reportan como valores promedio (\pm error estándar) con diferencia significativa (DMS, $p \leq 0.05$) para la interacción de factores queso y tiempo de maduración. Las letras a, b, c y d indican diferencia entre tiempos; x, y indican diferencia entre quesos.

Figure 4. pH, water activity (a_w) and minerals of cheeses A and B at 0, 30, 95 and 180 d of ripening. The results are reported as mean values (\pm standard error) with significant differences (DMS, $p \leq 0.05$) for the interaction of cheese factors and ripening time. The letters a, b, c and d indicate difference between times; x, y indicate difference between cheeses.

ya que al incrementarse promueve las interacciones agua-proteína, por el efecto "salting-in" que permite la hidratación e hinchazón de la matriz de caseína. La a_w también disminuye por la hidrólisis de enlaces peptídicos, donde se liberan dos grupos cargados ($\text{NH}_3^+/\text{COO}^-$) que interactúan con el agua libre del queso (McSweeney y Sousa, 2000; Lamichhane *et al.*, 2018).

El porcentaje de minerales se incrementó conforme transcurrió la maduración, el queso B presentó los valores más altos entre 6.51 - 8.36 % (Figura 4). Cabe destacar que, el contenido de minerales es afectado por la acidificación, por ejemplo, controla la velocidad de disolución del fosfato de calcio coloidal de las micelas de caseína (Ruvalcaba-Gómez *et al.*, 2020).

Contenido de proteína soluble en extractos

El contenido de proteína soluble es una medida de la proteólisis primaria llevada a cabo durante la maduración del queso (Álvarez *et al.*, 2022). El análisis estadístico indicó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la interacción de queso y tiempo de maduración. Los valores más altos se presentaron a los 95 d, siendo 1.24 y 0.88 mg/mL para el queso A y B, respectivamente, los cuales disminuyeron con el transcurso de la maduración (Figura 5). Esto concuerda con lo encontrado por Alonzo-Paz *et al.* (2016) en extractos acuosos de queso Cotija, cuyo contenido de proteína a los 8 d fue de 0.54 mg/mL y disminuyó a los 90 d de maduración a 0.24 mg/mL. Por otra parte, autores señalan un incremento de la proteína soluble en queso Gouda, en este caso al tiempo 0 se observó un 0.249 mg/mL de proteína soluble y al finalizar la maduración de 0.261 mg/mL (Álvarez *et al.*, 2022). Algunos autores asocian este comportamiento, al incremento o disminución en la liberación de péptidos hidrófobos, los cuales modifican el perfil de solubilidad del contenido proteínico (Sarmadi y Ismail, 2010; Alonzo-Paz *et al.*, 2016).

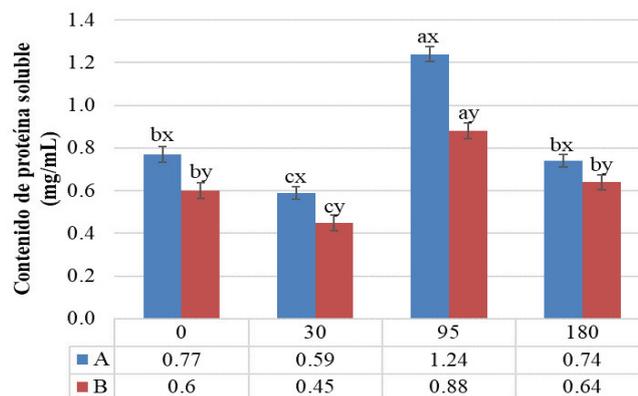


Figura 5. Proteína soluble (mg/mL) en extractos de queso añejo de Zacazonapan durante la maduración. Los resultados se reportan como valores promedio (\pm error estándar) con diferencia significativa (DMS, $p \leq 0.05$) para la interacción queso-tiempo de maduración. Las letras a, b, y c indican diferencia entre tiempos; x, y indican diferencia entre quesos.

Figure 5. Soluble protein (mg/mL) in extracts of añejo Zacazonapan cheese during ripening. The results are reported as mean values (\pm standard error) with a significant difference (DMS, $p \leq 0.05$) for the cheese-ripening time interaction. The letters a, b and c indicate difference between times; x, y indicate difference between cheeses.

Grado de hidrólisis de proteínas

El grado de hidrólisis presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto al tiempo de maduración, siendo de 7.43 y 6.44 % a los 95 y 180 d de maduración, respectivamente (Figura 6). Esta tendencia al incremento en el grado de hidrólisis de proteínas durante la maduración ha sido reportado en queso de cabra (Espinosa-Pesqueira *et al.*, 2018) y en queso Gouda (Álvarez *et al.*, 2022).

El incremento presentado en la proteólisis del queso añejo de Zacazonapan se considera bajo, por encontrarse en un intervalo del 1 al 10 % (Vioque *et al.*, 2001). En queso Cotija se ha reportado un grado de hidrólisis inicial de 7.89 % y en el transcurso de 90 d se incrementó a un 25 %. Cabe destacar que, este comportamiento se asocia con factores referentes al procesamiento del queso, como la aplicación de tratamiento térmico, adición de cultivos iniciadores, uso de leche cruda y la maduración (Aguilar-Toalá *et al.*, 2022). En específico, la microbiota presente en cada tipo de queso impacta la actividad enzimática; particularmente, porque utiliza a las proteínas como fuente de nitrógeno y genera la liberación de péptidos y aminoácidos a partir de la matriz proteica para garantizar su crecimiento (Matar *et al.*, 1996; Aguilar-Toalá *et al.*, 2022; Turan y Durak, 2022).

Actividad antioxidante

Captación del radical libre DPPH

La capacidad antioxidante de los extractos acuosos por captación del radical libre DPPH se muestra en la figura 7, el análisis estadístico indicó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto al factor tiempo de maduración, siendo los quesos con 30 y 180 d los que presentaron los mayores porcentajes (18.70 y 19.92 %, respectivamente). Este porcentaje es superior al reportado en queso Gouda, el cual inició con 6 % y tuvo un incremento de 0.6 unidades al concluir los 90

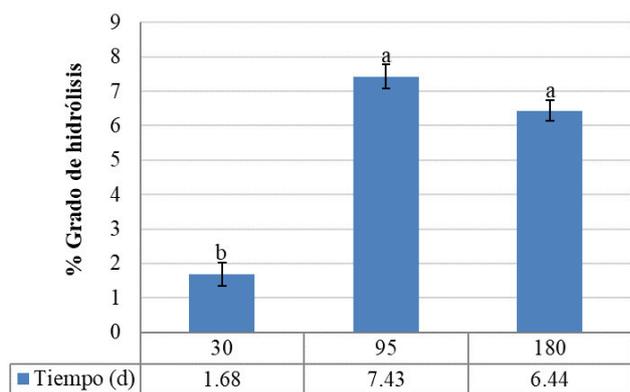


Figura 6. Porcentaje de grado de hidrólisis de queso añejo de Zacazonapan. Los resultados se reportan como valores promedio (\pm error estándar) con diferencia significativa (DMS, $p \leq 0.05$) para el tiempo de maduración. Las letras a y b indican diferencia entre tiempos.

Figure 6. Añejo Zacazonapan cheese degree of hydrolysis percentage. The results are reported as mean values (\pm standard error) with a significant difference (DMS, $p \leq 0.05$) for ripening time. Letters a and b indicate difference between times.

d de maduración, los autores argumentan que la estructura de los aminoácidos presentes en los péptidos no permitió la captación del radical DPPH (Álvarez *et al.*, 2022). Un comportamiento similar fue reportado en queso Domiati, cuya capacidad de captar el radical DPPH alcanzó un máximo a los 45 d y decreció a los 90 d de maduración (Taha *et al.*, 2020).

Öztürk y Akin (2018) señalan que la capacidad antioxidante se incrementa al transcurrir el tiempo de maduración, en el caso de queso Tulum al día 0 se observó un 13.25 % y al cabo de 120 d el porcentaje de captación del radical DPPH fue de 30.96 %. Por otro lado, Yang *et al.* (2021) han reportado en queso Cheddar un incremento de la capacidad antioxidante a los 5 meses de maduración (55.9 %) y un posterior decremento a los 9 meses (48.53 %). Este comportamiento se asocia con la proteólisis generada durante la maduración, en la cual los péptidos se liberan, acumulan y finalmente se degradan a aminoácidos, por lo que durante una maduración prolongada pueden generarse fragmentos peptídicos sin actividad biológica (Öztürk y Akin, 2021a; Baptista y Gigante, 2020).

Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

La capacidad de absorción de radicales peroxilo ($\text{ROO}\cdot$) presente en los extractos solubles del queso añejo de Zacazonapan se muestra en la Figura 8, el análisis estadístico mostró una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto a la interacción de factores queso-tiempo de maduración. El método utilizado para determinar la actividad antioxidante presenta un comportamiento similar a lo reportado previamente en la captación del DPPH. La capacidad de absorber radicales peroxilo de los péptidos presentes en los extractos fue de 668.5 y de 1608.8 μM equivalentes de trolox/ mL de extracto al tiempo 0, para los quesos A y B, el cual aumentó a los 180 d hasta 8119.3 y 6474.5 μM equivalentes de trolox/mL de extracto, respectivamente. Estos valores son superiores a los reportados para queso crema de Chiapas (185.6 – 311.1 μM

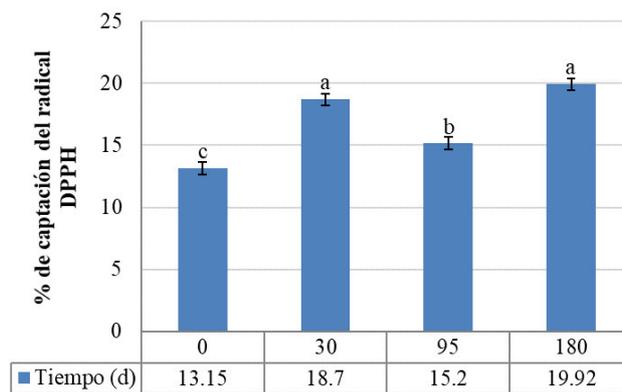


Figura 7. Porcentaje de captación del radical DPPH. Los resultados se reportan como valores promedio (\pm error estándar) con diferencia significativa (DMS, $p \leq 0.05$) respecto al tiempo de maduración. Las letras a, b y c indican diferencia entre tiempos.

Figure 7. DPPH radical scavenging percentage. The results are reported as mean values (\pm standard error) with a significant difference (DMS, $p \leq 0.05$) regarding ripening time. The letters a, b and c indicate difference between times.

equivalentes de trolox/mL de extracto), queso fresco (158.8 – 176.1 μM equivalentes de trolox/mL de extracto soluble) y queso cocido (159.0 – 23.9 μM equivalentes de trolox/mL de extracto soluble), con menor tiempo de maduración entre 10 - 20 d (Aguilar-Toalá *et al.*, 2022). Adicional a la dinámica de los péptidos durante el transcurso de la maduración, Hernández-Ledesma *et al.* (2005) señalan una elevada actividad antioxidante de péptidos obtenidos a partir de hidrolizados de α -lactoalbumina y β -lactoglobulina, relacionada con la presencia de aminoácidos tales como el Trp, la Tyr y la Cys, los cuales son donantes de hidrógeno para los radicales $\text{ROO}\cdot$. Los primeros dos aminoácidos promueven la formación de radicales indoilo y fenoxilo más estables, mientras que la Met puede ser oxidada a sulfóxido de Met.

Perfil flash del queso añejo de Zacazonapan

A partir del análisis estadístico se seleccionaron 10 atributos para describir las muestras y 15 panelistas, por su capacidad de discriminación entre muestras, expresada en el mayor número de variables de respuesta significativas. El análisis de componentes principales (ACP) indicó que, la variabilidad total que explican los dos primeros componentes fue de 89.13 %, en el componente uno (CP1, 67.04 %) las cargas más importantes incluyeron a los atributos de pungencia o picor, sabor a queso madurado, firmeza o dureza y apariencia porosa. En el componente dos (CP2, 22.10 %) las cargas más importantes las presentaron los atributos de color amarillo, arenosidad o granulosidad, desmorable (en boca), aroma a leche ácida (Cuadro 1).

Los atributos sensoriales como el aroma, sabor, color, textura y apariencia son factores determinantes en la aceptabilidad de los quesos madurados (Khattan *et al.*, 2019). En la Figura 9 se observa la distribución de los quesos de acuerdo a los atributos consensuados, los quesos con una maduración de 180 d se asociaron con atributos como: sabor residual amargo, olor a pies, firmeza o dureza, pungencia o picor,

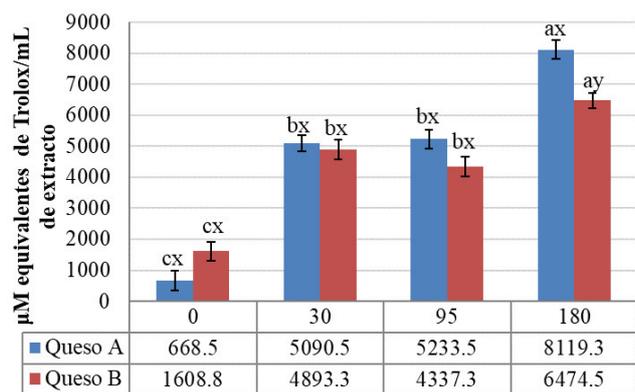


Figura 8. Capacidad de absorción de radicales de oxígeno. Los resultados se reportan como valores promedio (\pm error estándar) con diferencia significativa (DMS, $p \leq 0.05$) respecto para la interacción queso-tiempo de maduración. Las letras a, b y c indican diferencia entre tiempos; x, y indican diferencia entre quesos.

Figure 8. Oxygen radical absorption capacity. The results are reported as mean values (\pm standard error) with a significant difference (DMS, $p \leq 0.05$) regarding cheese-ripening time interaction. The letters a, b and c indicate difference between times; x, y indicate difference between cheeses.

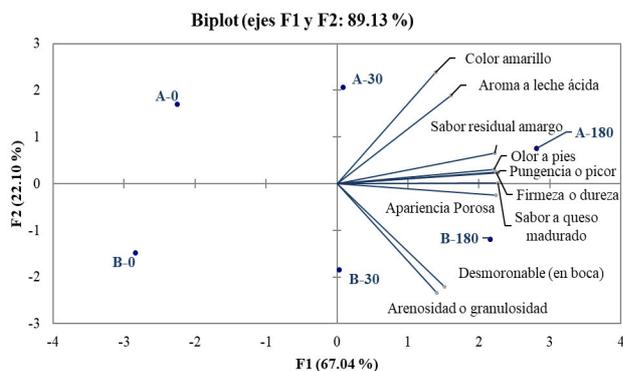


Figura 9. Distribución de los quesos A y B con 0, 30 y 180 días de maduración de acuerdo con los atributos consensuados.

Figure 9. Distribution of A and B cheeses with 0, 30 and 180 days of ripening according to agreement with consensual attributes.

Cuadro 1. Cargas de los atributos sensoriales para los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2).

Table 1. Charges of sensory attributes for the first two principal components (PC1 and PC2).

Atributo sensorial	CP1	CP2
Color amarillo	0.607	0.791
Apariencia porosa	0.983	-0.084
Olor a pies	0.970	0.103
Aroma a leche ácida	0.705	0.630
Firmeza o dureza	0.984	0.082
Desmorable (en boca)	0.665	-0.733
Arenosidad o granulosidad	0.618	-0.775
Sabor a queso madurado	0.993	0.003
Pungencia o picor	0.995	0.076
Sabor residual amargo	0.974	0.216

sabor a queso madurado y apariencia porosa; características opuestas a los quesos frescos. Las características desarrolladas en sabor y aroma, durante la maduración, se asocian a la mezcla de compuestos volátiles y no volátiles producto de reacciones bioquímicas como la proteólisis, lipólisis y glicólisis (Khatab *et al.*, 2019). En la proteólisis se liberan péptidos hidrofóbicos que se asocian al sabor amargo, y también se liberan aminoácidos que contribuyen al sabor dulce (Ala, Gly, Ser, Thr, Lys y Pro), ácido (Asp, Glu y Asn), amargo (His, Met, Val, Arg, Phe, etc.) y umami (glutamato y aspartato de sodio) en el queso (Fox *et al.*, 2017).

Análisis de perfil de textura (APT)

El sabor y la textura del queso se ven afectados a medida que avanza la maduración, los resultados del análisis de varianza indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto a la interacción queso-tiempo de maduración para los parámetros dureza, adhesividad, elasticidad y masticabilidad (Cuadro 2).

Cuadro 2. Dureza, adhesividad, elasticidad y masticabilidad del queso añejo de Zacazonapan con diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto a la interacción de factores queso y tiempo de maduración.

Table 2. Hardness, adhesiveness elasticity and chewiness of añejo Zacazonapan cheese with significant difference ($p \leq 0.05$) for interaction of cheese and ripening time factors.

Parámetro	Queso	Tiempo de maduración (d)			
		0	30	95	180
Dureza (N)	A	1.47 \pm 0.35d ^{xw}	2.61 \pm 0.35cx	6.78 \pm 0.35bx	11.13 \pm 0.28ax
	B	1.33 \pm 0.35dx	2.47 \pm 0.35cx	6.85 \pm 0.35bx	8.82 \pm 0.35ay
Adhesividad (N-s)	A	-0.02 \pm 0.02cx	-0.10 \pm 0.02bx	-0.22 \pm 0.01ax	-0.22 \pm 0.01ax
	B	-0.005 \pm 0.02ax	-0.03 \pm 0.02ay	-0.04 \pm 0.02ay	-0.01 \pm 0.02ay
Elasticidad	A	0.23 \pm 0.05cx	0.40 \pm 0.05bx	0.49 \pm 0.05abx	0.63 \pm 0.05ax
	B	0.50 \pm 0.05ay	0.54 \pm 0.05ax	0.45 \pm 0.05ax	0.48 \pm 0.05ax
Masticabilidad	A	0.26 \pm 0.11cx	0.42 \pm 0.11bx	1.27 \pm 0.11abx	1.42 \pm 0.11ax
	B	0.28 \pm 0.11ay	0.34 \pm 0.11ax	0.44 \pm 0.11ax	0.48 \pm 0.11ax

^wMedias \pm error estándar seguidas con distinta letra (a, b, c, d) en fila indican diferencia estadística entre tiempos (DMS, $p \leq 0.05$).

^xMeans \pm standard error with different letters (a, b, c, d) in a row indicate statistical difference between cheeses (DMS, $p \leq 0.05$).

La mayor dureza se alcanzó a los 180 d, siendo de 8.82 N para el queso B y de 11.13 N para el queso A. Estos quesos se caracterizaron por un menor contenido de humedad y mayor contenido de proteína, lo cual se asocia con una microestructura de las redes proteicas más ramificada, más densa y con mayor grado de reticulación (Enab y Abd, 2012). Este incremento en la dureza fue observado en el queso Tulum, a los dos primeros días de maduración presentó una fuerza de 1456.35 N, la cual aumentó a 3303.64 N, a los 90 d (Tomar *et al.*, 2020). A diferencia del queso Cheddar, en el cual la dureza disminuyó de 15.69 a 8.15 N en un tiempo de 90 d, debido a las condiciones y características de su proceso, por ejemplo, una humedad adecuada permite que el agua se una a la red de caseína y mantenga una buena textura en el queso tipo Cheddar, si la humedad es alta causaría una disminución de la viscosidad y la dureza del queso (Hickey *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2019).

La adhesividad fue mayor en el queso A con - 0.22 N-s a los 95 y 180 d de maduración, mientras que el queso B no presentó diferencia significativa durante el transcurso de la maduración. Por otra parte, la elasticidad del queso A fue de 0.23 al inicio de la maduración e incremento 0.4 unidades a los 180 d (0.63). Otra variable textural importante para el consumidor es la masticabilidad (Lamichhane *et al.*, 2018), en la cual ambos quesos presentaron un aumento al concluir los 180 d de maduración, siendo de 1.42 y 0.48 para los quesos A y B, respectivamente. Hernández-Morales *et al.* (2010) relacionan valores menores en elasticidad, dureza y masticabilidad con un alto contenido de grasa en quesos de Zacazonapan con 23 a 27 d de maduración.

Respecto a la cohesividad, el análisis estadístico señaló diferencia significativa ($p \leq 0.05$) para los factores queso y tiempo de maduración. La mayor cohesividad se observó en el queso A (0.32 N), mientras que al finalizar la maduración este atributo sensorial decreció 0.28 unidades respecto al tiempo 0 (Cuadro 3). Este comportamiento fue observado en queso Cheddar de dos años, el cual presentó menor cohesi-

Cuadro 3. Cohesividad del queso añejo de Zacazonapan con diferencia significativa ($p \leq 0.05$) para los factores queso y tiempo de maduración.

Table 3. Cohesiveness of añejo Zacazonapan cheese with a significant difference ($p \leq 0.05$) for cheese and ripening time factors.

Variable respuesta	Queso	
	A	B
Cohesividad	0.32±0.013a	0.20±0.014b
Medias ± error estándar con distinta letra (a, b) en fila indican diferencia estadística entre quesos (DMS, $p \leq 0.05$). Means ± standard error with different letters (a, b) in a row indicate statistical difference between cheeses (DMS, $p \leq 0.05$).		
Tiempo de maduración (d)	Cohesividad	
0	0.43 ± 0.02a	
30	0.28 ± 0.02b	
95	0.19 ± 0.02c	
180	0.15 ± 0.02c	
Medias ± error estándar con distinta letra (a, b, c) en columna indican diferencia estadística entre tiempos (DMS, $p \leq 0.05$). Means ± standard error with different letters (a, b, c) in column indicate statistical difference between times (DMS, $p \leq 0.05$).		

vidad y elasticidad comparado con un queso Cheddar fresco, que exhibió mayor cohesividad y elasticidad, mediante determinaciones reológicas (Lamothe *et al.*, 2012). En suma, el proceso de elaboración de un queso afecta las características sensoriales (aroma y sabor) y texturales del mismo (Aguilar-Toalá *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

El queso añejo de Zacazonapan mostró cambios fisicoquímicos durante los 180 d de maduración, los cuales se relacionan con los principales componentes del queso (humedad, proteína y grasa). El incremento en la cantidad de proteína soluble en los extractos acuosos del queso y el porcentaje de grado de hidrólisis, son evidencia de la proteólisis llevada a cabo en el periodo de maduración. Este proceso bioquímico generó péptidos con la capacidad de donar electrones al radical libre DPPH o átomos de hidrógeno a los radicales peroxilo (ROO·), haciéndolos moléculas estables y menos perjudiciales (ruptura de la reacción en cadena del radical) para las biomoléculas. Cabe destacar, que este es el primer reporte de péptidos con actividad antioxidante en el queso añejo de Zacazonapan.

Por otra parte, el perfil flash permitió diferenciar entre quesos frescos (0 d) y madurados (180 d) con base en los atributos consensuados por el grupo de panelistas. En este sentido, los atributos sensoriales que describieron al queso añejo de Zacazonapan con 180 d de maduración fueron sabor residual amargo, olor a pies, firmeza o dureza, pungencia o picor, sabor a queso madurado y apariencia porosa. Además, estos quesos presentaron mayor dureza y masticabilidad que los quesos frescos.

La información generada en la presente investigación permitió describir al queso añejo de Zacazonapan desde un ámbito fisicoquímico, bioactivo, sensorial y textural. Este conocimiento abre la posibilidad a los productores para mejorar su proceso de elaboración, resaltar las características sensoriales y el potencial bioactivo de su producto. Así mismo, esta información contribuye a la tipicidad y revalorización del queso, lo cual podría impactar de manera positiva a la cadena agroalimentaria que este sustenta, y a su vez al desarrollo económico rural y regional.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado por la Universidad Autónoma Chapingo a través de la Dirección General de Investigación y Posgrado. Además del apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, y el Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología, a las autoridades y pobladores del Municipio de Zacazonapan por su contribución al desarrollo del trabajo de campo.

REFERENCIAS

- Adler-Nissen, J. 1979. Determination of the Degree of Hydrolysis of Food Protein Hydrolysates by Trinitrobenzenesulfonic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 27(6): 1256-1262. <https://doi.org/10.1021/jf60226a042>

- Aguilar-Toalá, J.E., Torres-Llenez, M.J., Hernández-Mendoza, A., Reyes-Díaz, R., Vallejo-Cordoba, B. and González-Córdova, A.F. 2022. Antioxidant capacity and identification of radical scavenging peptides from Crema de Chiapas, Fresco and Cocido cheeses. *Journal of Food Science and Technology*. 59(7): 2705-2713. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05291-2>
- Alonzo-Paz, A.L., Lugo-Cervantes, E.C., Tovar-Pérez, E.G. and Chombo-Morales, M.P. 2016. Evaluación de la proteólisis del queso Cotija región de origen MC asociado al tiempo de maduración. En *Memorias del XXXVII Encuentro Nacional de la AMIDIQ*.
- Álvarez, R.L., Arrieta, B.D., Dávila, O.G., Ruiz, R.J.C. and Toledo, L.V.M. 2022. Antioxidant and antihypertensive activity of Gouda cheese at different stages of ripening. *Food Chemistry*. 14: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100284>
- Banihashemi, S.A., Nikoo, M., Ghasempour, Z. and Ehsani, A. 2020. Bioactive peptides fractions from traditional Iranian Koopeh cheese; lactic fermentation products. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 29 (101798): 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101798>
- Baptista, D.P. and Gigante, M.L. 2021. Bioactive peptides in ripened cheeses: release during technological processes and resistance to the gastrointestinal tract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 101(10): 4010-4017. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11143>
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1-2): 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Dairou, V. and Sieffermann, J. M. 2002. A comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the Flash Profile. *Journal of Food Science*. 67(2): 826-834. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10685.x>
- Dávalos, A., Gómez-Cordovés, C. and Bartolomé, B. 2004. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-Fluorescein) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(1): 48-54. <https://doi.org/10.1021/jf0305231>
- Dias da Silva, D., de Lima, M.D.S.F., da Silva, Fernandes da Silva, M., da Silva G.R., Campos, J.F., Campos A.W.W., Holanda, M.T. and Figueiredo, P.A.L. 2019. Bioactive water-soluble peptides from fresh buffalo cheese may be used as product markers. *LWT-Food Science and Technology*. 108: 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.035>
- Domingues, G.B., Parra, B.D., Giacometti, C.F. y Lúcia, G.M. 2019. *Lactobacillus rhamnosus* GG improves the sensorial profile of Camembert-type cheese: An approach through flash-profile and CATA. *LWT-Food Science and Technology*. 107: 72-78. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.077>
- Enab, A.K., Hassan, F.A.M. and Abd, M.A.M.G.E. 2012. Effect of manufacture steps on cheese structure (review). *International Journal of Academic Research*. 4(6): 79-89. <https://doi.org/10.7813/2075-4124.2012/4-6/a.11>
- Espinosa-Pesqueira, D., Hernández-Herrero, M.M. and Roig-Sagués, A.X. 2018. High hydrostatic pressure as a tool to reduce formation of biogenic amines in artisanal Spanish cheeses. *Foods*. 7(9): 137. <https://doi.org/10.3390/foods7090137>
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M. y McSweeney, P.L.H. 2017. *Fundamentals of Cheese Science*. 2 nd. ed. Springer, New York, NY.
- Hernández-Galán, L., Cardador-Martínez, A., López-del-Castillo, M., Picque, D., Spinnler, H.E. and Martín del Campo, S.T. 2017. Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fresh goat cheese prepared without starter culture: a preliminary study. *CyTA - Journal of Food*. 15: 49-57. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1202325>
- Hernández-Ledesma, B., Dávalos, A., Bartolomé, B. and Amigo, L. 2005. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 588-593. <https://doi.org/10.1021/jf048626m>
- Hernández-Morales, C., Hernández-Montes, A., Aguirre-Mandujano, E. and Villegas, A. 2010. Physicochemical, microbiological, textural and sensory characterisation of Mexican Añejo cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 63: 552-560. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00615.x>
- Kariyawasam, K.M.G.M.M., Jeewanthi, R.K.C., Lee, N.K. and Paik, H.D. 2019. Characterization of cottage cheese using *Weissella cibaria* D30: Physicochemical, antioxidant, and antilisterial properties. *Journal of Dairy Science*. 102(5): 3887-3893. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15360>
- Khan, I.T., Nadeem, M., Imran, M., Ullah, R., Ajmal, M. and Jaspal, M.H. 2019. Antioxidant properties of Milk and dairy products: A comprehensive review of the current knowledge. *Lipids in Health and Disease*. 18(1): 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-0969-8>
- Khattab, A.R., Guirguis, H.A., Tawfik, S.M. and Farag, M.A. 2019. Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*. 88: 343-360. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.009>
- Lamichhane, P., Kelly, A.L. and Sheehan, J.J. 2018. Symposium review: Structure-function relationships in cheese. *Journal of Dairy Science*. 101(3): 2692-2709. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13386>
- Lamothe, S., Corbeil, M.M., Turgeon, S.L. and Britten, M. 2012. Influence of cheese matrix on lipid digestion in a simulated gastro-intestinal environment. *Food and Function*. 3(7): 724-731. <https://doi.org/10.1039/c2fo10256k>
- López-Villafaña, B.P., Rojas-González, S., Elías-Román, R.D. and Rodríguez-Hernández, G. 2023. The evolution of antioxidative properties of protein-derived peptides of Mexican Panela goat and cow milk cheese during its shelf life. *CyTA - Journal of Food*. 21(1): 57-63. <https://doi.org/10.1080/19476337.2022.2152100>
- Matar, C., Amiot, J., Savoie, L. and Goulet, J. 1996. The effect of milk fermentation by *Lactobacillus helveticus* on the release of peptides during in vitro digestion. *Journal of Dairy Science*. 79(6): 971-979. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76448-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76448-2)
- Manzo, N., Santini, A., Pizzolongo, F., Aiello, A., Marrazzo, A., Meca, G., Durazzo, A., Lucarini, M. and Romano, R. 2019. Influence of ripening on chemical characteristics of a traditional Italian cheese: Provolone del Monaco. *Sustainability*. 11(9): 2520. <https://doi.org/10.3390/su11092520>

- McSweeney, P.L.H. and Sousa, M.J. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*. 80: 293-324.
- Öztürk, H.İ. and Akin N. 2021a. Effect of ripening time on peptide dynamics and bioactive peptide composition in Tulum cheese. *Journal of Dairy Science*. 104(4): 3832-3852. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19494>.
- Öztürk, H.İ., Konak, G.C. and Akin N. 2021b. Proteolysis pattern and functional peptides in artisanal Tulum cheeses produced from Mut province in Turkey. *LWT-Food Science and Technology*. 149: 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111642>.
- Öztürk, H.İ. and Akin, N. 2018. Comparison of some functionalities of water soluble peptides derived from Turkish cow and goat milk Tulum cheeses during ripening. *Food Science and Technology*. 38: 674-682. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.11917>
- Pritchard, S.R., Phillips, M. and Kailasapathy, K. 2010. Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese. *Food Research International*. 43 (5): 1545-1548. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.03.007>
- Rafiq, S., Gulzar, N., Sameen, A., Huma, N., Hayat, I. and Ijaz, R. 2021. Functional role of bioactive peptides with special reference to cheeses. *International Journal of Dairy Technology*. 74(1). 1-16.
- Rahman, M.S., Al-Attabi, Z.H., Al-Habsi, N. and Al-Khusaibi, M. 2021. Measurement of Instrumental Texture Profile Analysis (TPA) of Foods. In: Khan, M.S., Rahman, M.S. (eds) *Techniques to Measure Food Safety and Quality*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-68636-9_17
- Ruvalcaba-Gómez, J.M., Ruiz-Espinosa, H., Arteaga-Garibay, R.I., Rojas-López, M., Amador-Espejo, G.G., Anaya-Esparza, L.M. and Delgado-Macuil, R.J. 2020. Texture, physicochemical and sensory properties of artisanal Adobera cheese from Los Altos de Jalisco, a genuine Mexican cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 70: 1-10. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12676>
- Santiago-López, L., Aguilar-Toalá, J.E., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Córdoba, B., Liceaga, A.M. and González-Córdova, A.F. 2018. Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. *Journal of Dairy Science*. 101(5): 3742-3757. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13465>
- Sarmadi, B.H. and Ismail, A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*. 31: 1949-1956. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12732>
- Taha, S., El Abd, M., De Gobba, C., Abdel-Hamid, M., Khalil, E., Hassan, F. U. and Fathy, D. 2020. The multifunctional activity of water-soluble peptides' extract of Domiati cheese during accelerated ripening by Neutrase. *Journal of Food Processing and Preservation*. 44(5): e14434. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14434>
- Tekin, A. and Hayaloglu, A.A. 2022. Understanding the mechanism of ripening biochemistry and flavour development in brine ripened cheeses. *International Dairy Journal*. 137: 105508. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105508>
- Timón, M.L., Andres, A.I., Otte, J. and Petró, M.J. 2019. Antioxidant peptides (<3 kDa) identified on hard cow milk cheese with rennet from different origin. *Food Research International*. 120: 643-649. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.019>
- Tomar, O., Akarca, G., Gök, V. and Çağlar, Y. 2020. The effects of packaging materials on the fatty acid composition, organic acid content, and texture profiles of Tulum cheese. *Journal of Food Science*. 85(10): 3134-3140. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15404>
- Torres-Salas, V. and Hernández-Montes, A. 2021a. Los valores humanos en el consumo del queso añejo de Zacazonapan. *Nova Scientia*. 13(26). <https://doi.org/10.21640/ns.v13i26.2826>
- Torres-Salas, V. and Hernández-Montes, A. 2021b. Respuestas emocionales en consumidores de Queso de Zacazonapan y probabilidad de consumo durante maduración. *Agrociencia*. 55(3): 243-259.
- Torres-Salas, V., Hernández-Montes, A., Pablo-Cano, M., Jáuregui-García, C.Z., Peralta-Aparicio, C. and Espejel-García, A. 2020. Comunalidades de significados para quesos tradicionales mexicanos: queso de Zacazonapan, Quesillo y queso de Poro. *Acta universitaria*. 30: 1-13. <https://doi.org/10.15174/au.2020.2875>
- Torres-Salas, V., Hernández-Rodríguez, B.E., Hernández-Montes, A., Castillo, E., Zuleta-Prada, H. and Herbert-Pucheta, J.E. 2021. Solid-state NMR spectroscopy for disentangling structural and motional features of lyophilized ripened cheese water-soluble extracts related to antimicrobial activity. *Food Chemistry*. 334: 127603. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127603>
- Turan, N. and Durak, M.Z. 2022. The identification of antioxidant and ACE-I peptides in different turkish ripened cheeses. *Journal of Food Science and Technology*. 59(8): 3274-3282. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05414-3>
- Villegas, D.G.A. 2004. *Tecnología quesera*. México. Trillas.
- Vioque, J., Clemente, A., Pedroche, J., Yust, M. del M. and Millán, F. 2001. Obtención y aplicaciones de hidrolizados proteicos. *Grasas y Aceites*. 52: 132-136.
- Yang, W., Hao, X., Zhang, X., Zhang, G., Li, X., Liu, L. Sun, Y. and Pan, Y. 2021. Identification of antioxidant peptides from cheddar cheese made with *Lactobacillus helveticus*. *LWT - Food Science and Technology*. 141: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110866>
- Zhao, X., Zheng, Z., Zhang, J., Sarwar, A., Aziz, T. and Yang, Z. 2019. Change of proteolysis and sensory profile during ripening of Cheddar-style cheese as influenced by a microbial rennet from rice wine. *Food Science Nutrition*. 7(4): 1540-1550. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1003>