Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Ingeniería Química
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Maestría en Ingeniería Química

TESIS

APLICACIÓN DE TERMOSONICACIÓN E INCORPORACIÓN DE PROTEÍNAS SÉRICAS EN LECHE BOVINA PARA EL MEJORAMIENTO DE CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE QUESO FRESCO REDUCIDO EN GRASA

Ing. PAOLA JACQUELINE GIBBENS BANDALA

MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA

Asesor de tesis:

M.C. Héctor Ruiz Espinosa

Coasesor de tesis:

Dr. Genaro Gustavo Amador Espejo

CONACYT-CIBA IPN

H. Puebla de Z., Noviembre de 2016

ÍNDICE

RESUMEN 1
INTRODUCCIÓN 2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 4
JUSTIFICACIÓN 6
OBJETIVOS 8
Objetivo general 8
Objetivos específicos 8
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO 9
1.1 Propiedades fisicoquímicas de la leche 9
1.2 Composición química de la leche 11
1.3 Generalidades del Queso 16
1.4 Productos Lácteos Bajos en Grasa 19
1.4.1 Modificación en los procesos de elaboración 20
1.4.2 Adición de cultivos 20
1.4.2 Sustitución de grasa 21
1.5 Tratamientos de Conservación 25
1.6 Ultrasonido (US) 28
1.6.1 Cavitación 30
1.6.2 Ultrasonido de potencia en sistemas lácteos 31
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA 35
2.1 Etapa I. Pruebas preliminares 35
2.1.1 Materiales 35
2.1.2 Preparación de muestras 35
2.1.3 Tratamientos de termosonicación 35
2.1.4 Capacidad de retención de agua 36
2.1.5 Firmeza de gel 37
2.1.6 Color 38
2.1.7 pH 38

2.1.8 Acidez titulable 38
2.1.9 Diseño experimental. Etapa I 39
2.2 Etapa II. Elaboración y evaluación de quesos 39
2.2.1 Preparación de las muestras 39
2.2.2 Tratamientos de termosonicación 39
2.2.3 Elaboración de queso tipo Panela 40
2.2.4 Rendimiento simple 40
2.2.5 Composición del suero 40
2.2.6 Humedad 40
2.2.7 Actividad de agua 41
2.2.8 Análisis de perfil de textura 41
2.2.9 Proteína 42
2.2.10 Grasa 42
2.2.11 Color 43
2.2.12 Cenizas 43
2.2.13 Cloruros 43
2.2.14 pH 44
2.2.15 Acidez titulable 44
2.2.16 Sinéresis 44
2.2.18 Análisis de datos. Etapa II 44
CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 45
3.1 Etapa I. Pruebas predictivas 45
3.1.1 Preparación de muestras 45
3.1.2 Potencia Efectiva por Calorimetría 46
3.1.3 Capacidad de Retención de Agua (CRA) 47
3.1.4 Firmeza de gel (FG) 49
3.1.5 Color 51
3.1.6 pH 55
3.1.7 Acidez Titulable 56
3.1.8 Análisis de Optimización de Resultados 57
3.2 Etapa II. Elaboración de queso tipo Panela 65
3.2.1 Preparación de muestras 65

3.2.2 Rendimiento 65
3.2.3 Humedad 67
3.2.4 Actividad de agua 69
3.2.5 Análisis de perfil de textura 69
3.2.6 Color 72
3.2.7 pH 75
3.2.8 Acidez Titulable 76
3.2.10 Proteína 79
3.2.11 Grasa 80
3.2.12 Cenizas 80
3.2.13 Cloruros 81
CAPITULO IV. CONCLUSIONES 82
REFERENCIAS 84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química global de la leche (Gil & Ruiz, 2010) 11
Tabla 2. Clasificación de quesos según su maduración (NOM 121-SSA1-1994)..... 17
Tabla 3. Clasificación de quesos de acuerdo al porcentaje de grasa..... 17
Tabla 4. Contenido de nutricional de concentrados y aislados de lactosuero 24
Tabla 5. Condiciones de tratamientos de US..... 39
Tabla 6. Composición química de leche entera, semidescremada y light..... 45
Tabla 7. Composición química de mezclas de leche y WPC..... 45
Tabla 8. Razón Proteína/Grasa en leche..... 46
Tabla 9. Efectos de tratamientos TS sobre la CRA de mezclas de leche estandarizada con WPC.... 47
Tabla 10. Efectos de tratamientos de TS sobre la firmeza (g) en gel..... 49
Tabla 11. Efectos de tratamientos TS sobre parámetros de evaluación de color 52
Tabla 12. Efecto del tratamiento de TS sobre el parámetro hue (h*) 53
Tabla 13. Efectos de tratamientos TS sobre parámetros Croma (C*)..... 54
Tabla 14. Efectos de tratamientos TS sobre el Cambio Neto de Color..... 54
Tabla 15. Valores de pH antes y después de tratamientos TS..... 55
Tabla 16. Valores de AT de mezclas a diferentes tratamientos de TS..... 57
Tabla 17. Variables analizadas en pruebas preliminares..... 58
Tabla 18. Diseño utilizado en la proyección de los factores..... 59
Tabla 19. Coeficientes de determinación generalizados (R^2) 60
Tabla 20. Coeficientes de variables del modelo de regresión 60
Tabla 21. Tratamientos seleccionados para trabajo en Etapa II..... 64
Tabla 22. Composición química de leche..... 65
Tabla 23. Composición química de mezclas de leche y WPC para elaboración de queso Panela 65
Tabla 24. Rendimientos verde y húmedo en quesos LTLT y elaborados por TS..... 66
Tabla 25. Porcentaje de humedad en quesos LTLT y elaborados con leche TS..... 68
Tabla 27. Análisis de perfil de textura de quesos LTLT y elaborados leche TS 71
Tabla 28. Parámetros de color en quesos LTLT y elaborados con leche TS..... 73
Tabla 29. Valores de pH en quesos LTLT y elaborados con leche TS durante su almacenamiento.. 75
Tabla 30. Valores de AT en quesos LTLT y elaborados con leche TS durante su almacenamiento .. 76
Tabla 31. Porcentaje de suero expelido durante el almacenamiento de quesos LTLT y elaborados con leche TS..... 78
Tabla 32. Composición de suero de quesos elaborados con leche TS durante el almacenamiento 78
Tabla 33. Contenido de proteína en quesos LTLT y elaborados con leche TS 79
Tabla 34. Contenido de grasa en quesos LTLT y elaborados con leche TS 80
Tabla 35. Contenido de cenizas en quesos LTLT y elaborados con leche TS 80
Tabla 36. Contenido de cloruro de sodio en quesos LTLT y elaborados con leche TS..... 81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de elaboración de queso tipo Panela. Adaptación (UNAM, 2010)..... 18
Figura 2. Esquema típico de un análisis de perfil de textura 41
Figura 3. Comparación de valores Experimentales vs Predichos por el modelo de regresión..... 61
Figura 4. Representación gráfica de las respuestas CRA y FG 62
Figura 5. Gráficas de contorno superpuestas para las respuestas CRA y FG..... 63

RESUMEN

A la fecha, existe un gran interés en la industria láctea por desarrollar nuevos ingredientes o tecnologías que permitan mejorar las propiedades texturales y reológicas de quesos bajos en grasa. En el presente trabajo, se evaluó la incorporación de proteínas de suero en leche bovina por medio de pretratamientos de termosonicación (TS) para ser empleados como un posible sustituto de grasa en productos lácteos selectos. En una primera etapa, se evaluó el efecto de tratamientos de TS sobre leche descremada y parcialmente descremada (2, 1 g grasa/100 g leche), con adiciones específicas de proteína concentrada de suero (WPC) de 0.67 y 1.33 g WPC/100 mL leche, respectivamente. Cada mezcla fue sometida a tratamientos de TS que conjuntaron procesos de ultrasonido (US) de alta intensidad (24 KHz, 400 W teóricos) a temperaturas (50, 55 y 60°C) y tiempos de exposición (2, 4 y 6 min) específicos seguidos de una pasteurización a baja temperatura por tiempos largos LTLT (63°C, 30 min). Se empleó leche entera (3 g grasa/100 g leche) pasteurizada LTLT como control. Para todas las muestras se analizaron parámetros fisicoquímicos y propiedades funcionales de leche incluyendo pH, acidez titulable (AT), capacidad de retención de agua (CRA), firmeza de gel (FG) y color, buscando identificar cambios en la matriz alimenticia atribuibles a la TS. Con los datos obtenidos, se estableció un modelo de regresión considerando los valores codificados para cada variable determinada (grasa, temperatura y tiempo de TS). De acuerdo a este modelo, se eligieron 3 condiciones de TS que presentaron valores de FG y parámetros fisicoquímicos (pH, AT, color) semejantes a los del control; pero, que con respecto a la CRA fueran igual, ligeramente mayor (5%) y mayor (10%) a la del control, con la finalidad de esperar respuestas semejantes al momento de elaborar queso tipo Panela. En la segunda etapa, se elaboraron quesos tipo Panela a partir de leche estandarizadas a proporciones fijas de grasa (1, 1, 1.5 g grasa/100 g leche) con 0.67, 0.67 y 1 g WPC/100 mL leche, a tiempos de TS (120, 144 y 120 s) y temperatura (50, 50, 60°C) específicos respectivamente, seguidos de una pasteurización LTLT. Se empleó leche entera (3 g grasa/100 g leche) pasteurizada LTLT como control. Los quesos elaborados con leche TS presentaron una mayor humedad (+9.64%), luminosidad y una dureza semejante a los quesos control. El queso elaborado con leche TS (60°C, 120 s) y 1.5 g grasa/100 g leche exhibió el mayor incremento de rendimiento (+6.98% con respecto al del queso control) y mejor retención proteica (+30%). Los valores de pH y acidez no mostraron diferencias significativas entre tratamientos. De acuerdo a lo observado, la incorporación de proteínas de suero en leche a través de tratamientos selectos de TS para elaborar quesos reducidos en grasa permite ofrecer un producto con atributos similares a uno fabricado con leche entera y sin defectos texturales apreciables.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha observado un crecimiento importante en el consumo de alimentos bajos en grasa, debido a que son percibidos como más saludables por los consumidores. Esto ha propiciado que la industria alimenticia desarrolle productos que den respuesta a esta demanda. Los derivados lácteos son productos de gran consumo a nivel mundial, dentro de los cuales, los quesos bajos en grasa han tenido un gran crecimiento. El reto tecnológico radica en cómo disminuir o eliminar la grasa de un alimento, sin perder las propiedades que ésta le confiere. Entre los atributos de calidad en quesos considerados como decisivos por los consumidores y fabricantes, están la textura y el sabor (Castro *et al.,* 2014), dependiendo ambos de la composición química del producto y del arreglo estructural de sus componentes. Entre los atributos sensoriales de los productos lácteos relacionados con la grasa se encuentran: sabor, textura, color, acidez, viscosidad, cuerpo, resistencia a la aplicación de un esfuerzo, sensación bucal, fusión, emulsión, entre otros (Noronha *et al.,* 2008; Lobato-Calleros *et al.,* 2007; Lucca & Tepper, 1994). En el caso del queso, el sabor puede ser alterado por cambios en el contenido y en el tipo del componente graso empleado. Cuando los quesos bajos en grasa son fabricados de manera convencional, sus características sensoriales son normalmente defectuosas (excesivamente duros, quebradizos, etc); por tanto, se ha propuesto una serie de alternativas para modificar la estructura de leche de quesería a través de operaciones como homogeneización, sobre tratamiento térmico (incrementando la temperatura de procesamiento de leche), la incorporación de cultivos generadores de exopolisacáridos y la sustitución parcial de grasa láctea por ingredientes poliméricos de naturaleza sacárida y/o proteica, siendo el concentrado de proteína de suero un mimético de grasa muy ventajoso debido a su alta capacidad de retención de agua, mejorando la textura y elevando el rendimiento en quesos bajos en grasa (Lobato-Calleros *et al.*, 2008; Lobato-Calleros *et al*., 2002). Asimismo, esta modificación en el procesamiento además de mejorar las características funcionales y sensoriales de los productos, aportan beneficios a la industria ya que proveen un importante ahorro de costos, energía y tiempos de procesamiento (Barbosa-Cánovas & Bermúdez-Aguirre, 2010). Por otra parte, a pesar de que se han llevado a cabo estudios empleando tecnologías no térmicas con el objetivo de cubrir estas necesidades, se ha demostrado que por sí solas, las tecnologías emergentes no pueden cubrir con la totalidad de demandas para ofrecer un producto acorde con las necesidades del mercado, al carecer de parámetros de proceso bien definidos que puedan emplearse como alternativas para sustituir a tratamientos térmicos ni hay normas oficiales que los validen. Por esta razón, se ha propuesto el uso de tecnologías mixtas que permitan aprovechar las ventajas que brindan los

tratamientos térmicos convencionales (inocuidad microbiológica) y los no térmicos (cambios en características sensoriales/funcionales). En este sentido, la termosonicación (TS) consiste en la aplicación de ultrasonido de alta intensidad (<100 KHz) en conjunto con un tratamiento térmico, generalmente una pasteurización de bajo impacto. Este tratamiento genera cambios en la estructura de la leche que pueden ser utilizados para mejorar las características de algunos derivados lácteos.

En este trabajo, se llevaron a cabo mezclas de leche reducida en grasa y concentrado de proteína de suero tratadas por TS, las cuales fueron posteriormente empleadas para la elaboración de queso tipo Panela. En los quesos panelas elaborados, se compararon las propiedades funcionales, fisicoquímicas y texturales de los quesos bajos en grasa con un control (con contenido normal de grasa) elaborado con leche pasteurizada convencional.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La relación entre salud y nutrición en México ha cambiado profundamente en las últimas décadas. Originalmente, la desnutrición era el problema principal, pero ahora se encuentra limitada a grupos específicos de la población. En cambio, la obesidad se ha generalizado en prácticamente todos los segmentos sociales, regiones y grupos de edad (Bourges, 2001). El ritmo de vida actual provoca una ingesta excesiva e inadecuada de calorías, en particular aquellas provenientes de grasas saturadas que, aunado al bajo gasto energético, generan el incremento de enfermedades relacionadas con el sedentarismo como hipertensión, diabetes, etc. Estas enfermedades constituyen uno de los problemas de salud pública más importantes a los que se enfrenta el país. En respuesta al panorama planteado, un sector de los consumidores se ha interesado y promovido el desarrollo de productos reducidos en calorías o con contenidos disminuidos de grasa. Estos productos pretenden ofrecer características sensoriales similares a sus productos de referencia, pero disminuyendo el aporte calórico de grasas y/o azúcares. Entre los alimentos bajos en grasa consumidos en nuestro país, destacan los lácteos (leche, queso, crema, yogur, helados), así como margarina y el pan (PROFECO, 2008). Si bien, es sabido que el consumo de grasa saturada aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares, por otra parte, el rol que juega sobre el desarrollo de características de textura, sabor y aroma en los alimentos es determinante, influenciando su aceptabilidad y su intención de compra.

El queso es uno de los productos lácteos que puede contener cantidades significativas de grasa (quesos madurados: >30%, quesos frescos: >20%). Por ello, la producción y consumo de quesos bajos en grasa ha aumentado sensiblemente a nivel global. No obstante, se han reportado diversos defectos sensoriales en productos de este tipo, incluyendo pérdida de aroma, sabores no deseados y textura defectuosa (muy dura y cohesiva) (Skeie *et al.,* 2013). Por tanto, se ha intentado reducir estos defectos a través de enfoques tecnológicos (nuevas tecnologías) o del uso de ingredientes novedosos (miméticos y/o sustitutos de grasa) entre los que se encuentra el suero dulce de leche, con diferentes grados de éxito.

En la industria quesera, el principal subproducto generado corresponde al suero de leche. Este suero comprende entre un 80 a 90% del volumen total de leche procesada para la fabricación de queso y contiene cerca del 50% de los nutrientes originales de la leche: proteínas solubles, lactosa, vitaminas y minerales. Dichos componentes, si no son aprovechados o tratados

adecuadamente, pueden comprometer seriamente la calidad ambiental, debido al alto contenido de materia orgánica presente en éste, primordialmente lactosa (50 g/L). Por ello, es necesario explorar alternativas de aprovechamiento de este subproducto. Recientemente, se han desarrollado procesos que posibilitan el uso del suero de queso en la como un aditivo en el desarrollo de nuevos productos, tanto alimentarios como no alimentarios. Además de su valor nutrimental, el suero posee diversas propiedades funcionales (capacidad de retención de agua, agente activo de superficie, agente ligante, etc.), por lo cual su uso como aditivo puede resultar importante en diversos productos. En este caso, se han reportado aplicaciones del suero de quesería (y de sus productos derivados como proteína concentrada o aislada) como aditivo y fortificante de diversos alimentos, incluyendo sopas, salsas, aderezos para ensaladas y productos cárnicos (McIntosh *et al.*, 1998; Steffé *et al.*, 1999; Modler & Emmons, 2001). Actualmente, se ha propuesto la utilización de suero dulce de leche para la elaboración de productos bajos en grasa, en especial como sustituto de grasa en quesos. Esto puede compensar diversos defectos texturales generados por la ausencia de la grasa, al aumentar la capacidad de retención de agua y disminuir la firmeza del queso, mientras que puede aumentar el rendimiento del producto. Por otra parte, la funcionalidad de las proteínas séricas se puede ver modulada mediante la aplicación de diversas tecnologías de conservación tanto de naturaleza térmica, como no térmica (IDF, 2007). Dentro de estas últimas, se encuentra la termosonicación que es una tecnología emergente que permite asistir a un tratamiento de pasteurización convencional, permitiendo brindar en la leche la inocuidad necesaria para su consumo, además de mejorar las propiedades funcionales de la misma, reconociendo sustancialmente el incremento en el rendimiento quesero (Almanza-Rubio *et al.,* 2015).

JUSTIFICACIÓN

En tiempos recientes el empleo de tecnologías emergentes para el procesamiento de alimentos ha tenido un gran auge. Este tipo de tecnologías, las cuales no se basan en la utilización de calor como principio de conservación posibilitan el desarrollo de productos con características funcionales únicas y una mejor conservación de atributos sensoriales y nutrimentales. La mayor parte de las tecnologías no térmicas de conservación (como alta presión, campos eléctricos pulsados, campos magnéticos oscilantes, pulsos luminosos, ultrasonido) tienen un componente térmico pues, de forma inherente, su aplicación propicia un cierto incremento de temperatura en el producto tratado. Sin embargo, es común intentar controlar este incremento para minimizar su efecto. Hasta ahora, ninguna tecnología térmica por sí sola puede atacar todos los factores de interés en la conservación de alimentos (microorganismos, enzimas, etc); por otra parte, las tecnologías emergentes no cuentan con toda la información científica ni con el soporte normativo para implementarse como barreras únicas de conservación, por lo que su combinación con tecnologías térmicas puede permitir que se garantice reducir la intensidad de los tratamientos térmicos, generando efectos sinérgicos, aminorando los daños sobre la calidad nutricional y sensorial de los productos, e involucrar procesos más cortos (Barbosa-Cánovas & Bermúdez-Aguirre, 2010).

Se ha identificado al ultrasonido como una tecnología emergente particularmente prometedora para el procesamiento de alimentos específicos, incluyendo los productos lácteos. El tratamiento con ultrasonido implica el incremento local de presión y temperatura en un medio fluido debido a la cavitación originada por la propagación de ondas sonoras de una frecuencia e intensidad determinada. El ultrasonido de alta intensidad ha despertado gran interés al ser aplicado a procesos de la industria de los alimentos. Los principales cambios que han sido reportados y que se presentan en la leche tratada con ultrasonido son homogeneización de los glóbulos de grasa, desnaturalización y agregación de las proteínas de suero (Shanmugam *et al.*, 2012) así como cambios limitados en el tamaño de las micelas de caseína (Chandrapala *et al*., 2012). Estos resultados en leche fluida han despertado el interés en la elaboración de derivados lácteos a partir de esta misma técnica. Los resultados reportados a la fecha muestran que es posible el incremento en el rendimiento en queso fresco elaborado con leche TS, mostrando a la vez, menor presencia de sinéresis y extender la vida de anaquel del producto (Bermúdez-Aguirre *et al.*, 2010). Asimismo, en la fabricación de yogur, se ha reportado un aumento en la viscosidad y en la firmeza del gel asociados

al empleo de leche termosonicada (Riener *et al*., 2009). En este trabajo de investigación se elaboraron quesos tipo Panela con mezclas de leche reducida en grasa y concentrado de proteína de suero, tratadas por TS, con la finalidad de realizar un análisis comparativo de sus características más representativas (textura, color, pH, acidez) que permitieran obtener quesos funcionalmente similares o mejores que su referencia con leche completa en grasa y tratada solamente por pasteurización.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la influencia de tratamientos de termosonicación sobre la incorporación de proteínas séricas adicionadas a leche bovina parcialmente descremada, y su efecto sobre parámetros tecnológicos y características funcionales de queso tipo Panela reducido en grasa.

Objetivos específicos

1. Analizar el efecto del tiempo de tratamiento de sonicación (2, 4, 6 min) a 400 W teóricos en mezclas de proteína sérica: leche (3, 2, 1 g grasa/100 g leche) a diferentes temperaturas (50, 55, 60°C) sobre parámetros fisicoquímicos (pH, acidez titulable y color) y propiedades funcionales de leche (capacidad de retención de agua y firmeza de gel).
2. Implementar un diseño de mezclas para encontrar la relación ternaria más apropiada entre leche descremada, proteína sérica y crema de leche para la elaboración de queso tipo Panela reducido en grasa evaluando el rendimiento, la humedad, la textura instrumental, el color, el pH y la acidez titulable de los quesos elaborados.
3. Evaluar la retención de proteínas séricas desnaturalizadas y el contenido de grasa en quesos seleccionados a partir del diseño de mezclas implementado.

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

1.1 Propiedades fisicoquímicas de la leche

Por definición, la leche es la secreción mamaria normal de animales lecheros, obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior (CODEX STAN 206-1999).

Las propiedades químicas y físicas de la leche pueden afectar el procesamiento de la leche, así como productos derivados de la misma. Algunos de los aspectos más importantes son descritos a continuación:

- Sabor: El sabor de la leche, sin tratamiento térmico, es ligeramente dulce, debido a la presencia de lactosa.
- Aroma: es más o menos acentuado en función de sus componentes. La leche conserva con mucha facilidad los olores de ambiente o de los recipientes en los que se contenga.
- Color: La leche es blanca y opaca debido a los fenómenos de reflexión y dispersión de la luz que provocan las partículas en suspensión coloidal, glóbulos de grasa y micelas de caseína. En su estado natural, el color blanco puede estar ligeramente matizado por la mayor o menor riqueza de los carotenos de la materia grasa, lo que a su vez depende de la alimentación animal. Sin embargo, una vez que se produce el homogeneizado, la disminución del tamaño medio de los glóbulos grasos y el aumento de su número incrementan también la dispersión de la luz. El descremado es capaz de remover hasta el 99.5% de la materia grasa y esto provoca el viraje del color de la leche hacia tonos azul-verdosos, puesto que sólo quedan ya las micelas de caseína para provocar la dispersión de la luz, y el color del suero lácteo, es amarillo-verdoso debido a la presencia de riboflavina (Gil & Ruiz, 2010).
- Densidad. En promedio, la densidad a 20°C de leche fresca es alrededor 1029 kg/m^3 considerando que el total de la grasa se encuentra en estado líquido. La cristalización de la grasa causa el incremento de la densidad, por ejemplo, la densidad de la leche a 10°C es alrededor de 1031 kg/m^3 (Walstra *et al*., 2006).
- Punto de congelación. Debido al efecto de las propiedades coligativas, el punto de congelación de la leche se encuentra por debajo del de agua, aproximadamente a -0.55°C.

Debido a la cantidad de lactosa y sales disueltas que permanecen sin congelar cuando el agua de la leche ya lo ha hecho, lo que hace que aumente la concentración del extracto seco; debido a las diferencias en densidad, los triglicéridos se concentran en la parte superior, mientras que las sustancias minerales y proteínas lo hacen en la inferior.

- pH. El pH de la leche es ligeramente ácido, alrededor de 6.7; valores de pH más bajos sugerirían crecimiento de microorganismos que fermentan la lactosa a ácido láctico o extensa lipólisis. El pH de la leche se ve afectado por la temperatura, generalmente disminuyendo al aumentar la temperatura, debido a cambios en la disociación de los grupos ionizables. La lipólisis también puede disminuir el pH de la leche, producto de la hidrólisis de los ésteres, especialmente ésteres fosfóricos. Tratamientos térmicos severos disminuyen el pH de la leche aún más, debido a la descomposición termolítica de lactosa a ácidos orgánicos, especialmente fórmico (Ma & Barbano, 2003).
- Acidez. La leche fresca, obtenida en condiciones higiénicas para minimizar el crecimiento bacteriano, suele tener una acidez de aproximadamente 0.1 g de ácido láctico/ litro de leche) y en ausencia de ácidos como el láctico o el acético, procedentes del metabolismo bacteriano, se correlaciona muy bien con la riqueza proteica, puesto que son las caseínas las que aportan la mayoría de los restos ácidos que se ponen de manifiesto durante la valoración de la acidez (Gil & Ruiz, 2010).

Desde un punto de vista fisicoquímico, la leche se caracteriza por ser una mezcla muy compleja de diferentes sustancias: proteínas, lactosa, grasa, sales y vitaminas (Gil & Ruiz, 2010). Todos estos compuestos se distribuyen en el medio acuoso formando tres fases:

- La materia grasa se acumula en unas estructuras relativamente complejas, los glóbulos grasos, formando una emulsión grasa/agua peculiar.
- Suspensión coloidal de las caseínas (que forman estructuras denominadas micelas, ligada a la presencia de fosfato coloidal y, en menor medida, a otras sales) y la solución coloidal de las seroproteínas, ambas en fase acuosa.
- Solución verdadera de lactosa, sales minerales y vitaminas solubles en agua.

1.2 Composición química de la leche

La composición química global de la leche se resume en la Tabla 1. Las cantidades de los distintos componentes pueden variar considerablemente en función de múltiples factores entre los que se encuentran: especie, individuo, raza, genética animal, alimentación, número de ordeños diarios, edad y factores medioambientales.

Tabla 1. *Composición química global de la leche (Gil & Ruiz, 2010)*

Componente	Intervalo (g/100 g)
Agua	85-90
Proteínas	2.9-4
Grasa	2.5-5
Lactosa	4-5.5
Sales minerales	0.7-1

A continuación, se describen cada uno de los componentes de la leche que, en conjunto, determinan que sea un alimento de gran valor nutritivo.

1.2.1 Agua

Es el medio en el que se encuentran dispersas la totalidad de las sustancias que componen la leche. El contenido de agua en la leche por ser relativamente alto, hace que la distribución de sus componentes sea uniforme y permite que una cantidad muy pequeña de leche contenga casi todos los nutrientes proporcionados en ésta. La magnitud de su concentración está determinado por la cantidad de lactosa y minerales ionizados que se encuentra presente en la leche (URGJ, 2015).

1.2.2 Proteínas

En la leche se distinguen dos grupos de compuestos nitrogenados: las proteínas y las sustancias no proteicas conocidas como nitrógeno no proteico (NNP), las cuales representan alrededor del 95 y 5%, respectivamente, del total de compuestos nitrogenados de la leche (Gil & Ruiz, 2010). La leche contiene más de 100 diferentes proteínas, las cuales se clasifican en caseínas y proteínas séricas (McSweeney & Fox, 2013):

- *Caseínas* (CNs). Constituyen el 80% de las proteínas totales de la leche y se encuentran en suspensión coloidal estabilizadas mediante cargas eléctricas y por repulsiones de tipo electrostático. Son insolubles en medio ácido, estables a tratamiento térmico, pero inestables a pH bajo (precipitación a pH 4.6, punto isoeléctrico a 20°C). Las caseínas son

moléculas de gran tamaño que contienen un gran número de aminoácidos, entre los cuales los más importantes son el ácido glutámico, la leucina y la prolina. Las caseínas se encuentran en forma de grandes agregados conocidos como micelas de caseína (tamaño aproximado de 50-500 nm). Estas micelas se constituyen por fracciones específicas de proteínas denominadas CN αs1, αs2, β, y κ en proporciones variables, con presencia de calcio en cada grupo fosfato (Phadungath, 2005). La estructura interna de las micelas está formada por la agregación de otras partículas menores, llamadas submicelas, unidas entre sí a través de puentes de fosfato y por interacciones hidrofóbicas. Las moléculas individuales de caseína se unen dentro de las submicelas fundamentalmente a través de enlaces hidrofóbicos. Las micelas exhiben estructura porosa, muy voluminosa (4 mL/g de caseína), fuertemente hidratada (3.7 g H_2O/g de caseína) (Swaisgood, 1996). La mayoría de los modelos estructurales indican que la κ-CN se halla localizada mayoritariamente en la superficie de la micela, jugando un papel esencial en la regulación del tamaño micelar y en el mantenimiento de la suspensión de las caseínas en la leche. La proporción de κ-CN varía en relación inversa con el tamaño de la micela, mientras que la de β-CN lo hace en forma directa (Riel, 1991). Las micelas de caseína se desestabilizan fundamentalmente por dos procesos: por la acidez, y por la proteólisis de la κ-CN. La acidez tiene dos efectos: En primer lugar, según va bajando el pH se van rompiendo los enlaces entre los grupos fosfato y el ion calcio, al reducirse la ionización de los fosfatos. En segundo lugar, las repulsiones entre las micelas se reducen, al acercarse el pH al punto isoeléctrico de las caseínas. A un pH de alrededor de 4,5 (y a una temperatura superior a 20ºC) las caseínas se agregan, formando una cuajada poco mineralizada. En el tratamiento con quimosina, la κ-CN pierde por proteólisis su región hidrófila, dirigida hacia el exterior de las micelas. La reducción de la hidrofilicidad facilita la agregación. A temperaturas de refrigeración (~4°C) las fuerzas hidrofóbicas que mantienen unidas a las moléculas de caseína se debilitan, e incluso una parte de la caseína sale de la micela. La gran mayoría permanece, pero unida menos fuertemente. En particular, las fuerzas que actúan sobre la región hidrofóbica de la β-CN se debilitan, haciendo que esta exponga más hacia el exterior, es decir hacia su región hidrófila. Esto aumenta la hidratación y voluminosidad de la micela. Como consecuencia, a temperaturas de refrigeración no se produce la agregación de la caseína ni por la acción de la acidez ni por la de la quimosina.

- *Proteínas de suero (PS).* Suponen el 20% del total de las proteínas y presentan una gran afinidad por el agua, estando solubilizadas en ella aun cuando el pH de la leche se lleva hasta 4.6 (punto isoeléctrico de la caseína). Igualmente, se encuentran solubles en el suero obtenido por coagulación enzimática de caseína (acción del cuajo en la elaboración de queso) (Gil & Ruiz, 2010). A diferencia de las CN, las de suero son proteínas globulares ya que contienen suficientes residuos de cisteína capaces de formar enlaces disulfuro y crear estructuras secundarias y terciarias más organizadas. Si las proteínas séricas se exponen a temperaturas mayores a 70°C comienzan a desnaturalizarse (Wang *et al*., 2006) lo cual induce su agregación a través de interacciones hidrofóbicas y la formación de enlaces disulfuro intermoleculares, como es el caso de la formación del complejo βLG-κCN. Entre las proteínas del suero lácteo se distinguen las siguientes:

  b-Lactoglobulina (β-LG). Es la proteína más abundante en el suero de leche. Posee un peso molecular cercano a 18 kDa. La β-LG puede aparecer en asociaciones diversas dependiendo de la temperatura y del pH. A pH ácido (< 3.5) la proteína está en forma monomérica, mostrando una gran estabilidad, aunque podrían formarse algunos dímeros (pH próximo a 3). Entre valores de pH en el intervalo de 3.5 a 5.2, se forman tetrámeros/octámeros reversibles que no conllevan cambios notables en la estructura secundaria y aparece como un dímero en solución entre pH 5.2 y 7.5. El cambio de monómero a dímero en el intervalo de pH entre 4.5 y 6 produce cambios en la compactación de la proteína, sin embargo, a pH 7 se produce un cambio conformacional. A pHs superiores a 9 se produce una desnaturalización irreversible del monómero (Sakurai & Goto, 2007). Es la proteína más hidrofóbica de las proteínas lactoséricas, es muy soluble en agua debido a que la mayoría de los componentes no polares están en la superficie. En su estructura nativa, su capacidad de retención de agua es muy moderada, del orden de 0.04 g H_20/ g de proteína.

  α-Lactoalbúmina (α-LA). Proteína de peso molecular de ~16 kDa que representa del 20 al 25% del total de proteínas de suero. Está relacionada con el sistema enzimático que sintetiza la lactosa y posee un alto contenido en triptófano (Peso *et al.,* 2012). Un incremento (≥9) o disminución (≤4) en el valor de pH resulta en la disociación de iones Ca^{2+} de la molécula, la cual desestabiliza la configuración molecular y por lo tanto conduce a la desnaturalización (Boye *et al.*, 1997).

Albúmina sérica. Representa el 5% de las proteínas séricas. Su peso molecular es aproximadamente 65 kDa. Las seroalbúminas son glucoproteínas que tienen aminoácidos azufrados, tienen actividad inmunológica, son promotores de la asociación de glóbulos grasos y poseen actividad antibacteriana en la leche ordeñada.

Proteasas-peptonadas. Son péptidos que provienen de la proteólisis de β-CN. Poseen un peso molecular inferior a los 10 kDa y contienen en su estructura glúcidos y ácido siálico en proporciones variables. Se las ha definido como la fracción de proteínas de la leche que no precipitan por calentamiento a 95°C durante 30 minutos, seguida de acidificación a pH 4.6. Son especialmente importantes en la industria quesera ya que su acumulación está asociada a la aparición de sabores amargos (Gil & Ruiz, 2010).

1.2.3 Lactosa

Compuesta de una molécula de glucosa y una de galactosa, es el componente mayoritario del extracto seco magro (ESM), 50 g/L, que puede llegar al 5% del ESM. Es un azúcar reductor que pertenece al grupo de los diholósidos, y es uno de los componentes más estables de la leche, pero su contenido está en función de las sales para mantener el equilibrio osmótico durante la biosíntesis de leche. Es un glúcido estable al ataque enzimático pero muy sensible al ataque microbiano, que produce ácido láctico. Se encuentra disuelta en agua, en solución y en equilibrio entre los isómeros α-lactosa y β-lactosa. En leche, el sabor dulce está enmascarado por la caseína. La lactosa tiene un sabor dulce débil (su poder edulcorante es seis veces menor que el de la sacarosa). En la leche, este sabor dulce está enmascarado por la caseína, de forma que el suero tiene un sabor dulce más acusado (Gil & Ruiz, 2010). Es muy sensible al calor, de forma que el fenómeno de pardeamiento no enzimático de leche sometida a calentamiento se debe a la reacción entre lactosa y los grupos amino de las proteínas (reacción de Maillard). La lactosa puede ser fermentada por ciertas bacterias para producir ácido láctico. Este proceso origina una disminución de pH, indispensable para lograr la coagulación en la elaboración de leches fermentadas y quesos frescos (Gil & Ruiz, 2010).

1.2.4 Grasa

La leche posee 30-40 g/L de materia grasa, por lo que constituye el segundo componente mayoritario, tras la lactosa. La grasa de la leche se encuentra en forma de pequeños glóbulos (0.1

20 μm de diámetro) en emulsión temporal. Los glóbulos de grasa son heterogéneos, están constituidos esencialmente por una micro gota de triglicéridos, parcialmente cristalizados a temperatura ambiente, recubiertos de una delgada capa protectora, conocida como membrana de glóbulo de grasa (MGG) y constituida de varias capas. La inmediata al núcleo está constituida por triglicéridos de elevado punto de fusión que encajan en una capa de fosfolípidos, y que además contienen moléculas de vitamina A y colesterina. La capa de fosfolípidos está rodeada por la proteína de la membrana, a la cual se le atribuye la capacidad de dispersión de la grasa en la leche y es en esta capa donde también se encuentran algunas enzimas (fosfatasa), metales pesados y sales. Todas las interacciones entre la grasa y el plasma han de ocurrir a través de la membrana (Romero & Mestres, 2004).

En definitiva, un glóbulo de grasa es una masa de triglicéridos envueltos en una membrana lípidico-proteica. La presencia de una capa de fosfolípidos en la membrana con la parte apolar orientada hacia el interior y la polar hacia la fase acuosa, estabilizando el glóbulo. Los glóbulos están cargados negativamente, con lo que se asegura la repulsión electrostática de los diferentes glóbulos. Los glóbulos grasos forman racimos a medida que se elevan, debido a su menor peso específico en comparación con el líquido que los rodea formando una capa de crema en la superficie de la leche (Gil & Ruiz, 2010).

1.2.5 Sales, Minerales y Vitaminas

En la fase acuosa continua se encuentran disueltas, conjuntamente con lactosa y compuestos nitrogenados solubles, sales minerales u orgánicas como citratos, fosfatos y cloruros de calcio, potasio, magnesio, sodio y trazas de hierro. En la fase coloidal están en suspensión micelas de caseína insoluble que contienen aproximadamente un 20% del calcio y fósforo unidos a su estructura y sales compuestas de fosfato de calcio coloidal, citratos y magnesio en proporciones fijas, que contribuyen a estabilizar las micelas. Los glóbulos de grasa emulsionados contienen un 1% de fosfolípidos y en sus membranas se fijan hierro, cobre, zinc y manganeso. Más de la mitad del hierro y alrededor del 80% del zinc y cobre se fijan a micelas de caseína y entre el 15 y 30% del hierro, zinc y cobre se unen a las proteínas solubles. La alimentación del animal y los cambios estacionales no influyen de manera significativa en la concentración de minerales en la leche; por tanto, el contenido mineral casi no varía a lo largo del año (CANILEC, 2011).

Las vitaminas hidrosolubles del grupo B se encuentran en cantidades relativamente constantes en la leche pues provienen de la biosíntesis de las bacterias del rumen. Por otra parte, las vitaminas liposolubles (vitamina A, carotenos, tocoferoles, Vitamina K) están sujetas a variaciones importantes, pues su concentración depende de la alimentación del ganado. Algunas de estas vitaminas brindan características físicas importantes a la leche, por ejemplo, los carotenos se encuentran distribuidos en los glóbulos de grasa y son los responsables del color amarillo de esta y la riboflavina por su parte brinda el color amarillento al suero (Walstra *et al*., 2006).

1.3 Generalidades del Queso

Se entiende por quesos a los productos elaborados con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado (NOM-121-SSA1-1994).

1.3.1 Clasificación

Al no existir criterios únicos, la clasificación de los quesos puede ser extensa; además de la división básica entre quesos frescos y madurados, el proceso de elaboración y las características finales del producto pueden emplearse como atributos de clasificación. En la Tabla 2 y 3 se presentan algunos de los criterios más comunes para clasificar a los quesos. En el presente trabajo se elaboró queso tipo Panela, el cual se encuentra dentro de la clasificación de queso fresco. Que por definición cumple en lo general con lo señalado en la definición de queso y se caracteriza por ser un producto de alto contenido de humedad, sabor suave y no tener corteza, pudiendo o no adicionarle ingredientes opcionales y tener un periodo de vida de anaquel corto, requiriendo condiciones de refrigeración (NOM-121-SSA1-1994).

Tabla 2. *Clasificación de quesos según su maduración (NOM 121-SSA1-1994)*

Frescos	Frescales	Panela, Canasto, Sierra, Ranchero, Fresco, Blanco, Enchilado, Adobado.
Madurados	De pasta cocida Acidificados	Oaxaca, Asadero, Mozzarela, Adobera Cottage, Crema, Doble crema, Petit Suisse
	Madurados prensados de pasta dura	Añejo, Parmesano, Cotija, Reggianito
	Madurados prensados	Cheddar, Chester, Chihuahua, Manchego, Brick, Edam, Gouda, Gruyere, Emmental, Cheshire, Holandés, Amsterdam, Havarti, Butterkase, Novergia, Provolone, Bola, Jack.
	De maduración con mohos	Azul, Cabrales, Camembert, Roquefort, Danablu, Limburgo, Brie.
Procesados	Fundidos y para untar	Amarillo

Tabla 3. *Clasificación de quesos de acuerdo al porcentaje de grasa (NMX-F-713-COFOCALEC-2005)*

	% Grasa Extracto Seco (GES)
Rico en grasa	>60
Extragraso	45-60
Semigraso	25-45
Bajo en grasa	10-25
Sin grasa	<10

1.3.2 Proceso de Elaboración

La elaboración de todas las variedades de queso involucra generalmente un protocolo similar pero con diferencias en determinadas etapas que le dan identidad al tipo de queso en cuestión. La Figura 1, describe las etapas de elaboración de queso tipo Panela.

Preparación de la materia prima. Se prepara la leche para hacer constante su composición y amparar su inocuidad desde el punto de vista microbiológico. Esta preparación involucra respectivamente operaciones de estandarización de la relación proteína:grasa y pasteurización (63°C, 30 min, o 72°C, 15 min), seguida de un enfriamiento a 32°C.

Figura 1. *Esquema de elaboración de queso tipo Panela. Adaptación (UNAM, 2010)*

Coagulación. Físicamente, es la floculación de las micelas de caseína que forman un gel compacto que aprisiona el líquido de dispersión, suero. La coagulación enzimática tiene lugar con la adición de cuajo a la leche, lo cual produce una proteólisis limitada de la κ-CN, que pierde su capacidad estabilizante con respecto a la α y β-CN en presencia del coágulo. Las micelas de CN se agregan en flóculos y luego en fibras, que producen una red tridimensional que engloba la lactosa y los glóbulos grasos, como una esponja. La estructura la produce el fosfato cálcico coloidal. La CN forma un complejo de fosfocaseinato de calcio en forma mineralizada. Los puentes de calcio y fosfato cálcico coloidal subsisten e incluso se ven forzados por sus componentes nativos; de este proceso depende la tecnología quesera.

Corte y desuerado. En general la elaboración de un queso es un proceso de deshidratación por lo que la cuajada debe ser cortada y el suero removido. El corte de la cuajada promueve la sinéresis, que es la deshidratación del gel formado y su velocidad y grado va a depender del tamaño de corte de los cubos, actividad de calcio, pH del suero, temperatura, velocidad de agitación y el tiempo. La agitación debe ser cuidadosa para no tener pérdidas de grasa y proteína. El corte debe realizarse con liras entre 0.6 y 1.6 cm y de acuerdo al tamaño de los cubos de cuajada será la humedad de la cuajada resultante. Si el corte se realiza anticipadamente el gel será débil y se crearán

muchas partículas finas que se perderán en el suero, si el gel es muy firme se necesitará una mayor energía para cortar y también se tienen pérdida de finos ya que las liras deben de cortar más rápido (McSweeney, 2007).

Salado y Prensado. El salado modifica el sabor y controla el contenido de humedad final del queso reduciendo la actividad de agua y previniendo el crecimiento de microorganismos indeseables en el producto. Por último, el queso se prensa permitiendo la fusión de los granos de cuajada para formar una masa compacta con la forma deseada.

Refrigeración. Al no ser un producto madurado, el queso tipo Panela posee una vida de anaquel corta (aproximadamente 15 días), por lo cual debe permanecer en condiciones de refrigeración.

1.4 Productos Lácteos Bajos en Grasa

Los derivados y productos lácteos bajos en grasa se obtienen principalmente a partir de leche parcial o totalmente descremada y, en su caso, con el uso de aditivos (proteínas lácteas, vitaminas, almidones, azúcares, etc.) que permitan reducir los posibles defectos asociados a la ausencia de grasa. En comparación con los productos elaborados con leche entera, los lácteos semidescremados o descremados aportan menos calorías, grasa y vitaminas liposolubles A y D. Estas últimas, por ser liposolubles, se pierden parcial o completamente con la grasa butírica y en ocasiones tienen que restituirse (Drake & Swanson, 1995).

Como resultado de la creciente tendencia a consumir alimentos bajos en grasa, en los últimos años ha habido un interés generalizado en el desarrollo de una tecnología mediante la cual, los quesos se pueden elaborar con un menor contenido de grasa, pero con características similares a las variedades convencionales. No obstante, con frecuencia, las características sensoriales son defectuosas, particularmente las texturales, y por lo tanto se han propuesto una serie de alternativas para mejorar su calidad. Actualmente, se han trabajado tres estrategias para la optimización de la calidad sensorial en productos reducidos en grasa: Modificación en los procesos de elaboración, adición de cultivos y la utilización de sustitutos o miméticos de grasa.

A la fecha, no se ha logrado que una de las estrategias de reducción de grasa por si misma pueda remplazar todas sus propiedades y funciones, aunque avances en la investigación dentro de estas tres áreas continúa mejorando el sabor y textura de los quesos reducidos y bajos en grasa. Ejemplos concretos de cada una de estas estrategias se describen a continuación.

1.4.1 Modificación en los procesos de elaboración

Realizar modificaciones de procedimiento de elaboración es potencialmente el mecanismo más simple y económico para mejorar el sabor y textura de los quesos reducidos en grasa. Muchas de estas modificaciones se enfocan al estudio de uno de los dos parámetros críticos en el queso reducido o bajo en grasa que son los incrementos potenciales en concentraciones de humedad y/o cambios en la tasa de producción de ácido láctico. El incremento de la cantidad de agua provee sensación cremosa y puede semejar la textura proporcionada por la grasa. El rendimiento de los quesos reducidos en grasa tiende a ser bajo ya que este componente representa el 50% o más de la masa drenada, por tanto, el aumentar la cantidad de agua en quesos reducidos o bajos en grasa permite incrementar el rendimiento. Dentro de las numerosas modificaciones en el proceso de elaboración se incluyen la disminución de la temperatura de cocción, tiempos cortos de cocción, uso de agua helada en el enjuague de la cuajada, entre otros, los cuales pueden incrementar la retención de agua en el producto. Por otra parte, el desarrollo de ácido láctico es un parámetro crítico en los quesos bajos o reducidos en grasa. Dado que estos productos contienen más cantidad de agua y generalmente se producen utilizando baja temperatura de cocción, esto provoca que la bacteria ácido láctica iniciadora pueda propagarse a tasas excepcionalmente altas en el queso, produciendo un sabor amargo en exceso. Modificaciones en el proceso, como es el uso de cepas especiales de cultivos iniciadores de ácido láctico, disminución de los tiempos de maduración (en el caso de quesos maduros), utilización de agua fría al enjuagar la cuajada están dirigidos al control de producción de ácido láctico en los quesos (Drake & Swanson, 1995).

1.4.2 Adición de cultivos

La adición de cultivos lácticos selectos se ha utilizado como una estrategia para mejorar o acelerar el desarrollo de sabor en quesos bajos o reducidos en grasa (Drake & Swanson, 1995). Esto

se logra mediante el incremento en la tasa de proteólisis, específicamente la actividad de la aminopeptidasa, lo cual reduce el amargor y aumenta la concentración de péptidos de sabor deseable y de precursores de compuestos volátiles. Los cultivos más utilizados hoy en día son los del género *Lactobacillus spp*. En este aspecto, Tungjaroenchai *et al*. (2001) evaluaron los efectos de 4 cultivos adjuntos con diferentes niveles de actividad de amilopeptidasa en el sabor y textura de queso Edam reducido en grasa (20% grasa). La actividad de la aminopeptidasa de *L. lactis ssp. diacetilactis* fue más alta que la de *L. helveticus*, *L. reuteri* y *Brevibacterium*, respectivamente, pero los quesos que contenían *L. helveticus* desarrollaron los niveles más altos de aminoácidos libres. Asimismo, se reportaron algunos efectos benéficos en la textura al emplearse *L. helveticus* y *L. reuteri*. Por su parte, Midje *et al*. (2000) utilizaron *Lactobacillus casei* 7a como microorganismo adjunto en la producción de queso Cheddar bajo en grasa. El producto fue reducido en la intensidad de sabor, comparado al queso control (sin reducción de grasa), pero fue aceptado por los consumidores. Recientemente, Skeie *et al*. (2013) elaboraron queso Norvegia con adición *de L. plantarum* y *L. casei*, quienes influenciaron positivamente en la textura del queso. El incremento en el desarrollo de ácidos orgánicos y compuestos de sabor volátiles, mostraron que las cepas de *Lactobacillus* empleadas tuvieron influencia en la producción de compuestos de sabor en el queso.

1.4.2 Sustitución de grasa

Los sustitutos de grasa son compuestos que poseen propiedades físicas y funcionales de grasas y aceites. Su finalidad consiste en reducir las calorías aportadas por este nutriente, sin afectar a la calidad sensorial del alimento. Así, estos productos han de cumplir una serie de funciones, tales como ser capaces de proporcionar lubricación, sabor, cremosidad y sensación en la boca, todas ellas inherentes a las grasas.

Por su parte, los miméticos de las grasas son materiales que sustituyen el volumen, cuerpo y la sensación en la boca que proporcionan las grasas, pero que no aportan calorías en la misma proporción que éstas. Son constituyentes naturales de los alimentos, de origen proteico o hidrocarbonado que, una vez modificados física o químicamente, imitan las propiedades organolépticas de las grasas aunque no las pueden sustituir en todas sus funciones. Se caracterizan por su notable absorción de agua, pero son sensibles al calor.

-Derivados de carbohidratos. Algunos de ellos son la celulosa, almidón, maltodextrinas, gomas (garrofín, arábiga, carragenanos), féculas, fibra y polidextrosa, y sustituyen parcial o totalmente la grasa por sus cualidades espesantes y gelificantes, de manera que dan cuerpo y consistencia a los productos y aumentan la viscosidad. Las maltodextrinas y los almidones modificados absorben el agua y forman geles que simulan la textura y la sensación de la grasa. Las gomas confieren cremosidad y ayudan a estabilizar las emulsiones de agua y grasa. La polidextrosa actúa como un agente que reemplaza el volumen que se pierde al retirar la grasa de un alimento. Y el gel de celulosa proporciona una sensación en la boca análoga a la grasa. Además, todos ellos aportan entre 0 y 4 calorías por gramo, la mitad de energía que grasas.

-Derivados de proteínas. Procedentes de huevos, leche, suero de leche, soja, gelatina y gluten de trigo se usan por su cualidad de imitar la textura y la sensación de tomar un alimento con grasa. Se utilizan en productos congelados y refrigerados, como quesos, mayonesas, mantequillas, helados y yogures con menos grasa, y ayudan a estabilizar las emulsiones en salsas, aderezos y otros condimentos.

Dentro de estos miméticos de grasa, la utilización de proteínas contenidas en suero de leche posee un potencial sumamente interesante. El suero es el líquido remanente de la coagulación de la leche durante la elaboración de quesos. Se obtiene tras la separación de proteínas (caseínas) y de la grasa. El suero de quesería constituye del 80 al 90% del volumen de la leche y contiene la mayor parte de sus componentes solubles en agua: carbohidratos (lactosa), minerales, vitaminas hidrosolubles y proteínas solubles (β-Lactoglobulina y α-Lactoalbumina, principalmente). Existen varios tipos de lactosuero dependiendo principalmente de la eliminación de la caseína, el primero denominado dulce, está basado en la coagulación por la renina a pH 6,5. El segundo llamado ácido resulta del proceso de fermentación o adición de ácidos orgánicos o ácidos minerales para coagular la caseína como en la elaboración de quesos frescos (Jelen, 2003). Las prácticas industriales y ecológicas requieren que el suero se utilice para propósitos constructivos, ya que el grado de contaminación que generan al verterlo al drenaje es muy alto, además, se desperdician componentes altamente nutritivos.

La naturaleza polar de los miméticos de grasa tiene una gran ventaja en cuanto a la capacidad de retención de agua, pues tiene el potencial de mejorar la textura e incrementar el rendimiento en quesos reducidos y bajos en grasa. En este sentido, las proteínas de suero,

particularmente en estado desnaturalizado, pueden cubrir esta función, además de ser ingredientes que proporcionan propiedades tales como gelación, espesamiento, solubilidad, espumado y emulsificación para alimentos (Bryant & McClements, 1999; Mason, 1998).

Concentrados. Los concentrados de proteína de lactosuero (WPC) son elaborados por la ultrafiltración que consiste de una membrana semipermeable, la cual selectivamente permite pasar materiales de bajo peso molecular como agua, iones y lactosa, mientras retiene materiales de peso molecular alto como la proteína. El retenido es así concentrado por evaporación y liofilizado (Zadow, 2003; Muñi *et al.*, 2005).

El WPC es definido por el Código de Estados Unidos de Regulaciones Federales como la sustancia obtenida por la eliminación de suficiente constituyente no proteico a partir de lactosuero para que el producto seco final contenga no menos del 25% de proteína. La mayoría de los WPC en el mercado contienen 34-35% u ~80% de proteína (Foegeding & Luck, 2002). En la Tabla 4 se muestra la composición nutricional y el valor del pH de los asilados y concentrados de proteína con contenidos de proteína diferentes. Los WPC conteniendo ~35% de proteína son elaborados como sustitutos de leche descremada, y son utilizados en la elaboración de yogurt, queso procesado, en varias aplicaciones de bebidas (Foegeding & Luck, 2002), fideos, galletas, helados, pasteles (Muñi *et al.*, 2005), derivados lácteos, panadería, carne, bebidas, y productos de formulaciones infantiles debido a las propiedades funcionales excelentes de sus proteínas y sus beneficios nutricionales (Foegeding y Luck, 2002; Díaz *et al.*, 2004), resaltando que los WPC contienen un 80% de proteína, son formulados para aplicaciones como gelificación, emulsificantes y formación de espuma (Foegeding & Luck, 2002).

Hidrolizados. La hidrólisis puede ser usada para cambiar las condiciones requeridas para la gelificación. En esta aplicación, el proceso es diseñado para producir péptidos con estructuras que son diferentes comparadas con aquellas proteínas intactas, pudiendo así reducir la alergenicidad (Foegeding & Luck, 2002), realzando propiedades funcionales y biológicas, además modifica la solubilidad, foaming y emulsificación de las proteínas de lactosuero. Al respecto, la hidrólisis puede mejorar la estabilidad y habilidad de formar espuma al incrementar la cantidad de aire incorporado, además pueden ser aplicados para incrementar la estabilidad de emulsión y cambiar las condiciones requeridas para la gelificación (Foegeding & Luck, 2002).

Aislados. Los aislados de proteína de lactosuero (WPI) tienen como características importantes un 90% de proteína y entre 4-5,5% de agua. Por su alta pureza, los WPI son usados extensivamente en suplementación nutricional, bebidas deportivas y medicinales (Foegeding & Luck, 2002). Han sido empleados como proteínas de alimentos funcionales en formulaciones de alimentos, por sus propiedades de hidratación, gelificación, emulsificación, y propiedades para formación de espuma de WPI (Foegeding & Luck, 2002; Nicorescu *et al.,* 2009), además, estos productos son elaborados para la aplicación de agentes complejantes específicos los cuales se enlazan con proteínas, permitiendo su eliminación de lactosuero, utilizando absorbentes como carboxy-metil celulosa u óxidos inorgánicos (Zadow, 2003).

Tabla 4. *Contenido de nutricional de concentrados y aislados de lactosuero*

(Foegeding & Luck, 2002)

Presentación	% Proteína	% Humedad	%Lactosa	% Grasa	% Ceniza	pH
WPC 35	34,7	3,7	51,3	3,9	6,5	6,4
WPC 35 ranges	34-35,4	3,5-4	51-54,5	3,5-5	3,1-8	6,2-6,7
WPC 80	81,3	4,8	5,9	6,3	3,7	6,6
WPC 80 ranges	80-83	4,2-5,5	4,2-1,0	4,2-10	2,9-5	6-7
WPI	94,3	4,8	1	0,7	3,0	6,7
WPI ranges	92-96,1	4-5,5	0,6-2,0	0,4-1,0	2,6-3,4	6,0-7,1

Respecto a las propiedades texturales, se han reportado mejoras importantes en quesos reducidos en grasa, como consecuencia directa de la incorporación de proteínas de suero. Lobato-Calleros *et al*. (2001) trabajaron con queso Manchego bajos en grasa (15 g grasa/L de leche), los cuales se prepararon con sustitutos de grasa comerciales que consisten en concentrado de proteína de suero (10 g WPC/L de leche), y una mezcla de pectinas de bajo metoxilo (LMP; 2.5 g LMP/L de leche) con proteína de suero microparticulada (MWP; 10.5 g MWP/L de leche), empleando queso bajo en grasa sin adición de sustitutos y queso con la grasa completa (30 g grasa/ L de leche) como controles. Tras 30 días de maduración, las micrografías electrónicas mostraron que los quesos con LMP y WPC perdieron la matriz proteica característica compacta y densa del queso control bajo en grasa, pero exhibieron valores de dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad similares a los del queso control con toda la grasa. Skeie *et al*. (2013) reportaron que la textura de queso Norvegia (un queso tipo Gouda, fundente) bajo en grasa fue mejorada al reducirse la firmeza y la textura gomosa del queso. Esta mejora se obtuvo por la adición de 15% de proteínas de suero de mantequilla y 3% de proteínas de suero de leche en micropartículas a la leche de quesería.

1.5 Tratamientos de Conservación

Para obtener un buen queso es necesario utilizar leche de excelente calidad, que provenga de un animal sano y bien alimentado, y que sea sometida a un tratamiento con la finalidad de destruir la carga microbiana que ocasiona el deterioro de la calidad física, química, biológica, o que origina algún tipo de perjuicio en la salud del consumidor.

Tratamientos Térmicos. Tradicionalmente han sido empleados tratamientos térmicos para garantizar la inocuidad de leche; sin embargo, en diversos estudios se ha demostrado que la temperatura empleada provoca también acciones sobre los componentes del producto llegando a afectar a propiedades físicas, fisicoquímicas, funcionales y nutrimentales (Agrimundo, 2014).

La lactosa sufre isomerización y degradación por su exposición a la temperatura provocando la aparición de compuestos que dan lugar a diferentes aromas, colores y sabores en leche, además de una disminución del pH; por su parte en las proteínas se produce una disminución de su digestibilidad por formación de nuevos enlaces intra o intermoleculares entre proteínas o con otros componentes de los alimentos generando pardeamiento enzimático, cambios en viscosidad, disminución de capacidad de cuajarse y velocidad de sinéresis, así como la unión de β-Lactoglobulina a k-CN y proteínas a la membrana de glóbulo de grasa (MGG).

En lo que concierne al valor nutricional el proceso térmico puede afectar la estabilidad de algunas vitaminas e inclusive generar su pérdida, dependiendo de la intensidad del calor aplicado. En una pasteurización LTLT, las vitaminas que sufren mayores daños son: vitamina C con pérdidas entre 10-20%, ácido fólico con pérdidas que van del al 5-10%, vitamina B12 con pérdidas del 5-10% y vitamina B6 con pérdidas inferiores al 10%. Los minerales en general son poco afectados, aunque en algunos casos se puede modificar su absorción por formación de complejos insolubles; en cuanto a la superficie del glóbulo de grasa GG, cuando este es destruido las enzimas (lipasas) encuentran un sustrato, degradando los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos, la cual es una reacción lenta, que influye rápidamente sobre el sabor de la leche, además de reacciones de oxidación de ácidos grasos insaturados que generan un sabor amargo, aceitoso o metálico (Alais, 2003).

Tratamientos Emergentes. Actualmente están siendo explorados métodos alternativos a la pasteurización y la esterilización térmica de alimentos, dado que los tratamientos térmicos convencionales a menudo resultan en la formación de sabores no deseables así como a la pérdida

de nutrientes valiosos (Marsili, 2003). Tales métodos de conservación de alimentos incluyen la aplicación de campos eléctricos pulsados, la microfiltración, el envasado en atmósferas modificadas, la alta presión hidrostática y ultrasonicación (Fernández-Molina *et al.*, 2001). Estas nuevas tecnologías son muy atractivas para ser utilizadas en combinación, ya sea entre ellas o con tratamientos térmicos buscando sinergismos para optimizar la calidad total de los alimentos.

* Campos Eléctricos Pulsantes de Alta Intensidad (CEPAI). Constituyen una de las tecnologías más prometedoras para la conservación de los alimentos. La pasteurización con CEPAI involucra la utilización de pulsos eléctricos de alto voltaje en el alimento colocado entre dos electrodos. El tratamiento se realiza a temperatura ambiente o por debajo de ésta, en milésimas de segundos, y las pérdidas de energía por calor son minimizadas. Esta tecnología es considerada superior al tratamiento térmico convencional, debido a que reduce grandemente los cambios que ocurren en las propiedades sensoriales (sabor, color), y físicas (textura, viscosidad) de los alimentos (Quass, 1997). Además de conservar los atributos sensoriales de los alimentos, los CEPAI no introducen cambios químicos significativos en ellos y puede que no sean considerados como aditivo alimentario. Por el contrario, es una tecnología efectiva, segura y limpia. Los aspectos más importantes de esta tecnología son la generación de campos eléctricos pulsantes de alta intensidad, el diseño de cámaras para el tratamiento del alimento, de tal manera que éste reciba un tratamiento uniforme con un mínimo incremento de la temperatura, y el buen diseño de electrodos para minimizar la electrólisis (Zhang *et al.*, 1995).

* Tecnología de Pulsos de Luz. Los pulsos de luz son producidos utilizando tecnologías de ingeniería que multiplican la potencia varias veces. La potencia se magnifica por la acumulación de energía eléctrica en un condensador que almacena energía por tiempos relativamente largos (fracciones de segundos). Esta energía almacenada se utiliza para realizar el trabajo en tiempos mucho más cortos (millones o miles de segundos). El resultado es una potencia elevada durante el ciclo de trabajo, con un gasto moderado en el consumo de energía. Las tecnologías de Pure Pulse han desarrollado dos nuevos procesos para inactivar microorganismos, asociados con el envasado de productos alimenticios, suministros médicos, farmacéuticos, agua y aire. Estos nuevos procesos son denominados *Pure Bright* y *Cool Pure* (por su nombre en inglés). Los primeros utilizan rayos de luz de corta duración en el espectro amplio de luz blanca para inactivar un amplio número de microorganismos incluyendo esporas y hongos. Cada pulso de luz dura solamente millonésimas de segundos. Durante cada pulso que pasa la intensidad de la luz es de unas 200.000 veces la intensidad

de la luz en la superficie terrestre. Mientras tanto, el proceso de campos eléctricos pulsantes de alta intensidad (*Cool Pure*) utiliza múltiples pulsos de corta duración, y campos eléctricos pulsantes de alta intensidad para inactivar los microorganismos en los alimentos transportados por tuberías. El intervalo de temperaturas durante la aplicación de este proceso es muy bajo, por lo que no causa daños térmicos apreciables. El sabor original, textura y funcionalidad de los productos alimenticios se mantiene (Dunn, 1996).

* Campos magnéticos estáticos y oscilantes. La utilización de campos magnéticos oscilantes para la inactivación de microorganismos tiene el potencial de pasteurizar alimentos con una mejora en la calidad y en la vida de anaquel, en comparación con los procesos convencionales de pasteurización. Los campos magnéticos pueden ser estáticos u oscilantes. En el campo magnético estático la intensidad del campo magnético es constante con el tiempo, mientras que en un campo magnético oscilante se aplica en forma de pulsos. La carga de los pulsos es inversa en cada pulso. El campo magnético puede ser homogéneo o heterogéneo. En un campo magnético homogéneo la intensidad del campo (B) es uniforme en el área envuelta por el campo magnético mientras que en un campo magnético heterogéneo, B no es uniforme con las intensidades, disminuyendo así como las distancias del centro del alambre aumentan. Los campos magnéticos oscilantes, aplicados en forma de pulsos, invierten la carga en cada pulso pero también la intensidad de cada

* Microfiltración. Su principio es la separación física; es el tamaño de poro de la membrana lo que determina hasta qué punto son eliminados los sólidos disueltos, la turbidez y los microorganismos. Se ha demostrado que las tecnologías de membranas se pueden utilizar en la industria de alimentos para la clarificación, como coadyuvante de pasteurización y esterificación (Chiampo & Conti, 1999). Muchas de sus aplicaciones industriales se han desarrollado en la industria láctea, siendo utilizadas en el tratamiento de la leche por ultrafiltración (UF), en la producción de queso, en el tratamiento del suero de la leche por UF y en la elaboración de leche fresca microfiltrada (Chacón-Villalobos, 2006). Sin embargo, a pesar de sus beneficios aún existen limitaciones que impiden adoptar esta técnica, puesto que no solo ocurre la reducción continua del flujo de permeado, sino también la pérdida de la permeabilidad y de la selectividad, requiriendo de una serie de lavados con químicos fuertes a altas temperaturas (60-80 °C) que en algunos casos modifican la estructura y la composición química de las membranas (Gallego-Ocampo, 2011).

* Atmósfera modificada. La conservación en atmósfera modificada consiste en empacar los productos alimenticios en materiales con barrera a la difusión de los gases, en los cuales el ambiente gaseoso ha sido modificado para disminuir la tasa de respiración, reducir el crecimiento microbiano y retrasar el deterioro enzimático con el propósito de alargar la vida útil del producto (Ospina-Meneses & Cartagena-Valenzuela, 2008).

* Alta presión hidrostática (APH). Es una tecnología de gran interés en la industria de los alimentos debido a que es efectiva en la conservación de los mismos. La APH provoca la inactivación de las células microbianas sin alterar la calidad sensorial ni los nutrientes de los alimentos (Cheftel, 1995). El efecto de la alta presión sobre la viabilidad de los microorganismos es una combinación de varias acciones (Farr, 1990): cambios en la morfología de la célula, los cuales son reversibles a bajas presiones (300 MPa); desnaturalización de proteínas a presiones altas debido al desdoblamiento de las cadenas peptídicas; modificaciones que afectan a la permeabilidad de la membrana celular.

* Ultrasonido (US). Desde el punto de vista de conservación de alimentos, es de interés el ultrasonido de baja frecuencia, por obtener cambios físicos y químicos deseables en el producto. En la industria alimenticia, el ultrasonido se utiliza tradicionalmente en la homogeneización de emulsiones, la ruptura de células, la limpieza de material, la dispersión de sólidos en medios líquidos, entre otros (Gómez-Díaz & López-Malo, 2009). La termosonicación (TS) consiste en la aplicación de ultrasonido de alta intensidad (<100 KHz) en conjunto con un tratamiento térmico. Si aparte en el proceso se aplica presión, entonces se habla de manotermosonicación (MTS). La TS promueve la inocuidad de la leche, además de generar cambios en su estructura, que pueden ser utilizados para mejorar las características de algunos derivados lácteos. Debido a que el tema de investigación trata sobre este tópico, se menciona a detalle en una sección independiente.

1.6 Ultrasonido (US)

El US se define como la energía generada por ondas sónicas de 20 kHz o más vibraciones por segundo (Hoover, 2000). Es una de las tecnologías emergentes que se han desarrollado para minimizar el procesamiento, maximizar la calidad y garantizar la seguridad de productos alimenticios. Su uso en el procesamiento de los mismos es relativamente reciente; sin embargo,

existe una gran lista de aplicaciones potenciales en esta industria con efectos prometedores en el procesamiento y conservación de los alimentos (Patist & Bates, 2008).

Basados en rango de frecuencia, las aplicaciones de ultrasonido en la elaboración de alimentos, el análisis y el control de calidad se pueden dividir en baja y alta energía (Villamiel & De Jong, 2000); las características más notables de cada uno se describen a continuación:

US de baja intensidad (intensidad < 1 W/cm^2 y frecuencia 0.1-20 MHz). Las ondas ultrasónicas en este rango son adecuadas para medir propiedades del medio en el que se propagan ya que no producen ninguna modificación en el mismo. La aplicación más común de este tipo de US en el sector alimentario es en pruebas analíticas dirigidas a obtener información sobre las propiedades fisicoquímicas y el estado de los alimentos. El US de baja intensidad se ha utilizado para apoyar de forma no destructiva programas de mejora genética para el ganado y para la evaluación de la composición de los productos cárnicos crudos y fermentados, peces y aves de corral. También se ha empleado para el control de calidad en verduras frescas y frutas, antes y después de la cosecha y para el seguimiento de propiedades fisicoquímicas selectas durante el procesamiento de diversos productos incluyendo quesos diversos, aceites comestibles, pan, granos, emulsiones, geles alimenticios, aireado y alimentos congelados. Otras aplicaciones incluyen la detección de la adulteración de la miel y la evaluación del estado de agregación, el tamaño y tipo de proteína. Con intensidades bajas (o altas frecuencias), se generan corrientes acústicas que provocan movimiento y mezcla del fluido sin formación de burbujas por cavitación (Alzamora *et al*., 2011).

US de alta intensidad (intensidad 10- 1000 W/cm^2 y frecuencia < 0.1 MHz). En este tipo de US, el fenómeno de cavitación puede afectar las propiedades físicas y químicas de los alimentos, así como destruir o alterar las paredes celulares de los microorganismos y enzimas (Feng *et al*., 2011). Esta tecnología emergente se ha utilizado como alternativa a las operaciones convencionales de procesamiento de alimentos; se ha reportado su uso para el control de microestructura y modificación de características texturales de diversos productos, para producción de emulsiones, como antiespumante y para modificar propiedades funcionales de diferentes proteínas alimenticias, como agente para modulación de actividad enzimática; por otra parte, se ha empleado para inactivación microbiana y como coadyuvante en procesos de congelación, descongelación, liofilización, entre otros (Chemat *et al.,* 2011).

1.6.1 Cavitación

Cuando una onda sonora se propaga en un medio líquido de forma longitudinal, se crean ciclos de compresión-expansión alternados (rarefacción), los cuales involucran el crecimiento y colapso de micro burbujas en los líquidos, fenómeno conocido como cavitación, el cual imparte una gran cantidad de energía al medio. Cuando la presión negativa en el líquido, creada por el ciclo de expansión alternativo, es lo suficientemente bajo, es capaz de superar las fuerzas intermoleculares (fuerza de tensión) del líquido tratado, provocando la formación de pequeñas burbujas. Durante el subsecuente ciclo de expansión-compresión, las burbujas de gas se expanden y se contraen simultáneamente (Robles *et al*., 2012). Posteriormente, el crecimiento de las burbujas puede darse por dos mecanismos principales: difusión rectificada y coalescencia de las burbujas. Una burbuja individual dentro de un sistema experimenta una presión fluctuante durante la oscilación de la burbuja. Esto puede causar que gas disuelto y/o vapor del disolvente se difunda dentro y fuera de la burbuja oscilante. Si la presión de conducción es por encima de un cierto umbral, la cantidad de gas/vapor que se difunde en la burbuja durante la fase de expansión será mayor que la cantidad que se difunde fuera de la burbuja durante la fase de compresión de la oscilación de la burbuja. Lo anterior conduce a un crecimiento neto en el tiempo, que se conoce como difusión rectificada. En los sistemas que contienen muchos núcleos de burbujas (como lo son los sistemas lácteos), dos o más burbujas se pueden combinar por coalescencia burbuja- burbuja, esta es otra vía de crecimiento posible (Chandrapala & Leong, 2015).

De acuerdo a Cullen *et al*., (2012), las burbujas generadas pueden provenir de dos tipos de cavitación: estable y transitoria. La cavitación estable es aquella en el cual el tamaño de las burbujas se mantiene en equilibrio durante muchos ciclos de presión acústica, permitiéndoles existir por un largo tiempo, posibilitando la formación de nubes de burbujas. Por otra parte, la cavitación transitoria, también conocida como inercial, genera burbujas que existen por periodos de tiempo muy cortos, a veces menores a un ciclo, y se caracterizan por colapsar violentamente. Se sabe que el efecto de la cavitación es el que produce el efecto conservador en la tecnología de US, ya que de ésta manera se promueve la implosión de microburbujas. La energía liberada de manera singular es muy pequeña, pero millones de colapsos en segundos producen un efecto mayor, provocando incrementos instantáneos y localizados de temperatura que superan los 5000 K, pero que se disipan sin provocar una elevación sustancial de la temperatura del líquido tratado; por otra parte, la cavitación también genera incremento de presión que puede las 1000 atm (Robles *et al*., 2012; Feng

et al., 2011). El colapso de las burbujas cerca de la superficie de sólidos forma micro corrientes asimétricas; la velocidad de estas micro corrientes puede alcanzar hasta el rango de cientos de m/s. Los microorganismos, los cuales poseen superficies hidrofóbicas, promueven el colapso de las burbujas cerca de su superficie provocando daños graves en la pared celular. Además, las micro corrientes pueden conducir a la erosión de las paredes celulares, lo que también puede incidir en la tasa de inactivación microbiana (Chandrapala & Leong, 2015). Para la fabricación de sistemas dispersos, las micro corrientes generadas cerca de la interfaz entre dos líquidos inmiscibles facilita su emulsificación (Thompson & Doraiswamy, 1999). Con la cavitación, las moléculas de agua se pueden dividir para formar radicales libres, los cuales intensifican las reacciones químicas, inducen el retículo de moléculas de proteína en un medio acuoso y aumenta la velocidad de las reacciones de transporte de masa debido a la generación de turbulencia local, fuerzas de corte y microcirculación del líquido (corriente acústica) (Cavalieri *et al*., 2008).

1.6.2 Ultrasonido de potencia en sistemas lácteos

La aplicación de ultrasonido a los procesos convencionales para la producción de lácteos tiene el potencial de proporcionar beneficios significativos, tanto económicos como tecnológicos, incluyendo el ahorro de energía y la mejora de las propiedades del producto. En los últimos años, los efectos físicos y químicos de ultrasonido de alta intensidad en medios líquidos y sólidos han sido ampliamente estudiados. Ertugay y Sengul (2004) estudiaron la homogeneización ultrasónica de leche a 20 kHz y compararon los resultados con un proceso convencional. La distribución del tamaño de los glóbulos de grasa después del proceso convencional de homogeneización (200 bar y 55°C) fue de aproximadamente 2-5 µm, mientras que al aplicar US, el tamaño se redujo por debajo de 1 µm, atribuyendo la mayor reducción de tamaño a los efectos de la cavitación acústica. Wu *et al.*, (2001), también observaron efectos de homogeneización ultrasónica en glóbulos de grasa de leche, reportando que el ultrasonido de alta intensidad (90, 225 and 450 W, 20 kHz), el tiempo de coagulación de leche homogenizada ultrasónicamente para elaboración de yogurt se redujo significativamente debido a un aumento en la actividad enzimática. Además, se observó una reducción de la sinéresis y un incremento en la viscosidad del yogurt. Los efectos posteriores se atribuyeron al aumento en la retención de agua de la caseína que estaría disponible conforme aumentara el área de la superficie de la membrana de los glóbulos de grasa. Vercet *et al.* (2002), estudiaron las propiedades reológicas yogurt elaborado con leche manotermosonicada (MTS), observando una mejora sustancial en la textura y firmeza del producto. Por su parte, Reiner *et al.*

(2009) también encontraron que en comparación con yogures convencionales, los cultivos de leche tratados por TS tenían valores de gelificación de pH más altos, mayores viscosidades y capacidades de retención de agua superiores. Los autores afirman, además, que la estructura era diferente, se mostró como un panal de red y se exhibió una naturaleza más porosa. Bermúdez-Aguirre *et al*. (2009b) reportaron cambios menores en las propiedades nutricionales de la leche tras aplicar un tratamiento ultrasónico (24 kHz, 400 W y 30 min), con la ventaja de extender la vida útil del producto más de 16 días bajo refrigeración sin el uso de tratamientos térmicos intensivos.

Bermúdez-Aguirre *et al*. (2008) estudiaron los cambios en la microestructura de los glóbulos de grasa de leche entera posterior a un tratamiento de TS. La sonicación (24 kHz, 400 W y 30 min) de leche entera a temperatura alta (63°C) produjo glóbulos de grasa de <1 µm con más sitios de unión en la membrana de glóbulos de grasa favoreciendo la fusión de la caseína y proteínas de suero, produciendo un ingrediente ideal para la elaboración de queso. Los autores sugirieron que los cambios observados se debieron a la cavitación ya que el tratamiento térmico por sí solo no mostró cambios similares en los glóbulos de grasa. Villamiel & De Jong (2000) informaron de una reducción del tamaño de los glóbulos de grasa de leche de hasta 82% empleando US de alta intensidad (150 W, 20 kHz). Bosiljkov *et al.* (2011) mostraron que el aumento de amplitud (20, 60 y 100%) y el tiempo (2-15 min) de ultrasonido (30 kHz, utilizando sondas de 7 y 10 mm) influían significativamente sobre el grado de homogeneización de la leche. Koh *et al.* (2014) utilizaron ultrasonido de potencia (20 kHz) y un homogeneizador de alta presión para investigar la reducción del tamaño de partícula de los sistemas de concentrado de proteína de suero (WPC) en la presencia/ausencia de condiciones de cavitación. La reducción del tamaño de partícula en los sistemas de WPC en condiciones de alta presión mostró resultados comparables cuando se someten a ultrasonido bajo condiciones similares de energía. El estudio remarca el hecho de que las fuerzas de cizallamiento generadas eran los principales responsables de las reducciones del tamaño de partícula observada en ambos tipos de tratamiento. En el caso de la aplicación de US, las fuerzas de cizallamiento son el resultado del fuerte colapso de las burbujas. Jambrak *et al.* (2008) mostraron que el US de sonda con una intensidad alta (20 kHz) posee un efecto importante sobre las propiedades funcionales de la proteína de suero de leche incluyendo la solubilidad y la capacidad espumante. Sus resultados mostraron que el US de baño a 40 kHz tuvo menos efecto sobre la proteína de suero que con la sonda a 20 kHz. Esta observación se explica por la forma de tratamiento; en el tratamiento de sonda, hay contacto directo con la solución, mientras que en los

baños se sumergieron frascos llenos de soluciones, así que no había contacto directo con la superficie radiante.

Shanmugam & Ashokkumar (2014) demostraron la posibilidad de incorporar nuevos aceites alimenticios en los sistemas lácteos mediante emulsificación ultrasónica (US de sonda, 20 kHz). No se requirió adición de agentes tensoactivos para estabilizar la emulsión, ya que se encontró que una pequeña cantidad de proteínas de suero parcialmente desnaturalizadas rodeaba las gotitas de aceite emulsionadas, proporcionando suficiente estabilidad durante un mínimo de 9 días.

Utilizando leche previamente termosonicada a 400 W, 24 kHz y 120 µm acoplado a una pasteurización LTLT (63°C, 30 min), Bermúdez-Aguirre *et al*., (2010) elaboraron queso fresco, obteniendo un rendimiento considerablemente alto (20.6%) y un producto con color más blanco, una cuajada menos dura, reducción en el tiempo de coagulación, una estructura más homogénea y un menor grado de sinéresis en comparación con su contraparte elaborado con leche pasteurizada. Los autores atribuyen el aumento de humedad en el queso a una posible reorganización de las moléculas dentro del queso y a la incorporación de las proteínas de suero a la superficie de la micela de caseína.

Dentro del grupo de investigación donde se desarrolló este trabajo, se han llevado a cabo diversos proyectos enfocados a la aplicación del US de potencia para asistir tratamientos térmicos de leche como pretratamiento para elaboración de derivados lácteos. Gallegos-Pineda (2015), reporta una disminución en tamaño de partícula, mayor luminosidad y capacidad de retención de agua en leche TS, mientras que en queso Cheddar elaborado a partir de esta leche se obtuvieron productos con mayor rendimiento, aunque con ciertos defectos texturales, incluyendo menor firmeza. Asimismo, Pérez (2014) reportó que la TS de leche produjo variaciones en la estructura de sus componentes, permitiendo obtener quesos más húmedos y con mayor contenido proteico, que redundaron en un aumento significativo en el rendimiento de queso tipo Mozzarella. Asimismo, otros proyectos recientes, se han enfocado en la elaboración de mezclas para helado duro y de queso fresco a partir de leche TS.

Por otra parte, en algunos trabajos se ha estudiado la formación de radicales libres y de otras especies reactivas que pueden propiciarse durante el tratamiento con US; estos compuestos inducen reacciones de óxido reducción en el medio y producen compuestos volátiles que

disminuyen la calidad de la leche. Generalmente, las reacciones químicas ocurren en las regiones de alta temperatura que rodean a la burbuja en colapso, en las soluciones con solutos de elevado peso molecular, como proteínas, la cavitación puede dar lugar a reacciones químicas provocando la ruptura de enlaces y formando macromoléculas de inferior peso molecular (Rae *et al*., 2005).

El tiempo para la formación de productos secundarios de oxidación varía de acuerdo al tipo de grasa, las grasas insaturadas son más fácilmente oxidadas que las saturadas (Choe & Min, 2006). En este sentido, Riener *et al.* (2009) reportaron que la aplicación de US (24 kHz, 400 W) a 45°C en leche descremada durante tiempos prolongados, generó una serie de compuestos orgánicos volátiles que podrían ser responsables del aroma a *caucho*. Relacionan estos compuestos tanto a la pirólisis dentro de la cavitación en burbujas, como a los radicales libres inducidos por la oxidación lipídica producida por la descomposición de hidroperóxidos de ácidos grasos insaturados. Para reducir los procesos pirolíticos y la formación de productos de oxidación se han realizado estudios adicionando bióxido de carbono a la leche antes del tratamiento, los resultados demostraron una pequeña reducción de estas reacciones; sin embargo, esta técnica aún continua en investigación (Marchesini *et al.*, 2012).

La manipulación de las propiedades funcionales de ingredientes lácteos es interesante desde el punto de vista de funcionalidad proteica, aunque los mecanismos reales responsables de los efectos observados no se han aclarado completamente. Como se ha mencionado con anterioridad, el tratamiento US de un líquido genera vibración mecánica, agitación, fuerzas de cizallamiento, turbulencia, cavitación acústica y formación de radicales libres. En esta etapa, se ha especulado que los cambios funcionales se deben principalmente a los efectos físicos de cavitación acústica que alteran ligeramente la estructura de las proteínas, ya que un US de frecuencia más alta no afectó a las propiedades funcionales de ingredientes lácteos.

A pesar de las investigaciones mencionadas, se considera que los estudios sobre posibles aplicaciones de US en la industria láctea está en sus etapas iniciales, por lo que hacen falta investigación que permita aportar nuevos conocimientos en el tema de US de alta intensidad, así como para adquirir una mejor comprensión de la naturaleza de los fenómenos que se producen y utilizarlos a nivel industrial (Salazar *et al*., 2012).

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1 Etapa I. Pruebas preliminares

2.1.1 Materiales

Se obtuvo leche cruda con un proveedor local (Chipilo, Puebla), y se mantuvo en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento el mismo día de su adquisición. Se utilizó proteína concentrada de suero (WPC-80, por sus siglas en inglés) conteniendo 76% proteína, 9% carbohidratos, 10% grasa, 0% fibra y 0.2% sodio) (ARLA Foods, Dinamarca); para la coagulación enzimática de la leche se empleó cuajo de fermentación microbiana de doble intensidad (*Cuamix*, Chr Hansen, México) y cloruro de calcio grado alimenticio (Medinatural, México).

2.1.2 Preparación de muestras

La composición de la leche cruda se determinó por triplicado, utilizando un analizador rápido ultrasónico Lactoscan LA (Nova Zagora, Bulgaria) en un rango de temperatura de 20 a 25°C. Posteriormente, se fraccionó en dos partes el total de la leche. Una de éstas se calentó a 40°C y se descremó con una descremadora LKL (Nova Zagora, Bulgaria) operando a 10 000 rpm; enseguida se enfrió y se determinó su composición. Conociendo el contenido de grasa en ambos tipos de leche (entera y descremada) se estandarizaron leches con una concentración final de 3, 2 y 1 g grasa/100 g leche. Posteriormente, se agregaron 0, 0.67 y 1.33 g WPC/100 mL leche, a leches respectivamente estandarizadas. Se dejó hidratar el WPC en la leche por media hora con agitación lenta en una parrilla eléctrica y con agitador magnético a temperatura ambiente, de acuerdo a recomendaciones del fabricante.

2.1.3 Tratamientos de termosonicación

Para el tratamiento de TS se empleó un equipo de ultrasonido de sonda (UP 400S, Hielscher, Teltow, Alemania) a una frecuencia fija de 24 KHz y una potencia teórica de salida de 400 W. Se calibró el sonotrodo empleando aire, agua y leche estandarizada para establecer la potencia efectiva a una amplitud fija de 100%. La sonda de titanio de 22 mm de diámetro se sumergió 3 cm en el líquido contenido en un reactor de cristal con capacidad de 2 L. Las muestras se sometieron a tratamientos de US de 2, 4 y 6 min, manteniendo la temperatura a 50, 55 y 60±3°C. Se controló la temperatura de cada tratamiento con ayuda de un recirculador de agua a 30±1°C por medio de un baño termostatado (AD07R-20, PolyScience, Illinois, EUA) de 7 L.

Tras el tratamiento de US, las muestras se pasteurizaron bajo condiciones LTLT (63°C, 30 min) por medio de un pasteurizador por lotes para procesamiento de leche en pequeña escala (FJ15, *Mr. Milky*, Austria). Transcurrido el calentamiento, la temperatura de la leche se redujo a 32°C empleando agua fría.

La potencia efectiva de los tratamientos se calculó a partir de un método calorimétrico (Torkamani *et al.*, 2014) donde un volumen conocido de leche se sometió a tratamiento US sin control de temperatura. La potencia se definió mediante la Ecuación 1.

$$P_{dis} = mC_p\left(\frac{dT}{dt}\right) \quad \textbf{(Ec. 1)}$$

Dónde: P_{dis}= Potencia ultrasónica real disipada en la leche (W), m= la masa utilizada en el tratamiento (kg), (dT/dt)= pendiente de la relación tiempo/temperatura para cada tratamiento de sonicación, Cp= calor específico para la muestra [J/(kg °C)].

El Cp de la leche se calculó a partir de la composición determinada para cada tratamiento con el analizador ultrasónico Lactoscan y la ecuación de Choi y Okos (Singh & Heldman, 2009) (Ec. 2):

$$C_p = \sum_{i=1}^{n} C_{pi}X_i \quad \textbf{(Ec. 2)}$$

Dónde: Cp_i es el calor específico para el componente i, X_i es la fracción peso del componente i

Los calores específicos para los componentes en la leche se determinaron mediante las siguientes relaciones cuadráticas (Singh & Heldman, 2009) utilizando la temperatura promedio (T) registrada en cada tratamiento:

Proteína	C_p=2.0082+1.2089 ×10^{-3}T−1.3129×10$^{-6}T^2$
Grasa	C_p=1.9842+1.4733 ×10^{-3}T−4.8008×10$^{-6}T^2$
Lactosa	C_p=1.5488+1.9625 ×10^{-3}T−5.9399×10$^{-6}T^2$
Cenizas	C_p=1.0926+1.8896 ×10^{-3}T−3.6817×10$^{-6}T^2$
Agua	C_p=4.1762 − 9.0864 × 10^{-5} T +5.4731×10$^{-6}T^2$

2.1.4 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua se determinó por un método de centrifugación (Pandey *et al*., 2000), de una muestra de leche coagulada para observar la capacidad de la misma para

retener humedad. Se colocaron 30 g de muestra termosonicada (a 32°C) en un tubo de fondo cónico de 45 mL. Se preparó una solución 1:10 de cuajo de fermentación microbiana de doble intensidad Cuamix (Chr Hansen, México) y se añadieron 33 µL de solución a cada tubo. Se dejaron coagular las muestras durante 45 min manteniendo la temperatura constante. Posteriormente, la muestra coagulada se centrifugó a 4500 rpm por 40 min a 10°C en una centrífuga refrigerada Hettich 320R (Massachussets, E.U.A), midiéndose los mL de suero expelido y el peso de la cuajada al fondo del tubo centrifugado. La capacidad de retención de agua se determinó mediante la fórmula expresada por Pandey *et al*. (2000) y mostrada en la Ec. 3.

$$CRA = \left(\frac{M \times m_0}{100} - E\right)\left(\frac{100}{M-E}\right) \qquad \textbf{(Ec. 3)}$$

Dónde: M = Peso de la muestra antes de centrifugar, E = Masa de exudado, m_0= Porcentaje inicial de contenido de humedad de la cuajada (base húmeda). El resultado fue expresado en g de agua contenida en 100 g de cuajada. El porcentaje inicial de contenido de humedad de la cuajada se consideró como el porcentaje de agua contenido inicialmente en la muestra de leche de acuerdo a las mediciones de Lactoscan.

2.1.5 Firmeza de gel

La medición de firmeza de gel se realizó mediante un método modificado sobre el propuesto por Gutiérrez-Méndez (2012). Para este análisis se tomaron 280 g de mezcla sonicada, se agregaron 28 µL de una solución de cloruro de calcio (6.6 M), se agitó y pasteurizó LTLT (63°C, 30 min), para luego reducir la temperatura a 32°C. Posteriormente, se ajustó el pH a 6.15 (con HCl 0.1 N) y se agregaron 308 µL de una solución 1:10 de cuajo de fermentación microbiana de doble intensidad Cuamix (Chr Hansen, México); se mezcló e inmediatamente se dividió en frascos de 70 g cada uno, los cuales permanecieron en un baño termostatado a 32°C, 45 min. Trascurrido éste tiempo, las muestras se colocaron en un baño de hielo por 5 min y se trasladaron una a una para su análisis correspondiente (fuerza aplicada en un lapso de tiempo) en un texturómetro TA-XT Plus (Stable Microsystems LTD; Inglaterra) con celda de carga de 30 kg de capacidad (Mizuno & Lucey, 2007). Para la medición se empleó una sonda circular de 1 in de diámetro, con una distancia de penetración de 10 mm en cada uno de los geles y una velocidad de 1 mm/s. La firmeza fue expresada en g fuerza.

2.1.6 Color

Las mediciones de color se realizaron colocando 15 mL de muestra de leche, vertidos sobre la base de una caja petri de vidrio, en un colorímetro triestímulo Hunterlab, Colorflex EZ (Virginia, E.U.A.), utilizando parámetros en el espacio de color CIELAB donde L* indica la luminosidad-oscuridad (100 a 0), a* el rango de color del rojo (+) al verde (-) y b* la tonalidad del amarillo (+) al azul (-) (Bermúdez-Aguirre *et al*., 2008). Para calibrar el instrumento, se utilizaron losetas negra y blanca, incluidas en el equipo. La diferencia neta de color (ΔE*) fue evaluada utilizando la siguiente ecuación y comparando los tratamientos con la leche pasteurizada:

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \text{ (Ec. 4)}$$

El ángulo de tonalidad (hue, h*) fue calculado utilizando la siguiente relación:

$$h^* = tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \text{ (Ec. 5)}$$

El índice de saturación (croma, C*) se calculó mediante la Ecuación 6:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \text{ (Ec. 6)}$$

2.1.7 pH

Se determinó el pH de las mezclas, utilizando un potenciómetro Denver Instruments UB-10 (Colorado, E.U.A.) calibrado con soluciones buffer 4 y 7 de acuerdo a métodos estándar (Wehr & Frank, 2004). Se tomó una muestra representativa de la mezcla tratada, previamente agitada. Para la determinación se utilizó un electrodo de base plana y se sumergió directamente en la muestra de leche, hasta que la lectura en la pantalla del equipo fuera estable (aproximadamente, 2 min).

2.1.8 Acidez titulable

La acidez se determinó de acuerdo a métodos estándar (Wehr y Frank, 2004); para ello, 10 mL de muestra de cada tipo de leche fueron transferidos a un matraz Erlenmeyer. Posteriormente, se agregaron 20 mL de agua destilada y 0.5 mL de indicador de fenolftaleína al 1%, acto seguido se tituló con una solución 0.1 N NaOH hasta el cambio del indicador de incoloro a rosa. El resultado fue expresado en porcentaje de ácido láctico y se calculó por medio de la Ecuación 7.

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{(\text{mL NaOH})(\text{N NaOH})}{\text{p. muestra}} \cdot 9 \quad \textbf{(Ec. 7)}$$

Dónde: mL NaOH= mL de Hidróxido de Sodio empleados en la titulación, N NaOH= Normalidad del hidróxido de sodio empelado en la titulación, $p_{muestra}$= peso de la muestra (g), 9= miliequivalentes del ácido láctico

2.1.9 Diseño experimental. Etapa I

En esta etapa, se utilizó un diseño completamente aleatorizado con una réplica, donde las variables de estudio fueron la cantidad de proteína sérica agregada a mezclas con leche estandarizada (0, 0.67 y 1.33%), temperatura (50, 55 y 60°C) y tiempo de sonicación (2, 4, 6 min). Los datos se evaluaron mediante análisis de regresión, ANOVA de dos vías y pruebas de comparación entre medias (Tukey) y de comparación con el control (Dunnet) para establecer diferencias entre las medias de los datos de CRA, FG, color, pH y acidez de las mezclas con un nivel de significancia de $P<0.05$. Este análisis de datos se llevó a cabo con el paquete estadístico Minitab (Minitab 16.0, Minitab Inc. PA. EUA). De acuerdo a los resultados obtenidos, se eligieron los tratamientos de TS que presentaron una mejor capacidad tecnológica para elaborar quesos.

2.2 Etapa II. Elaboración y evaluación de quesos

2.2.1 Preparación de las muestras

Siguiendo lo descrito en la sección 2.1.2 se estandarizaron leches con una concentración final de 3, 1.5 y 1 g grasa/100 g leche, la cual se verificó con su análisis composicional. Posteriormente se agregó 0, 1 y 1.33 g WPC/100 mL leche, a leches respectivamente estandarizadas.

2.2.2 Tratamientos de termosonicación

Siguiendo lo descrito en la sección 2.1.3; las muestras se sometieron a tratamientos de TS de acuerdo a lo marcado en la Tabla 5. Con su posterior tratamiento de pasteurización LTLT.

Tabla 5. *Condiciones de tratamientos de US*

Grasa (%)	Temperatura (°C)	Tiempo US (min)
1.5	60	2
1	50	2
1	50	2.41

2.2.3 Elaboración de queso tipo Panela

Los quesos se elaboraron siguiendo una adaptación a escala laboratorio del procedimiento estándar para este tipo de queso (UNAM, 2010). Previo a la coagulación enzimática de la leche, la temperatura de la misma se mantuvo a 32 + 0.5°C por 30 min. Posteriormente, se añadió cuajo de fermentación microbiana de doble intensidad Cuamix (Chr Hansen, México) en una proporción de 150 µL/L de leche, previamente diluido en 10 mL de agua potable; se dejó coagular por 25- 35 min hasta que la cuajada alcanzó una firmeza apropiada. El corte de la cuajada se realizó con liras de 1 cm; se agitaron suavemente los cubos de cuajada durante 5 min después del corte. A continuación, se desueró la cuajada usando manta de cielo, se pesó la cuajada y se añadió sal en una proporción del 2.5% del peso total. El queso se prensó toda la noche en refrigeración a 4°C. Tras los análisis del día 1 de elaboración, los quesos fueron empacados en bolsas de polipropileno que fueron selladas con una empacadora al vacío Torrey EV-4 ECO (Monterrey, México) y almacenados en refrigeración sus análisis a los días 7 y 14.

2.2.4 Rendimiento simple

El rendimiento simple de los quesos se expresó como kilogramos de queso obtenidos por kg de leche empleada (San Martín-González *et al.*, 2007).

2.2.5 Composición del suero

La composición del suero se determinó por triplicado, utilizando un analizador rápido ultrasónico Lactoscan LA (Nova Zagora, Bulgaria) en un rango de temperatura de 20 a 25°C.

2.2.6 Humedad

Se determinó la humedad de los quesos utilizando un horno de vacío marca Memmert (Schwabach, Alemania) (Bradley & Vanderwarn, 2001). Se pesaron 2 g de queso rallado en una charola de aluminio seca y previamente pesada. La muestra se colocó 4 h aproximadamente en el horno a 100°C y 131 mBar de presión hasta tener un peso constante. Los resultados se expresaron de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%Humedad = \frac{P_m - P_s}{P_m} * 100 \text{ (\textbf{Ec. 8})}$$

Dónde: P_m= Peso de la muestra húmeda, Ps= Peso de la muestra seca

2.2.7 Actividad de agua

La actividad de agua (a_W) del queso se determinó colocando una muestra previamente desmoronada de 2 a 3 g aproximadamente en un higrómetro de punto de rocío Decagon Aqualab Series 3 (Pullman, Washington) a una temperatura promedio de medición de 24.5 ± 0.1 °C.

2.2.8 Análisis de perfil de textura

El análisis de perfil de textura (TPA) se realizó en un texturómetro TA-XT Plus (Stable Microsystems LTD; Inglaterra) con celda de carga de 30 kg de capacidad (Mizuno & Lucey, 2007). Se utilizaron cilindros de queso de 20 mm de diámetro y 20 mm de alto. Las muestras se colocaron en el equipo y fueron comprimidas dos veces a temperatura ambiente con una sonda circular de 1 pulgada de diámetro a 1 mm/s hasta un 50% de su altura original. A partir de los gráficos de fuerza vs. tiempo (ver Figura 2), los siguientes parámetros de textura fueron determinados, de acuerdo a lo descrito por Caro *et al.* (2011): dureza (fuerza requerida para alcanzar una deformación dada, expresada como el pico de fuerza máxima: H), cohesividad (el queso resiste una segunda deformación, que se mide con base en el gráfico de TPA como la relación entre las dos zonas de compresión: Área de A2/ área de A1), elasticidad (es la altura que recupera el queso durante el tiempo que recorre entre el primer y el segundo ciclo: Distancia de b/ distancia de a), gomosidad (energía requerida para desintegrar el queso de modo que esté listo para ser tragado, producto de la dureza por la cohesividad) y masticabilidad (representa el trabajo necesario para desintegrar el queso hasta que esté listo para ser deglutido, producto de la gomosidad por la elasticidad).

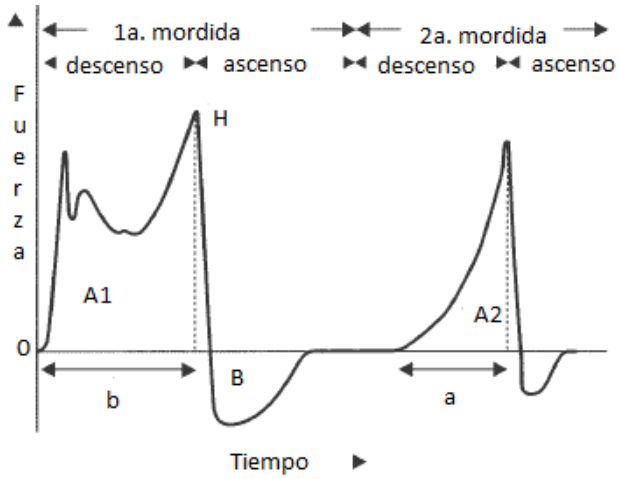

Figura 2. *Esquema típico de un análisis de perfil de textura*

2.2.9 Proteína

La proteína en queso se determinó utilizando el método micro Kjeldahl modificado de acuerdo a lo descrito en la NOM-155-SCFI-2012, el cual consiste en la conversión del nitrógeno orgánico presente en la muestra a sulfato de amonio y la determinación de la cantidad de nitrógeno de acuerdo a la cantidad de amoniaco liberado. La digestión consistió en colocar 0.5 g de muestra en un tubo de digestión, una tableta catalizadora (Kjeltabs: 3.5 g K_2SO_4, 3.5 mg Se) y 10 mL de H_2SO_4 al 98%. El tubo se colocó en un equipo digestor Kjeldahl (Prendo, México) y se calentó (rampa de calentamiento: 150°C, 30 min; 270°C, 30 min; 400°C, 90 min) hasta que la apariencia del contenido del matraz fuera claro y sin restos de material por digerir. La muestra digerida se colocó en un destilador (Prendo, México) junto con 40 mL de NaOH al 40%. El destilado se recibió en un matraz con 6 mL de H_3BO_3 al 4% y cinco gotas de solución indicadora Shiro Tashiro,;se continuó la destilación hasta alcanzar un volumen de 50 mL en el matraz. El destilado se tituló con solución HCl 0.1 N. El % de Nitrógeno y el % de Proteína se calcularon de acuerdo a las ecuaciones 9 y 10 utilizando un factor de conversión de proteína para la leche de 6.38.

$$\%\ \text{Nitrógeno} = \frac{1.4007 \times \text{ml gastados de HCl} \times \text{Normalidad de HCl}}{\text{peso en gramos de la muestra}} \qquad \textbf{(Ec. 9)}$$

$$\%\ \text{Proteína} = \%\ \text{Nitrógeno} \times 6.38 \qquad \textbf{(Ec. 10)}$$

2.2.10 Grasa

La grasa contenida en el queso se determinó a través del método Gerber (Wehr & Frank, 2004), el cual consiste en una reacción exotérmica que desprende la grasa de las proteínas del queso para que pueda ser medida por diferencia de densidad. Para esto, se pesaron 3 g de queso triturado y se colocaron en el butirómetro, posteriormente se añadieron 10 mL de H_2SO_4 para análisis de grasa en leche (91.1%, Fermont, Monterrey, N.L., México), 1 mL de alcohol isoamílico (0.81 g.s., 20°C) y agua destilada (6 mL). Se tapó el butirómetro y se invirtió hasta que la muestra se homogeneizara; a continuación, se colocó en una centrífuga Funke Gerber (Berlín, Alemania) durante 5 min a 1350 rpm y 65°C. El porcentaje de grasa en el queso se leyó directamente de la escala del butirómetro.

2.2.11 Color

Las mediciones de color se realizaron colocando la superficie del queso completo directamente sobre el lente de medición de un colorímetro triestímulo Hunterlab, Colorflex EZ (Virginia, E.U.A.). El cambio neto de color ΔE*, el ángulo de tonalidad (h*) y el índice de saturación (C*) se calcularon de acuerdo a las Ec. 4, 5 y 6.

2.2.12 Cenizas

Las cenizas fueron determinadas utilizando un método gravimétrico, en el cual se calcina la materia orgánica de la muestra dejando como residuos principalmente los minerales contenidos en la misma (Wehr & Frank, 2004). Se pesaron 2 g de queso triturado en un crisol de porcelana previamente pesado, limpio y seco y se colocó en un horno de secado marca Binder ED-53-L (Tuttlingen, Alemania) a 100°C por 1 h. Se calcinó la muestra utilizando una parrilla y a continuación se colocó el crisol en una mufla marca Barnstead Thermolyne 48000 (New Hampshire, E.U.A.) a 550°C por 5 h. Posteriormente, se puso el crisol en un desecador hasta que se enfriara y se pesó obteniendo por diferencia el peso del residuo. Los resultados se expresaron de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%\ Cenizas = \frac{g\ residuo}{g\ muestra} \times 100 \qquad \textbf{(Ec. 11)}$$

2.2.13 Cloruros

Se calculó el contenido de sal en el queso de acuerdo a métodos estándar (Wehr & Frank, 2004). Se pesaron 2 g de queso triturado en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se añadieron 25 mL de $AgNO_3$ 0.1 N, 10 mL de HNO_3 (1.42 g.s., 64-66%) y 50 mL de agua destilada, se calentó la mezcla hasta ebullición con agitación constante y bajo adecuada ventilación. Posteriormente, se añadieron 15 mL de KMnO4 al 5% y se continuó con el calentamiento hasta que el color café de la solución desapareció y se dejó enfriar. Se añadieron 2 mL de indicador sulfato amónico férrico (8%) y se tituló con KSCN 0.1 N hasta observar un vire de color a café claro que perdure por 30 s. El resultado se reportó de acuerdo a la fórmula siguiente:

$$\%\ Cloruro\ de\ sodio = \frac{(mL\ AgNO_3 * N\ AgNO_3) - (mL\ KSCN \times N\ KSCN) \times 0.0585 \times 100}{peso\ de\ la\ muestra\ en\ gramos} \qquad \textbf{(Ec.12)}$$

2.2.14 pH

Con lo descrito en la sección 2.1.7 para la medición de pH, se trituró la muestra de queso para un mejor contacto con el electrodo. La base plana del electrodo se puso en contacto directo con la muestra de triturada reportando la medición obtenida tras alcanzar el equilibrio (aproximadamente 2 min).

2.2.15 Acidez titulable

Se pesaron 10 g de queso desmoronado en un vaso de precipitado, se añadieron 105 mL de agua a 40°C. La mezcla se agitó vigorosamente durante 10 min y se hizo pasar a través de un tamiz de prueba malla 80, se midieron 25 mL del filtrado, lo cual representa 2.5 g de muestra, se añadieron 3 gotas de fenolftaleína al 1% y se tituló con una solución 0.1 N de NaOH hasta el vire del indicador incoloro a rosa (AOAC, 1997). El resultado se expresado como porcentaje de ácido láctico y se calculó de acuerdo a la Ec. 7.

2.2.16 Sinéresis

El grado de sinéresis se reportó como mL de suero expelido de cada queso 7 y 14 días de almacenamiento refrigerado.

2.2.18 Análisis de datos. Etapa II

Todos los tratamientos se realizaron por duplicado, y las características fisicoquímicas y la composición fueron evaluadas por triplicado para cada muestra. El análisis estadístico de los datos se realizó en Minitab 16.0 (Minitab Inc. PA. EUA). Los datos obtenidos se analizaron por ANOVA de una vía con un nivel de confianza de $P<0.05$, empleando la prueba de Tukey para evaluar las diferencias significativas entre medias de tratamientos.

CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Etapa I. Pruebas predictivas

3.1.1 Preparación de muestras

Se realizó la estandarización de las muestras para obtener 3 tipos de leche, clasificados de acuerdo a su porcentaje de grasa (3, 2 y 1 g grasa/100 g leche), cuyos valores promedio se muestran en la Tabla 6. Estas proporciones corresponden respectivamente a leche entera, semidescremada y *light*, de acuerdo a la clasificación comercial.

Tabla 6. *Composición química de leche entera, semidescremada y light*

Grasa (%)	SNF (%)	Lactosa (%)	Sólidos (%)	Proteína (%)	Humedad (%)
2.96±0.06	7.71±0.11	4.24±0.06	0.63±0.01	2.84±0.04	89.33±0.10
1.99±0.13	7.86±0.10	4.32±0.06	0.64±0.01	2.90±0.04	90.15±0.19
1.00±0.14	8.15±0.23	4.47±0.13	0.66±0.02	3.01±0.08	90.85±0.33

[1] Los valores se presentan como g/100 g de leche ± desviación estándar
[2] SNF: Sólidos no grasos

Posteriormente se agregó la proporción establecida de WPC (0, 0.66, 1.33 g WPC/100 g leche estandarizada) a leches estandarizadas (3, 2, 1 g grasa/100 g leche) respectivamente. La composición promedio de las mezclas, se observa en la Tabla 7.

Tabla 7. *Composición química de mezclas de leche y WPC*

Grasa (%)	SNF (%)	Lactosa (%)	Solidos (%)	Proteína (%)	Humedad (%)
2.04±0.12	8.30±0.26	4.34±0.06	0.65±0.01	3.32±0.04	89.66±0.29
1.12±0.14	9.16±0.23	4.53±0.13	0.66±0.02	3.97±0.08	89.71±0.32

[1] Los valores se presentan como g/100 g de leche ± desviación estándar
[2] SNF: Sólidos no grasos

Dado que la grasa y las proteínas de la leche son los principales constituyentes de queso, su proporción en la leche es de particular importancia para el rendimiento y calidad del producto final. Guinee *et al*. (2007) reportan un incremento en el rendimiento de queso Cheddar tras aumentar la razón proteína/grasa en la leche, describiendo un aumento significativo en la en los contenidos de humedad, proteína, calcio y fósforo del queso. Caro *et al.* (2011) estudiaron el efecto de la adición de concentrado de proteína de leche (MPC) en queso tipo Oaxaca en diferentes razones

proteína/grasa; estos autores encontraron que la materia seca y rendimiento aumentaron significativamente con la adición de MPC. Adicionalmente encontraron que la estandarización de la leche de quesería usando MPC aumentó el rendimiento de queso de 13.8 a 16.7%, debido a la mayor recuperación de sólidos de la leche y al aumento de humedad en el queso.

La Tabla 8 muestra las razones proteína/grasa (P/G) y caseína/grasa (C/G) teórica para los diferentes tipos de leche (entera, semidescremada y light).

Tabla 8. *Razón Proteína/Grasa en leche*

Tipo de leche (% Grasa)	Razón P/G sin WPC	Razón C/G sin WPC*	Razón P/G con WPC	Razón C/G con WPC*
3	0.96	0.76	0.96	0.76
2	1.46	1.16	1.69	1.35
1	3.00	2.40	4.01	3.57

*Teórico

Como era esperado, las razones proteína/grasa (P/G) y caseína/grasa (C/G) teórica se ven aumentadas tras la adición de WPC a los distintos tipos de leche.

3.1.2 Potencia Efectiva por Calorimetría

Se determinó la potencia efectiva de los tratamientos ultrasónicos en un volumen de 2 L de mezclas de leche con WPC a una frecuencia fija de 24 KHz y una potencia teórica de salida de 400 W, obteniendo una potencia real entregada al sistema de 96.53±4.07, 99.15±0.97 y 101.58±1.87 W, en leches estandarizadas a 3, 2, 1 g grasa/ 100 g leche, respectivamente.

Los efectos físicos provocados por el US son más fuertes cerca de fronteras líquido/sólido y líquido/líquido. Específicamente, las micro corrientes que se producen con el colapso asimétrico de una burbuja y los patrones de las corrientes acústicas alrededor de objetos sólidos son más fuertes a pocos milímetros de la superficie. Del mismo modo, el movimiento de las burbujas hacia una superficie sólida que actúa como antinodo de presión dentro de un patrón acústico, resulta en el aumento de la turbulencia dentro de esta misma zona. Estos efectos de capa límite son importantes, ya que por lo general son las que ofrecen la mayor resistencia a la transferencia de masa y calor, debido a que se concentra la disipación de energía acústica en estas áreas (Feng *et al.,* 2011). El contenido de grasa en los diferentes sistemas lácteos puede actuar como un aislante con respecto a la energía real recibida en los mismos. En este caso, cuando el sistema es bajo en grasa, las ondas

sónicas pueden viajar con mayor libertad por el medio a comparación cuando el medio contiene un alto contenido graso.

3.1.3 Capacidad de Retención de Agua (CRA)

La CRA es la propiedad que tienen las proteínas para retener agua libre, después de pasar por una serie de etapas de procesamiento, sin que exista exudación o sinéresis (Badui, 2006). Para esta etapa en específico, los resultados de los tratamientos con TS fueron comparados contra muestras de 3, 2 y 1 g grasa/100 g leche con pasteurización LTLT, con la finalidad de comparar el efecto del tratamiento ultrasónico sobre sus contrapartes sólo pasteurizadas.

En la Tabla 9 se presentan los valores de CRA después de los tratamientos de TS en leche. De los resultados obtenidos, se puede observar que la CRA de los tratamientos de TS aplicados fueron mayores al control (leche pasteurizada LTLT, 3 g grasa/100 g leche, con una CRA=44.93±1.02), indistintamente de la cantidad de WPC agregada a la leche.

Tabla 9. *Efectos de tratamientos TS sobre la CRA de mezclas de leche estandarizada con WPC*

t US (min)	°C	% Grasa	
		1	2
2	50	46.46 ± 3.64^{AB}	58.45 ± 2.53^{BC}
	55	57.66 ± 5.13^{BC}	58.07 ± 1.49^{C}
	60	51.78 ± 3.60^{ABC}	59.40 ± 2.88^{C}
4	50	56.79 ± 0.58^{BC}	57.70 ± 3.29^{BC}
	55	55.33 ± 0.69^{BC}	61.67 ± 0.01^{D}
	60	54.06 ± 1.69^{BC}	62.65 ± 4.52^{D}
6	50	55.31 ± 2.19^{BC}	54.39 ± 0.74^{BC}
	55	59.04 ± 1.92^{C}	65.32 ± 2.55^{D}
	60	56.53 ± 5.02^{BC}	67.25 ± 1.45^{D}
Controles (leche pasteurizada LTLT)			
3 % grasa		44.93±1.02	
2% grasa		52.87±2.31	
1% grasa		55.24±2.57	

[1] Los superíndices con letras mayúsculas indican semejanza de CRA con una muestra control, de acuerdo a la agrupación de Dunnett (P<0.05), indicando como muestra control, leche pasteurizada LTLT a: (A) 3% grasa; (B) 2% grasa; (C) 1% grasa; (D) Sin control de comparación (CRA> 1% grasa).

[2] Los datos se presentan como g de agua contenida en 100 g de cuajada ± desviación estándar (n=2)

De acuerdo a los análisis de regresión y ANOVA realizados, los tres factores principales (grasa, temperatura y tiempo de US) y la interacción triple de dichos factores, tienen efecto significativo ($P<0.05$) sobre la CRA. La comparación de Dunnett permitió distinguir dos tratamientos que se asemejan al comportamiento de las muestras control de 3 g grasa/100 g leche (CRA: 44.93±1.02), los cuales corresponden a aquellos con mínimo tiempo de exposición de US (2 min), menor contenido de grasa (1 g grasa/100 g) y a temperaturas de 50 y 60°C. Los tratamientos restantes, tienen una mayor CRA, haciendo que se agrupen como semejantes a los controles de 2 y 1 g grasa/100 g de leche (CRA: 52.87±2.31 y 55.24±2.57, respectivamente). Los mayores valores de CRA se obtuvieron en los tratamientos con 2 g grasa/100 g leche y mayores tiempos de exposición ultrasónica. En este caso, se puede observar una tendencia de aumento de CRA al incrementar la temperatura de tratamiento para las muestras de 2 g grasa/100 g de leche. Por otra parte, para las muestras de 1 g grasa/100 g de leche, esta tendencia no se percibe, aunque es notable un aumento de la CRA desde el menor tiempo de TS al máximo nivel del mismo, mostrando una leve disminución a los 4 min de US.

El uso de WPC el cuál es un mimético de grasa, permitió el aumento de CRA con respecto a su control sin adición del mismo, esto se atribuye a la naturaleza polar de los miméticos de grasa, que hace que se exponga la matriz proteica y permita una mayor retención de agua, mejorando la textura y elevando el rendimiento en quesos reducidos y bajos en grasa (Tamime, 2008). Como una explicación al mecanismo por el cual se incrementa la CRA en diversos estudios, se ha sugerido que el agua puede unirse directamente a los miméticos de grasa y estos a su vez pueden interferir con la contracción de la matriz de caseína; lo anterior reduce la fuerza motriz que participa en la expulsión de agua de la cuajada (Zalazar *et al*., 2002; Rudan *et al.,* 1998; McMahon *et al*., 1996; Drake *et al*., 1996). Otra posible explicación para el aumento en la CRA, es que en el proceso de US, la cavitación y sus efectos mecánicos rompen la MGG en la leche, haciendo que las caseínas y otras proteínas se integren a la membrana en los sitios que han quedado expuestos, mejorando la interacción entre los glóbulos de grasa y la red de CN. En este caso, los incrementos en la CRA observados se relacionan con una mayor cantidad de proteína de suero y grasa incorporadas en la red proteica formada y su habilidad para retener agua (Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2010; Riener *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2008).

Kresic *et al.* (2008) investigaron las propiedades reológicas y termofísicas de soluciones de WPC al 10%, tratadas por US (20 kHz, 15 min). De acuerdo a sus resultados, el uso del US cambió el

comportamiento del flujo, atribuyendo los cambios a la desnaturalización de la estructura proteica. Los autores comentan que el incremento en las uniones de moléculas de agua, se debe a una mayor exposición de las secciones hidrofílicas de los aminoácidos hacia la fase acuosa circundante.

3.1.4 Firmeza de gel (FG)

Los valores de FG obtenidos para cada uno de los tratamientos de TS realizados se muestran en la Tabla 10. De acuerdo a los análisis de regresión y ANOVA correspondientes, las interacciones grasa-temperatura, grasa-tiempo y la interacción triple de los factores principales, tienen efecto significativo ($P<0.05$) sobre la FG. La agrupación de Dunnett permitió distinguir los tratamientos que asemejan su comportamiento a las distintas muestras control. La mayoría de los tratamientos de TS exhiben una firmeza de gel similar a la del control (3 g grasa/100 g leche), lo cual resulta promisorio como prueba predictiva, dado que puede indicar un ablandamiento de la red proteica por efecto de la TS, considerando que tradicionalmente la reducción en grasa produce un aumento importante en la firmeza de geles lácteos (Skeie *et al.,* 2013). Por otra parte, el tiempo de tratamiento de US elevado (6 minutos) presentó un aumento moderado de la FG para los tratamientos con leche 1 g grasa/100 g leche.

Tabla 10. *Efectos de tratamientos de TS sobre la firmeza (g) en gel*

t US (min)	°C	% Grasa	
		1	2
2	50	39.23 ± 1.73^{AB}	33.48 ± 2.12^{A}
	55	35.58 ± 0.81^{A}	34.11 ± 3.84^{A}
	60	33.05 ± 0.87^{A}	39.38 ± 2.51^{ABC}
4	50	38.42 ± 0.26^{AB}	35.98 ± 2.57^{AB}
	55	35.20 ± 0.35^{A}	38.83 ± 0.39^{AB}
	60	34.92 ± 1.77^{A}	38.20 ± 0.57^{AB}
6	50	41.27 ± 3.30^{ABC}	37.03 ± 1.38^{AB}
	55	40.58 ± 1.03^{BC}	33.78 ± 1.45^{A}
	60	38.78 ± 3.50^{AB}	34.00 ± 1.98^{A}
Controles (leche pasteurizada LTLT)			
3% grasa		36.08±2.51	
2% grasa		40.18±3.25	
1% grasa		47.05±3.00	

[1] Los superíndices con letras mayúsculas indican semejanza de FG con una muestra control, de acuerdo a la agrupación de Dunnett ($P<0.05$), indicando como muestra control, leche pasteurizada LTLT a: (A) 3% grasa; (B) 2% grasa; (C) 1% grasa.
[2] Los resultados muestran la fuerza en g ejercida sobre cada uno de los geles ± desviación estándar (n=2)

La firmeza que adquiere la cuajada para el momento del corte es importante pues cuando es adecuada puede prevenir pérdidas de grasa y sólidos finos en el suero de quesería; por esta razón fue importante determinar la firmeza de geles elaborados con leche LTLT y TS. La disminución de la FG en leches bajas en grasa dependió tanto del uso de US como la adición de WPC en leche. En este estudio se puede observar que el uso de WPC mejoró la firmeza de los geles, comparando con leche sin adición de la misma. Koca *et al.* (2004), utilizando WPC microparticulada en queso *kashar* bajo en grasa (queso de pasta hilada elaborado con leche de vaca), reportan una disminución de la dureza que puede atribuirse a diversos factores como son, al alto contenido de humedad en sustancias no grasas, a la razón de humedad:proteína y al volumen total de relleno. Un incremento en el volumen total de relleno (humedad y grasa) resulta en una disminución en la cantidad de matriz de CN. Por lo tanto, se requiere menos fuerza para una deformación dada y el material compuesto se vuelve más suave (Rudan *et al.,* 1998). En este sentido, existen estudios que indican que el uso de diferentes sustitutos de grasa disminuyó la dureza de quesos reducidos en grasa (Lobato *et al.,* 2009; Lobato *et al.,* 2002; Bhaskaracharya & Shah, 2001). Sin embargo, la adición excesiva de proteínas de suero de leche probablemente pueda interferir con la formación de la cuajada, afectando negativamente a la calidad del queso debido a la formación de complejo β lactoglobulina - κ caseína (Guinee *et al.*, 1998). Por su parte, Zisu *et al.* (2011) investigaron los cambios en las propiedades de gelificación inducidas por el calor y el US en sistemas de WPC. En ese estudio, se encontró que los geles formados por calentamiento (80°C, 20 min) y US a 20 kHz mostraron mayor resistencia de gel, menor sinéresis y diferencias en la microestructura del gel, comparados con los geles de WPC no sonicados.

Otro factor que puede incidir sobre la firmeza de geles lácteos es la conformación de la membrana de glóbulo graso, el ultrasonido es responsable de la desorganización de dicha membrana, haciendo su superficie rugosa, permitiendo la adherencia de las micelas de caseína y proteínas de suero a la estructura del GG (Bermúdez-Aguirre *et al.*, 2008). Lo anterior genera una mayor adsorción de agua y por ende una menor firmeza en los geles elaborados. En este sentido, Zisu *et al*. (2010) trabajaron con geles a partir de mezclas reconstituidas de proteína concentrada de suero, retenido de ultrafiltración de proteína de suero y caseinato de calcio, las cuales fueron tratadas con US (20 kHz, 60-240 J/mL). Los geles resultantes fueron más firmes que el control, lo cual sugieren que se debe al incremento del área superficial de las partículas, que promovió la asociación de proteínas durante la formación del gel creando una estructura más compacta. Para leche descremada tratada (18 g, 22.5 kHz, potencia efectiva de 50 W) por tiempos de 0 a 30 min con

y sin control de temperatura se observó una mayor firmeza de gel para los tratamientos sin control de temperatura, lo cual puede relacionarse con una mayor desnaturalización proteica (Nguyen & Anema, 2010). De igual manera, Vercet *et al*. (2002) estudiaron las propiedades reológicas del yogurt elaborado con leche sujeta a TS (20 kHz, 12 s, 40°C), la textura y firmeza del yogur mejoró significativamente por el procedimiento de TS, comparada con mezclas control sin tratamiento TS. El mecanismo propuesto para mejorar la propiedad gelificante y la firmeza de TS yogurt fue la modificación de los glóbulos de grasa y el aumento de las interacciones con ellos y las micelas de caseína y la proteína sérica desnaturalizada.

3.1.5 Color

Dado que el descremado retira prácticamente el 99.5% de la materia grasa de leche, esto provoca su cambio de color hacia tonos azul-verdosos, puesto que sólo quedan las micelas de caseína y el suero lácteo para provocar la dispersión de la luz, y cuyos colores son azul y amarillo-verdoso, respectivamente (Gil & Ruiz, 2010). Por ello, resulta relevante analizar la modificación de color en productos reducidos en grasa. Las medias de los parámetros de color se muestran en la Tabla 11. Los análisis de regresión del diseño implementado mostraron que para el parámetro L* el efecto de los factores grasa, tiempo de US y la interacción entre los factores principales es significativo ($P<0.05$). Para el parámetro a* sólo lo fueron la grasa y el tiempo; y para el parámetro b* fueron la grasa y la interacción triple de los factores principales. Al momento de retirar parte de la grasa que conforma a la leche, se observa ineludiblemente un cambio en el color de la misma. Se puede observar que el parámetro L* aumenta a medida que lo hace el tiempo de TS, debido a la disminución del contenido de grasa y tamaño de glóbulo de la misma, lo cual permite una mejor dispersión de la luz en el espectro visible (Bermúdez-Aguirre *et al.*, 2008). Al comparar las muestras de mayor contenido de WPC (con 1 g grasa/100 g leche) con el control 3 g grasa/100 g leche, se observa que el parámetro L* disminuye. Esto se atribuye a la naturaleza particulada de la WPC, que actúa como centro de dispersión de luz, aumentando la opacidad de las muestras (McMahon, 1996).

En la Tabla 12 se encuentran las medias para el tono (hue, h*) de cada una de las muestras a los diferentes tratamientos de TS. El análisis de regresión mostró que el contenido graso y su interacción con la temperatura y la interacción triple de los factores (grasa, temperatura, tiempo), tiene efecto significativo ($P<0.05$) sobre la tonalidad de la muestra.

***Tabla 11**. Efectos de tratamientos TS sobre parámetros de evaluación de color*

Parámetro	t US (min)	T (°C)	% Grasa	
			1	2
L*	**2**	50	78.91±0.05^{Ba}	82.28±0.36^{ABb}
		55	79.58±0.59^{Aba}	82.59±0.09^{Ab}
		60	78.92±0.04^{Ba}	81.39±0.23^{Bb}
	4	50	79.52±0.47^{Aba}	83.33±0.35^{Ab}
		55	79.54±0.3^{Aba}	82.95±0.02^{Ab}
		60	79.48±0.12^{Aba}	82.93±0.23^{Ab}
	6	50	79.87±0.25^{Aba}	82.54±0.05^{Ab}
		55	80.03±0.09^{Aa}	82.80±0.29^{Ab}
		60	79.73±0.19^{Aba}	83.18±0.17^{Ab}
a*	**2**	50	-4.03±0.02^{Aa}	-3.32±0.11^{Ab}
		55	-4.06±0.01^{Aa}	-3.32±0.04^{Ab}
		60	-4.00±0.00^{Aa}	-3.30±0.05^{Ab}
	4	50	-4.05±0.01^{Aa}	-3.42±0.01^{Ab}
		55	-4.08±0.07^{Aa}	-3.58±0.21^{Ab}
		60	-4.08±0.14^{Aa}	-3.49±0.01^{Ab}
	6	50	-4.15±0.05^{Aa}	-3.26±0.11^{Ab}
		55	-4.14±0.08^{Aa}	-3.52±0.08^{Ab}
		60	-4.13±0.10^{Aa}	-3.55±0.13^{Ab}
b*	**2**	50	0.76±0.04^{Ba}	3.10±0.03^{Ab}
		55	1.69±0.1^{Aa}	3.56±0.14^{Ab}
		60	1.37±0.25^{Aa}	2.15±0.05^{Cb}
	4	50	1.12±0.13^{Ba}	3.71±0.37^{Ab}
		55	1.60±0.23^{Aa}	3.12±0.18^{Ab}
		60	1.38±0.11^{Aa}	3.64±0.33^{Ab}
	6	50	1.64±0.25^{Aa}	2.91±0.22^{ABb}
		55	1.75±0.10^{Aa}	2.94±0.12^{ABb}
		60	1.58±0.25^{Aa}	3.18±0.36^{Ab}

[1] Los superíndices en mayúsculas comparan medias por columna minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) indican diferencia significativa (P<0.05).
[2]Control leche pasteurizada LTLT, 3% grasa. L* 80.06±0.40; a* -3.38±0.12; b* 2.12±0.07
[3] Los resultados muestran L*, a* o b* ± desviación estándar (n=3)

El ángulo *Hue* (h*) sirve para indicar el tono de la muestra, el cual se sitúa en la escala de 0 a 360°. De acuerdo a la escala de color de Hunter, h* es un indicador de calidad; permite la clasificación del producto como: rojizo (0°), amarillento (90°), verdoso (180°) y azulado (270°). Para las muestras de 1 g grasa/100 g leche, a un mismo tiempo de tratamiento, se observan valores bajos (tono rojo/naranja) a 50°C, los cuales se incrementan al elevar la temperatura a 55°C, seguidos de una disminución de valor en los tratamientos a 60°C. Para las muestras con 2 g grasa/100 g leche,

los valores h* son más elevados tendiendo a una tonalidad amarillenta, que se mantiene en la mayoría de los diferentes tratamientos de TS. A pesar de existir diferencia significativa (P<0.05) entre tratamientos con respecto a la cantidad de grasa, visualmente no se pudieron apreciar tales cambios de tono.

Tabla 12. *Efecto del tratamiento de TS sobre el parámetro hue (h*)*

t US (min)	°C	% Grasa	
		1	2
2	50	10.68 ± 0.44^{Ba}	43.03 ± 1.17^{Ab}
	55	22.62 ± 1.23^{Aa}	46.99 ± 0.77^{Ab}
	60	18.90 ± 3.17^{Aba}	33.03 ± 0.28^{Bb}
4	50	15.40 ± 1.62^{Aba}	47.26 ± 2.78^{Ab}
	55	21.39 ± 2.51^{Aa}	41.08 ± 3.32^{ABb}
	60	18.63 ± 0.77^{Aba}	46.18 ± 2.18^{Ab}
6	50	21.55 ± 2.74^{Aa}	41.73 ± 3.13^{ABb}
	55	22.83 ± 0.82^{Aa}	39.87 ± 1.75^{ABb}
	60	20.83 ± 2.58^{Aa}	41.79 ± 4.31^{ABb}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).
[2] Control leche pasteurizada LTLT, 3% grasa. h* 32.15±1.78
[3] Los resultados muestran el valor h*±desviación estándar (n=3)

El índice de saturación/croma (C*) describe lo llamativo o lo apagado de un color, es decir qué tan cerca está el color ya sea al gris o al matiz puro. La Tabla 13 contiene los valores de saturación de las muestras a los diferentes tratamientos de TS. El análisis de regresión indicó que la grasa y la interacción triple de los efectos principales tiene efecto significativo (P<0.05) sobre el parámetro Croma.

Para las muestras de leche de 1 g grasa/100 g de leche, la saturación incrementa cuando aumenta también el tiempo de TS. Para las muestras de 2 g grasa/100 g de leche, el comportamiento del parámetro C*, no muestra una tendencia clara en los tratamientos aplicados de 2 y 4 min; pero en los de 6 min, si se observa un incremento constante.

Tabla 13. *Efectos de tratamientos TS sobre parámetros Croma (C*)*

t US (min)	°C	% Grasa	
		1	**2**
2	50	4.10 ± 0.02^{Ca}	4.54 ± 0.06^{ABb}
	55	4.39 ± 0.03^{Aba}	4.87 ± 0.13^{ABb}
	60	4.27 ± 0.08^{Ba}	3.94 ± 0.07^{Cb}
4	50	4.20 ± 0.05^{Ca}	5.04 ± 0.27^{Ab}
	55	4.38 ± 0.15^{ABa}	4.75 ± 0.04^{ABb}
	60	4.31 ± 0.17^{Ba}	5.04 ± 0.24^{Ab}
6	50	4.47 ± 0.14^{Aa}	4.37 ± 0.06^{BCa}
	55	4.50 ± 0.11^{Aa}	4.58 ± 0.02^{Aba}
	60	4.42 ± 0.18^{ABa}	4.77 ± 0.15^{ABb}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).
[2] Control leche pasteurizada LTLT, 3% grasa. C* 3.99±0.06
[3] Los resultados muestran el valor C*±desviación estándar (n=3)

Los valores de cambio neto de color (ΔE*) obtenidos para cada uno de los tratamientos de TS se muestran en la Tabla 14. De acuerdo al análisis de regresión, se presentaron diferencias significativas (P<0.5) con respecto al contenido de grasa y a las interacciones temperatura-tiempo y grasa tiempo.

Tabla 14. *Efectos de tratamientos TS sobre el Cambio Neto de Color*

t US (min)	°C	% Grasa	
		1	2
2	50	1.90 ± 0.01^{ABa}	2.43 ± 0.34^{Bb}
	55	1.02 ± 0.23^{Ca}	2.91 ± 0.15^{ABb}
	60	1.51 ± 0.15^{BCa}	1.32 ± 0.13^{Ca}
4	50	1.35 ± 0.25^{BCa}	3.63 ± 0.47^{Ab}
	55	1.04 ± 0.22^{Ca}	3.06 ± 0.06^{ABb}
	60	1.19 ± 0.04^{BCa}	3.26 ± 0.05^{ABb}
6	50	0.96 ± 0.14^{Ca}	2.60 ± 0.12^{Bb}
	55	0.86 ± 0.03^{Ca}	2.86 ± 0.30^{ABb}
	60	1.02 ± 0.00^{Ca}	3.30 ± 0.27^{ABb}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).
[2] Los resultados muestran el ΔE*±desviación estándar (n=3)

El ΔE* indica qué tan diferente es una muestra dada de leche del tratamiento control (3 g grasa/100 g). Las muestras de 2 g grasa/100 g leche, son las que mayores diferencias presentaron

con respecto a la muestra control. Una vez más, a pesar que exista diferencia en los resultados obtenidos técnicamente, tal cambio no fue percibido visualmente.

3.1.6 pH

La importancia del estudio de los valores de pH radica en que el fosfato de calcio micelar se disuelve progresivamente a medida que baja el pH del gel formado mediante la acción del cuajo. Durante la formación del gel enzimático, las micelas retienen casi en su totalidad su identidad estructural. Sin embargo, una vez que se corta la cuajada e inicia la expulsión de lactosuero, las micelas están mucho más juntas entre sí, hasta que se fusionan durante el prensado y la maduración del queso (Inda, 2000).

La Tabla 15 muestra los valores de pH de las mezclas antes y después de ser tratadas por TS. De acuerdo a los análisis de regresión y de varianza correspondientes, la temperatura, la grasa y la interacción grasa-tiempo, tienen efecto significativo ($P<0.05$) sobre el pH tras la TS. El valor promedio de pH para las muestras antes del tratamiento de TS fue de 6.61± 0.01, observándose una disminución en el valor tras el tratamiento TS, a un valor promedio de 6.55±0.01.

Tabla 15. *Valores de pH antes y después de tratamientos TS*

t US (min)	°C	% Grasa			
		1		2	
		pH Antes TS	pH Después TS	pH Antes TS	pH Después TS
2	50	$6.60±0.00^{Aa}$	$6.57±0.00^{Ab}$	$6.64±0.01^{Aa}$	$6.58±0.06^{Bb}$
	55	$6.60±0.07^{Aa}$	$6.53±0.01^{Aa}$	$6.62±0.00^{Aa}$	$6.53±0.01^{ABb}$
	60	$6.62±0.01^{Aa}$	$6.54±0.02^{Aa}$	$6.62±0.03^{Aa}$	$6.57±0.00^{Aba}$
4	50	$6.64±0.04^{Aa}$	$6.54±0.04^{ABb}$	$6.63±0.01^{Aa}$	$6.51±0.02^{ABb}$
	55	$6.62±0.02^{Aa}$	$6.52±0.04^{ABa}$	$6.61±0.03^{Aa}$	$6.56±0.04^{Aba}$
	60	$6.64±0.01^{Aa}$	$6.56±0.04^{Aa}$	$6.62±0.02^{Aa}$	$6.55±0.01^{Ab}$
6	50	$6.61±0.02^{Aa}$	$6.56±0.02^{ABa}$	$6.62±0.02^{Aa}$	$6.56±0.01^{Aba}$
	55	$6.64±0.04^{Aa}$	$6.56±0.02^{ABa}$	$6.64±0.03^{Aa}$	$6.51±0.02^{ABb}$
	60	$6.63±0.01^{Aa}$	$6.51±0.02^{Aa}$	$6.58±0.02^{Aa}$	$6.57±0.02^{Aa}$

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila (haciéndolo por separado para cada porcentaje de grasa); las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey $P<0.05$).

[2] Control leche pasteurizada LTLT, 3% grasa. pH antes TS 6.64±0.01; después TS 6.55±0.02

[3] Los resultados muestran el valor pH ± desviación estándar (n=3)

Estos resultados coinciden con los reportados por Bermúdez-Aguirre *et al.* (2009a), quienes reportan disminuciones de pH en leche tratada con US (500 mL, 24 kHz, 63°C, 30 min) con valores promedio de 6.74 para la leche pasteurizada y 6.64 para los tratamientos de US; dichos valores sitúan a las muestras en un rango similar al usualmente reportado para leche comercial. La disminución de pH en leche termosonicada se ha atribuido a la acción enzimática promovida por la cavitación produciendo la hidrólisis de ésteres (Walstra *et al.*, 2006). Chandrapala *et al.* (2012) observaron cambios menores en el pH como una función del aumento del tiempo de sonicación. Según los autores, el US puede alterar el pH de una solución debido a la formación de pequeñas cantidades de ácido nítrico (Supeno, 2000), debido a la reacción entre el nitrógeno y el oxígeno dentro de la zona caliente de las burbujas de cavitación. Asimismo, Marchesini *et al*. (2012) observaron una disminución de pH en leche TS de 6.77 a 6.43 al incrementarse la amplitud de onda y el tiempo de US. Por su parte Chandrapala *et al*. (2012) no reportan cambios en pH en leche descremada sonicada, Shanmugam *et al.* (2012) mencionan que los cambios de pH son reversibles después de algunos minutos, debido al equilibrio mineral propio de la leche. Lo anterior se debe a que en algunos estudios no se observaron cambios en la concentración de calcio soluble, por lo que concluyen que el fosfato de calcio coloidal (FCC) no se ve afectado por los fenómenos de corte generados por la cavitación (Khanal *et al*., 2014).

3.1.7 Acidez Titulable

La Tabla 16 muestra los valores de acidez de las muestras de leche TS. De acuerdo a los análisis de regresión y varianza correspondientes, la temperatura es el factor que influye significativamente ($P<0.05$) sobre el cambio en la AT. De acuerdo a la comparación de medias de Tukey ($P<0.05$), no existe diferencia significativa entre las muestras con tratamiento de TS. La muestra control tuvo un valor de acidez de 0.15±0.01 g de ácido láctico/100 g de queso, observándose un aumento en el valor promedio de las mezclas tras los tratamientos de TS, el cual fue de 0.17±0.01 g de ácido láctico/100 g de queso.

***Tabla 16**. Valores de AT de mezclas a diferentes tratamientos de TS*

t US (min)	°C	% Grasa	
		1	2
2	50	0.18±0.01^{Aa}	0.16±0.01^{Aa}
	55	0.17±0.01^{Aa}	0.17±0.01^{Aa}
	60	0.17±0.01^{Aa}	0.17±0.01^{Aa}
4	50	0.17±0.01^{Aa}	0.17±0.01^{Aa}
	55	0.16±0.00^{Aa}	0.17±0.01^{Aa}
	60	0.16±0.01^{Aa}	0.16±0.01^{Aa}
6	50	0.18±0.00^{Aa}	0.18±0.00^{Aa}
	55	0.17±0.01^{Aa}	0.18±0.01^{Aa}
	60	0.17±0.00^{Aa}	0.17±0.01^{Aa}

[1] Control leche pasteurizada LTLT, 3% grasa. AT 0.15±0.01
[2] Los resultados muestran el %ácido láctico ± desviación estándar (n=3)

Bermúdez-Aguirre *et al.* (2009a) reportan un aumento de AT (expresado en %ácido láctico) en leche tratada con US (500 mL, 24 kHz, 63°C, 30 min), con valores promedio de 0.126 para la leche pasteurizada y 0.141 para los tratamientos después del US. El incremento en la acidez puede atribuirse a dos factores. El primer factor está relacionado con la lipólisis, debido a la acción enzimática sobre los triglicéridos (Walstra *et al*., 2006), proceso que se ve reforzado por el ultrasonido, acelerando la liberación de ácidos grasos libres hacia el medio. El segundo factor podría deberse a la formación de nitrito, peróxido de hidrógeno y el nitrato en la leche después de la sonicación, cuya formación en medios acuosos a diferentes frecuencias e intensidades de US ha sido demostrada (Supeno, 2000).

3.1.8 Análisis de Optimización de Resultados

Los valores obtenidos para cada una de las respuestas propuestas, fueron analizados empleando el modelo de regresión mostrado en la Ec. 13, con la finalidad de identificar la significancia de los factores para cada una de las respuestas evaluadas:

$$y = b_0 + b_1T + b_2G + b_3t + b_{12}TG + b_{13}Tt + b_{23}Gt + b_{123}TGt + b_{11}T^2 + b_{33}t^2 \quad \text{(Ec. 13)}$$

Donde:

T = Temperatura de tratamiento, G = % grasa, t = tiempo de tratamiento ultrasónico

El efecto cuadrático del porcentaje de grasa no se tomó en cuenta, debido a que éste sólo se encuentra en dos niveles. El mínimo y máximo niveles seleccionados para cada una de las variables se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. *Variables analizadas en pruebas preliminares*

Variable	Nivel mínimo (-1)	Nivel medio (0)	Nivel máximo (1)
Temperatura (°C)	50	55	60
Grasa (%)	1	--	2
Tiempo US (min)	2	4	6

La Tabla 18, muestra la codificación para cada uno de los valores de las respuestas. Las letras A, B y C, representan la temperatura, porcentaje de grasa y tiempo de sonicación, respectivamente. Las interacciones corresponden a las establecidas en el modelo de regresión.

Tabla 18. *Diseño utilizado en la proyección de los factores*

°C	% G	t US (min)	ΔpH	L*	h*	C*	ΔE*	AT	CRA	FG	A	B	C	AB	AC	BC	ABC	AA	CC
50	1	2	0.033	78.87	-5.08	4.12	1.91	0.18	49.03	38.00	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1
50	1	2	0.020	78.94	-5.40	4.08	1.89	0.171	43.88	40.45	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1
50	1	4	0.080	79.19	-3.85	4.16	1.55	0.165	57.20	38.23	-1	-1	0	1	0	0	0	1	0
50	1	4	0.117	79.85	-3.27	4.23	1.16	0.177	56.38	38.60	-1	-1	0	1	0	0	0	1	0
50	1	6	0.090	80.05	-2.15	4.57	0.87	0.18	53.48	43.60	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1
50	1	6	0.103	79.69	-2.69	4.37	1.06	0.18	57.15	38.93	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1
50	2	2	0.177	82.53	-0.70	4.50	2.67	0.171	60.24	31.98	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	1
50	2	2	0.170	82.02	-0.78	4.59	2.19	0.153	56.67	34.98	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	1
50	2	4	0.050	83.57	-0.44	5.24	3.96	0.18	55.38	37.80	-1	1	0	-1	0	0	0	1	0
50	2	4	0.053	83.08	-0.63	4.85	3.30	0.162	60.03	34.17	-1	1	0	-1	0	0	0	1	0
50	2	6	0.033	82.57	-0.69	4.42	2.69	0.177	53.87	38.00	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1
50	2	6	0.040	82.50	-0.92	4.33	2.52	0.183	54.91	36.05	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1
55	1	2	0.047	79.99	-2.37	4.37	0.85	0.177	54.03	35.10	0	-1	-1	0	0	1	0	0	1
55	1	2	0.007	79.16	-2.15	4.42	1.18	0.162	61.28	36.25	0	-1	-1	0	0	1	0	0	1
55	1	4	0.080	79.74	-2.19	4.49	0.89	0.159	55.83	34.95	0	-1	0	0	0	0	0	0	0
55	1	4	0.060	79.32	-2.69	4.27	1.20	0.162	54.85	35.45	0	-1	0	0	0	0	0	0	0
55	1	6	0.087	79.97	-2.16	4.57	0.88	0.174	57.69	41.30	0	-1	1	0	0	-1	0	0	1
55	1	6	0.057	80.09	-2.31	4.42	0.84	0.162	60.40	39.85	0	-1	1	0	0	-1	0	0	1
55	2	2	0.113	82.52	-0.57	4.78	2.80	0.183	59.13	31.40	0	1	-1	0	0	-1	0	0	1
55	2	2	0.093	82.65	-0.52	4.96	3.01	0.165	57.02	36.83	0	1	-1	0	0	-1	0	0	1
55	2	4	0.090	82.96	-0.72	4.72	3.11	0.171	61.67	39.10	0	1	0	0	0	0	0	0	0
55	2	4	0.053	82.93	-0.97	4.77	3.02	0.159	61.66	38.55	0	1	0	0	0	0	0	0	0
55	2	6	0.000	82.60	-0.97	4.57	2.65	0.183	63.52	34.80	0	1	1	0	0	1	0	0	1
55	2	6	0.060	83.00	-0.84	4.59	3.08	0.168	67.13	32.75	0	1	1	0	0	1	0	0	1
60	1	2	0.023	78.94	-2.46	4.28	1.41	0.171	49.24	33.67	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1
60	1	2	0.027	78.89	-3.24	4.17	1.62	0.159	54.33	32.43	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1
60	1	4	0.073	79.57	-2.76	4.43	1.16	0.156	52.87	33.67	1	-1	0	-1	0	0	0	1	0
60	1	4	0.033	79.39	-2.95	4.19	1.22	0.171	55.26	36.17	1	-1	0	-1	0	0	0	1	0
60	1	6	0.047	79.59	-2.25	4.55	1.02	0.168	52.98	41.25	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	1
60	1	6	0.043	79.86	-2.79	4.30	1.02	0.168	60.08	36.30	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	1
60	2	2	0.097	81.29	-1.33	3.89	1.24	0.165	61.44	41.15	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1
60	2	2	0.050	81.47	-1.30	3.99	1.41	0.144	57.36	37.60	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1
60	2	4	0.037	82.76	-0.49	5.21	3.22	0.168	59.46	38.60	1	1	0	1	0	0	0	1	0
60	2	4	0.050	83.09	-0.68	4.88	3.29	0.156	65.86	37.80	1	1	0	1	0	0	0	1	0
60	2	6	0.007	83.055	-0.97	4.67	3.11	0.168	66.23	32.60	1	1	1	1	1	1	1	1	1
60	2	6	0.010	83.295	-0.65	4.87	3.49	0.156	68.27	35.40	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Posteriormente, se realizó el análisis de regresión para cada una de las respuestas. La significancia de los parámetros se evaluó a un nivel de confianza del 95%. La calidad del ajuste del modelo se evaluó mediante el coeficiente de determinación generalizado (R^2); la Tabla 19 muestra dicho coeficiente para cada respuesta evaluada, donde $R^2 = 1$ implica un ajuste lineal perfecto la variación de la variable de estudio es explicada por el modelo de regresión.

Tabla 19. *Coeficientes de determinación generalizados (R^2)*

	R^2
CRA	0.727
FG	0.588
pH	0.582
ΔE*	0.871
AT	0.362

Debido a que el coeficiente determina la calidad del modelo para replicar los resultados, el grado de ajuste medido por el índice de elección indica una predicción apropiada de los parámetros ΔE* y CRA, en menor grado de calidad se encuentran las respuestas FG y pH. Por su parte, la respuesta AT no se ajusta de manera favorable al modelo propuesto.

El análisis de regresión proporcionó los coeficientes de todas las variables establecidas en la Ecuación 11. En este caso, la Tabla 20 muestra dichos valores para cada una de las respuestas evaluadas.

Tabla 20. *Coeficientes de variables del modelo de regresión*

	Factor	CRA	FG	pH	ΔE*	AT
$\mathbf{b_0}$		59.89	36.51	6.62	2.20	0.17
$\mathbf{b_1}$	°C	1.88	-0.59	0.00	-0.11	-0.01
$\mathbf{b_2}$	%G	2.89	-0.68	-0.01	0.81	-0.00
$\mathbf{b_3}$	t US	2.17	0.88	0.00	0.04	0.00
$\mathbf{b_{12}}$	°C-%G	1.25	1.44	0.00	-0.02	-0.00
$\mathbf{b_{13}}$	°C-t US	0.98	-0.66	0.00	0.28	-0.00
$\mathbf{b_{23}}$	%G-t US	-0.33	-1.24	-0.02	0.31	0.00
$\mathbf{b_{123}}$	°C-%G-t US	2.00	-1.58	0.00	0.17	-0.00
$\mathbf{b_{11}}$	$(°C)^2$	-2.78	0.62	0.00	0.08	-0.00
$\mathbf{b_{33}}$	$(t\ US)^2$	-0.56	- 0.23	-0.01	-0.37	0.00

Para cada una de las respuestas se graficaron los datos experimentales contra los datos obtenidos, donde se observa un ajuste de los datos al modelo de regresión propuesto.

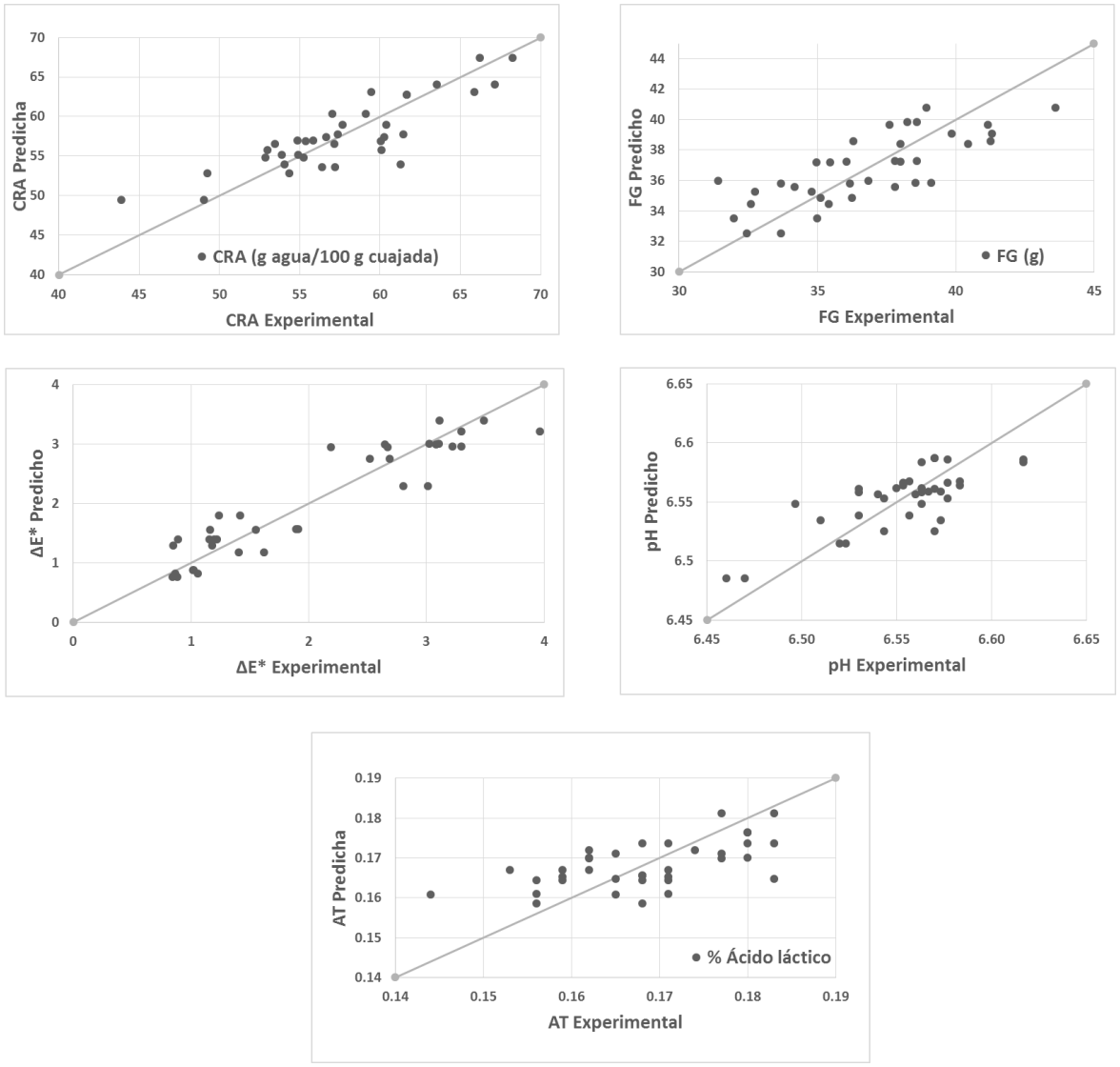

Figura 3. *Comparación de valores Experimentales vs Predichos por el modelo de regresión*

Para un análisis visual de los datos, los coeficientes de las respuestas CRA y FG fueron evaluados de acuerdo al modelo de regresión propuesto, mediante el software Matlab R2012a y graficados con apoyo del software Sigmaplot 10.0.

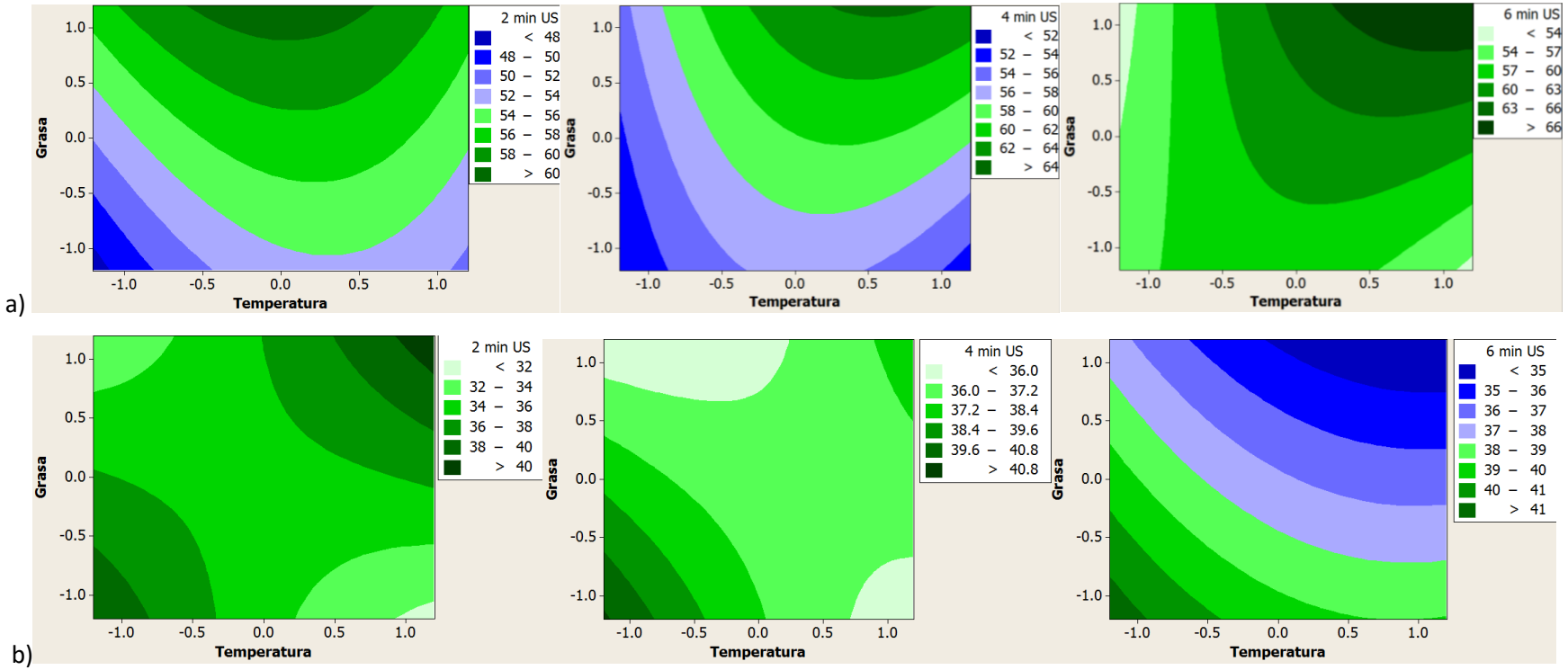

Figura 4. *Representación gráfica de las respuestas a) CRA, b) FG a los tres tiempos de tratamiento de TS. Control leche pasteurizada LTLT 3% grasa: CRA 44.93±1.02, FG 36.08±2.51. Variables codificadas: Temperatura °C; 50(-1), 55(0), 60(1) y % Grasa; 1(-1), 2(0), 3(1).*

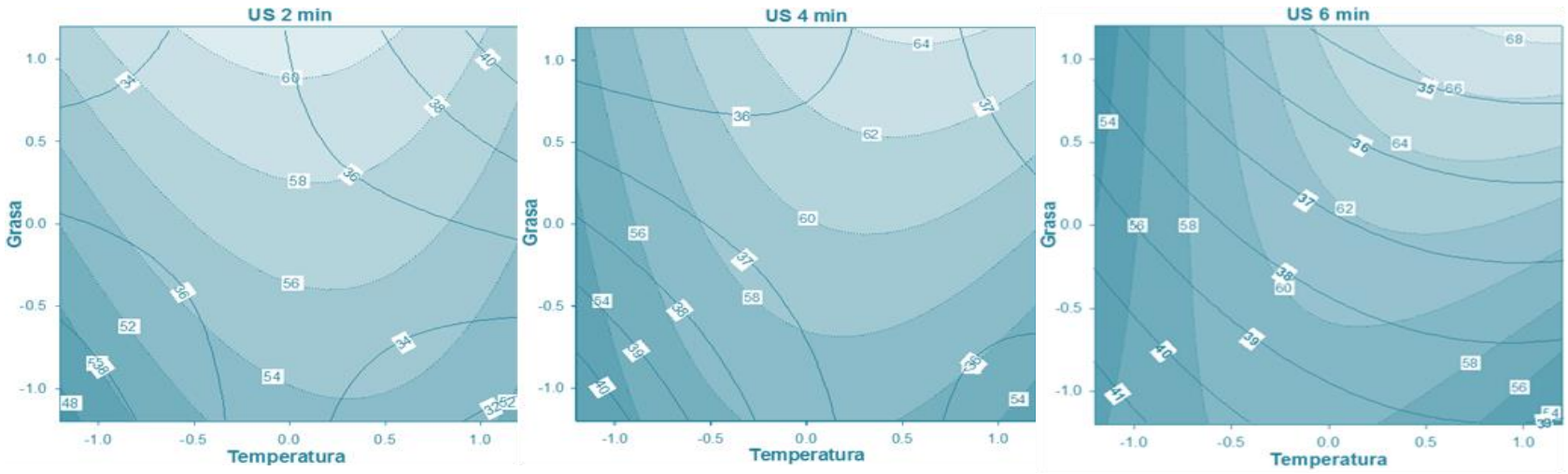

Figura 5. *Gráficas de contorno superpuestas para las respuestas CRA (líneas de puntos) y FG (líneas continuas) observadas en los diferentes tratamientos de TS. Control leche pasteurizada LTLT 3% grasa: CRA 44.93±1.02, FG 36.08±2.51. Variables codificadas: Temperatura °C; 50(-1), 55(0), 60(1) y % Grasa; 1(-1), 2(0), 3(1).*

Para un análisis cuantitativo, el modelo de regresión fue programado en el software Excel a través del comando *Solver*; con ello, se obtuvieron los valores codificados para los factores temperatura, grasa y tiempo de sonicación que cumplieran con las siguientes restricciones:

- Escenario 1. Minimizar el contenido de grasa, mantener la FG y CRA semejante a la muestra control (3 g grasa/100 g leche), con la finalidad de emular las respuestas del control, pero sin el aporte calórico del mismo.
- Escenario 2. Minimizar el contenido de grasa, manteniendo la firmeza semejante a la muestra control (3 g grasa/100 g leche), pero aumentando la CRA de 15 a 20% aproximadamente. Esto permitiría obtener productos reducidos en grasa, con una FG similar al control, pero brindando un aumento significativo en el rendimiento.

Los tratamientos que cumplieron con las restricciones establecidas se muestran en la Tabla 21, los cuales se propusieron para la siguiente sección de la parte experimental (Etapa II), pues se muestran como tratamientos promisorios para obtener quesos con las características planteadas.

***Tabla 21**. Tratamientos seleccionados para trabajo en Etapa II*

% Grasa	°C	t US (s)	CRA	FG
1	50	120	49.50	38.42
1	50	144	53.00	37.26
1.5	60	120	55.28	36.09

[1] Control pasteurizado LTLT, 3% grasa. CRA 44.93±1.02, FG 36.08±2.51

3.2 Etapa II. Elaboración de queso tipo Panela

3.2.1 Preparación de muestras

Se realizó la estandarización de las muestras para obtener 3 tipos de leche, clasificadas de acuerdo a su proporción de grasa (3, 1.5 y 1 g grasa/100 g leche, correspondientes a leche entera, semidescremada y light, de acuerdo a su clasificación comercial) y cuyos valores promedio se muestran en la Tabla 22.

Tabla 22. *Composición química de leche*

Grasa (%)	SNF (%)	Lactosa (%)	Solidos (%)	Proteína (%)	Humedad (%)
2.98±0.03	7.55±0.24	4.15±0.13	0.62±0.02	2.78±0.09	89.48±0.28
1.54±0.02	7.90±0.23	4.34±0.13	0.64±0.02	2.92±0.08	90.56±0.25
1.03±0.05	8.11±0.64	4.45±0.35	0.66±0.05	3.00±0.24	90.86±0.68

[1] Los valores se presentan como g/100 g de leche ± desviación estándar
[2] SNF: Sólidos no grasos

Posteriormente, se agregó la proporción establecida de WPC (0, 1, 1.33 g WPC/100 g leche estandarizada) a las leches estandarizadas (3, 1.5, 1 g grasa/ 100 g leche) respectivamente. La composición promedio de las mezclas, se observa en la Tabla 23.

Tabla 23. *Composición química de mezclas de leche y WPC para elaboración de queso Panela*

Grasa (%)	SNF (%)	Lactosa (%)	Solidos (%)	Proteína (%)	Humedad (%)	Razón P/G
2.98±0.03*	7.55±0.24	4.15±0.13	0.62±0.02	2.78±0.09	89.48±0.27	1.04±0.05
1.63±0.02	8.67±0.23	4.39±0.12	0.64±0.02	3.64±0.08	89.71±0.25	2.93±0.41
1.15±0.05	9.12±0.63	4.51±0.35	0.65±0.05	3.96±0.23	89.73±0.67	3.70±0.52

[1] Los valores se presentan como g/100 g de leche ± desviación estándar
[2] SNF: Sólidos no grasos
* Sin adición de WPC

3.2.2 Rendimiento

La Tabla 24 muestra los rendimientos verde y húmedo de los quesos LTLT y los elaborados por tratamientos seleccionados de TS.

***Tabla 24**. Rendimientos verde y húmedo en quesos LTLT y elaborados por TS*

# Trata-miento	Razón P/G	°C	t US	Rendimiento verde (kg queso/ 100 kg leche)	Rendimiento húmedo (kg queso/ 100 kg leche)
	Control*			20.75±2.04^{A}	13.10±0.82^{A}
1	2.93±0.41	60	120	22.25±1.91^{A}	14.34±0.58^{A}
2	3.70±0.52	50	120	20.96±1.31^{A}	13.10±0.64^{A}
3	3.70±0.52	50	144	20.21±0.61^{A}	13.46±1.19^{A}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna; las medias que no comparten las mismas letras son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).
[2] Rendimiento verde es el obtenido de la cuajada antes de salar y prensar; rendimiento húmedo obtenido al día 1 después de 15 h de prensado
[3] Los resultados muestran el rendimiento verde o húmedo ± desviación estándar (n=3)
* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

El rendimiento quesero depende de ciertos factores como la composición y el tratamiento previo de la leche antes de la elaboración del queso (Huppertz *et al.*, 2005). Claramente, para optimizar los rendimientos, el énfasis debe estar siempre en minimizar las pérdidas de los componentes principales (proteínas y grasa). Sin embargo, el objetivo de éste trabajo fue el sustituir la mayor cantidad de grasa por proteínas séricas y realizar tratamientos de TS para lograr una mayor incorporación de éstas en la matriz del queso, logrando así un incremento en el rendimiento quesero.

De acuerdo a San Martín-González *et al*. (2007), incrementos de ≥0.5% en el rendimiento quesero son considerados suficientes para generar ganancias significativas al fabricante; los resultados de rendimiento obtenidos no son significativos, pero resultan promisorios en la búsqueda nuevos tratamientos para la elaboración de quesos. Se pueden observar rendimientos similares e incluso mayores en los tratamientos de TS comparados con el únicamente pasteurizado, pero de acuerdo al análisis de varianza correspondiente, los diversos tratamientos no muestran diferencia significativa (P<0.05) sobre el rendimiento verde y rendimiento húmedo tras la TS. Este aumento en el rendimiento podría atribuirse a la nueva estructura de la leche después del tratamiento de ultrasonido. Los glóbulos de grasa y las moléculas de caseína cambian su forma y tamaño debido a la cavitación generada por las ondas de US en la leche, produciendo un nuevo complejo de caseína-grasa y dando a la leche mejores características fisicoquímicas (Bermúdez-Aguirre *et al.,* 2008). Según Sfakianakis *et al*. (2015) el US de alta intensidad, además de causar la desnaturalización de proteínas de suero, promueve la formación de grandes agregados con micelas de caseína. Esta unión de las proteínas de suero de leche desnaturalizada con las micelas de caseína

aumenta la capacidad de retención de agua de la matriz de queso, incrementando el rendimiento del mismo (Hinrichs, 2001).

Almanza *et al*. (2015) obtuvieron rendimiento de 19.5% en queso crema manufacturado con leche tratada por TS (20 W, 51 °C, 30 min), el cual fue mayor que el rendimiento observado en el queso control (10.9%) elaborado con leche no termosonicada. Bermúdez-Aguirre *et al.* (2010), reportaron que la TS de la leche (24 KHz, 129 mW/mL, 63 °C, 30 min) mejora el rendimiento de queso Fresco de 10.7% (control) a 20.6%. Estos autores además describen que el aumento de temperatura (≥72 °C) durante la TS no produce un incremento en el rendimiento de queso Fresco. Resultados similares se han encontrado empleando leche homogeneizada para elaborar queso mozzarella (Rudan *et al.*, 1998), donde el incremento de rendimiento proviene de una reducción en las pérdidas de grasa y finos en el suero de leche. Otras alternativas exploradas incluyen la aplicación de tratamientos térmicos más severos que la pasteurización HTST, los cuales inducen la desnaturalización de proteínas de suero de leche, la cual promueve su incorporación en la cuajada de queso (Kelly *et al.*, 2008). De igual manera, San Martín-González *et al*. (2007), Sandra *et al.* (2004) y Hayes *et al*. (2003) reportan incrementos de rendimientos asociados a factores similares empleando leche tratada bajo condiciones selectas de alta presión, mientras que Guinee *et al*. (2007), proponen incrementar la razón proteína: grasa para incrementar el rendimiento del queso.

3.2.3 Humedad

Durante el almacenamiento refrigerado (4°C) se presentaron cambios la composición y propiedades funcionales de los quesos elaborados. La pérdida de humedad está asociada a una disminución de la actividad de agua, a un cambio en la apariencia y textura, lo que a su vez genera un aumento en las barreras para el crecimiento microbiano y también para algunas reacciones químicas, cambios en el color e incrementos en la dureza. La Tabla 25 muestra los cambios en la proporción de humedad en los quesos LTLT y los elaborados a diferentes tratamientos de TS durante su almacenamiento.

De acuerdo al ANOVA correspondiente, los diversos tratamientos de TS muestran diferencia significativa ($P<0.05$) con respecto al queso con leche pasteurizada, sobre el porcentaje de humedad inicial y durante su almacenamiento. Al considerar el tiempo de almacenamiento, podemos observar que dos tipos de quesos (control y P/G 3.70±0.52, 120s, 50°C) no reflejan cambios significativos en sus valores de humedad. Para los dos quesos restantes (P/G 2.93±0.41, 120 s, 60°C

y P/G 3.70±0.52, 144 s, 50°C) existe diferencia significativa (P<0.05) con respecto al día 1 de almacenamiento.

Tabla 25. *Porcentaje de humedad en quesos LTLT y elaborados con leche TS durante su almacenamiento*

# Tratamiento	Razón P/G	°C	t US (s)	Almacenamiento (Día)		
				1	7	14
	Control*			60.41 ± 1.35^{Aa}	58.23 ± 2.05^{Aa}	57.37 ± 1.13^{Aa}
1	2.93±0.41	60	120	66.23 ± 1.03^{Ba}	61.17 ± 0.50^{ABb}	61.13 ± 0.44^{Bb}
2	3.70±0.52	50	120	66.53 ± 1.12^{Ba}	63.86 ± 2.78^{Ba}	63.46 ± 1.09^{Ca}
3	3.70±0.52	50	144	67.08 ± 1.00^{Ba}	62.93 ± 0.85^{ABb}	62.77 ± 0.38^{BCb}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).

[2] Los resultados muestran el Rendimiento verde o Húmedo ± desviación estándar (n=3)

* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

La eliminación de la grasa de la matriz de la caseína conduce a la formación de una red de para-caseína mucho más estrecha, que durante la sinéresis se vuelve excesivamente firme. Para limitar este defecto en los quesos bajos en grasa, el contenido de humedad de la cuajada se puede aumentar, asegurando así una textura similar a la de un queso con contenido normal de grasa (Banks, 2004). Los distintos tratamientos de TS apoyan el incremento de humedad en los quesos elaborados, lo que sugiere una posible reorganización de las moléculas en el interior del queso, permitiendo una mayor captación de agua y a la incorporación de proteínas de suero a la superficie de las micelas de CN (Huppertz *et al.*, 2005). En este sentido, Almanza *et al*. (2015) reportan que el contenido de humedad incrementó significativamente de 55 a 60% en los quesos crema hechos con leche TS (20 W, 51°C, 30 min), con respecto al elaborado con pasteurización LTLT (63°C, 30min). Cuando se calienta la leche, las proteínas del suero desnaturalizadas llegan a formar agregados proteicos con las κ-CNs. La unión de β-LG y α-LA (en un grado menor) con las micelas de caseína aumenta la capacidad de retención de agua de la matriz de proteína (Donato *et al.*, 2007; Vasbinder & De Kruif, 2003), y por tanto, el contenido de humedad del queso. Bermúdez-Aguirre *et al.* (2010) reportaron también un aumento en el contenido de humedad (del 63% al 71%) de queso fresco elaborado con leche TS (129 mW/mL, 63°C, 30 min). Sin embargo, estos autores concluyeron que los cambios en la retención de agua del queso era un efecto del US, pero no de la temperatura utilizada durante la sonicación de la leche.

3.2.4 Actividad de agua

Las interacciones del agua en el queso son ante todo interacciones con las caseínas, puesto que el otro único componente importante en términos de cantidad, la grasa, es altamente hidrofóbico. El agua en el queso puede estar contenida en capilares, retenida mecánicamente y disponible como solvente, o puede estar *atrapada* o *enlazada* en partículas de proteínas, en cuyo caso no está disponible como solvente (Inda, 2000).

Los valores de actividad de agua (a_w) de los quesos LTLT y los elaborados a diferentes tratamientos de TS a lo largo de su almacenamiento no mostraron diferencia significativa ($P<0.05$) entre ellos, de acuerdo al ANOVA correspondiente. El valor promedio de a_w fue de 0.954±0.001.

Los quesos no son sistemas estáticos, ya que la cantidad de agua disponible como solvente que contienen está evaporándose continuamente, ya sea lentamente. En el caso de quesos madurados, los procesos bioquímicos asociados con la maduración forman solutos nuevos de peso molecular cada vez menor. Estos dos efectos dinámicos, pérdida de humedad y formación de solutos, aumentan las interacciones entre el agua y los solutos y, de esta manera, a medida que se pierde agua, disminuye la relación entre el contenido de agua y el de sólidos no solubles, promoviendo así interacciones agua-caseína que, a su vez, disminuyen la relación entre agua libre y agua *enlazada* no disponible; disminuyendo la actividad de agua; aunque, la formación de solutos de bajo peso molecular, es bajo en quesos frescos (Inda, 2000).

Un aumento en el valor de a_w de agua puede justificarse por la adición de WPC y la desnaturalización de las proteínas mediante el efecto del tratamiento de TS, permitiendo una mayor captación de agua y a su vez un mayor contenido de humedad en el queso elaborado. Los efectos de varios factores en la a_w de queso han sido investigados. Marcos *et al.* (1981) determinaron la relación entre a_w y la composición química de diferentes quesos europeos con valores de a_w entre el rango de 0.91 a 0.99. La a_w fue positivamente correlacionada con el contenido de humedad (rango 32-55 g/100 g queso) y negativamente con la concentración de sal en la humedad (1.45-11.41 g/100 g queso) y con el nitrógeno no proteico (0.47-3.07 g/100 g queso).

3.2.5 Análisis de perfil de textura

La disminución de la grasa y su sustitución en el queso, ocasiona cambios sustanciales en el producto final, afectando características como firmeza, sabor y aceptabilidad. Lo anterior, debido al

aporte de la grasa en la composición, estructura cristalina, comportamiento en la fusión, solidificación, su interacción con el agua y con otras moléculas no lipídicas (Fennema, 2003). Al elaborar productos bajos en grasa, es importante determinar las posibles variaciones que puedan sufrir las características texturales y sensoriales, con el fin de identificar cuáles de los sustitutos empleados no presentan diferencias significativas con el producto de referencia (Valencia, 2003).

En los quesos, la textura es un parámetro determinante de la identidad y tipo de queso, y afecta significativamente la preferencia de consumidores y la intención de compra (Antoniou *et al.,* 2000). La textura del queso puede ser definida como un grupo de características físicas, que se originan de sus elementos estructurales, relacionadas con la deformación, desintegración y flujo cuando es sometido a una fuerza y son medidas objetivamente en función de la masa, tiempo y distancia (Bourne, 2002). Los atributos de calidad textural pueden ser evaluados mediante análisis descriptivos sensoriales y análisis instrumentales. Las medidas instrumentales ofrecen mayor objetividad y reproducibilidad, pero no necesariamente relacionan la intensidad percibida por los sentidos humanos, debido principalmente a la dificultad de reproducir y simular las condiciones de la boca cuando el alimento es consumido, tales como hidratación con saliva, temperatura y reducción de tamaño (Funami, 2011). La Tabla 27 contiene los atributos evaluados en el análisis de perfil de textura de los quesos elaborados con leche TS y tratados térmicamente a lo largo del periodo de almacenamiento.

Una de las razones por las que se eligieron estos tratamientos de TS, fue obtener productos reducidos en grasa que presentaran una firmeza similar a un queso con un contenido normal de grasa. De acuerdo al ANOVA realizado al día 1 en todos los atributos evaluados, no se observó diferencia significativa ($P<0.05$) entre tratamientos de TS y tratamiento LTLT, lo que indica que con la sustitución de la grasa por WPC y el empleo de tratamientos de TS a las condiciones establecidas, se pueden emular los atributos de un queso con un contenido normal de grasa sin el aporte calórico que esto representa. A partir del día 7 de almacenamiento, diferencias en algunos atributos se hicieron notables, en particular con la dureza o firmeza, la cual aumenta significativamente con respecto al día 1 y se mantiene hasta el día 14, pero no difiere entre los tratamientos aplicados. La firmeza de la red proteica depende entre otros factores, del contenido de agua, grasa y minerales. La acción de retirar la mitad o más del contenido graso de la leche de quesería, implica la formación de quesos más duros y rígidos (Brighenti *et al.,* 2008). No obstante, la adición de WPC y los tratamientos de TS permitieron la incorporación de agua a la red proteica, provocando un aumento

en el contenido de humedad y una reducción en la firmeza de la estructura, lo que implica una separación mayor entre las proteínas. Ahora bien, durante el almacenamiento el aumento de la dureza está relacionada con la pérdida de humedad, que al provocar una disminución de la hidratación de las proteínas conduce a una mayor interacción de las mismas (Walstra, 1990).

Tabla 26. *Análisis de perfil de textura de quesos LTLT y elaborados leche TS durante su almacenamiento*

Parámetro	Tratamiento				Tiempo de almacenamiento (días)		
	# Tratamiento	Razón P/G	°C	t US (s)	1	7	14
Dureza (kg-f)		Control*			0.70 ± 0.04^{Aa}	1.13 ± 0.06^{Ab}	1.15 ± 0.04^{Ab}
	1	2.93±0.41	60	120	0.69 ± 0.03^{Aa}	1.25 ± 0.10^{Ab}	1.26 ± 0.07^{Ab}
	2	3.70±0.52	50	120	0.78 ± 0.07^{Aa}	1.16 ± 0.07^{Ab}	1.19 ± 0.09^{Ab}
	3	3.70±0.52	50	144	0.71 ± 0.05^{Aa}	1.20 ± 0.09^{Ab}	1.32 ± 0.03^{Ab}
Elasticidad (Adimensional)		Control*			0.85 ± 0.01^{Aa}	0.86 ± 0.02^{Aa}	0.84 ± 0.01^{Aa}
	1	2.93±0.41	60	120	0.86 ± 0.00^{Aa}	0.88 ± 0.01^{Aa}	0.87 ± 0.01^{Aa}
	2	3.70±0.52	50	120	0.86 ± 0.01^{Aa}	0.87 ± 0.01^{Aa}	0.87 ± 0.01^{Aa}
	3	3.70±0.52	50	144	0.85 ± 0.00^{Aa}	0.88 ± 0.01^{Aa}	0.86 ± 0.01^{Aa}
Cohesividad (Adimensional)		Control*			0.66 ± 0.01^{Aa}	0.63 ± 0.04^{Aa}	0.69 ± 0.02^{Aa}
	1	2.93±0.41	60	120	0.70 ± 0.01^{Aa}	0.73 ± 0.03^{Ba}	0.75 ± 0.01^{Ba}
	2	3.70±0.52	50	120	0.65 ± 0.09^{Aa}	0.77 ± 0.02^{Ba}	0.78 ± 0.01^{Ba}
	3	3.70±0.52	50	144	0.67 ± 0.02^{Aa}	0.74 ± 0.00^{Bb}	0.65 ± 0.04^{Aa}
Gomosidad (kg-f)		Control*			0.46 ± 0.02^{Aa}	0.72 ± 0.02^{Ab}	0.79 ± 0.04^{Ab}
	1	2.93±0.41	60	120	0.48 ± 0.01^{Aa}	0.92 ± 0.10^{Bb}	0.95 ± 0.05^{Ab}
	2	3.70±0.52	50	120	0.50 ± 0.08^{Aa}	0.90 ± 0.06^{Bb}	0.93 ± 0.09^{Ab}
	3	3.70±0.52	50	144	0.48 ± 0.03^{Aa}	0.89 ± 0.07^{Bb}	0.87 ± 0.07^{Ab}
Masticabilidad (kg-f)		Control*			0.40 ± 0.01^{Aa}	0.62 ± 0.02^{Ab}	0.67 ± 0.02^{Ab}
	1	2.93±0.41	60	120	0.41 ± 0.01^{Aa}	0.81 ± 0.08^{Bb}	0.82 ± 0.05^{Bb}
	2	3.70±0.52	50	120	0.43 ± 0.07^{Aa}	0.78 ± 0.05^{Bb}	0.81 ± 0.08^{Ab}
	3	3.70±0.52	50	144	0.41 ± 0.02^{Aa}	0.78 ± 0.05^{Bb}	0.75 ± 0.05^{AB}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey $P<0.05$).

[2] Los resultados muestran el parámetro de textura ± desviación estándar (n=3)

* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

Además, la firmeza de un queso aumenta en proporción a la relación proteína/agua. Los valores de elasticidad no presentaron cambios significativos entre tratamientos ni durante el lapso de almacenamiento, esto también se relaciona con el hecho de que no hubo cambios significativos de pH durante la espera de los análisis (Ver sección 3.2.7). En los quesos frescos, la elevada humedad y el bajo pH son condiciones que afectan notoriamente la textura y sabor durante la conservación,

de forma que una excesiva proteólisis podría ocasionar defectos como una textura excesivamente blanda y un sabor amargo (Fox y McSweeney, 1996). La cohesividad fue variable durante el almacenamiento, a los días 7 y 14 se obtuvieron diferencias significativas ($P<0.05$) de los tratamientos TS con respecto al tratamiento control. Asimismo, se observa un aumento de los valores de los quesos elaborados con leche TS con respecto al tratamiento control al día 1. Los valores de gomosidad y masticabilidad tienden a aumentar durante el tiempo de almacenamiento y mostrando diferencias significativas ($P<0.05$) entre los tratamientos TS y el control.

Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas (2010), observaron cambios en el TPA de quesos frescos elaborados con distintas condiciones de TS (500 mL, 24 KHz, 129 mW/mL, 0-30 min, 63 y 72°C); estos se caracterizaron por tener una textura más suave, una menor gomosidad y masticabilidad. Los resultados obtenidos a través de microscopía electrónica indican que los quesos TS presentan una estructura más homogénea y compacta que los LTLT y los de leche cruda lo cual posiblemente se debe a la homogeneización de la grasa y las CNs y la mayor capacidad de la estructura proteíca para retener agua. Almanza *et al*. (2015) reportan disminución en los valores de untabilidad (<100 N) de queso crema elaborado con leche sonicada (20 W, 51 °C, 30 min), comparados con los observados en su queso control hecho con leche no sonicada (209 N). Indican además que los cambios en los valores de elasticidad no fueron atribuidos al tratamiento de sonicación, sino a las temperaturas de elaboración. En queso *Cheddar* elaborado con leche TS (1 L, 37 kHz , potencia eléctrica neta 220 W, 68°C, 30 min) se obtuvo una menor firmeza que los quesos LTLT y no se observaron diferencias significativas en su elasticidad y cohesividad (Quintana-Soto, 2013) . Marchesini *et al.* (2012) evaluaron el efecto del ultrasonido (400 W, 24 kHz, por 50-300 s) en diversas propiedades de fabricación de queso, teniendo como resultado que la firmeza de la cuajada fue significativamente menor cuando la leche fue pretratada con ultrasonido, particularmente en aquellos tratamientos sometidos a tiempos de sonicación más prolongados.

3.2.6 Color

La Tabla 28 detalla las características de color instrumental obtenidas al evaluar los quesos tipo Panela control y experimentales a lo largo de su periodo de almacenamiento. De acuerdo al ANOVA realizado, se puede observar que el tiempo de almacenamiento afecta significativamente ($P<0.05$) sobre los parámetros L* y a*, caso contrario para el parámetro b*. Los quesos de cualquiera de los tratamientos aplicados mostraron un valor alto de luminosidad que durante el

almacenamiento tuvo variaciones menores. Una reducción significativa del valor de luminosidad (que va de 0 a 100) se observa al día 14 de almacenamiento, indistintamente del tratamiento.

Tabla 27. *Parámetros de color en quesos LTLT y elaborados con leche TS durante su almacenamiento*

Paráme-tro	# T	Razón P/G	°C	t US (s)	Almacenamiento (Días)		
					1	7	14
L*			Control*		92.43±0.33^{Aa}	91.61±0.61^{Aab}	91.38±0.21^{Ab}
	1	2.93±0.41	60	120	92.35±0.55^{Aa}	92.20±0.24^{Aa}	91.48±0.17^{Aa}
	2	3.70±0.52	50	120	91.90±0.21^{Aa}	91.36±0.23^{Aa}	90.38±0.27^{Ab}
	3	3.70±0.52	50	144	91.84±0.50^{Aa}	91.53±0.66^{Aab}	89.53±1.26^{Bb}
a*			Control*		0.98±0.33^{Aa}	1.01±0.42^{Aa}	1.28±0.14^{Aa}
	1	2.93±0.41	60	120	-0.09±0.04^{Ba}	0.17±0.13^{Bb}	0.37±0.02^{Bc}
	2	3.70±0.52	50	120	0.08±0.06^{Ba}	0.21±0.07^{Ba}	0.21±0.13^{Ba}
	3	3.70±0.52	50	144	-0.22±0.08^{Ba}	-0.29±0.11^{Ba}	0.20±0.08^{Bb}
b*			Control*		13.58±0.29^{Aa}	13.91±0.72^{Aa}	14.48±0.34^{Aa}
	1	2.93±0.41	60	120	12.82±0.80^{Aa}	13.32±0.68^{Aa}	14.28±0.54^{Aa}
	2	3.70±0.52	50	120	12.58±0.43^{Aa}	13.90±1.05^{Aa}	13.93±0.67^{Aa}
	3	3.70±0.52	50	144	12.60±0.78^{Aa}	13.52±1.44^{Aa}	14.85±1.34^{Aa}
h*			Control*		85.88±1.30^{Aa}	85.92±1.67^{Aa}	84.96±0.54^{Aa}
	1	2.93±0.41	60	120	89.55±0.19^{Ba}	89.27±0.60^{Bab}	88.50±0.01^{Bb}
	2	3.70±0.52	50	120	89.64±0.25^{Ba}	89.13±0.30^{Ba}	89.15±0.48^{Ba}
	3	3.70±0.52	50	144	89.00±0.34^{Ba}	88.35±1.11^{ABa}	89.26±0.25^{Ba}
C*			Control*		13.62±0.31^{Aa}	13.95±0.73^{Aa}	14.54±0.34^{Aa}
	1	2.93±0.41	60	120	12.82±0.80^{Aa}	13.32±0.68^{Aa}	14.28±0.54^{Aa}
	2	3.70±0.52	50	120	12.58±0.43^{Aa}	13.90±1.05^{Aa}	13.93±0.68^{Aa}
	3	3.70±0.52	50	144	12.60±0.78^{Aa}	13.53±1.43^{Aa}	14.85±1.34^{Aa}
ΔE*	1	2.93±0.41	60	120	1.47±0.37^{Aa}	1.17±0.37^{Aa}	1.65±0.32^{Aa}
	2	3.70±0.52	50	120	1.79±0.45^{Aa}	1.87±0.25^{Aa}	2.49±1.07^{Aa}
	3	3.70±0.52	50	144	1.48±0.51^{Aa}	1.31±0.27^{Aa}	1.03±0.16^{Aa}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).

[2] Los resultados muestran parámetro ± desviación estándar (n=3)

* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

En cuanto al parámetro a* (- verde, + rojo), el queso tratado térmicamente (63°C, 30 min) es significativamente diferente (P<0.05) a los quesos elaborados con leche TS, observándose un incremento significativo durante su almacenamiento. Ahora bien, el queso control y tratamiento 2 (P/G 3.70±0.52, 50°C, 120 s), no muestran diferencias significativa (P<0.05) a través del tiempo; el

queso del tratamiento 3 (P/G 3.70±0.52, 50°C, 144 s) muestra una variación menor al día 14. Por su parte, el queso del tratamiento 1 (P/G 2.93±0.41, 60°C, 120 s), presenta diferencias significativas durante el almacenamiento. El parámetro b* (- azul, + amarillo) no presentó diferencias significativas ($P<0.05$) entre los tratamientos aplicados, ni durante el tiempo de almacenamiento. Los valores de este parámetro se encuentran en un promedio de 13.65; lo que indica una leve coloración amarilla.

El color blanco de la leche se debe a la presencia de glóbulos grasos y micelas de caseína que dispersan la luz en el espectro visible (Owens *et al.*, 2001). Algunas de las características de apariencia de la leche basada en el contenido de grasa de la mantequilla incluyen transparencia, brillo y blancura, que se han evaluado del 0 al 4% del contenido de grasa (Phillips *et al.*, 1995). La energía generada por el ultrasonido puede ser absorbida o reflejada por proteínas de leche y glóbulos de grasa (Villamiel & De Jong, 2000).

El ángulo de tonalidad o hue* resultó estadísticamente diferente en cualquiera de los días de análisis en los tratamientos TS con respecto al tratado térmicamente. Además, los valores de tono son constantes a lo largo del almacenamiento, excepto para el tratamiento con 1.5 g grasa/100 g leche, el cual muestra una leve disminución a los días 7 y 14. El queso control muestra tonos menores (naranja-amarillo) en comparación con los TS (amarillo). Estos colores no son perceptibles en los quesos a simple vista debido a la alta luminosidad y a la poca saturación (C*) de color. Los valores de saturación no muestran diferencia significativa ($P<0.05$) entre tratamientos ni a través del tiempo de almacenamiento. En este sentido, Bermúdez-Aguirre *et al.* (2010) reportan incremento de luminosidad en quesos frescos elaborados con tratamientos de TS (400 W, 24 kHz, 120 µm, 10 min), además de existir cambios menores durante el almacenamiento, comparados con queso fresco procesado térmicamente, el cual presentó evidente disminución de la luminosidad durante el almacenamiento, debido probablemente a crecimiento microbiano en la superficie, atribuible a un mal manejo y almacenamiento del producto. Resultados similares fueron observados por Ertugay y Sengul (2004); se obtuvo una excelente homogeneización en la leche como resultado de la reducción del tamaño de los glóbulos grasos, con la mayor potencia de ultrasonido (20 kHz) utilizada y un largo tiempo de tratamiento (10 min). El tratamiento ultrasónico más la temperatura de 60 °C redujo el tamaño del glóbulo graso a 1 mm. Grandes cambios en el tamaño de partícula son suficientes para modificar la reflexión de la luz (Owens *et al.*, 2001). El tamaño de los glóbulos de grasa, la distribución de las proteínas de la leche y la reacción de Maillard son responsables del

color de la leche. El blanqueo en la leche puede ocurrir debido a la desnaturalización y la coagulación de la proteína soluble en la leche, aumentando las partículas opacas (Mehta 1980); Todas estas razones pueden explicar los cambios en el color de la leche antes y después de la sonicación.

3.2.7 pH

Se sabe que el pH es uno de los parámetros que afecta sobre todo las propiedades texturales del queso, debido a su efecto sobre la red de proteínas. Un pH cercano al punto isoeléctrico provoca fuertes fuerzas iónicas e hidrófobas, que resultan en una red de caseína compacta típica de los quesos duros, mientras que en el caso de un pH más alto las caseínas presentan una carga negativa, lo que genera repulsión entre los agregados proteicos, generándose un queso con mayor humedad, más elástico y menos compacto (Watkinson *et al.,* 2001; Lu *et al.,* 2008).

La Tabla 29 contiene los valores de pH en quesos LTLT y elaborados por tratamientos de TS durante su almacenamiento. Los valores de pH muestran variaciones menores entre tratamientos y durante el tiempo de almacenamiento que de acuerdo al ANOVA realizado no se consideran diferentes (P<0.05). Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas (2009), reportan cambios menores en los valores pH en leche tratada con TS (24 kHz, 400W) con respecto a leche tratada sólo térmicamente. La disminución del pH podría deberse a la acción enzimática promovida por la cavitación que produce la hidrólisis de ésteres (Walstra *et al.,* 2006).

Tabla 28. *Valores de pH en quesos LTLT y elaborados con leche TS durante su almacenamiento*

# Tratamiento	Razón P/G	°C	t US (s)	Almacenamiento (Día)		
				1	7	14
	Control*			6.38 ± 0.02^{Aa}	6.46 ± 0.10^{Aa}	6.36 ± 0.08^{Aa}
1	2.93±0.41	60	120	6.37 ± 0.10^{Aa}	6.30 ± 0.09^{Aa}	6.33 ± 0.20^{Aa}
2	3.70±0.52	50	120	6.40 ± 0.01^{Aa}	6.50 ± 0.09^{Aa}	6.49 ± 0.01^{Aa}
3	3.70±0.52	50	144	6.35 ± 0.11^{Aa}	6.26 ± 0.09^{Aa}	6.29 ± 0.19^{Aa}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).

[2] Los resultados muestran el valor de pH ± desviación estándar (n=3)

* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 min

3.2.8 Acidez titulable

La Tabla 30 muestra los valores de AT en quesos elaborados con leche LTLT y leche tratada por TS durante su almacenamiento refrigerado. De igual manera que en la evaluación del pH, no presentaron variaciones significativas (P<0.05) entre los tratamientos aplicados y el tiempo de almacenamiento. La acidez en el queso es un factor que no sólo tiene incidencia sobre el sabor, sino también directamente en los cambios que experimenta la red de proteína (cuajada) del queso, teniendo ésta una correlación directa en los fenómenos de sinéresis (a mayor acidez, mayor sinéresis) y textura final (Phino *et al.,* 2004).

Tabla 29. *Valores de AT en quesos LTLT y elaborados con leche TS durante su almacenamiento*

# Tratamiento	Razón P/G	°C	t US (s)	Almacenamiento (Día)		
				1	7	14
	Control*			0.07 ± 0.00^{Aa}	0.07 ± 0.00^{Aa}	0.08 ± 0.01^{Aa}
1	2.93±0.41	60	120	0.08 ± 0.01^{Aa}	0.09 ± 0.02^{Aa}	0.09 ± 0.02^{Aa}
2	3.70±0.52	50	120	0.07 ± 0.00^{Aa}	0.08 ± 0.01^{Aa}	0.07 ± 0.00^{Aa}
3	3.70±0.52	50	144	0.08 ± 0.01^{Aa}	0.10 ± 0.02^{Aa}	0.09 ± 0.03^{Aa}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).
[2] Los resultados muestran el %ácido láctico ± desviación estándar (n=3)
* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

Se sabe que durante el periodo de almacenamiento de quesos, la capacidad buffer y por lo tanto la AT, aumentarán con el nivel de proteólisis, por lo que la concentración de ácido láctico disminuirá por su catabolismo durante ese periodo, pero la AT incrementará con el nivel de péptidos solubles (Fox *et al.,* 2000). Un posible aumento en los valores de acidez, puede atribuirse también a la lipólisis, debido a la acción enzimática sobre los triglicéridos (Walstra *et al*., 2006), que se potencia mediante ultrasonidos y la liberación de ácidos grasos libres al medio. Además podría deberse a la formación de nitrito, peróxido de hidrógeno y nitrato en la leche después de la sonicación. Algunos estudios han demostrado la formación de estos productos en medios acuosos a diferentes frecuencias e intensidades de ultrasonidos (Supeno, 2000). Sin embargo en este trabajo no se observó incremento significativo de la AT en queso con el tiempo de refrigeración.

3.2.9 Sinéresis

En el análisis del grado de sinéresis es importante recordar que no se trata de expulsión de agua, sino de lactosuero, que es una solución acuosa. De tal modo que al estudiar la sinéresis del queso, no hay que perder de vista la composición del líquido que está siendo expulsado. La Tabla 31 muestra el porcentaje de suero expelido en quesos en los diferentes tratamientos de TS al día 14 de almacenamiento, la composición de dichos sueros se presenta en la Tabla 32.

La principal causa de la sinéresis es el rearreglo de la red proteica continua que forman las micelas de paracaseína. El proceso se inicia cuando, después que la acción del cuajo ha generado la firmeza adecuada en el gel, éste se corta, creando así superficie libre a través de la cuál puede ocurrir la expulsión de líquido (Inda, 2000). Durante el proceso de sinéresis, la capa externa de los fragmentos de cuajada es la que se contrae más, dado que la expulsión de lactosuero tiene lugar justamente en la superficie de la cuajada. Por consiguiente, esta capa externa tiene mayor concentración de sólidos y menor permeabilidad al flujo de lactosuero. Entonces, a medida que transcurre la sinéresis, su velocidad es cada vez menor. Este mecanismo puede ser explotado cuando se quiere tener poca sinéresis, ya que cualquier condición que genere sinéresis inicial muy rápida también causa la formación rápida de una capa de permeabilidad muy baja, que disminuye considerablemente la sinéresis subsiguiente (Walstra, 1993).

Se puede observar que el porcentaje de sinéresis no presenta diferencia significativa ($P<0.5$) entre quesos elaborados con leche TS, pero sí es evidente que cuentan con mayor porcentaje de sinéresis con respecto al queso elaborado con leche sólo pasteurizada. Esto debido principalmente a que los quesos tratados con leche TS presentaron mayor contenido de humedad inicial, lo que generó un aumento en el grado de sinéresis.

Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas (2010), trabajaron con queso fresco tratado con ultrasonido (400 W, 24 kHz, 120 µm) a niveles bajo y medio (63 °C /10 min, 72 °C /15 s, 72 °C /1 min) mostrando el grado más alto de sinéresis durante el almacenamiento. El tiempo de sonicación no fue suficiente para homogeneizar las moléculas de proteína con la matriz de grasa y permitir mantener los 2 juntos. El queso procesado sometido únicamente a tratamiento térmico mostró un grado menor de sinéresis. Sin embargo, el mejor tratamiento para la fabricación de queso y la sinéresis mínima fue a 63 °C/30 min/U.S., no mostrando ninguna formación de suero al final del almacenamiento. La sonicación usada por períodos más largos de tiempo tiene la capacidad de incorporar el suero en la matriz de grasa-proteína del queso. Esto se debe al perfecto efecto de

homogeneización que las ondas sonoras tienen sobre los glóbulos de grasa, las moléculas de caseína y otros componentes de la leche (Bermúdez-Aguirre y otros 2008).

Tabla 30. *Porcentaje de suero expelido durante el almacenamiento de quesos LTLT y elaborados con leche TS*

# Tratamiento	Razón P/G	°C	t US (s)	% Suero expelido
		Control*		16.81 ± 0.11^{A}
1	2.93±0.41	50	120	19.20 ± 1.53^{B}
2	3.70±0.52	50	144	20.83 ± 0.29^{B}
3	3.70±0.52	60	120	19.05 ± 1.53^{B}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las medias que no comparten las mismas letras son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).
[2] Los resultados muestran el %suero expelido ± desviación estándar (n=3)
* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

Tabla 31. *Composición de suero de quesos elaborados con leche TS durante el almacenamiento*

Componente	Tratamiento				Día de almacenamiento		
	#	Razón P/G	°C	t US	0	7	14
Humedad (%)		Control*			93.02 ± 0.34^{Aa}	81.43 ± 2.58^{Ab}	79.23 ± 2.39^{Ab}
	1	2.93±0.41	50	120	91.87 ± 0.24^{Ba}	81.98 ± 1.21^{Ab}	80.52 ± 1.75^{Ab}
	2	3.70±0.52	50	144	91.79 ± 0.22^{Ba}	82.64 ± 0.94^{Ab}	80.75 ± 2.14^{Ab}
	3	3.70±0.52	60	120	92.09 ± 0.35^{Ba}	82.45 ± 1.13^{Ab}	81.33 ± 1.23^{Ab}
Grasa (%)		Control*			0.46 ± 0.13^{Aa}	0.00 ± 0.00^{Ab}	0.03 ± 0.05^{Ab}
	1	2.93±0.41	50	120	0.39 ± 0.07^{Aa}	0.00 ± 0.00^{Ab}	0.03 ± 0.05^{Ab}
	2	3.70±0.52	50	144	0.39 ± 0.08^{Aa}	0.00 ± 0.00^{Ab}	0.04 ± 0.05^{Ab}
	3	3.70±0.52	60	120	0.39 ± 0.05^{Aa}	0.00 ± 0.00^{Ab}	0.01 ± 0.02^{Ab}
SNF (%)		Control*			6.53 ± 0.25^{Aa}	18.57 ± 2.58^{Ab}	20.69 ± 2.48^{Ab}
	1	2.93±0.41	50	120	7.74 ± 0.19^{Ba}	18.02 ± 1.21^{Ab}	19.45 ± 1.70^{Ab}
	2	3.70±0.52	50	144	7.83 ± 0.17^{Ba}	17.51 ± 0.96^{Ab}	19.21 ± 2.10^{Ab}
	3	3.70±0.52	60	120	7.52 ± 0.31^{Ba}	17.55 ± 1.13^{Ab}	18.66 ± 1.23^{Ab}
Proteína (%)		Control*			3.12 ± 0.12^{Aa}	8.86 ± 1.28^{Ab}	9.88 ± 1.19^{Ab}
	1	2.93±0.41	50	120	3.69 ± 0.10^{Ba}	8.60 ± 0.58^{Ab}	9.28 ± 0.81^{Ab}
	2	3.70±0.52	50	144	3.74 ± 0.09^{Ba}	8.30 ± 0.61^{Ab}	9.16 ± 1.00^{Ab}
	3	3.70±0.52	60	120	3.59 ± 0.15^{Ba}	8.37 ± 0.57^{Ab}	8.90 ± 0.58^{Ab}

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las letras minúsculas comparan medias por fila; las medias que no comparten las mismas letras (evaluando por separado columnas de filas) son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).
[2] Los resultados muestran componente ± desviación estándar (n=3)
* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

Se puede observar que el lactosuero del queso control (3 g grasa/100 g leche, LTLT) tiene un contenido graso mayor a los obtenidos de quesos elaborados con leche TS. Caso contrario lo es

para los sólidos no grasos. Esto evidentemente a la estandarización previa a la elaboración de quesos, donde se redujo el contenido graso y la adición de WPC a leches que serían tratadas por TS. Además se puede observar que aun cuando hay un incremento de la proteína en los quesos, los valores de proteína en el lactosuero son menores que los que se observaron en el queso LTLT, esto a lo largo del almacenamiento.

3.2.10 Proteína

La Tabla 33 muestra el porcentaje de proteína de los quesos elaborados con leche LTLT y los elaborados con leche TS al día 14 de elaboración. La acción de reducir el contenido de grasa en leche de quesería, haberla sustituido con WPC y tratarla por medio de TS, hizo que el contenido de proteína en quesos reducidos y bajos en grasa tuvieran diferencia significativa ($P<0.05$) con respecto al queso de contenido normal de grasa, en cuanto al contenido de proteína.

Tabla 32. *Contenido de proteína en quesos LTLT y elaborados con leche TS*

# Tratamiento	Razón P/G	°C	t US (s)	%Proteína
		Control*		15.91±1.14[A]
1	2.93±0.41	60	120	22.04±0.35[C]
2	3.70±0.52	50	120	20.31±1.35[BC]
3	3.70±0.52	50	144	19.12±0.06[B]

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las medias que no comparten las mismas letras son significativamente diferentes (Tukey $P<0.05$).
[2] Los resultados muestran el % Proteína ± desviación estándar (n=3)
* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

De acuerdo al ANOVA realizado, los quesos elaborados con leche adicionada con WPC y tratada por TS mostraron mayor contenido de proteína. Se hubiera esperado que los quesos elaborados con leche con razón P/G 3.70±0.52 (tratamientos 2 y 3) presentaran mayor contenido de proteína, debido a una mayor adición de WPC, pero no fue así, el queso elaborado a partir de leche con razón P/G 2.93±0.41 (tratamiento 1), fue el que presentó mayor cantidad de proteína con respecto al queso control.

Las proteínas de suero tienen una alta capacidad para absorber agua. Este conlleva a un incremento en el rendimiento quesero porque la sinéresis se ve obstruida durante la elaboración de queso. Sin embargo, la adición excesiva de proteínas de suero puede interferir con la formación de la cuajada y afectar negativamente a la calidad del queso (Guinne *et al.,* 1998).

3.2.11 Grasa

La Tabla 34 muestra el contenido de grasa en los quesos a los diferentes tratamientos de TS. El estandarizar la leche antes de realizar los quesos, involucró una diferencia significativa ($P<0.05$) en el contenido final de grasa en los quesos elaborados con leche TS con respecto al queso total en grasa solo pasteurizado.

Tabla 33. *Contenido de grasa en quesos LTLT y elaborados con leche TS*

# Tratamiento	Razón P/G	°C	t US (s)	% Grasa (Queso)
		Control*		15.22±0.73[A]
1	2.93±0.41	60	120	7.61±1.08[B]
2	3.70±0.52	50	120	5.56±0.77[C]
3	3.70±0.52	50	144	5.22±0.25[C]

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las medias que no comparten las mismas letras son significativamente diferentes (Tukey $P<0.05$).
[2] Los resultados muestran el % Grasa ± desviación estándar (n=3)
* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

Un estudio de quesos con distribución en la República Mexicana muestra que quesos tipo Panela reducidos en grasa indican en sus etiquetas un contenido de grasa que va del 11 al 18%, y quesos tipo Panela sin reducción de grasa señalan que contienen del 15 al 28% de grasa (PROFECO, 2007). Los valores de grasa de los quesos elaborados con leche tratada por TS están muy por debajo del 11% de quesos comerciales, lo que los posiciona en la categoría de quesos sin grasa de acuerdo con la NMX-F-713-COFOCALEC-2005.

3.2.12 Cenizas

Los resultados de cenizas nos permiten identificar los residuos inorgánicos después de calcinar la materia orgánica. La Tabla 35 muestra el contenido de cenizas en los quesos elaborados. De acuerdo al análisis estadístico realizado, no existe diferencia significativa ($P<0.05$) entre quesos LTLT y los tratados por TS con respecto al contenido de cenizas. Esto es claro, debido a que los diferentes tipos de leche con los que se prepararon los quesos no diferían estadísticamente en el contenido de cenizas. De igual forma, el rendimiento en verde se consideró semejante, por lo tanto el contenido de NaCl agregado a los quesos fue semejante.

Tabla 34. *Contenido de cenizas en quesos LTLT y elaborados con leche TS*

# Tratamiento	Razón P/G	°C	T US (s)	% Cenizas
		Control*		3.67±0.35[A]
1	2.93±0.41	60	120	3.56±0.13[A]
2	3.70±0.52	50	120	3.88±0.36[A]
3	3.70±0.52	50	144	3.83±0.20[A]

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las medias que no comparten las mismas letras son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).
[2] Los resultados muestran el % Cenizas ± desviación estándar (n=3)
* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

3.2.13 Cloruros

La sal además de tener un papel en el sabor y conservación del queso, en altas concentraciones disminuye la actividad enzimática proteolítica, aumentando la salida del agua presente en la red proteica de la cuajada (sinéresis), trayendo como consecuencia, una menor humedad y mayor dureza en el queso (Phino *et al.,* 2004; Guo *et al.,* 2012).

La Tabla 36 muestra los contenidos de cloruro de sodio al día 14 de refrigeración en los quesos elaborados. Se puede observar que el queso control posee el menor contenido de cloruros, por su parte los quesos elaborados con leche a razón P/G 3.70±0.52 (tratamientos 2 y 3) no difieren entre ellos en el contenido de NaCl, y el queso elaborado con leche a razón P/G 2.93±0.41 (tratamiento 1) posee un valor intermedio.

Tabla 35. *Contenido de cloruro de sodio en quesos LTLT y elaborados con leche TS*

#Tratamiento	Razón P/G	°C	t US (s)	%NaCl
		Control*		1.37±0.06[A]
1	2.93±0.41	60	120	1.89±0.20[B]
2	3.70±0.52	50	120	2.37±0.03[C]
3	3.70±0.52	50	144	2.68±0.03[C]

[1] Los superíndices con letras mayúsculas comparan medias por columna, las medias que no comparten las mismas letras son significativamente diferentes (Tukey P<0.05).
[2] Los resultados muestran el %Cloruro de sodio ± desviación estándar (n=3)
* Tratamiento control leche 3 g grasa/100 g de leche sin adición de WPC, tratamiento térmico de 63°C 30 minutos

CAPITULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos, se estima que condiciones selectas de tratamiento de TS (120 y 144 s a 50°C; 120 s, 60°C, 400 W teóricos, 24 KHz) de leche baja en grasa (1, 1.5%) para quesería adicionada con WPC 80 constituyen una alternativa viable de pretratamiento para elaboración de quesos reducidos en grasa que exhiben características fisicoquímicas, tecnológicas y texturales similares a las de un queso con un contenido regular de grasa elaborado con leche pasteurizada.

En este sentido, mediante la evaluación de parámetros fisicoquímicos (pH, AT, color) y propiedades funcionales (CRA y FG) en mezclas de leche reducida en grasa adicionada con WPC 80, se hizo evidente la modificación de la matriz láctea como consecuencia de la TS. El proceso de TS generó cambios notables en las propiedades fisicoquímicas específicas de mezclas de leche reducida en grasa con WPC 80 en relación a leche LTLT, los cuales mejoraron variables selectas empleadas como predictores de la habilidad de leche para elaborar queso tipo panela, incluyendo CRA y FG.

Asimismo, la incorporación de WPC a leche reducidas en grasa tratadas por TS, contribuyó al aumento de los contenidos de humedad y proteína a partir de esas materias primas. A pesar de que la reducción en el contenido graso de la leche generalmente involucra una disminución de la cantidad de queso obtenido, se obtuvieron valores de rendimientos semejantes a los del queso control. Además, los quesos elaborados con leche TS fueron tan blandos y luminosos como su contraparte elaborada sólo con leche pasteurizada.

Desde el punto de vista composicional, todos los procesos de TS constituyeron una alternativa válida para elaborar quesos tipo panela, dado que cumplían con los requisitos indicados en la Norma Mexicana correspondiente. Fisicoquímicamente, el principal cambio significativo detectados fue la disminución de la dureza instrumental. Estos cambios positivos crean una oportunidad para desarrollar quesos con una estructura suave y una cantidad de proteína por encima de valores convencionales, lo cual puede ser sensorial y nutrimentalmente atractivo. Por otra parte, los parámetros fisicoquímicos como pH, acidez titulable y color obtenidos en quesos elaborados con leche TS no mostraron diferencia significativa con respecto a los quesos control.

Como trabajo a desarrollarse en proyectos futuros se realizan las siguientes recomendaciones emanadas de los resultados presentados.

- Se sugiere explorar cambios microestructurales en leche y queso, en particular estudios de tamaño de glóbulo graso, superficie específica y aumento de carga proteica (proteína asociada a membranas de glóbulos formados por la homogeneización de la leche) para correlacionarlos con los cambios funcionales detectados en las diferentes mezclas leche y WPC 80.
- Es necesario llevar a cabo estudios para determinar si hay generación de compuestos deteriorativos asociados a la sonicación de leche y su posible efecto sobre la vida útil y/o la aceptablidad de los productos lácteos fabricados con ésta o si existe migración del material de la sonda de sonicación a la leche.
- Se sugiere llevar a cabo análisis sensoriales de los productos desarrollados para determinar las preferencias de los consumidores en relación con las características finales del queso Panela elaborado con leche TS.
- Asimismo, al fin de complementar este trabajo, se recomienda realizar pruebas específicas para evaluar la proteólisis en los quesos elaborados con leche TS, así como estudios de microscopía electrónica que permitan visualizar la estructura formada por la aplicación de TS en leche para comprender mejor las modificaciones observadas y su potencial de aplicación en productos lácteos derivados.

REFERENCIAS

Agrimundo. (2014). Obtenido de Uso de proteínas para la elaboración de bebestibles lácteos.

Alais, C. (2003). *Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera.* España: Reverte.

Almanza-Rubio, J., Gutiérrez-Méndez, N., Leal-Ramos, M., Sepúlveda, D., & Salmeron, I. (2015). Modification of the textural and rheological properties of cream cheese using thermosonicated milk. *Journal of Food Engineering, 168*, 223-230.

Alzamora, S., Guerrero, S., Schenk, M., Raffellini, S., & López-Malo, A. (2011). Inactivation of microorganisms. *Ultrasound technologies for food and bioprocessing*, 321-343.

Antoniou, K., Petridis, D., Raphaelides, S., Ben, O., & Kesteloot, R. (2000). Texture Assessment of French Cheeses. *Journal of Food Science, 65*, 168-172.

Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos* (Cuarta ed.). México: Pearson Educación.

Banks, J. (2004). The technology of low-fat cheese manufacture. *Int. J. Dairy Technol., 57*, 199-207.

Barbosa-Cánovas, G., & Bermúdez-Aguirre, D. (2010). Procesamiento no térmico de alimentos. *Scientia Agropecuaria*, 81-93.

Bermúdez-Aguirre, D., & Barbosa-Cánovas, G. (2010). Processing of Soft Hispanic Cheese ("Queso Fresco") Using Thermo-Sonicated Milk: A Study of Physicochemical Caracteristics and Storage Life. *Journal of Food Science, 75(9)*.

Bermúdez-Aguirre, D., Corradini, M., Mawson, R., & Barbosa-Cánovas, G. (2009b). Modeling the inactivation of Listeria innocua in raw whole milk treated under thermo-sonication. *Innovative Food Science Emerging Technology, 10*, 172-178.

Bermúdez-Aguirre, D., Mawson, R., & Barbosa-Cánovas, G. (2008). Microstructure of Fat Globules in Whole Milk after Thermosonication Treatment. *Journal of Food Science, 73*, 325-331.

Bermúdez-Aguirre, D., Mawson, R., Versteeg, K., & Barbosa-Cánovas, G. (2009a). Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. *Journal of Food Quality, 32*, 283-302.

Bertrand-Harb , C., Baday, A., Dalgalarrondo, M., Chobert, J., & Haetle, T. (2002). Thermal modifications of structure and codenaturation of α-lactalbumin and β-lactoglobulin induce changes of solubility and susceptibility to proteases. *Nahrung*, 46-283.

Bhaskaracharya, R., & Shah, N. (2001). Texture and microestructure of mozzarella. *Agriculture, Biology & Environmental Sciences, 66(2)*, 42-45.

Bosiljkov, T., Tripalo, B., Brincic, M., Jezek, D., Karlovic, S., & Jagust, I. (2011). Influence of high intensity ultrasound with different probe diameter on the degree of homogenization (variance) and physical properties of cow milk. *Afr J Biotechnol, 10*, 34-41.

Bourges Rodriguez, H. (2001). La alimentación y nutrición en México. *Comercio exterior, 51,10*.

Bourne, M. (2002). Texture, Viscosity, and Food. En *Food Texture and Viscosity* (2a ed., págs. 1-32). London: Academic Press.

Boye, J., Alli, I., & Ismail, A. (1997). Use of differential scanning calorimetry and infrared spectroscopy in the study of thermal and structural stability of α-lactalbumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(4)*, 1116-1125.

Bradley, R., & Vanderwarn, M. (2001). Determination of moisture in cheese and cheese products. *J. AOAC Int., 84(2)*, 570-592.

Brighenti, M., Govindasamy-Lucey, S., Lim, K., Nelson, K., & Lucey, J. (2008). Characterization of rheological, textural and sensory properties of samples of comercial US cream cheese with different fat contents. *Journal of Dairy Science, 91*, 4501-4517.

Bryant, C., & McClements, D. (1999). Ultrasonic spectrometry study of the influence of temperature on whey protein aggregation. *Food Hydrocolloids, 13(6)*, 439-444.

CANILEC. (2011). El libro blanco de la leche. México, D.F.: CANILEC.

Caro, I., Soto, S., Franco, M. J., Meza-Nieto, M., Alfaro-Rodriguez, R. H., & Mateo, J. (2011). Composition, yield and functionality of reduced-fat Oaxaca cheese: effects of ussing skim milk or a dry milk protein concentrate. *Journal of Dairy Science, 94(2)*, 580-588.

Castro, A., Novoa, C., Algecira, N., & Buitrago, G. (2014). Reologia y textura de quesos bajos en grasa. *Rev. cienc. tecnol., 22*.

Cavalieri, F., Ashokkumar, M., Grieser, F., & Caruso, F. (2008). Ultrasonic synthesis of stable, functional lysozyme microbubbles. *Langmuir, 24(18)*, 10078-10083.

Chacón-Villalobos, A. (2006). Tecnologías de membranas en la agroindustria láctea. *Agronomía Mesoamericana, 17(2)*, 243-264.

Chandrapala, J., & Leong, T. (2015). Ultrasonic Processing for Dairy Applications: Recent Advances. *Food Eng Rev, 7*, 143-158.

Chandrapala, J., Martin, G., Zisu, B., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2012). The effect of ultrasound on casein micelle intedrity. *Journal of Dairy Science*, 682-690.

Chandrapala, J., Zisu, B., Palmer, M., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2011). Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate. *Ultrason Sonochem., 18(5)*, 951-957.

Cheftel, J. (1995). Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Sci Technol Int, 1*, 75-90.

Chemat , F., Zill-e-Huma, & Khan M, K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, persevation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(4), 813-35.

Chen, L., & Opara, U. (2013). Texture measurement approaches in fresh and processed foods. A review. *Food Research, 51(2)*, 823-835.

Chiampo, F., & Conti, R. (1999). Hydrodymanics of fruit pulp ultrafiltration. *Journal of Food Engineering, 40(3)*, 173-180.

Choe, E., & Min, D. (2006). Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive Food Science and Food Safety, 5*, 169-186.

CODEX STAN 206. (1999). Norma general del CODEX para el uso de términos lecheros. *CODEX STAN*.

Creamer, L., Bienvenue, A., Nilsson, H., Paulsson, M., Van, W., Lowe, E., . . . Jimenez-Flores, R. (2004). Heat-induced redistribution of disulfide bonds in milk proteins 1 Bovine β–Lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52*, 7660-7668.

Cullen, P., Tiwari, B., & Valdramidis, V. (2012). *Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods.* (E. U. Press, Ed.) Primera.

Díaz, O., Pereira, C., & Cobos, A. (2004). Functional properties of ovine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese manufacture by-products. *Journal Food Hydrocolloids, 18(4)*, 601-610.

Donato, L., Guyomarc'h, F., Amiot, S., & Dalgleish, D. (2007). Formation of whey protein/κ-casein complexes in heated milk: preferential reaction of whey protein with κ-casein in the casein micelles. *Int. Dairy Journal, 17*, 1161-1167.

Drake, M., & Swanson, B. (November de 1995). Reduced and low fat cheese technology. A review. *Trends in Food Science & Technology, 61*.

Drake, M., Bolyston, T., & Swanson, B. (1996). Fat mimetics in low-fat Cheddar cheese. *Journal of Food Science, 61*(6), 1267-1270, 1288.

Dunn, J. (1996). Pulsed light and pulsed electric field for foods and eggs. *Poultry Science, 75*, 1133-1136.

El-Salam, A., El-Shibiny, S., & Salem, A. (2009). Factors Affecting the Functional Properties of Whey Protein Products a Review. *Food Rev Interna, 25* (3), 251-270.

Ertugay, M., & Sengul, M. (2004). Effect of ultrasound treatment on milk homogenization and particle size distribution of fat. *Turk J. Vet Anim. Sci., 28*, 303-308.

Farr, D. (1990). High pressure technology in the food industry. *Trends Food Sci Technol, 1*, 14-16.

Feng, H., Barbosa Cánovas, G. V., & Weiss, J. (2011). *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing.* New York, USA: Springer.

Fennema, O. (2003). *Química de los alimentos.* Zaragoza: Acribia.

Fernández-Molina, J., Barbosa-Cánovas, G., & Swanson, B. (2001). Tecnologías emergentes para la conservación de los alimentos sin calor. *Arbor, 661*, 155-170.

Foegeding, E., & Luck, P. (2002). Whey protein products. En B. Carballo, L. Trugo, & P. Finglas, *Encyclopedia of Foods Sciences and Nutrition* (págs. 1957-1960). Academic Press, New York.

Funami, T. (2011). Next target for food hydrocolloid studies: Texture design of foods using hydrocolloid technology. *Food Hydrocolloids, 26*, 1904-14.

Gallego-Ocampo, H. (2011). Factores que influyen en la colmatación de membranas de microfiltración tangencial y representación matemática. *Recitela*.

Gallegos-Pineda, A. (2015). *Efectos del pretratamiento de Termosonicación en la elaboración y maduración de queso Chihuahua.* Puebla, México: Facultad Ing. Química BUAP.

Gil, A., & Ruiz, M. (2010). *Tratado de Nutrición. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos* (Segunda ed., Vol. II). Madrid: Médica Panamericana.

Gómez-Díaz, J., & López-Malo, A. (2009). Aplicaciones del ultrasonido en el tratamiento de alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 3. *Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, UDLAP., 1*, 59-73.

Guinee, T., Fenelon, M., Mulholland, E., O'Kennedy, B., O'Brien, N., & Reville, W. (1998). The influence of milk pasteurization temperature and pH at curd milling on the composition, tecture and maturation of reduced fat Cheddar cheese. *Int J Dairy Technol, 51*, 1-10.

Guinee, T., Mulholland, E., Kelly, J., & Callaghan, D. (2007). Effect of protein-to-fat ratio of milk on the composition, manufacturing efficiency, and yield of cheddar cheese. *J. Dairy Sci., 90*(1), 110-23.

Guo, L., Van Hekken, D., Tomasula, P., Tunick, M., & Huo, G. (2012). Effect of salt on microbiology and proteolysis of Queso Fresco cheese during storage. *Milchwissenschaft, 67*, 74-77.

Gutiérrez-Méndez, N., Chávez-Garay, D., & Jiménez-Campos, H. (2012). Exploring the Milk-Clotting Properties of a Plant Coagulant from the Berries of S. elaeagnifolium var. Cavanilles. *Institute of Food Technologists, 71(1)*, 89-94.

Hayes, M., & Kelly, A. (2003). High pressure homogenisation of raw whole bovine milk (a) effects on fat globule size and other properties. *Journal Dairy Res., 70(3)*, 297-305.

Hinrichs, J. (2001). Incorporation of whey proteins in cheese. *Int. Dairy J, 11*, 495-503.

Hoover D., G. (2000). Kineties of microbial inactivation for alternative food processing techologies, Ultrasound. *Journal of Food Science Supplement*, 65(8):93-95.

Huppertz, T., Hinz, K., Zobrits, M., Uniacke, T., Kelly, A., & Fox, P. (2005). Effects of high pressure treatment on the rennet coagulation and cheese-making properties of heated milk. *Innov Food Sci Emerg Technol, 6*, 279-285.

IDF. (2007). Coagulation of milk processes and characteristics. *Bulletin of International Dairy Federation, 420*, 1-28.

Inda, A. (2000). Optimización de Rendimiento y Aseguramiento de Inocuidad en la Industria de Quesería. Organización de Estados Americanos.

Jambrak, A., Mason, T., Lelas, V., Herceg, Z., & Herceg, I. (2008). Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering, 86*, 281-287.

Jelen, P. (2003). Whey processing. Utilization and Products. En H. Roginski, J. Fuquay, & P. Fox, *Encyclopedia of Dairy Sciences* (págs. 2739-2745). Academic Press, London, UK.

Kelly, A. L., Huppertz, T., & Sheehan, J. J. (2008). Pre-treatment of cheese milk: principles and developments. *Dairy Science Technology, 88(4-5)*, 549-572.

Khanal, S., Anand, S., Muthukumarappan, K., & Huegli, M. (2014). Inactivation of thermoduric aerobic sporeformers in milk by ultrasonication. *Food Control, 37*, 232-239.

Koca, N., & Metin, M. (2004). Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh kashar cheeses produced by using fat replacers. *International Dairy Journal, 14*, 365-373.

Koh, L., Chandrapala, J., Zisu, B., Martín, G., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2014). A comparison of the effectiveness of sonication high shear mixing and homogenization on improving the heat stability of whey proteins solutions. *Food Bioprocess Technol, 7*, 556-566.

Kresic, G., Lelas, V., Jambrak, A., Herceg, Z., & Brincis, S. (2008). Influence of novel food processing technologies on the rheological and thermophysical properties of whey proteins. *Journal Food Eng, 87*, 64-73.

Lobato-Calleros, C., & Vernon-Carter, E. (1998). Microestructure and texture of cheese analogs containing different types of fat. *Journal of Texture Studies, 29*, 569-586.

Lobato-Calleros, C., Ramírez-Santiago, C., Osorio-Santiago, V., & Vernon-Carter, E. (2002). Microstructure and texture of manchego cheeses-like products made with canola oil, lipophilic and hidrophilic emulsifiers. *Journal of Texture Studies, 33*, 165-182.

Lobato-Calleros, C., Reyes-Hernandez, J., Beristain, C., Hornelas-Uribe, Y., Sanchez-Garcia, J., & Vernon-Carter, E. (2007). Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. *Food Research InternationaL, 40*, 529-37.

Lobato-Calleros, C., Reyes-Hernández, J., Beristain, C., Hornelas-Uribe, Y., Sánchez-García, J., & Verón-Carter, E. (2007). Microestructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement pf milk fat. *Food Research International, 40*, 529-537.

Lobato-Calleros, C., Robles-Martínez, J., & Caballero-Pérez, J. (2001). Fat replacers in low-fat Mexican Manchego cheese. *Journal Texture Studies, 30*, 533-548.

Lobato-Calleros, C., Sosa-Pérez, A., Rodriguez-Tafoya, J., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Alonso, C., & Vernon-Carter, E. (2008). Structuraland textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from W1/O/W2 emulsions and skim milk. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie, 41*, 1847-1856.

Lu, N., Shirashoji, N., & Lucey, J. (2008). Effects of pH on the textural properties and meltability of pasteurized process cheese made with different types of emulsifying salts. *JFS: Food Engineering and Physical Properties, 73(8)*, E363-E369.

Lucca, A., & Tepper, J. (1994). Fat replacers and the functionality of fat in foods. *Trends in Food Science and Technology, 5*, 12-18.

Ma, Y., & Barbano, D. (2003). Milk pH as a function of CO2 concentration, temperature, and pressure in a heat exchanger. *Journal of Dairy Science, 86*, 3822-3830.

Marchesini, G., Balzan, S., Montemurro, F., Fasolato, L., Andrighetto, I., Segato, S., & Novelli, E. (2012). Effect of ultrasound alone or ultrasound coupled with CO2 on the chemical composition, cheese-making properties and sensory traits of raw milk. *Innov. Food Sci. Emerg, 16*, 391–397.

Marchesini, G., Balzan, S., Montemurro, F., Fasolato, L., Andrighetto, I., Segato, S., & Novelli, E. (2012). Effect of ultrasound alone or ultrasound coupled with CO2 on the chemical composition, cheese-making properties and sensory traits of raw milk. *Innov. Food Sci. Emerg., 16*, 391-397.

Mason, T. (1998). Power ultrasound in food processing—The way forward. En M. Povey, & T. Mason, *Ultrasound in food processing* (págs. 105-126). Blackie Academic & Professional.

McIntosh, H., Royle, P., Richard, K., Geoffrery, R., Johnson, M., & Grinsted, R. (1998). Whey proteins as functional food ingredients? *Int Dairy Journal, 1998*, 425-434.

McMahon, D., Alleyne, M., Fife, R., & Oberg, C. (1996). Use of fat replacers in low fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science, 79*, 1911-1921.

McSweeney, P. (2007). *Cheese problems solved.* Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.

McSweeney, P., & Fox, P. (2013). Quantitation of Proteins in Milk and Milk Products. En Springer (Ed.), *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1A: Proteins: Basic Aspects* (4 ed.). New York, USA.

Mehta, R. (1980). Milk processed at ultra-high temperatures. A review. *Journal Food Prot, 43*, 212-225.

Midje , D. L., Bastian, E. D., Morris, H. A., Martin, F. B., Bridgeman, T., & Vickers, Z. M. (2000). Flavour enhancement of reduced fat Cheddar cheese usisng and integrated cultining system. *Journal of Agriculture Food Chemistry, 48*, 1630-1636.

Mizuno, R., & Lucey, J. (2007). Properties of milk protein gels formed by phosphates. *J. Dairy Sci., 90(10)*, 4524-31.

Modler, H., & Emmons, D. (2001). The use of continuous ricotta processing to reduce ingredient cost in 'further processed' cheese products. *International Dairy Journal, 11*, 517-523.

Muñi, A., Paez, G., Faría, J., Ferrer, J., & Ramones, E. (2005). Eficiencia de un sistema de ultrafiltración/ nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. *Revista Científica, 15(4)*, 361-367.

Nguyen, N., & Anema, S. (2010). Effect of ultrasonication on the properties of skim milk used in the formation of acid gels. *Innov. Food Sci. Emerg., 11(4)*, 616-622.

Nicorescu, I., Loisel, C., Riaublanc, A., Vial, C., Djelveh, G., Cuvelier, G., & Legrand, J. (2009). Effect of dynamic heat treatment on the physical properties of whey protein foams. *Food Hydrocolloids, 23(4)*, 1209-1219.

NMX-F-713-COFOCALEC. (2005). *Sistema de Producto Leche-Alimentos-Lácteos-Quesos y Queso de Suero-Denominaciones, Especificaciones y Métodos de Prueba*.

NOM-121-SSA1-1994. (1994). *Norma Oficial Mexicana Bienes y Servicios. Quesos: Frescos,Madurados y Procesados. Especificaciones Sanitarias.* México: 15 de Diciembre de 1995.

NOM-155-SCFI-2003. (2003). *Norma Oficial Mexicana. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.* México: 11 de agosto de 2003.

Noronha, N., Duggan, E., Ziegler, G., O'Riordan, E., & O'Sullivan, M. (2008). Inclusion of starch in imitation cheese: Its influence on water mobility and cheese functionality. *Food Hydrocolloids, 22(8)*, 1612-21.

Ospina-Meneses, S., & Cartagena-Valenzuela, J. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de alimentos. *Revista Lasallista de Investigación, 5(2)*, 112-123.

Owens, S., Brewer, J., & Rankin, S. (2001). Influence of bacterial cell population and pH on the color of nonfat milk. *Lebensm-Wiss. Technol., 34*, 329-333.

Pandey, P., Ramaswamy, H., & St-gelais, D. (2000). Water-holding capacity and gel strength of rennet curd as affected by high-pressure treatment of milk. *Food Res. Int., 33*, 655-663.

Patist, A., & Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laloratory to comercial production. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 9(2)*, 147-154.

Pérez, M. (2014). *Cambios en propiedades funcionales de queso tipo Mozzarella elaborado con leche tratada por termosonicación.* Benemérita Universidad Autonoma de Puebla.

Peso Echarri, P., González Bermúdez, C., & Vasallo Morillas, M. (2012). a-Lactoalbúmina como ingrediente de fórmulas infantiles. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 62*(1).

Phadungath, C. (2005). Casein micelle structure: a concise review. *Journal Science Technology*, 27(1):201-212.

Phillips, L., McGiff, M., Barbano, D., & Lawless, H. (1995). The influence of fat on the sensory properties, viscosity, and color of low fat milk. *Journal Dairy Sci., 78*, 1258-1266.

Phino, O., Mendes, E., Alves, M., & Ferreira, I. (2004). Chemical physical, and sensorial characteristics of "Terrincho" ewe cheese: Changes during ripenind and intravarietal comparison. *Journal of Dairy Science, 87(2)*, 249-257.

PROFECO. (2007). Quesos panela y sus imitaciones. *Revista del consumidor*, 46-55.

PROFECO. (2008). Productos que se dicen light. *Revista del consumidor*, 42-63.

Quass, D. (1997). *Pulsed electric field processing in the food industry. A status report on PEF.* Palo Alto, CA. Electric Power Research Institute. CR-109742.

Rae, J., Ashokkumar, M., Eulaerts, O., von Sonntag, C., Reisse, J., & Grieser, F. (2005). Estimation of ultrasound induced cavitation bubble temperatures in aqueous solutions. *Ultrason Sonochem., 12(5)*, 325-9.

Riel, R. (1991). *Composición y estructura fisico-química de la leche. En: Ciencia y Tecnología de la Leche.* Zaragoza: Acriba S.A.

Riener, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., & Lyng, J. G. (2010). A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. *Food Chemistry, 119(3)*, 1108-1113.

Riener, J., Noci, F., Cronin, D., Morgan, D., & Lyng, G. (2009). The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural properties of yoghurt gels during fermentation. *Food Chemistry, 114*, 905-911.

Robles Ozuna, L., & Ochoa Martínez, L. (2012). Ultrasonido y sus Aplicaciones en el procesamiento de Alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 13*(2), 109-122.

Romero del Castillo, R., & Mestres Lagarriga, J. (2004). *Productos lácteos. Tecnología.* España: UPC.

Rudan, M., Barbano, D., Guo, D., & Kindstedt, P. (1998). Effect of the modification of fat particle size by homogenization on composition, proteolysis, functionality, and appearance of reduced fat mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science, 81*, 2065-2076.

Sakurai, K., & Goto, Y. (2007). Principal component analysis of the pH-dependent conformational transitions of bovine β-lactoglobulin monitored by heteronuclear. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 104*, 15346-15351.

Salazar, J., Antoni, T., Chávez, J., & García-Hernández, M. (2012). Handbook of Food Process Design. En B. Publishing (Ed.), *Process Design Involving Ultrasound* (págs. 1107-1155). 1a.

San Martín-González, M. F., Rodriguez, J. J., Gurram, S., Clark, S., Swanson, B. G., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2007). Yield, composition and rheological characteristics of cheddar cheese made whith high pressure processed milk. *Food Science and Technology, 40(4)*, 697-705.

Sandra, S., Stanford, M., & Meunier, G. (2004). The use of high-pressure processing in the production of queso fresco cheese. *J Food Sci, 69(4)*, 153-158.

Sfakianakis, P., Topakas, E., & Tzia, C. (2015). Comparative study on high-intensity ultrasound and pressure milk homogenization: effect on the kinetics of yogurt fermentation process. *Food Bioprecess Technol, 8(3)*, 548-557.

Shanmugam, A., & Ashokkumar, M. (2014). Ultrasonic preparation of stable flax seed oil emulsions in dairy systems–Physicochemical characterization. *Food Hydrocoll, 39*, 151-162.

Shanmugam, A., Chandralapa, J., & Ashokkumar, M. (2012). The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 16*, 251-258.

Singh, T., & Heldman, D. (2009). *Introduction to Food Engineering.* Estados Unidos Americanos: Academic Press.

Skeie, S., Alseth, G. M., Ostlie, H., Abrahamsen, R. K., Johansen, A. G., & Oyaas, J. (2013). Improvement of the quality of low-fat cheese using a two-step. *International Dairy Journal, 33*, 153-162.

Steffé, A. (1999). Integration von denaturierten Molkenproteinen in die Matrix von Weichkäse. *Dissertation, Technische Universität München, Germany*.

Supeno, P. (2000). Sonochemical formation of nitrate and nitrite in water. *Ultrason Sonochem, 7*, 109-113.

Swaisgood, H. (1996). *Characteristics of milk. En: Food Chemistry.* New York: Fennema, O. R., Marcel Dekker, Inc.

Tamime, A. (Ed.). (2008). *Structure of Dairy Products.* Ayr, UK: Society of Dairy Technology Series.

Thompson, L., & Doraiswamy, L. (1999). Sonochemistry: Science and engineering. *Industrial & Engineering Chemistry Research, 38(4)*, 1215-1249.

Torkamani, A., Juliano, P., Ajlouni, S., & Singh, T. (2014). Impact of ultrasound treatment on lipid oxidation of Cheddar cheese whey. *Ultrason Sonochem*.

Tungjaroenchai , W., Drake, M., & White, C. (2001). Influence of Adjunct Cultures on Ripening of Reduced Fat Edam Cheeses. *Journal of Dairy Science 84, 10*, 2117-24.

UNAM. (2010). *Manual de Prácticas de Laboratorio. Facultad de Química.* D.F, México.

Unión Ganadera Regional de Jalisco. (2015).

Valencia, F. (2003). El desarrollo de los Alimentos Light. *Revista Lasallista de Investigación*, 243-258.

Vasbinder, A., & De Kruif, C. (2003). Casein-whey protein interactions in heated milk: the influence of pH. *Int. Dairy Journal, 13*, 669-677.

Vercet, A., Oria, R., Marquina, P., Crelier, S., & Buesa, P. (2002). Rheological properties of yoghurt made with milk submitted to manothermosonication. *J. Agric. Food Chem., 50*, 6165-6171.

Villamiel, M., & De Jong, P. (2000). *Inactivation of Pseudomonas fluorescens and Streptococcus thermophilus in milk by continuos flow ultrasonic treatment and conventional heating* (Vol. 45). Food Eng.

Walstra, P. (1990). On the stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science, 73*, 1965-1979.

Walstra, P. (1993). Cheese: chemistry, physics and microbiology. En P. Walstra, & P. F. Fox (Ed.), *Capítulo 5* (2a. ed., Vol. 1). London, England: Chapman & Hall.

Walstra, P., Wounters, J., & Geurts, T. (2006). *Dairy Science and Technology* (2nd ed.). CRC Taylor and Francis, Boca Raton, FL.

Wang, Q., Tolkach, A., & Kulozik, U. (2006). Quantitative assessment of thermal denaturation of bovine α-lactalbumin via low-intensity ultrasound, HPLC and DSC. *J. Agric. Food Chem., 54*, 6501-6506.

Watkinson, P., Coker, C., Crawford, R., Dodds, C., Johnston, K., McKenna, A., & White, N. (2001). Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. *International Dairy Journal, 11*, 455-464.

Wehr, H., & Frank, J. (2004). *Standard methods for the examination of dairy products* (17th ed.). American Public Health Association.

Wu, H., Hulbert, G., & Mount, J. (2001). Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 1*, 211-218.

Zadow, J. (2003). Protein concentrates and fractions. En F. Francis, *Encyclopedia of Food Science and Technology* (págs. 6152-6156). Wiley, New York.

Zalazar, C., Salazar, C., Bernal, S., Bertola, N., Bevilacque, A., & Zaritzky, N. (2002). Effect of moisture level and fat replacer on physicochemical, rheological and sensory properties of low fat soft cheeses. *International Dairy Journal, 12*, 45-50.

Zhang, Q., Barbosa-Cánovas, G., & Swanson, B. (1995). Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *Journal Food Eng, 25*, 261-281.

Zisu, B., Lee, J., Chandrapala, R., Bhaskaracharya, M., Palmer, S., Kentish, M., & Ashokkumar, M. (2011). Effect of ultrasound on the physical and functional properties of reconstituted whey protein powders. *Journal of Dairy Research, 78*, 1-8.