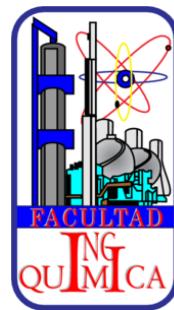




BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
COLEGIO DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO COAGULADO MIXTO CON LECHE BOVINA Y AISLADO DE
PROTEÍNA DE CHÍCHARO ULTRASONICADO

Tesis que para obtener el grado de
Licenciatura en Ingeniería en Alimentos

PRESENTA:

Renata Ruiz Enríquez

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Héctor Ruiz Espinosa

CO-ASESOR DE TESIS:

M.E.S. Madai Gizeh Sánchez Arzubide

H. Puebla de Z., octubre 2024

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General.....	3
Objetivos Específicos	3
Hipótesis.....	3
1. Marco Teórico	4
1.1. Tecnología de quesos y productos análogos	4
1.1.1. Características generales del queso	4
1.1.2. Composición y relevancia nutricional del queso	5
1.1.2.1. Proteínas lácteas.....	6
1.1.2.2. Grasa.....	7
1.1.2.3. Lactosa.....	7
1.1.2.4. Vitaminas	7
1.1.2.5. Minerales.....	8
1.1.3. Principales características tecnológicas de los componentes del queso.....	9
1.1.3.1. Proteínas.....	9
1.1.3.2. Grasa.....	13
1.1.3.3. Minerales.....	13
1.1.3.4. Lactosa.....	14
1.1.4. Aspectos generales del proceso de elaboración de quesos	15
1.1.5. Quesos frescos	16
1.1.5.1. Queso panela.....	16
1.1.5.2. Elementos distintivos para la elaboración de queso tipo Panela	17
1.1.5.2.1. Adición de cloruro de calcio.....	17
1.1.5.2.2. Pasteurización.....	17
1.1.5.2.3. Manejo de cuajo	18
1.1.5.2.4. Coagulación enzimática de quesos	18
1.1.5.2.5. Cortado, sinéresis y separación de la cuajada.....	19
1.1.5.2.6. Salado	20

1.1.5.2.7.	Prensado	20
1.1.6.	Productos análogos veganos y mixtos.....	21
1.1.6.1.	Antecedentes y definiciones.....	21
1.1.6.2.	Ingredientes típicos en quesos análogos	22
1.1.6.3.	Ventajas y áreas de oportunidad en el desarrollo de quesos análogos	23
1.1.6.4.	Productos lácteos mixtos o híbridos	24
1.2.	Chícharo	26
1.2.1.	Origen botánico y características del cultivo de chícharo	26
1.2.2.	Composición de semillas de chícharo	27
1.2.2.1.	Carbohidratos	28
1.2.2.2.	Grasa.....	28
1.2.2.3.	Fibra dietética	29
1.2.2.4.	Vitaminas y Minerales.....	29
1.2.2.5.	Componentes bioactivos, antinutrientes y compuestos de sabor	29
1.2.2.6.	Proteínas de chícharo	30
1.2.3.	Clasificación de proteínas de chícharo	31
1.2.3.1.	Globulinas	31
1.2.3.2.	Albúmina.....	32
1.2.3.3.	Prolaminas y gluteninas	33
1.2.4.	Propiedades tecnológico–funcionales de proteínas de chícharo	33
1.2.4.1.	Solubilidad	33
1.2.4.2.	Capacidad de Retención de Agua (CRA).....	34
1.2.4.3.	Capacidad Emulsificante	34
1.2.4.4.	Capacidad de formación de geles	35
1.2.5.	Aplicaciones de proteína aislada de chícharo como ingrediente alimenticio.....	35
1.2.6.	Modificación de proteínas de chícharo.....	36
1.2.6.1.	Métodos químicos	37
1.2.6.1.1.	pH	37
1.2.6.1.2.	Conjugaciones con polisacáridos	37
1.2.6.2.	Métodos enzimáticos.....	37
1.2.6.3.	Físicos.....	38
1.2.6.3.1.	Calor.....	38
1.2.6.3.2.	Alta presión hidrostática	38

1.2.6.3.3.	Ultrasonido de alta intensidad	39
1.2.7.	Aplicaciones del UAI para el procesamiento de proteínas alimentarias.....	40
2.	Metodología	42
2.1.	Plan de Investigación	42
2.2.	Materiales y Métodos.....	44
2.2.1.	Materiales	44
2.2.2.	Métodos.....	44
2.2.2.1.	ETAPA I Pruebas preliminares	44
2.2.2.1.1.	Construcción de curva patrón.....	45
2.2.2.1.2.	Método de Bradford	45
2.2.2.1.3.	Agitación con vortex	45
2.2.2.1.4.	Agitación magnética	45
2.2.2.1.5.	pH shifting.....	45
2.2.2.1.6.	UAI	45
2.2.2.1.7.	Calibración calorimétrica del UAI.....	45
2.2.2.1.8.	Centrifugado	46
2.2.2.2.	ETAPA II.....	47
2.2.2.2.1.	Medición de composición de LEB o suero	47
2.2.2.2.2.	Medición de muestras en FTIR.....	47
2.2.2.2.3.	Preparación de geles.....	48
2.2.2.2.4.	Prueba de Bloom	49
2.2.2.2.5.	Capacidad de retención de agua.....	49
2.2.2.3.	ETAPA III.....	49
2.2.2.3.1.	Manufactura de PCMs y queso control.....	49
2.2.2.3.2.	Análisis bromatológico.....	51
2.2.2.3.3.	Análisis de perfil de textura (TPA)	51
2.2.2.3.4.	Medición de pH en almacenamiento.....	51
2.2.2.3.5.	Medición de color instrumental.....	51
2.2.2.3.6.	Sinéresis en queso y productos coagulados mixtos	52
2.2.2.3.7.	Empacado al vacío	52
2.2.2.4.	ETAPA IV	52
2.2.2.4.1.	Selección de panel de jueces	52
2.2.2.4.2.	Entrenamiento de panel sensorial	53

2.2.2.4.3.	Evaluación de PCMs	53
2.2.2.5.	Diseño Experimental y Análisis de datos	54
3.	Resultados y discusión	55
3.1.	Etapa I: Pruebas preliminares	55
3.1.1.	Curva patrón	55
3.1.2.	Incremento en solubilidad de proteína aislada de chícharo por ajuste de pH y UAI	56
3.1.3.	Calibración calorimétrica, cálculo de Cp y de potencia efectiva	57
3.2.	ETAPA II: Pruebas predictivas en sistemas modelo mixtos	58
3.3.	ETAPA III: Elaboración de productos coagulados mixtos y evaluación de parámetros selectos durante su manufactura y almacenamiento refrigerado.....	64
3.3.1.	Evaluación de parámetros de PCMs durante su elaboración	64
3.3.2.	Evaluación de parámetros de PCMs durante su almacenamiento refrigerado	68
3.4.	ETAPA IV Análisis Sensorial Descriptivo de textura de PCMs.....	79
4.	Conclusiones y Trabajo Futuro	82
5.	Bibliografía.....	84
	Anexo I Curva patrón	99
	Anexo II Diagrama gráfico.....	100
	Anexo III Grasa y proteína retenidas.....	101
	Anexo IV Composición de mezclas y leche en base seca	102
	Anexo V Análisis Estadísticos	103
	Anexo VI Resumen gráfico del proceso de elaboración de PCMs.....	129
	Anexo VII Encuesta de preselección del panel sensorial	131
	Anexo VIII Encuesta de selección de panel sensorial.....	133
	Anexo IX Participación en eventos académicos	134

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Concentración de componentes relevantes en diversos tipos de quesos.....	6
Tabla 1.2. Rango de concentración de vitaminas en distintos tipos de quesos.	8
Tabla 1.3. Contenido de principales minerales en diversos tipos de quesos.	9
Tabla 1.4. Características estructurales de las fracciones de caseína de leche bovina.	11
Tabla 1.5. Especies iónicas presentes en la leche, sus formas de asociación y su ubicación.	14
Tabla 1.6. Composición de principales componentes en quesos comercializados en México.	17
Tabla 1.7. Principales ingredientes incluidos en los productos análogos de queso.	22
Tabla 1.8. Composición de semillas de chícharo y componentes relevantes por fracción.	27
Tabla 1.9. Características principales de las diferentes proteínas en chícharo.	31
Tabla 2.1. Composición porcentual de PACH.	44
Tabla 2.2. Composición de LEB y mezclas de LEB:PACH*.	48
Tabla 2.3. Descriptores empleados para caracterizar el perfil de textura de PCMs.	53
Tabla 3.1. Porcentaje de proteína aislada de chícharo soluble en agua tras aplicar pH shifting y tratamientos selectos de ultrasonificación.	56
Tabla 3.2. Parámetros efectivos del tratamiento ultrasónico seleccionado.	58
Tabla 3.3. Propiedades predictivas selectas en geles enzimáticos mixtos de LEB: PACH.	58
Tabla 3.4. Composición de suero en geles enzimáticos mixtos de LEB: PACH.	61
Tabla 3.5. Parámetros selectos durante la elaboración de PCMs y queso panela.	64
Tabla 3.6. Composición al día 1 de PCMs de leche bovina y proteína aislada de chícharo.	65
Tabla 3.7. Proteína y grasa (base seca) y retenidas en productos coagulados mixtos vs control.	66
Tabla 3.8. Composición de sueros de productos coagulados mixtos y control.	68
Tabla 3.9. Volumen total de sinéresis en PCMs y queso panela tras 14 d de almacenamiento refrigerado. ..	69
Tabla 3.10. Evolución de dureza instrumental [g]	70
Tabla 3.11. Evolución de cohesividad instrumental.	71
Tabla 3.12. Evolución de elasticidad instrumental.	72
Tabla 3.13. Evolución de masticabilidad instrumental [g]	73
Tabla 3.14. Evolución de pH de PCMs vs control durante su almacenamiento refrigerado.	74
Tabla 3.15. Evolución de L de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.	76
Tabla 3.16. Evolución de a de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.	77
Tabla 3.17. Evolución de b de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.	77
Tabla 3.18. Evolución de Hue de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.	78
Tabla 3.19. Evolución de chroma de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.	79
Tabla 3.20. Análisis Sensorial descriptivo de parámetros de textura en PCMs elaborados con PACH.	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Diagrama de cargas y afinidades en las caseínas.	10
Figura 1.2. Posible estructura de gel termoformado en sistemas mixtos de proteína vegetal y proteínas lácteas	25
Figura 1.3. Cuadro taxonómico de <i>Pisum sativum</i>	26
Figura 1.4. Chícharo (<i>Pisum sativum</i>).	27
Figura 2.1. Diagrama general del plan de investigación.	43
Figura 2.2. Diagrama de elaboración de geles mixtos.	48
Figura 2.3. Diagrama de elaboración de PCMs y queso control.	50
Figura 3.1. Curva estándar de absorbancia de BSA para prueba de Bradford.	55
Figura 3.2. Espectros FTIR de proteína aislada de chícharo y sueros de geles de leche y de sistemas mixtos.	62
Figura 3.3. Espectros FTIR de proteína aislada de chícharo, leche y sueros de geles de leche y de sistemas mixtos en la región de 600 a 1800 cm^{-1}	63
Figura 3.4. Perfil de textura sensorial de PCMs elaborados con mezclas de LAB y PACH.	81

INTRODUCCIÓN

La producción de alimentos de origen animal es poco eficiente, emplea de manera intensiva recursos naturales no renovables y es altamente contaminante. Por ello, los consumidores están cada vez más conscientes de la necesidad de migrar el esquema de alimentación que impera en nuestros días, hacia uno más sustentable, que enfatice el consumo de productos de origen vegetal. En años recientes, estas dietas se han popularizado, en particular entre consumidores jóvenes, que relacionan la ingesta excesiva de carnes rojas con una mayor incidencia de enfermedades crónico-degenerativas y, por ello, evitan o reducen el consumo de productos de origen animal, sustituyéndolos por alimentos vegetales, como frutas, verduras, legumbres, nueces, granos y semillas; en función del grado de exclusión de dichos productos éstas pueden ser vegetarianas o veganas.

Las razones para elegir estilos de vida como el vegetarianismo y el veganismo son variadas; sus defensores las perciben como más saludables, pues el consumo de productos de origen vegetal proporciona una mayor ingesta de antioxidantes, fibra y otros compuestos bioactivos; además un segmento de consumidores valora estas dietas pues consideran que promueven un tratamiento ético de los animales, ya que buscan eliminar, o al menos, disminuir el maltrato y sufrimiento animal; adicionalmente, las dietas con bajo consumo de productos de origen animal se asumen como más amigables con el ambiente, pues usan menos recursos y los emplean más eficientemente.

Actualmente existen en el mercado productos vegetarianos y veganos que, con diverso grado de éxito, buscan emular a sus contrapartes de origen animal, como parte de un movimiento que propugna por la transición proteica, pasando de fuentes tradicionales a aquellas obtenidas de fuentes vegetales. Con este fin, actualmente se emplean diversas proteínas de origen vegetal en el diseño de productos alimenticios incluyendo de haba, amaranto, cáñamo, alpiste, avena, garbanzo, frijol, entre otras, destacando el uso de proteína de chícharo, una leguminosa de bajo costo de producción, buena calidad proteica y disponibilidad global, que muestra propiedades tecnológicas, funcionales y nutrimentales promisorias y exhibe el mayor número de aplicaciones en industria alimentaria. Sin embargo, aunque su producción puede ser menos costosa que la de proteínas de origen animal, la mayoría de proteínas vegetales presentan enormes retos desde diversos puntos de vista; nutrimentalmente, pues su contenido y calidad proteica son generalmente menores; tecnológicamente, porque con frecuencia éstas presentan características funcionales y sensoriales deficientes y para subsanar estas deficiencias, muchos productos de este tipo presentan incluyen una cantidad considerable de aditivos, lo que resulta contradictorio para los consumidores de este segmento, quienes generalmente buscan etiquetas limpias.

Considerando estos problemas, diversos investigadores han buscado satisfacer las necesidades del mercado a través de un enfoque alterno basado en dietas flexitarianas. Éstas también buscan reducir el consumo de productos de origen animal coadyuvando a la transición proteica mencionada, pero sin prescindir enteramente de ellos. Este enfoque puede resultar conveniente para diseñar nuevos productos dada la dificultad de formular productos veganos nutritivos, tecnológicamente funcionales y sensorialmente aceptables; un producto híbrido permite el uso conjunto de ingredientes de origen animal y vegetal, lo que posibilita subsanar algunos de los retos que enfrentan los productos veganos y vegetarianos y que han despertado el interés de compañías de lácteos alrededor del mundo, México incluido. Sin embargo, al emplear proteínas de

diversos orígenes puede presentarse cierta falta de interacción entre ellas, lo cual puede dificultar su integración y generar nuevos defectos tecnológicos no observados en sistemas mono componente. Por ello, resulta esencial diseñar procesos que mejoren la interacción entre proteínas animales y vegetales en productos híbridos. Dentro de este rubro, se ha explorado recientemente a los quesos.

La producción de queso inició hace 8000 años, impulsada por la necesidad para conservar la leche por largos periodos de tiempo (Fox *et al.*, 2017), transformándola en un material viscoelástico por inducción de una transición sol-gel de las caseínas inducida por acidificación y/o adición de enzimas coagulantes. La cuajada formada es separada después de una parte no conglomerada de proteína de suero (Grossmann & McClements, 2021). A la fecha, se han identificado más de mil variedades diferentes de queso los cuales se pueden clasificar según diversos criterios, incluyendo su esquema de fabricación (madurado, fresco y procesado); textura (suave, semi suave, duro, semi duro y duro); tipo de leche empleado para su elaboración (vaca, búfalo, cabra, otras especies) entre otros. El queso es un alimento nutritivo, rico en macronutrientes (especialmente grasas y proteínas), y micronutrientes como vitaminas (A, B₂ y B₁₂), y minerales (calcio, fósforo, selenio y zinc) (Fox, 2004). Usualmente tiene alrededor de diez veces más contenido de proteínas que la leche, por lo que constituye un elemento importante en la dieta occidental.

Aunque por normativa los quesos deben fabricarse enteramente de leche, en años recientes, se ha introducido el término quesos con base vegetal, también conocidos como *quesos veganos*; estos productos son procesados con ingredientes vegetales, su objetivo es igualar los atributos de sus contrapartes convencionales, pero, para ello, requieren de un número muy grande de ingredientes y de distintas técnicas de estructurado; además, su procesamiento es complejo, pues el comportamiento de los ingredientes con base vegetal es muy diferente al de sus equivalentes de origen animal (Kamath *et al.*, 2022).

Dentro de los ingredientes empleados para fabricar quesos veganos destacan polisacáridos y proteínas vegetales debido a su rol como elementos estructurantes. Entre los primeros se emplean ingredientes como gomas (konjac, agar, algarrobo, xantana, carragenina y guar, entre otras) y almidones (nativos y modificados) de fuentes como arroz, tapioca, papa y maíz (Open Food Facts, 2023; Grossmann & McClements, 2021) y otros polisacáridos como inulina (Kamath *et al.*, 2022). Además, como fuente de proteína se emplean frecuentemente concentrados y aislados proteicos de soya (Salinas-Valdés *et al.*, 2015), frijol, haba, garbanzo y chícharo, aunque el pronunciado sabor a leguminosa de algunas especies puede limitar su comercialización (Jeewanthi, 2018). Otras fuentes reportadas de proteínas vegetales incluyen arroz, amaranto, trigo, papa, entre otras.

Diversos estudios indican que los productos análogos presentan áreas de oportunidad durante su fabricación y en sus características sensoriales. En este contexto se han realizado análisis de quesos de base vegetal, reportándose distintos defectos sensoriales y una menor aceptabilidad (Sim *et al.*, 2021). Por los problemas citados se ha propuesto el uso de sistemas mixtos para la elaboración de productos tipo queso, que empleen proteínas vegetales selectas mezcladas con proteínas lácteas. Entre las primeras, los aislados de proteína de chícharo se utilizan en la formulación de diversos productos híbridos, incluyendo lácteos (yogurt, quesos) y otras matrices alimentarias (Masiá *et al.*, 2022). Recientemente, Omrani Khiabanian *et al.* (2020) emplearon mezclas de caseína y aislado de proteína de chícharo para fabricar un producto tipo queso mozzarella reportando algunos cambios sustanciales en textura y defectos importantes de *flavor* en el producto.

Se ha propuesto que las microestructuras de los geles mixtos específicamente con proteína de chícharo dependen principalmente de la técnica de gelación utilizada (ácida o enzimática) (Ben-Harb et al., 2018), aunque su uso puede reducir la firmeza del gel (Fox & Guinee, 2022); por ello, se considera que es necesaria la modificación estructural de las proteínas de chícharo para modular su funcionalidad como ingrediente de productos coagulados mixtos. Esto se ha llevado a cabo a través de la modificación de distintas variables de proceso incluyendo pH (Jiang et al., 2017), temperatura (Mazinani et al., 2020) y ultrasonido (Yang et al., 2022).

El ultrasonido de alta intensidad (UAI) es uno de los métodos no térmicos emergentes más importantes para procesar y conservar alimentos, el cual consiste en la aplicación de energía sónica a frecuencias de 20 a 100 kHz a través de un medio líquido. Este método puede ser empleado como una barrera de conservación o bien como herramienta para alterar las propiedades fisicoquímicas, estructurales y tecnológico-funcionales de matrices alimentarias selectas a través de cavitación (Bhargava et al., 2021). El UAI se ha empleado también para inducir la modificación estructural de proteínas de origen animal y vegetal (arroz, soya, frijol negro, girasol entre otras) (Vallejo-Domínguez, et al., 2021). Recientemente, se ha reportado que tratamientos selectos de UAI pueden ser utilizados para modificar las características tecnológicas de proteína de chícharo (Xiong, et al., 2018). Sin embargo, a la fecha no se han encontrado reportes del uso de proteína de chícharo pretratada con UAI como ingrediente para formular productos alimenticios, y, por tanto, se considera valioso explorar su uso para la elaborar productos lácteos coagulados mixtos, suscritos en el contexto de una dieta flexitariana. Tomando en cuenta lo anterior, se proponen los siguientes objetivos e hipótesis para el presente trabajo.

Objetivo General

Diseñar un producto coagulado mixto (PCM) tipo queso con leche entera bovina (LEB) y proteína aislada de chícharo (PACH) sometida a pretratamientos selectos (ultrasonido de alta intensidad, UAI; *pH shifting*) y analizar cambios en sus parámetros de elaboración y propiedades fisicoquímicas y sensoriales en comparación con un queso panela.

Objetivos Específicos

1. Seleccionar las condiciones de proceso (concentración, tiempo de UAI) que maximicen la dispersión de PACH en medio acuoso sometida a *pH shifting*.
2. Seleccionar la razón de mezcla LEB: PACH pretratada (*pH shifting* + UAI) con base en cambios en capacidad de retención de agua (CRA) y firmeza de geles (FG) enzimáticos con respecto a un control de LEB.
3. Evaluar cambios en parámetros de elaboración y evolución de características de calidad durante el almacenamiento refrigerado de PCMs de mezclas preseleccionadas de LEB: PACH pretratada en comparación con un control (queso panela).
4. Establecer una técnica de análisis descriptivo para evaluar la textura de los PCMs elaborados.

Hipótesis

Es posible elaborar un producto lácteo coagulado mixto de proteína aislada de chícharo pretratada por ultrasonido de alta intensidad y *pH shifting* que posea características sensoriales, tecnológicas, y nutrimentales similares a las de un queso panela elaborado con leche entera bovina.

1. Marco Teórico

1.1. Tecnología de quesos y productos análogos

1.1.1. Características generales del queso

La leche es un fluido producido por las hembras de mamíferos y su principal función es nutrir a los neonatos de sus especies, por lo que debe proporcionar los nutrimentos requeridos por cada tipo de cría (Gazi et al., 2022). La composición de la leche es sumamente compleja y varía con la especie, raza, etapa de lactancia, estación, edad, salud, esquema de alimentación, individuo, entre otros. Los principales componentes de la leche son, en orden decreciente, agua, lactosa, grasa, proteínas y minerales (Miller et al., 2012); desde el punto de vista fisicoquímico, la leche es compleja, pues es una emulsión de glóbulos de grasa y un sol de proteínas y minerales coloidales en una solución de lactosa y sales minerales (Altomonte et al., 2018). Desde el punto de vista normativo, las leches fluidas y sus productos derivados son clasificados como lácteos. A partir de la leche pueden elaborarse una amplia gama de productos incluyendo crema, mantequilla, yogurt, bebidas fermentadas e innumerables variedades de quesos.

Se le otorga el nombre genérico de queso a los productos coagulados a base de leche con o sin fermentación; estos se producen con características particulares en diversas partes del mundo occidental empleando protocolos específicos de elaboración (Soedamah-Muthu & Guo, 2020). Los quesos son productos biológica y bioquímicamente dinámicos y, por tanto, inestables; éstos conforman el grupo más diverso de productos lácteos y se consideran los más interesantes desde el punto de vista científico-tecnológico (Fox & McSweeney, 2017). La NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018 define a los quesos como el producto rico en caseína madurado o no madurado obtenido por coagulación total o parcial de proteína de leche por cuajo, otros coagulantes u otra técnica de coagulación análoga y por escurrimiento parcial del suero desprendido.

Existen al menos 400 variedades de quesos debido a que las diferencias en su origen, composición y proceso proporcionan a cada uno perfiles de sabor y textura únicos; los criterios más comunes para su clasificación son la presencia o ausencia de un proceso de maduración (frescos y madurados, respectivamente) y la textura (muy duro, duro, semi duro, suave y semi suave), la cual se relaciona principalmente con el contenido de humedad. También se han clasificado por la especie que produce la leche, contenido de proteína, método de coagulación, temperatura de cocción y microbiota (Fox & McSweeney, 2017). En general, existen razones variadas para incluir queso en la dieta diaria, incluyendo la adopción de hábitos más saludables, por conveniencia o por experimentación sensorial, dada la gran diversidad de sabores y texturas que presentan. El queso puede ser utilizado como ingrediente principal, como postre, como acompañamiento de otros alimentos y puede ser consumido sin preparación o sometido a varios procesos de transformación empleando un amplio abanico de técnicas culinarias (Fox et al., 2017).

En la actualidad, dado el surgimiento de variantes análogas, existe una clasificación nueva en el mercado, que divide a estos en quesos naturales, quesos procesados o imitaciones de quesos. Los quesos naturales son elaborados utilizando únicamente ingredientes tradicionales (leche fresca, sal, cultivos lácticos) y otros ingredientes que pueden estar presentes en los procesos de coagulación o fermentación; por otro lado, los *quesos procesados* emplean cierta proporción de uno o varios quesos naturales mezclados con sales emulsificantes y otros aditivos de bajo costo, mientras que las *imitaciones de quesos* pueden estar elaborados con materias primas de origen lácteo (como concentrados de proteínas lácteas) y no lácteo (incluyendo proteínas vegetales, hidrocoloides, entre otros) (Mohd Shukri et al., 2022).

1.1.2. Composición y relevancia nutrimental del queso

Como se mencionó anteriormente, los componentes más importantes de la leche son proteínas (caseínas y proteínas de suero), lípidos (primordialmente triglicéridos), lactosa, minerales (solubles e insolubles), vitaminas (hidrosolubles y liposolubles), fracciones menores (enzimas, aminoácidos libres, ácidos orgánicos y péptidos) y agua. Estos coexisten y están frecuentemente interrelacionados, dado que la leche es un sistema fisicoquímicamente complejo que posee componentes en diversos estados dispersos. Así, es una emulsión de glóbulos protegidos por una membrana proteica con respecto a la grasa; un sol con respecto a las caseínas, a sales minerales coloidales y a varias de las proteínas de suero y una solución de lactosa y sales minerales (McSweeney, 2007b). Por ello, los productos lácteos no son solamente una colección de nutrientes aislados, sino que exhiben una micro y nano estructura compleja establecida mediante interacciones de sus componentes individuales, la cual afecta la digestibilidad y biodisponibilidad de nutrientes, así como su potencial tecnológico (Zhang et al., 2023a).

El queso es un producto concentrado de leche, con una actividad de agua sensiblemente menor a la de ésta última, que posee excelentes características nutrimentales y destaca por su considerable variedad y conveniencia, pues tiene una vida útil que puede ser muy larga y es portable; además, si es adecuadamente procesado, resulta ser inocuo y posee un potencial interesante para la formulación de nuevos productos, en particular en la incorporación de sabores innovadores y el desarrollo de nuevas texturas (Chandan, 2015). Por ser un derivado de la leche, el queso es una matriz alimentaria muy compleja, con diferentes variedades que poseen perfiles nutricionales únicos; son una buena fuente de calcio, proteínas de alta calidad (caseína), lípidos, vitaminas y minerales. Cada componente principal se describe a detalle en la siguiente sección.

Los quesos son alimentos muy versátiles; debido a variaciones en sus procesos de elaboración, protocolos de maduración y características sensoriales y tecnológicas, distintas variedades están disponibles para cubrir las necesidades de consumidores específicos (O'Brien & O'Connor, 2017); sin embargo, es importante mencionar que, aunque el queso es un alimento muy denso en nutrientes y una fuente alimenticia rica en minerales, vitaminas y otros micronutrientes que pueden proporcionar diversos beneficios a la salud, no está carente de controversias, pues también pueden contener cantidades relativamente altas de grasa saturada y sal, los cuáles son percibidos como no favorables en componentes de la dieta para la salud cardiovascular (Zhang et al., 2023a), por lo que se ha intentado innovar con el desarrollo de alternativas de productos que puedan satisfacer la demanda de los consumidores y coadyuvar a mantener un buen status de salud, sin sacrificar su calidad sensorial y sus características tecnológicas. Por otra parte, recientemente se ha revalorado a este producto como fuente de compuestos con actividad antimicrobiana, antihipertensiva, antidiabética y que pueden coadyuvar a reducir la obesidad (en particular aquellos reducidos en grasa). Asimismo, diversos estudios han reportado que pueden poseer propiedades antioxidantes asociadas a la presencia de compuestos bioactivos naturalmente presentes en leche (lactoferrina, membranas del glóbulo graso) o formados durante el proceso de maduración, como péptidos y ácidos grasos de cadena corta (Zhang et al, 2023a & Plante et al, 2021); además los quesos contienen microorganismos, fundamentalmente bacterias acidolácticas, algunas con actividad como probióticos, por lo que su influencia sobre el status de salud puede estar condicionada positivamente por su consumo.

1.1.2.1. Proteínas lácteas

Independientemente del origen, las proteínas lácteas se agrupan en caseínas, proteínas de suero y proteínas de la membrana del glóbulo de grasa (MFGM) las cuales se encuentran en porcentajes aproximados de 80%, 19% y 1%, aunque su proporción puede variar dependiendo de la especie, tipo de alimentación y etapa de lactancia (Altomonte *et al.*, 2018). Las caseínas se encuentran ordenadas en coloides de asociación llamados micelas, mientras que las proteínas de suero se localizan en la fase acuosa, como se explicará en la sección 1.2.

Las proteínas juegan un papel de vital importancia en la mayoría de los procesos tecnológicos responsables del amplio número de productos lácteos producidos, incluyendo los quesos, los cuales se forman por la coagulación de leche por enzimas, ácido y/o calor para formar una cuajada de caseínas que se separa de las proteínas de suero y puede ser modificada para que exhiba características sensoriales y tecnológicas específicas. La estructura de la red proteica resultante afecta la firmeza del queso; durante la maduración el grado de rompimiento progresivo de caseína a péptidos hidrosolubles y, eventualmente, a aminoácidos libres tiene un impacto decisivo en los perfiles de textura y *flavor* del producto, así como en la funcionalidad tecnológica del producto (Cao *et al.*, 2022).

Desde el punto de vista nutricional y a pesar de las variantes asociadas con factores de producción (tipo y composición de la leche, proceso de maduración implementado, tipo de cultivo iniciador) los quesos contienen altos niveles de proteína, como se muestra en la Tabla 1.1 (O'Brien & O'Connor, 2017) el cual va desde 3% (queso crema) hasta casi 40% (parmesano) en peso; el contenido de proteína es inversamente proporcional al contenido de grasa. Las caseínas son proteínas de alta digestibilidad que proporcionan aminoácidos esenciales y minerales como calcio y fósforo, que son requeridos en el desarrollo de huesos y dientes (Uniacke-Lowe & Fox, 2017); el valor nutricional de la proteína presente en el queso (índice de aminoácidos esenciales de 91 a 97/100) es ligeramente menor que el de la leche (100) debido a la pérdida de aminoácidos sulfurados de proteínas que permanecen mayoritariamente en el suero (O'Brien & O'Connor, 2017). Además de su valor nutricional, algunos péptidos generados durante la maduración pueden exhibir actividad biológica y por ello son ingredientes promisorios para el desarrollo de alimentos funcionales.

Tabla 1.1. Concentración de componentes relevantes en diversos tipos de quesos.

Componente	Rango (g/ 100g)
Agua	18.4-79.1
Proteína	3.1-39.4
Grasa	3.9-47.4
Carbohidratos	5.7 (máximo)
Colesterol	0.013-0.105
<i>Energía (kcal·100g⁻¹)</i>	<i>113-452</i>

Obtenida de O'Brien & O'Connor, 2017

1.1.2.2. Grasa

El contenido de grasa en quesos es muy variable, observándose variedades con bajas concentraciones (alrededor del 4%) hasta productos muy altos en grasa (cerca del 50%) (Tabla 1.1). La cantidad de grasa está influenciada por la especie productora de leche, el contenido de grasa en la leche (entera, parcialmente descremada) y los procesos involucrados en su elaboración; además, el contenido de grasa en una matriz densa como el queso puede beneficiar a las bacterias acidolácticas presentes, proporcionándoles una mejor protección durante su tránsito por el tracto gastrointestinal, mejorando su probabilidad de supervivencia en comparación con otras matrices alimenticias (Silva et al., 2015). Al ser la leche la materia prima principal de su elaboración, el principal componente lipídico de los quesos son los triglicéridos, que contienen ácidos grasos saturados (~66%), monoinsaturados (~30%) y poliinsaturados (~4%) (O'Brien & O'Connor, 2017). Entre los ácidos grasos presentes en los principales tipos de quesos mexicanos se ha reportado que los más abundantes son oleico, palmítico, esteárico, mirístico y linoleico (Caro et al., 2014). La presencia de la grasa en el queso es esencial para el desarrollo de sus propiedades tecnológico-funcionales y sensoriales; la grasa afecta propiedades texturales (firmeza, adhesividad, cohesividad, sensación en boca) y sabor del queso.

Uno de los componentes lipídicos más estudiados en queso es el colesterol; relevante para modular diversos procesos metabólicos en el ser humano, aunque su ingesta elevada se le relaciona con una mayor incidencia de enfermedades crónico-degenerativas (Smithers, 2022). La concentración de colesterol en queso está en función del contenido de grasa y va desde 10 a 100 mg/100 g, dependiendo de la variedad, como se observa en la Tabla 1.1.

1.1.2.3. Lactosa

La lactosa constituye más del 80% de los carbohidratos de la leche (Hickey & Urashima, 2022). Es un disacárido reductor compuesto de galactosa y glucosa unidos por un enlace glicosídico. Es el carbohidrato principal en la leche de la mayoría de los mamíferos, además de que es la única fuente significativa de lactosa; su contenido oscila entre 0–10% (w/w). Su concentración está inversamente relacionada a la concentración de lípidos y caseína. El porcentaje de lactosa en la leche bovina es aproximadamente de 4.8% (w/w).

Durante la manufactura de quesos la mayoría de la lactosa (96%-98%) se remueve en el suero, así que éstos solo contienen cantidades traza (ver Tabla 1.1). Además, la lactosa residual en la cuajada de queso usualmente es fermentada a ácido láctico por los cultivos iniciadores; el contenido de lactosa en el queso varía con el procedimiento de elaboración y el protocolo de maduración de este, pues los quesos coagulados con ácido y los quesos duros de maduración larga contienen concentraciones de lactosa sumamente bajas (Bintsis & Papademas, 2018).

1.1.2.4. Vitaminas

El contenido de vitaminas en el queso es variable, y al igual que otros factores composicionales, depende del tipo de producto, protocolo de manufactura y condiciones de maduración; incluso por la diversidad de microorganismos presente, dado que algunas bacterias acidolácticas producen vitaminas (Kwak *et al.*, 2011).

La concentración de vitaminas liposolubles en el queso está influenciada por los mismos factores que afectan el contenido de grasa; la mayoría de éstas se retienen en la grasa del queso, a diferencia de las vitaminas hidrosolubles, que tienden a perderse en el suero. En general, los quesos

son buenas fuentes de vitaminas A, D, B2 (riboflavina), B12 y folato (O'Brien & O'Connor, 2017), las cuales son relevantes para diversos procesos fisiológicos incluyendo conservación de una visión adecuada, absorción de calcio en los huesos; mantenimiento de piel y mucosas; prevención de Alzheimer y de desórdenes en el sistema nervioso central, respectivamente (Mohd Shukri *et al.*, 2022). Los rangos de concentración de vitaminas presentes en el queso se muestran en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Rango de concentración de vitaminas en distintos tipos de quesos.

Vitamina	Concentración (mg/100 g)
Retinol	44-385
Caroteno	10-315
Vitamina D	0.05-0.27
Vitamina E	30-1000
Tiamina	20-50
Riboflavina	130-650
Niacina	40-570
Vitamina B6	220 (máximo)
Vitamina B12	0.3-2.1
Folato	11-102
Pantotenato	310-710
Biotina	1.4-7.6

Obtenida de O'Brien & O'Connor, 2017

1.1.2.5. Minerales

Los principales minerales del queso incluyen a los nativos de leche (sales de calcio, fósforo y magnesio) y aquellos añadidos durante el proceso (cloruro de calcio, cloruro de sodio) (Franzoi *et al.*, 2021). Los rangos promedio de concentración de minerales en queso se muestran en la Tabla 1.3; adicionalmente, algunas características notables de los mismos se discuten a continuación.

El calcio es un macromineral importante para nuestro organismo y está presente de manera abundante en productos lácteos derivados como el queso; los niveles de calcio varían de acuerdo con el tipo de producto, y se ha encontrado que en las variedades duras su concentración es más alta debido a la pérdida de agua inherente. El calcio en el queso posee una mejor biodisponibilidad en comparación con aquel presente en la leche, debido a la forma del complejo en la que se encuentra unido a los péptidos, que previenen que el calcio se precipite; así, éste permite una mejor absorción en el intestino. Se ha sugerido que una adecuada ingesta de calcio durante la niñez y la adolescencia es importante para asegurar una buena masa ósea, además de que ayuda a fortalecer los dientes y a prevenir la osteoporosis en adultos (Mohd Shukri *et al.*, 2022). Debido a la disolución de fosfato de calcio coloidal, los quesos coagulados con cuajo poseen una cantidad mayor de calcio en comparación con aquellos fabricados por coagulación ácida.

El queso también es una buena fuente de fósforo, presente como fosfato soluble o insoluble en forma coloidal al interior de la micela; de manera similar al calcio, la cantidad promedio de fósforo presente en el queso varía con el tipo de producto y leche utilizada en la elaboración (Kwak *et al.*, 2011). El fosfato, junto con otros minerales como los citratos, es de suma relevancia en tecnología quesera, dado que ayuda a mantener el pH del producto, al funcionar como agentes buffer (Fox *et al.*, 2017). Asimismo, el magnesio se encuentra en cantidades significativas en el queso; este mineral

también juega un rol vital en el incremento de la densidad mineral ósea y en la disminución de la degradación de los huesos (Mohd Shukri *et al.*, 2022).

De entre los minerales presentes en el queso por adición durante el proceso, el cloruro de sodio es el más relevante desde el punto de vista tecnológico, pues coadyuva a la reducción de actividad de agua requerida para su conservación y contribuye de manera decisiva a su aceptabilidad sensorial; sin embargo, su uso puede ser controversial, pues evidencia médica demuestra que puede incidir negativamente sobre la salud del consumidor, al influir sobre la incidencia de hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares por su capacidad de retener líquidos en el cuerpo, por lo que debe moderarse su consumo (O'Brien & O'Connor, 2017); sin embargo, esta sal también está involucrada en diferentes procesos bioquímicos esenciales para diversas funciones biológicas del organismo, como absorción y transporte de nutrientes, transmisión de impulsos nerviosos en músculos y funciones cardíacas.

Tabla 1.3. Contenido de principales minerales en diversos tipos de quesos.

Mineral	Concentración* (g/ 100g)
Ca	0.44±0.16
P	0.31±0.12
K	0.06±0.04
Mg	0.02±0.02
Na	0.44±0.16

*Media ± Desviación estándar

Recuperada de Franzoi et al., (2021).

1.1.3. Principales características tecnológicas de los componentes del queso

1.1.3.1. Proteínas

Las proteínas poseen características tecnológicas relevantes para el desarrollo de alimentos; y ayudan a definir su estructura y propiedades finales (Gálvez et al., 2020). La leche es una excelente fuente de proteínas con características tecnológicas variadas; debido al procedimiento de elaboración, los quesos contienen mayoritariamente caseínas, cuyas propiedades funcionales relevantes se describen a continuación.

Las caseínas son un grupo heterogéneo de fosfoproteínas que constituyen el 80% del contenido de proteína en leche bovina; son una reconocida fuente de nutrientes, al ser altamente digerible y ricas en aminoácidos esenciales, calcio y fósforo (Raak & Corredig, 2022). Las caseínas son sintetizadas en las glándulas mamarias y se encuentran exclusivamente en el reino animal. Las caseínas se reconocen como la fracción nitrogenada más abundante en la leche de vaca, oveja, cabra y búfalo, representando 2.5% del peso neto promedio de leche (Bintsis & Papademas, 2018). En leche bovina, sus variantes se identifican como α_{s1} -, α_{s2} -, β -, y κ -caseínas (Trewick, 2012), las cuáles poseen composición, estructura y propiedades diferentes, con distintos grados de fosforilación y glicosilación; los enlaces que puedan formar consigo mismas y con otras proteínas también varían lo que produce que exhiban diferencias en su estabilidad y características tecnológicas. En general, las caseínas poseen una estructura secundaria poco definida y terciaria mínima debido a la abundancia de aminoácidos con grupos laterales voluminosos, como la prolina. Todas las caseínas son estructuras mayoritariamente hidrofóbicas; para mantenerse estables en un medio acuoso (que contiene

proteínas de suero, lactosa, compuestos nitrogenados no proteicos y minerales) se organizan en coloides de asociación denominados micelas; estas superestructuras coloidales aparentemente esféricas poseen un diámetro de 80 a 400 nm y consisten de decenas de miles de fracciones de caseínas (92%), cuyos residuos de fosforesina se enlazan a estructuras de fosfato de calcio coloidal (FCC), complejos insolubles asociados a las micelas de caseína, los cuáles son de importancia crítica en la estructura de la micela de caseína debido a que pueden entrecruzar numerosas moléculas de caseína (α_{s1} -, α_{s2} -, β -, y κ -) y reducir la repulsión electrostática (8%) (Gazi et al., 2022; Raak & Corredig, 2022). Dicho balance y las interacciones entre las micelas dependen de condiciones de pH, concentración, fuerza iónica, temperatura, entre otros (Rocha-Mendoza & Jiménez-Flores, 2022).

Las micelas son estables por la forma en que están organizadas sus fracciones de caseínas; en primera, poseen κ -caseína en la superficie, con una cadena protuberante hidrofílica que estabiliza el sistema. Las proteínas que son mayormente hidrofóbicas, fosforiladas y sensibles al calcio, α_{s1} -, α_{s2} - y β -caseína, forman la parte interior de la micela. En la Tabla 1.4 se describe el porcentaje de hidrofobicidad de cada una; Rocha-Mendoza y Jiménez-Flores (2022) mencionan que las secciones hidrofóbicas contienen casi la misma cantidad de aminoácidos con carga negativa y positiva, por lo que se mencionan como regiones neutrales (Figura 1.1); también podemos observar los sitios en los que hay rompimiento de α_{s1} - y κ -caseína por parte de la quimosina (cuajo) señaladas con flechas en la Figura 1, el cuál es crítico para una coagulación enzimática de leche para elaborar queso; la presencia de residuos de cisteína estratégicamente ubicados en κ -caseína forman enlaces disulfuro intermoleculares con otras moléculas de κ -caseína después de la ruptura enzimática, proceso que se explicará más adelante.

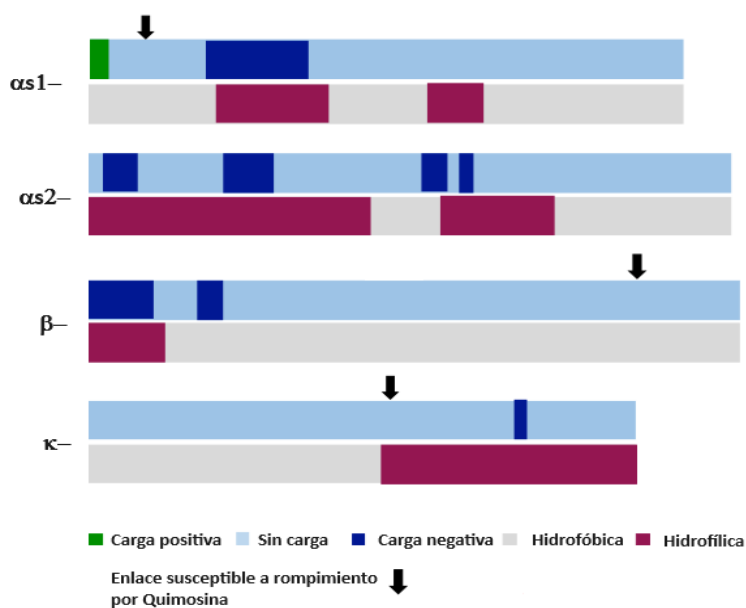


Figura 1.1. Diagrama de cargas y afinidades en las caseínas.

En general, cada fracción caseína posee características únicas que contribuyen a la formación de micelas de caseína y es esencial considerarlas para comprender la formación del queso; por ello, cada una se describirá cada una a continuación. Las características más relevantes de cada fracción se muestran en la Tabla 1.4.

Tabla 1.4. Características estructurales de las fracciones de caseína de leche bovina.

Características	α_{S1} -	α_{S2} -	β -	κ -
Concentración en leche (g·L ⁻¹)	12-15	3-4	9-11	2-4
Número de aminoácidos	214	222	224	190
Masa promedio (kDa)	24.5	26	25.1	21.3
Contenido en micela (%)	38	11	38	13
Hidrofobicidad (%)	32	30	34	28
Grado de fosforilación	7-9	9-15	4-5	0-3
Residuos de cisteína	1	3	1	2
Estructura α -hélice (%)	14	30-40	15	15
Estructura β -laminar (%)	40	20	30	30
Estructura de giro (%)	24	20	29	25
Estructura de poliprolina-II (%)			20	

Tomado de Gazi et al., 2022; Rocha-Mendoza & Jiménez-Flores, 2022; Pinto et al., 2012)

- **α_{S1} -Caseína** Sensible al calcio por su alto contenido de fosfato; posee gran cantidad de lisina, que es un aminoácido esencial; el número de grupos fosfato presente en ella es mayor que en β - y κ -caseína; α_{S1} -caseína carece de enlaces disulfuro (Treweek, 2022), por lo que al igual que otras caseínas, muestra un comportamiento de auto asociación; es propensa a hidrólisis enzimática al poseer una estructura abierta (Gazi et al., 2022); tiene una carga negativa mayor que las demás caseínas (Rocha-Mendoza & Jiménez-Flores, 2022).
- **α_{S2} -Caseína:** Es la más fosforilada, aunque también con la mayor variabilidad en grado de fosforilación; posee una alta atracción al calcio; y también presenta una gran cantidad de lisina (Treweek, 2022). La mayoría de esta proteína presenta un enlace disulfuro entre sus dos residuos de cisteína formando un pequeño bucle en la estructura, además, una pequeña porción de esta proteína existe como dímeros de enlace disulfuro, así como polímeros con κ -caseína, es decir que tiende a la autoasociación, pero también presenta enlaces intermoleculares. Es una proteína que es hidrolizada fácilmente por plasmina, pero no por quimosina. α_{S2} - contiene dos cúmulos de fosfoserina separados por regiones altamente hidrofóbicas que ayudan a la formación y estabilidad de monocristales de fosfato de calcio. Esta caseína es de las menos hidrofóbicas (Gazi et al., 2022; Rocha-Mendoza & Jiménez-Flores, 2022).
- **β -Caseína:** es la fracción más abundante; carece de enlaces disulfuro y es notablemente más hidrofóbica que κ - y α -. Por su comportamiento anfifílico, tiende a autoasociarse en solución, dejando su cubierta hidrofílica expuesta; es propensa a enlazarse fuertemente con iones divalentes como Ca^{2+} a través de fosfoserina y otros aminoácidos. La adición de $CaCl_2$ y el aumento de temperatura produce la formación de agregados de β -caseína y Ca^{2+} , proceso que puede ser reversible al disminuir la temperatura; posee un sitio muy sensible a la quimosina (Treweek, 2022), lo que es relevante para la fabricación de quesos coagulados enzimáticamente.
- **κ -Caseína:** Fracción que se encuentra únicamente en la superficie y no en el centro de las micelas de caseína y juega un rol de vital importancia para su estabilidad por cuatro mecanismos descritos a continuación. Es la menos fosforilada (carece de grupos fosfoserina), por lo que *presenta poca afinidad al Ca^{2+}* y ayuda a detener la polimerización de las micelas. Además, es *anfifílica*, lo que estabiliza a la micela al tener en contacto su parte hidrofóbica con el interior y su parte hidrofílica

con el exterior (Gazi et al, 2022; Treweek, 2022). Posee carga negativa en su parte hidrofílica, que provoca *repulsión electrostática* en la superficie con otras micelas; finalmente, la zona hidrofílica protuberante proporciona estabilidad adicional por *impedimento estérico*. Esta proteína es la única glicosilada, contiene residuos de cisteína que pueden formar enlaces intra e intermoleculares y es relevante para la formación del complejo β -lactoglobulina- κ -caseína en leche sometida a tratamientos térmicos intensos (Raak & Corredig, 2022).

La elaboración de queso conlleva la transformación y preservación de los constituyentes de la leche desde un estado fluido hasta uno sólido o semisólido (Chandan, 2015). Al ser esencial para la estabilidad de la micela, la producción de queso requiere modificar la estructura de la micela para propiciar su desestabilización micelar. La desestabilización de las micelas de caseína facilita la separación de la cuajada y el suero, donde la primera contiene casi todas las caseínas, mientras que el segundo contiene casi todas las proteínas de suero. Dependiendo del tipo de queso, la gelación de leche puede inducirse por diferentes medios:

- Hidrólisis enzimática de κ -caseína por adición de proteasas conocidas como cuajo (quimosina, pepsina). κ -caseína contiene un sitio reconocible por la quimosina (ver Figura 1.1), que la divide en una fracción hidrofóbica cargada positivamente denominado para- κ -caseína y un péptido más pequeño hidrofílico denominado caseinomacropéptido o glicomacropéptido (Bintsis & Papademas, 2018). Al concluir el proceso, para- κ -caseína se queda en la cuajada, mientras que el caseinomacropéptido se concentra en el suero (Gazi et al., 2022). Investigaciones previas indican que si la leche contiene una mayor proporción de α ₂- y β -caseínas, y una menor proporción de κ -caseína puede coagular más lentamente y en algunos casos incluso no coagular dentro de los primeros 30 min (Panthi et al., 2017). El queso elaborado en este proyecto es uno fabricado por coagulación enzimática, por lo que este punto se abordará a profundidad más adelante.
- Acidificación, con cultivos iniciadores o ácidos de grado alimenticio a 20 – 40°C hasta llegar a un valor de pH cercano al punto isoeléctrico de la caseína (4.6) para convertir el FCC en calcio soluble, evitando la repulsión electrostática entre micelas, propiciando su agregación.
- Combinación de ácido y calor, por ejemplo, llevando la leche a un pH de 5.6 a una temperatura de 90°C (Rocha-Mendoza & Jiménez-Flores, 2022; Johnson & Law, 2010).

Aunque bajo condiciones normales de elaboración no forman parte del queso, es importante mencionar ciertas características relevantes de las proteínas de suero para la discusión de resultados. En leche de vaca, esta fracción representa 0.7 g/100 g, ~20% de la proteína total. Las proteínas de suero son ricas en aminoácidos de cadena ramificada como leucina, isoleucina y valina (Giromini, et al., 2020); poseen estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria definidas; además, están presentes en forma monomérica y dimérica. Existen como proteínas globulares solubles y están estabilizadas por un nivel relativamente alto de enlaces disulfuro intramoleculares, aunque son susceptibles a desnaturizarse por factores externos como calor ($T > 70^\circ\text{C}$), acidificación (Bintsis & Papademas, 2018), alta presión y ultrasonido de potencia, entre otros (Gazi, et al., 2022).

Los principales tipos de proteína de suero son β -lactoglobulina (β LG, 54 g/100 g), α -lactoalbúmina (ALA, 21 g/100 g), inmunoglobulinas (14 g/100 g) y albúmina bovina sérica (BSA) (6 g/100 g); estas existen como proteínas globulares solubles. β LG es la proteína de suero que se encuentra en mayor concentración (~50% del total en leche bovina); contiene 5 residuos de cisteína, cuatro formando 2 enlaces disulfuro intramoleculares y el quinto dentro de la estructura de la proteína, pero que se expone tras desnaturizarse; este enlace puede participar en reacciones intermoleculares y es clave en la agregación de las proteínas de suero por calor (Gazi et al., 2022);

esto es relevante para la producción de queso, pues el complejo β LG desnaturalizada y κ -caseína afecta negativamente la coagulación por cuajo, prolongando el tiempo de coagulación y formando un coagulo más suave con tendencia a perder sólidos finos y con problemas de sinéresis (Fox et al., 2017); la adición de CaCl_2 a leche cruda puede disminuir la intensidad de estos efectos negativos (McSweeney, 2007d). Por su parte, ALA constituye 3.5% de las proteínas totales en leche bovina, (~20% del total). Asociada a la síntesis de lactosa, es una proteína globular compacta, con 8 residuos de cisteína, los cuáles pueden formar 4 enlaces intramoleculares disulfuro. Contiene una alta concentración de aminoácidos esenciales, (triptófano, lisina y cisteína) y algunos péptidos bioactivos. Es más termoestable de las proteínas de suero mayoritarias debido a su ausencia de sulfhidrilo libres y a su capacidad de formar enlaces fuertes con iones Ca^{2+} (Ho & Bansal, 2022). Finalmente, BSA se encuentra en concentraciones variables dependiendo del estado de salud de las glándulas mamarias; constituye 10% del total de proteínas de suero y posee 35 residuos de cisteína, 17 formando puentes disulfuro intramoleculares, con un sulfhidrilo libre, que puede reaccionar con β -lactoglobulina (Gazi et al., 2022; Boland, 2011).

1.1.3.2. Grasa

La leche bovina contiene 3.7g lípidos/ 100g en promedio, pero su rango de concentración varía (3.0 a 5.0g/ 100g) con la raza, dieta, salud, etapa de lactancia y manejo animal. Los triglicéridos (TG) son el componente mayoritario (96-99g/ 100g de lípidos), el restante consiste en fosfolípidos (0.8 g por 100 g), diacilgliceroles, esteroides (0.3g/ 100g) y cantidades traza de carotenoides, vitaminas liposolubles y ácidos grasos libres. La grasa butírica forma glóbulos de tamaños diversos (Guinee & O'Brien, 2010), los cuales son responsables y/o contribuyen a algunas propiedades características de leche y quesos. Su amplia distribución de tamaño (200 nm a 15 μm , 3.7 μm en promedio) depende de factores como la raza bovina y la etapa de lactancia (Jiménez-Flores, 2022).

Los glóbulos de grasa de leche están envueltos por una membrana (MFGM, por sus siglas en inglés), la cual previene la coalescencia y degradación enzimática de TGs por lipasas nativas de la leche o producidas por bacterias; la MFGM está compuesta de distintos lípidos (fosfolípidos, triglicéridos y colesterol), proteínas (1% del total en leche) y enzimas. El daño mecánico de la MFGM durante el proceso de quesos puede aumentar el acceso de las lipasas a los TGs, provocando rancidez y afectando su sabor (Bintsis y Papademas, 2018). En el queso, los glóbulos de grasa encerrados en la red de proteica limitan su agregación y contracción, dependiendo de su distribución de tamaño y fracción volumétrica, modulando sus propiedades reológicas y lubricando sus movimientos ante una deformación, que depende también de la fracción volumétrica y la temperatura, que determinan la proporción de grasa sólida/líquida. Así, a bajas temperaturas, la grasa es predominantemente sólida y aumenta la elasticidad de la red de caseínas, limitando su deformación. La elasticidad disminuye sensiblemente al disminuir la proporción de grasa sólida/líquida por incremento de temperatura. La grasa libre en el queso ayuda a lubricarlo durante la deformación (Guinee, 2022).

1.1.3.3. Minerales

La leche contiene ~0.75g /100g de cenizas formadas por cationes (especialmente calcio, magnesio, sodio y potasio) y aniones (fosfato inorgánico, citrato y cloruro) a distintas concentraciones. Estos minerales están distribuidos en proporciones variables entre el suero (forma soluble) y la micela de caseína (forma coloidal e insoluble) a pH nativo de la leche (ver Tabla 1.5) y juegan un papel determinante en la elaboración del queso. Los minerales de leche pueden verse como una mezcla de FCC disperso en un suero que contiene diversas especies iónicas de sales

solubles como citrato de calcio y fosfato de sodio con capacidad buffer, y esenciales para el control del pH y el desarrollo de textura en los quesos. En dicho equilibrio existe un perpetuo intercambio entre los iones de sales en la fase soluble y fase micelar, que se modifica cuando las condiciones fisicoquímicas cambian (Bauland et al., 2022).

De los minerales en leche, el calcio es especialmente relevante; su contenido en el queso tiene una gran influencia sobre diversas propiedades fisicoquímicas. La leche bovina usualmente contiene $1.20 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de calcio, y aproximadamente 70% del total existe en el FCC. La aglomeración del fosfato de calcio para formar FCC o su permanencia en fase soluble (Ca^{2+}) está ampliamente influenciada por el pH y la temperatura (Cooke & McSweeney, 2018); así, los pretratamientos térmicos de leche, como la pasteurización, la refrigeración postproceso, la adición de CaCl_2 y la acidificación de leche durante la elaboración de queso son factores que influyen el tiempo de coagulación enzimática de leche, etapa del procedimiento de elaboración que afecta la composición de la cuajada y las características fisicoquímicas y texturales finales del queso.

Tabla 1.5. Especies iónicas presentes en la leche, sus formas de asociación y su ubicación.

Mineral	Fase soluble	Fase micelar
Ca	Libre	Asociado con residuos de fosfoserina
	Asociado con citrato y fosfato inorgánico	
	Asociado con α -lactalbúmina	
Mg	Libre	Asociado con residuos de fosfoserina
	Asociado con citrato y fosfato inorgánico	Asociado con fosfato inorgánico*
Na	Principalmente libre	
K	Principalmente libre	
P (orgánico)	Esterificado con pequeñas moléculas (nucleótidos, azúcares, fosfolípidos)	Esterificado con caseína (residuos de fosfoserina)
P (inorgánico)	Libre ($\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$)	Asociado dentro de la micela con calcio y magnesio*
	Asociado con calcio (CaHPO_4)	
Citrato	Libre	Asociado con calcio*
	Asociado con calcio, magnesio	
Cloruro	Principalmente libre	

Modificada de Bauland et al (2022).

*Se refiere a una ubicación tentativa

1.1.3.4. Lactosa

Este azúcar tiene gran importancia en la elaboración de diversos productos lácteos, especialmente en quesos, debido a que es el sustrato que fermentan los cultivos iniciadores para producir ácido láctico. Los productos de dicha fermentación contribuyen a las propiedades sensoriales durante la maduración (Kelly, 2007). Por otro lado, en la manufactura del queso, la mayoría de la lactosa (96-98%) es removida en el suero, éste incluso puede considerarse un subproducto del proceso. Aun así, el contenido de lactosa en las distintas variedades de queso difiere con base en el procedimiento, ya que un exceso de este carbohidrato puede llevar a una alta producción de ácido láctico, resultante en sabores fuertes, ácidos y ásperos; además de una textura quebradiza (Paterson, 2022; Bintsis & Papademas, 2018).

1.1.4. Aspectos generales del proceso de elaboración de quesos

La elaboración de queso es un proceso simple que involucra fenómenos químicos y físicos complejos (Johnson & Law, 2010) transformando un producto de alta humedad como la leche a una cuajada viscoelástica concentrada por transición sol-gel de micelas de caseína inducida por acidificación y/o adición de enzimas coagulantes, la cual es separada después de una parte no conglomerada de proteína de suero (Grossmann & McClements, 2021). Para obtener un producto con la calidad apropiada, la producción de queso posee dos objetivos básicos: a) Establecer parámetros para elaborar un queso específico deseable en cuanto a sabor, cuerpo, textura y habilidades para fundirse y/o estirarse y b) Desarrollar un protocolo de manufactura para reproducir rutinariamente estos parámetros cada vez que el queso se realice. La elaboración de quesos se divide en dos eventos esenciales: manufactura y maduración.

La manufactura de un queso es un proceso de remoción de agua en el cual, la grasa y caseína de la leche son concentradas de 6 a 12 veces, dependiendo de la variedad; por lo regular esta etapa duran 48 h o menos. Los pasos de la manufactura que más afectan las características del queso terminado son composición y tratamiento térmico de la leche, bacterias ácido-lácticas utilizadas, tipo de coagulante, tasa y magnitud de acidificación de leche y cuajada, tamaño de partícula durante el corte, condiciones de agitación y calentamiento posterior al corte de la cuajada, pH de desuerado, condiciones de prensado y salado (Fox & McSweeney, 2017; Gutiérrez-Méndez, et al., 2013). El control apropiado de estos procesos es de gran importancia para asegurar que se expulse la cantidad de suero correcta de la cuajada y el queso alcance un contenido de humedad final deseable (30-80%) dependiendo de la variedad elaborada (Bintsis y Papademas, 2018).

Al concluir la elaboración, el producto final se denomina queso verde; en él, las caseínas de leche forman una matriz estructural proteica que contiene grasa y agua, las cuáles contribuyen a la textura del queso y en el caso particular de la grasa, al sabor; los minerales (FCC primordialmente) asociados con las caseínas son componentes que también afectan la textura, y la lactosa remanente, la cual es el sustrato esencial para la fermentación del producto generada por bacterias acidolácticas, las cuales poseen un gran relevancia para la elaboración de numerosas variedades de quesos madurados (Guinee & O'Brien, 2010). La porción de caseína se vincula con la fracción no soluble de minerales (FCC); el agua y los compuestos solubles como lactosa, proteínas de suero, algunos minerales hidrosolubles, citratos y componentes menores pertenecen al suero.

En el proceso de maduración los quesos presentan una serie de eventos bioquímicos sincronizados y balanceados, que resultan en un producto con aromas y sabores deseables, siendo tan únicos y especiales que los lotes de la misma variedad incluso no son idénticos. La maduración, a diferencia de la elaboración, es un proceso que puede prolongarse desde unos cuantos días hasta años; esta se lleva a cabo por microorganismos y enzimas, tanto nativos de leche como añadidos durante la producción de queso. Las condiciones que maduración dependen del tipo de queso a elaborar y de la naturaleza de la microbiota presente, ya sea nativa o añadida e incluyen la temperatura de almacenamiento, la presencia o ausencia de empaque y, si está presente, el tipo de este último, así como la humedad relativa. Dado que el queso al que se desea emular en este proyecto es uno fresco, únicamente se ahondará en las características y operaciones para la manufactura de quesos frescos coagulados por adición de cuajo.

1.1.5. Quesos frescos

En la antigüedad, se piensa que lo que hoy se conoce como queso fresco era un producto simple coagulado con cuajo, no cocinado, sin prensar o ligeramente prensado, salado en la superficie o en salmuera y elaborados con leche de oveja o de cabra, o mezclas de estas dos (Bintsis & Papademas, 2018). Actualmente, los quesos frescos son muy diversos, y comprenden desde variedades industrializadas bajas en proteínas como el queso crema, productos coagulados por ácido como el queso cottage y el ricotta hasta diversos tipos de quesos tipo *pasta filata* como el quesillo y el mozzarella. En Latinoamérica, los quesos frescos son productos populares, de elaboración simple y costo asequible; éstos se elaboran por coagulación enzimática de leche con cuajo, sin añadir cultivos iniciadores (como el queso panela) o por adición de ácidos orgánicos (como el queso blanco) y poseen una buena aceptabilidad por parte de la mayoría de los consumidores (Silva et al., 2015). Exhiben una textura suave, ligero sabor ácido y fresco, poseen un bajo contenido de grasa y alto contenido de humedad; además, debido a la ausencia de microorganismos iniciadores, los quesos frescos presentan valores de pH altos (más de 5.0), y se recomienda que se consuman poco después de la producción por razones de inocuidad. Los quesos frescos usualmente se elaboran sin conservadores, por lo que se requieren temperaturas de refrigeración para conservarlos (Coelho, et al., 2014).

1.1.5.1. Queso panela

Existe una variedad considerable de quesos locales en México, los cuáles involucran métodos rurales tradicionales en la manufactura; el consumo de quesos frescos representa el 80% del total de quesos consumidos en nuestro país. Entre los quesos más importantes se encuentra el panela, hecho a base de leche de vaca y consumido sin madurar; el queso panela es uno de los más populares en nuestro país y se caracteriza por ser fresco, de consistencia suave y cremosa, con una textura delicada, además de tener un sabor agradable a leche fresca y sal (Ochoa-Flores et al., 2021; Caro et al., 2014). Según la NMX-F-742-COFOCALEC-2010, el queso panela se elabora a partir de la cuajada que proviene de la leche entera, parcialmente descremada o descremada sometida a un tratamiento térmico que garantice su inocuidad, a la cual se le puede adicionar cloruro de calcio y cuajo. La cuajada obtenida es cortada, salada y moldeada. No puede contener grasa y proteínas de origen diferente al de la leche, almidones ni féculas, pero se le puede agregar leche en polvo a la leche fluida para estandarizar su contenido proteico. La cuajada se corta, se sala y se prensa (Salinas-Valdés et al., 2015).

El queso panela tiene un pH superior a 6 ya que no es fermentado, y como producto final contiene un alto porcentaje de agua (entre 50 y 60%), además, su rendimiento es relativamente bajo (~10%). Por sus características presenta una vida útil limitada, y es indispensable mantenerlo en refrigeración (Salinas-Valdés et al., 2015). Debe poseer al menos 18% de proteínas propias de la leche, 20% de grasa butírica y un máximo de 58% de humedad (COFOCALEC, 2010). Durante su producción, retiene suero, lo que le proporciona un alto nivel de humedad, que resulta clave para sus propiedades sensoriales como textura, sabor y olor. Sin embargo, al ser un producto metaestable, experimenta cambios notables con el tiempo (Ochoa-Flores et al., 2013). En la Tabla 1.6. se presenta el contenido promedio de macrocomponentes de marcas de queso panela expandidas en nuestro país (Laboratorio Profeco, 2021).

Tabla 1.6. Composición de principales componentes en quesos comercializados en México.

Humedad (%)	56.28 ±3.50
Grasa (%)	20.29 ±3.07
Proteína (%)	17.96 ±2.14
Carbohidratos (%)	2.38 ±0.73

1.1.5.2. Elementos distintivos para la elaboración de queso tipo Panela

1.1.5.2.1. Adición de cloruro de calcio

Debido a la importancia de Ca^{2+} en diversos aspectos de la manufactura y calidad de quesos, es una práctica común suplementar la leche bovina con CaCl_2 (Fox & Guinee, 2022; Panthi et al., 2017). Se agregan aproximadamente $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de calcio, que puede considerarse un incremento muy bajo en comparación con la concentración nativa de la leche de $1,200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La adición de calcio a la leche bovina es importante en la primera etapa de coagulación porque aumenta la concentración de calcio soluble, principalmente; lo que modifica el balance salino y promueve las interacciones electrostáticas. Esta práctica también causa la precipitación de FCC, que genera iones H^+ y, por consiguiente, una reducción de pH; lo que genera efectos positivos en la coagulación (Fox et al., 2017; McSweeney, 2007e) reflejándose como una reducción en el tiempo y aceleración en la formación de la cuajada (Harboe, et al., 2010).

Los iones de Ca^{2+} actúan como conductos entre diversas especies como los agregados de caseína y ésteres cargados negativamente, que son parte de los grupos fosfato; también están presentes en interacciones hidrofóbicas entre los grupos carboxilo de los aminoácidos residuales de proteína y las regiones no polares de las mismas. Un bajo contenido de calcio, entonces, puede afectar la estructura del queso debido a la reducción de los enlaces entre las caseínas, las cuáles constituyen el marco estructural esencial del producto (Guinee, 2022). Por otro lado, se ha mencionado que al incrementar excesivamente las concentraciones de Ca^{2+} en la leche puede aumentar la tasa de sinéresis, lo que es observado como un efecto negativo particularmente si el gel es mantenido por un largo período de tiempo antes del cortado (McSweeney, 2007c).

1.1.5.2.2. Pasteurización.

La leche para elaborar queso panela usualmente se pasteuriza mediante dos procesos diferentes: HTST (High Temperature Short Time) 72°C , 15 s o LTLT (Low Temperature Long Time) 63°C , 30 min. La pasteurización inactiva al microorganismo patógeno más termorresistente conocido en la leche (*Coxiella burnetii*) y, en consecuencia, al resto de patógenos detectados en el producto, incluyendo *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli O157 H7*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, entre otros (Bintsis y Papademas, 2018).

Es importante mencionar que un tratamiento más intenso de calor puede afectar negativamente a la coagulación de la leche debido a su efecto sobre la desnaturalización parcial de las proteínas de suero, en particular de βLG , que puede formar un complejo con κ -caseína, lo que reduce la tasa de sinéresis de la cuajada, causando un incremento de rendimiento (0.1% – 0.4%) debido a la incorporación de proteínas séricas que producen un aumento de humedad en el queso, por su naturaleza higroscópica; también puede presentarse un incremento en el tiempo de coagulación enzimática por impedimento estérico (Panthi et al., 2017). El aumento en el contenido de humedad puede comprometer la vida útil del producto por aumento en su actividad acuosa.

1.1.5.2.3. Manejo de cuajo

En quesos madurados, el cuajo se añade después de los cultivos iniciadores pues las enzimas funcionan más eficientemente a pH menor al nativo de leche; sin embargo, en quesos frescos esto no aplica y sólo es importante recordar que después de la adición de CaCl_2 también sucede una ligera disminución de pH. El coagulante se agrega después de un cierto periodo de reposo post pasteurización, para permitir que se restituya el equilibrio mineral de la leche por el calentamiento previo. Se recomienda diluir previamente al cuajo para mejorar su distribución en la leche; y que el agua esté fría, libre de cloro, y con pH neutro a ligeramente ácido. Si hay cloruro presente en el agua, o el pH es muy alto, la dilución debe hacerse casi inmediatamente a la adición, o incluso puede añadirse un pequeño volumen de leche a la dilución (Harboe et al., 2010).

1.1.5.2.4. Coagulación enzimática de quesos

La fase esencial en la manufactura de queso panela es la coagulación enzimática de caseína, que convierte la leche bovina líquida en un gel suave, usualmente llamado cuajada, para subsecuente expulsión de suero por distintos factores que inducen la sinéresis.

El proceso de coagulación enzimática originalmente se realizaba con enzimas proteolíticas (quimosina y pepsina) extraídas del cuarto compartimento del estómago de los rumiantes, las cuales, a partir del siglo XX se han extraído y vendido en forma de cuajo líquido o en polvo. En condiciones óptimas, (pH neutro, $T=36.5-37^\circ\text{C}$, aproximadamente) la quimosina rompe el enlace peptídico $\text{Phe}_{105}\text{-Met}_{106}$ de κ -caseína, el cual se encuentra en la periferia de la micela (McSweeney, 2007g); en consecuencia, su sección hidrofílica C-terminal, el caseinomacropéptido, es liberada al suero de la leche, y su sección hidrofóbica (para- κ -caseína) se queda en la cuajada (Uniacke-Lowe & Fox, 2017; Panthi et al., 2017). Debido a la pérdida de la repulsión de fuerzas, las micelas de caseína se agregan y comienzan a formar una red tridimensional que atrapa la grasa presente en la leche (Fox & McSweeney, 2017). La coagulación de leche y la fuerza del gel resultante dependen de la concentración de caseína (Uniacke-Lowe & Fox, 2017).

Hoy en día, el coagulante normalmente empleado para elaboración de queso panela es el cuajo de origen microbiano y compuesto de enzimas con actividad proteolítica similar a la quimosina u obtenidos por modificación genética de microorganismos para inducir la síntesis de quimosina bovina por fermentación (BFQ), aunque es más común el uso de las primeras; la BFQ posee una actividad proteolítica prácticamente idéntica al del cuajo natural, pero por su costo y porque el hecho de que no genera péptidos de sabores amargos, su uso se prefiere en quesos madurados.

Al añadir quimosina o una enzima proteolítica de actividad similar a la leche, no sucede nada aparentemente durante los primeros minutos; en esta fase de latencia dicha enzima hidroliza κ -caseína, cuya susceptibilidad de ser proteolizada disminuye al aumentar su nivel de glicosilación; entonces la agregación comienza cuando aproximadamente 85% de la κ -caseína ha sido hidrolizada y el potencial zeta de las micelas de caseína se reduce de -20 a -10 mV (Uniacke-Lowe & Fox, 2017). Más tarde, comienza una inestabilidad termodinámica en el sistema, que puede describirse como una atracción lo suficientemente fuerte entre las partículas como para provocar la formación de una fase condensada; así, con dicho nivel de atracción, las partículas comienzan a adherirse inicialmente de manera irregular, hasta que comienzan a formar flóculos tenues que originan colisiones generando una coagulación lenta que consiste en una red continua de hebras de micelas, en las que algunas son más densas o largas, alternadas por nudos de micelas con un espacio de aproximadamente $10\ \mu\text{m}$ de diámetro que se llenan con suero. Debido a que inicialmente, los espacios o poros entre dichas hebras y agregados son pequeños, usualmente se refiere a ellos como

coagulo fino. La red, además, se desarrolla alrededor de los glóbulos de grasa, los cuáles son enormes comparados con las micelas y agregados micelares. Conforme la coagulación continúa, las hebras comienzan a hacerse más grandes, interconectando más agregados, y los poros entre ellos comienzan a crecer; entonces son llamados *coagulo grueso*. Un coagulo fino es más suave que un coagulo grueso porque hay una menor interacción inter e intramicelar. Así, una estructura ramificada comienza a abarcar todo el sistema promoviendo que la cinética de agregación sea más rápida que la sedimentación de los agregados formados. Todo lo anterior se ha descrito a través de la teoría de agregación fractal; asumiéndose como una agregación *cluster-cluster*. (Fagan et al., 2017; Horne & Lucey, 2017). Así, la cuajada se convierte en una matriz tridimensional hidratada compuesta de una red de fosfato de calcio y caseínas; la cuál envuelve glóbulos de grasa, y atrapa suero (agua, ácidos, minerales, proteínas y enzimas) en sus poros, formando queso (Guinee, 2022).

Es importante mencionar que la concentración de cuajo no afecta por sí misma el grado de agregación, ya que este está determinado por la frecuencia y la fracción de colisiones que resulten en enlaces para formar agregados, llamado eficiencia de colisiones; esta eficiencia, por otro lado, sí depende de la cantidad de κ -caseína que ha sido hidrolizada; aun así, una alta concentración de cuajo puede provocar que la reacción suceda más rápido (Janhøj & Qvist, 2010); otro parámetro que afecta a dicho proceso es la temperatura de proceso, que preferiblemente debe estar en el rango de 30 a 35°C para obtener un control adecuado sobre la firmeza de la cuajada al momento del corte; de igual manera, el pH tiene un gran efecto en la coagulación y las propiedades de la cuajada. Una reducción en el pH acelerará la cantidad de κ -caseína hidrolizada y una subsecuente agregación de las micelas (Harboe et al., 2010).

1.1.5.2.5. Cortado, sinéresis y separación de la cuajada

La cuajada, está sujeta a diversas operaciones que promueven la sinéresis y una mayor concentración de caseína, grasa y componentes de fosfato de calcio micelar (Bintsis & Papademas, 2018). Los geles coagulados por cuajo son estables bajo condiciones de reposo por un largo tiempo (de hecho, los pasos siguientes se realizan después de 30 a 45 minutos), pero si se cortan, rompen o someten a presión la matriz de caseínas se reacomoda y se contrae debido a diversas interacciones proteína-proteína, expulsando la fase acuosa del gel. Este líquido expelido por la cuajada se conoce como suero, y contiene aproximadamente 50% de sólidos de la leche (98% de la lactosa, 25% de la proteína y 10% de la grasa). El grado y la cantidad de sinéresis está influenciada por la composición de la leche, especialmente concentraciones de Ca^{2+} y caseína, debido a que al aumentar su contenido se incrementa la tasa de sinéresis; además, al disminuir el contenido de grasa disminuye la tasa expulsión de suero. Adicionalmente, condiciones selectas de proceso como pH, agitación de la mezcla cuajada-suero y tiempo afectan la retención de humedad en el queso. Es importante la retención de agua en el producto final puesto que afecta el rendimiento, así como la textura, sabor y otras características relevantes de calidad (Fox & Guinee, 2022).

Durante el corte de la cuajada, las superficies del coágulo en la zona del corte comienzan a contraerse con rapidez y casi de inmediato comienzan a expulsar grandes cantidades de suero. En la superficie de corte, la grasa es muy grande para ser atrapada por la red de caseína y se pierde en el suero, entonces la cuajada desarrolla una capa densa de micelas de caseína debido a la pérdida de grasa y suero que se denomina *piel* y funciona como una membrana que regula la pérdida de suero durante las etapas subsecuentes de proceso. Para maximizar el rendimiento, controlar la firmeza de la cuajada en el cortado es uno de los parámetros clave para minimizar la pérdida de materia seca en el suero; por ello, la firmeza del gel en el cortado debe optimizarse. Una cuajada más firme de lo deseable al corte indica que la pérdida por sinéresis fue excesiva por contracción de la red proteica;

por el contrario, si el coágulo es demasiado suave al corte, la cuajada se esparce excesivamente y existen altas pérdidas de grasa y proteína en el suero; el cortar una cuajada blanda dará como resultado la salida de pequeñas partículas de cuajada denominadas *finos*, que, por su dimensión tan reducida, no pueden ser incorporadas a la masa de cuajada cuando el suero se separe, lo que representa una pérdida en el rendimiento quesero; esto puede ser producido debido a que las micelas de caseína todavía continúan agregándose o interactuando. Realizar el cortado cuando se llega a una firmeza adecuada en el gel generará partículas de un tamaño más uniforme, generando un queso con una composición y calidad más uniformes (Harboe et al., 2010).

El tamaño de las partículas de cuajada afecta el grado de sinéresis, pues mientras más pequeñas son, mayor es el área superficial disponible para la salida del suero, y menor la distancia que la humedad tiene que atravesar, aumentando la tasa de sinéresis. Otra consecuencia negativa es que los glóbulos de grasa pueden salir a través de las superficies cortadas, y, por tanto, puede incrementarse la pérdida de grasa. Por ello, se dice que para la manufactura de un queso de poca humedad el coágulo debe cortarse en piezas pequeñas, mientras que el gel para elaborar variedades con alto contenido de humedad debería cortarse en piezas grandes (Fox et al., 2017).

Tras el corte y la sinéresis, la cuajada podrá separarse del suero tras algunos tratamientos para manejar la cuajada (agitación en el suero, incremento de temperatura, sustitución parcial del suero por agua, etc.); en el queso panela, la cuajada se separa casi de inmediato o se agita en el suero por unos minutos para reforzar la estructura de la *piel*. La recuperación del coágulo se lleva a cabo con manta de cielo, que se emplea como herramienta de moldeo y de drenado de suero.

1.1.5.2.6. Salado

El cloruro de sodio (NaCl) se añade a todas las variedades de queso en algún punto de su fabricación, en una proporción de 0.3% a 10%. Puede agregarse por inmersión en salmuera, por frotado en la superficie o por incorporación directa en la cuajada una vez triturada, como es el caso del queso panela. El salado es un método clásico de conservación de alimentos, pues reduce la actividad de agua (a_w) del producto promoviendo la sinéresis de la cuajada y contribuyendo a la expulsión de suero, modulando el crecimiento y supervivencia de bacterias, la actividad de enzimas nativas de leche, del cuajo, o de bacterias y la capacidad de retención de agua de proteínas; asimismo, afecta positivamente el sabor del queso, enmascarando sabores no propios e inhibiendo sabores indeseables de origen microbiano y contribuye al consumo de sodio en la dieta. Por ello, su adición debe hacerse sin exceder los límites permisibles, tomando en cuenta el impacto que posee sobre las características sensoriales y nutrimentales del queso (Fox et al., 2017).

1.1.5.2.7. Prensado

Después del drenado, la agitación en seco puede ayudar a expeler el suero, aunque en menor medida; esta es una operación previa antes de prensar la cuajada; esta operación se aplica a para remover la humedad para consolidar la masa de queso, la cual es importante para su textura. En esta etapa las partículas de caseína se fusionan para formar una sola entidad más grande, y enseguida se aplica presión a la cuajada para liberar suero adicional. El prensado promueve una fusión completa de las partículas de cuajada, formando una masa cohesiva de partículas enlazadas, que incrementa el área de contacto entre las partículas de cuajada; el resultado es una textura más cerrada y una superficie con menos espacios libres. Por otro lado, si el grado de fusión es bajo, el queso se mostrará quebradizo debido a discontinuidades a nivel macroestructural, donde el área de contacto y la fusión es baja y puede haber burbujas de aire o fisuras. Algunas discontinuidades pueden comportarse como áreas débiles que contribuyen a la fragilidad y provocan fracturas a deformaciones de baja intensidad (Guinee, 2022). Algunas variedades comerciales de queso panela se prensan, mientras que los productos artesanales se moldean en canastos de formas características.

1.1.6. Productos análogos veganos y mixtos

1.1.6.1. Antecedentes y definiciones

El queso se considera un alimento emblemático por su valor nutrimental, practicidad y diversidad de funcionalidades, sabores y texturas; sin embargo, su consumo se ha tornado polémico en los últimos años debido a su alto contenido de grasa y colesterol (Mohd Shukri et al., 2022; Murtaza, 2022); además, es un producto costoso, lo que ha impulsado la necesidad de encontrar reemplazos que pueden actuar como sustitutos y proveer de las mismas características tecnológicas con atributos sensoriales similares (Kamath et al., 2022).

En la actualidad una tendencia de mercado se ha enfocado hacia la producción de *quesos análogos* o *imitaciones de queso* manufacturados a partir de ingredientes de origen vegetal. Esto ha resultado sorprendente, considerando que, en la década de los 2010s, este tipo de productos eran rechazados por un amplio sector de consumidores, por ser considerados menos nutritivos que los quesos; no obstante, esta actitud ha cambiado drásticamente durante los últimos años con el aumento en la proporción de consumidores que buscan alimentos de origen vegetal (Grossmann & McClements, 2021). Las razones para elegir este tipo de productos son diversas, estas pueden incluir intolerancias y alergias alimenticias, sustentabilidad ambiental, bienestar y consideraciones de salud, así como tendencias sociales; sin mencionar que la imitación de quesos puede comercializarse a un menor costo en comparación con quesos convencionales (Kamath et al., 2022).

En 2024, el pronóstico de la producción y consumo de quesos en México asciende a 474 mil ton y 645 mil ton, respectivamente, con un valor neto cercano a los 37 mil millones de pesos (Wedzerai, 2024; SIAP, 2023). Tomando en cuenta la contribución de este producto al mercado alimentario nacional y mundial, cualquier modificación en los criterios de consumo debe ser atendida puntualmente por la industria láctea. Por la naturaleza de este proyecto, resulta relevante definir con claridad las diferencias entre las diferentes denominaciones de quesos y sus productos análogos, lo cual se discute a continuación.

Según la Secretaría de Salud (1994) un *queso* se define como un producto elaborado con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca u otras especies animales, la cual puede ser drenada, prensada adicionada con fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles funcionales. En el proceso también puede involucrarse la adición de crema, cultivos lácteos, enzimas, ácidos orgánicos comestibles y otros tratamientos térmicos para dar lugar a diferentes variedades de queso. Un concepto relacionado es el de *queso natural*; estos productos se elaboran utilizando sólo ingredientes naturales incluyendo leche coagulada de alta calidad, la cual puede ser entera, descremada, parcialmente descremada o incluso crema; además de sal, cultivo iniciador y enzimas (cuajo) a través de un proceso de fermentación. Puede contener ingredientes preservantes, sustancias colorantes y saborizantes permitidos por la norma (Mohd Shukri et al., 2022). Los *quesos procesados* son productos lácteos que cumplen el concepto de quesos y se caracterizan por ser manufacturados con mezclas emulsificadas de estos productos incorporando sales fundentes y otros aditivos alimentarios e ingredientes opcionales (Secretaría de Salud, 1994). Los *quesos análogos*, también denominados sintéticos o sustitutos de queso (Mohd Shukri et al., 2022) son productos que incluyen en su formulación polisacáridos, aceites y grasas comestibles, proteínas lácteas y/o no lácteas (en variedades veganas) y otros ingredientes, además de agua; transformándose en una mezcla suave y homogénea con la aplicación de calor, cizallamiento mecánico y sales emulsificantes. El tofu, desarrollado en el s. XVI en China y comercialmente disponible como producto industrializado desde los 1970s se considera el primer queso análogo

(Kovačević et al., 2024); sin embargo estos productos obtuvieron relevancia en Estados Unidos en la misma década, ante la necesidad de ofertar sustitutos más económicos de queso para sectores industriales y de *food service*, en particular para emplearse en pizza congelada, como queso rebanado para hamburguesas y como ingrediente en ensaladas, aderezos, salsas y comidas instantáneas. Los principales ingredientes empleados en productos de imitación de quesos son muy extensos y varían notablemente por el tipo de queso que se desea emular y el mercado meta. Ejemplos de algunos de estos ingredientes con énfasis en los empleados en variedades veganas, se muestran en la Tabla 1.7 y se describen a profundidad en la siguiente sección.

Tabla 1.7. Principales ingredientes incluidos en los productos análogos de queso.

Producto por emular	Ingredientes
Parmesano	Almidones de arroz, nativo y modificado de papa, proteína de arroz
Queso ahumado	Aceite de coco, almidón de papa, almidón modificado de maíz, carragenina
Suizo	Aceite de coco, almidones de papa y tapioca, aislado de proteína de papa, goma konjac, harina de algas, goma xantano
Mozzarella	Tapioca, agar, nueces de la india
Queso crema	Frijol, goma arábica, konjac, jarabe de agave
Mozzarella	Aceite de coco, almidón nativo y modificado de papa, proteína de papa, goma xantana, celulosa
Queso suave	Aceites de coco y soya, almidones de tapioca y modificado de papa, carragenina, goma guar, almidón de maíz
Americano	Aceite de coco, almidón nativo y modificado de papa, almidón de maíz
Mozzarella	Frijol de soya, inulina, agar agar, proteína de soya
Cheddar	Garbanzo, frijol, proteína de haba, almidones de papa y tapioca, goma konjac, goma de algarrobo
Queso para hamburguesas	Aceite vegetal de maíz, de canola, de girasol, de coco, gluten, tapioca, almidón, goma xantana, aislado de proteína de chícharo, concentrado de proteína de soya

1.1.6.2. Ingredientes típicos en quesos análogos

Como se mencionó anteriormente, los sólidos empleados para formular quesos análogos incluyen a polisacáridos, una o más fuentes de proteínas y grasas y aceites comestibles. En cuanto a los polisacáridos, estos ingredientes comprenden gomas y almidones de distintas fuentes, tanto nativos como modificados (entrecruzados, acetilados, oxidados, etc). Los polisacáridos son comúnmente utilizados en productos análogos lácteos como agentes gelificantes y estabilizantes; en productos con bajo nivel de pH se emplean para incrementar la dureza, prevenir sinéresis, aumentar la FG, incrementar la CRA y mejorar la viscosidad del producto terminado. Pueden, también, mejorar la masticabilidad, cohesividad y dureza de quesos análogos y funcionar como aglutinantes no proteicos (Eghbaljoo et al., 2022).

Los almidones juegan el papel principal en la formulación de quesos análogos veganos, ya que ayudan a formar una pasta viscosa después de un calentamiento/ enfriamiento, la cual atrapa fluidos y otros ingredientes en una red tridimensional. Aunque, numerosas imitaciones de quesos en el mercado incluyen almidones nativos debido a su estructura compacta granular, estos ingredientes

poseen una baja termo-reversibilidad, es decir que su capacidad de cambiar de un estado termodinámico a otro es escasa y consecuentemente, las estructuras cristalinas de los almidones suelen ser modificadas a estructuras amorfas indeseables. Por lo tanto, con frecuencia los almidones nativos se sustituyen o se mezclan con sus contrapartes modificadas, obtenidas después de un proceso físico, enzimático o químico. Los beneficios de emplear almidón modificado en lugar de almidón nativo son notables, ya que ofrecen una baja viscosidad, previenen la granulación, poseen mejores propiedades vinculantes y una vida de anaquel prolongada. La elección del tipo de almidón depende de las propiedades que deseen lograrse en el producto terminado (Kovačević et al., 2024; Lyu et al., 2023).

La aplicación principal de las gomas es como estabilizantes, texturizadores, enlazantes entre agua y aceites, y mejorantes. Los más empleados son goma de algarrobo, guar, xantana, carragenina, karaya, pectinas, carboximetilcelulosa y alginato de sodio. Estos ingredientes pueden ser utilizados para imitaciones de queso empleando un máximo de concentración de 0.8% p/p. Su principal aplicación es incrementar las capacidades de retención de agua y gelificante; además de reducir la firmeza, e incrementar las propiedades de cocción (capacidad de fusión y fluidez) en productos bajos en grasa. Recientemente se ha investigado su funcionalidad como sustitutos de sales emulsificantes (Kovačević et al., 2024; Guinee, 2017).

Las imitaciones de queso usualmente contienen entre 23 y 28% de contenido de grasa, la cual posee un rol importante en el sabor, la textura y en algunos casos el perfil nutricional del producto final. Aceites de soya, coco, girasol, semilla de algodón, canola y palma, tanto hidrogenados como no hidrogenados pueden incluirse en la formulación (Kamath et al., 2022). Estos aceites poseen considerables cantidades de ácidos grasos insaturados, por lo que tienden a ser líquidos a temperatura ambiente, y no forman redes de grasa cristalizada (Kovačević et al., 2024).

Aunque la proteína de soya se ha empleado para elaboración de análogos durante siglos, en la actualidad la exploración de otras proteínas vegetales en la formulación de estos productos constituye un área de crecimiento importante; así se ha reportado la elaboración de cuajadas manufacturadas a partir de proteínas de chícharo, coco, cacahuete, frijoles, amaranto, quinoa, cáñamo y ajonjolí, entre otras (Batista-Silva et al., 2024; Fernández-López et al., 2024; Tunick, 2022; Sim et al., 2021). Dichas proteínas han sido probadas recientemente como una alternativa al uso de caseinatos en productos veganos, debido a su bajo costo y alta disponibilidad. Sin embargo, los geles formados resultan ser más suaves y menos elásticos, por lo que suelen emplearse para elaborar formulaciones de quesos untables (Mohd Shukri et al., 2022). Además, las proteínas de origen vegetal exhiben una solubilidad limitada y sabores intensos, por lo que se han buscado alternativas de preprocesamiento para hacerlas más aptas para incluirse como ingredientes en formulaciones de productos híbridos (Genet et al., 2023).

1.1.6.3. Ventajas y áreas de oportunidad en el desarrollo de quesos análogos

Existen diversas ventajas en la producción de quesos análogos, como un menor costo de ingredientes y de manufactura (menor capital para el equipo de elaboración y periodos de tiempos de maduración), la posible personalización de atributos sensoriales (particularmente en textura y sabor) y nutricionales, como alternativas bajas en sodio, bajas en grasa, enriquecidas con ácidos grasos insaturados, libres de colesterol y/o lactosa, adicionados con vitaminas y minerales, etc.). Además, como producto terminado poseen una alta estabilidad durante el almacenamiento en refrigeración debido a su textura y propiedades de cocción (Guinee, 2022; Kamath et al., 2022). Sin embargo, diseñar productos veganos que pueden imitar de forma precisa el rango completo de

atributos sensoriales y tecnológicos de un queso natural es extremadamente difícil debido a su complejidad composicional y estructural; se ha inferido, incluso, que este tipo de quesos poseen atributos de textura desde inaceptables hasta apenas satisfactorios, debido a que no simulan las características físicas sensoriales de un queso convencional de manera apropiada; adicionalmente, las proteínas vegetales pueden impartir sabores objetables a los productos a los que se incorporan. Además, los productores de estos alimentos han sido acusados de realizar publicidad engañosa, por ofertar productos de baja calidad diseñados para imitar a los de alta calidad (Kamath et al., 2022; Grossmann & McClements, 2021); aunque algunos investigadores están trabajando para mejorar sus atributos de textura empleando únicamente productos de origen vegetal exclusivamente, se está explorando la alternativa de formular productos híbridos, empleando ingredientes proteicos de origen animal y vegetal como una gama de productos de transición que permitan reducir el consumo de productos de origen animal, que se perciban como más amigables con el medio ambiente y que no prescindan completamente de las propiedades tecnológicas únicas otorgadas por las proteínas lácteas. Estos productos se abordarán en la siguiente sección.

1.1.6.4. Productos lácteos mixtos o híbridos

Hoy en día existe un incremento acelerado de la demanda de proteínas vegetales como un ingrediente alimenticio debido a su bajo costo, alto valor nutrimental y características tecnológico-funcionales (Mazinani et al., 2020). Sin embargo, existen algunas limitantes asociadas a su uso en formulaciones alimenticias, especialmente por su baja solubilidad en agua, además de algunos defectos en textura que pueden presentarse cuando se incluyen como única fuente proteica en alimentos; por ello recientemente se ha explorado el uso de proteínas vegetales para reemplazar parcialmente las proteínas de leche (caseínas y/o proteínas de suero) en productos lácteos (Curutchet et al., 2024), lo que representa una oportunidad para elaborar opciones más saludables, con propiedades sensoriales más factibles de ser aceptadas y más económicos, generando un menor daño al ambiente (Centeno-Rodriguez et al., 2020). Una de los productos percibidos como más promisorios es el de la categoría de los quesos híbridos, dada la dificultad de encontrar alternativas de proteínas de origen vegetal que cubran todo el rango de funcionalidades esperadas en los quesos convencionales (fundibilidad, formación de hebras, desarrollo de sabores y aromas, etc); los quesos híbridos representan un concepto totalmente distinto e innovador, sin un equivalente en el mercado actual, con propiedades únicas de textura y sabor; aunque no pueden ser llamados estrictamente quesos, éstos pueden constituir una alternativa de productos de transición hacia dietas percibidas como más sustentables (Alsaed et al., 2023; Genet et al., 2023).

La introducción de un polímero a una matriz láctea puede inducir cambios sensoriales y estructurales, pues se ha observado que pueden proporcionar una textura más suave, además de cambios en el sabor (Ouyang et al., 2022). En este sentido, Escobar et al., (2012) elaboraron un queso panela adicionado con almidón de haba, lo que resultó en un producto considerablemente más suave que el control y sensorialmente menos aceptable. En cuanto a las proteínas empleadas en la formulación de sistemas mixtos, evidencia reciente apunta a que existe una interacción insuficiente entre proteínas de distintos orígenes (animal y vegetal) y que esto representa un problema real para la formulación de productos híbridos. Salinas-Valdés et al., (2015) exploraron el uso de proteínas aisladas de cacahuete y soya mezcladas con leche para elaborar un alimento híbrido tipo queso panela, reportando incrementos en CRA, rendimiento y contenido de proteína en formulaciones selectas en comparación con el control, sin que se observaran cambios notables en sus características texturales. Sin embargo, para lograr esto, se requirió emplear procesos adicionales para incrementar

los entrecruzamientos entre proteínas de distintos orígenes o su interacción era limitada; para ello, usaron transglutaminasa, que formó enlaces peptídicos entre las proteínas utilizadas; en este mismo sentido, Silva et al. (2019) al trabajar con sistemas híbridos de proteína de chícharo con caseína micelar concentrada sometidos a coagulación térmica observaron que, a diferencia de la muy caracterizada interacción entre caseínas y proteínas de suero desnaturalizadas que ocurre en leche tratada térmicamente, no se presentaban entrecruzamientos entre caseína y proteínas de chícharo y éstas gelificaban de forma independiente, como lo proponen Ouyang et al. (2022) (ver Figura 1.2).

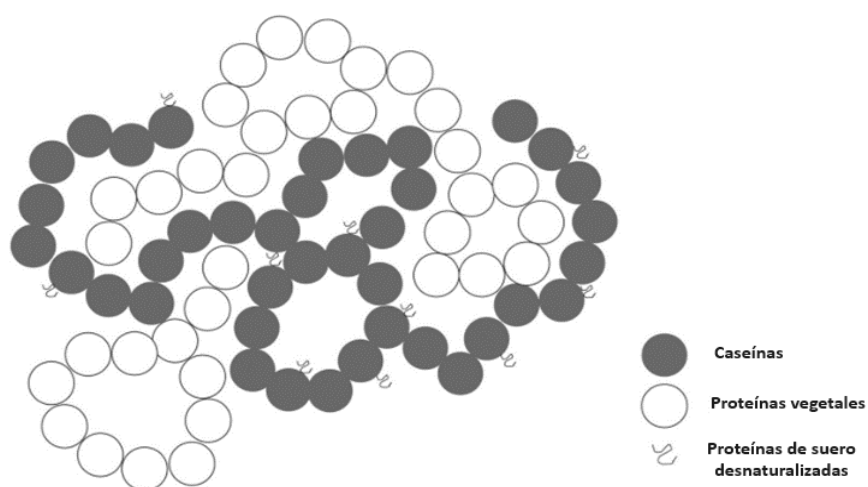


Figura 1.2. Posible estructura de gel termoformado en sistemas mixtos de proteína vegetal y proteínas lácteas

Entre las proteínas vegetales, la de soya ha sido la más explorada por su alto contenido de proteína de alta calidad, buena estabilidad, propiedades emulsificantes y gelificantes; a pesar de ello, es un alérgeno potencial; en consecuencia, los consumidores demandan nuevas alternativas de proteínas alternativas; así, ha habido un incremento en la exploración del uso de proteínas vegetales diferentes, destacando el uso de proteína de chícharo (Galani et al., 2023; Ouyang et al., 2022; Kristensen et al., 2021). Esta proteína se considera promisoría por diversas razones; su cultivo es económico y es resistente a enfermedades que aquejan a otros productos agrícolas (Sulima & Zhukov, 2022), por lo que puede garantizar un abasto adecuado; además, posee propiedades tecnológico-funcionales sobresalientes, un buen perfil nutricional y, tomando en cuenta a consumidores que buscan productos percibidos como *naturales*, no es un alimento genéticamente modificado (Lam et al., 2018; Stone et al., 2015). Sin embargo, hay áreas de oportunidad en el uso de esta proteína; se ha reportado que productos formulados con ella pueden exhibir sabores a frijol o a pasto debido a la oxidación de los ácidos grasos insaturados durante el proceso de manufactura y almacenamiento, ocasionando la disminución gradual del nivel de aceptabilidad sensorial; además, su solubilidad es limitada y frecuentemente requiere de pretratamientos para mejorarla. Es evidente entonces que aún hay mucho para explorar sobre el comportamiento de la proteína de chícharo en sistemas alimenticios (Ouyang et al., 2022), por ello, se seleccionó para formular el producto híbrido de este proyecto. Las características relevantes de esta legumbre se abordan en el siguiente capítulo.

1.2. Chícharo

1.2.1. Origen botánico y características del cultivo de chícharo

Las legumbres en la familia Fabaceae son el segundo cultivo más importante después de los cereales; entre ellos, los chícharos (*Pisum sativum* L. *ssp. sativum*) representan solo una pequeña fracción que abarca 650 géneros y cerca de 19,000 especies; Fabaceae se divide en tres subfamilias: Caesalpinioideae, Mimosoideae y Papilionoideae (o Faboideae), este último es el grupo más grande de legumbres y poseen la habilidad de fijar el nitrógeno atmosférico (Faligowska, et al., 2022), por lo que se emplean en zonas donde los nutrientes del suelo son bajos y como cultivo rotacional con cereales y semillas oleaginosas. La taxonomía del chícharo se muestra en la Figura 1.3 (Biddle, 2017).

El chícharo común (*P. sativum*) es la semilla de la planta trepadora del mismo nombre, que incluye a variedades como jardín, de campo, de primavera, inglés, liso, amarillo, y verde. Uno de los alimentos domesticados más antiguos, es un cultivo de temporada fría, primordialmente producido por su aporte proteico y de vitaminas y minerales. Algunas variedades son cosechadas frescas, con sus semillas y vainas inmaduras (72–80% humedad) para enlatarse y congelarse, mientras que otras se cosechan secas (10-15% humedad) para almacenarse. Los principales productores de chícharos son Canadá, Rusia y EE. UU.; en México se cultiva en 19 estados, destacando el Estado de México y Puebla. Se destaca por su gran adaptabilidad para crecer en ecosistemas diversos, desde semi desiertos hasta bosques lluviosos, tolerando temperaturas de hasta -32°C, aunque las condiciones ambientales pueden incidir sobre su composición nutrimental. Las plantas de chícharo prefieren ambientes iluminados, suelos fértiles, drenados, y ricos en humus; con suelos ricos en micronutrientes (K, P, Mg); el cultivo de chícharos para alimentación humana y animal tiene como principal objetivo la obtención de altos rendimientos, una maduración rápida y resistencia a enfermedades (Lu et al., 2020; Tulbek et al., 2016). En la Figura 1.4 se muestra una planta típica de chícharo, sus flores y semillas frescas.

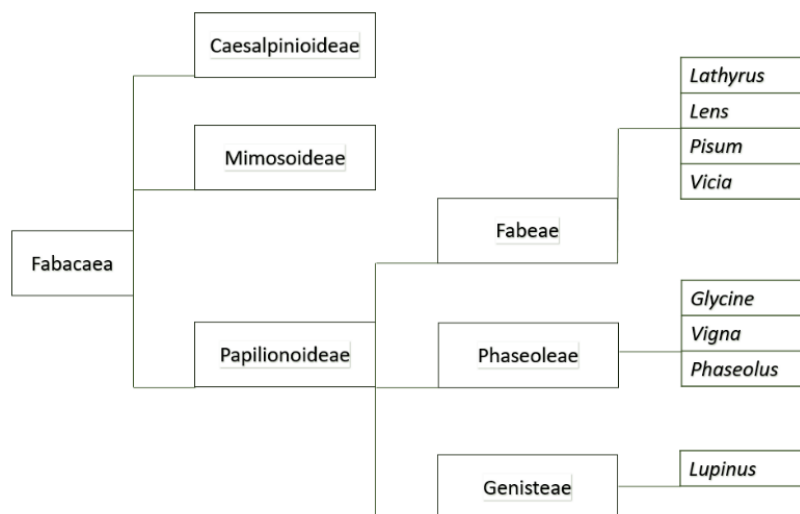


Figura 1.3. Cuadro taxonómico de *Pisum sativum*.



Figura 1.4. Chicharro (*Pisum sativum*).

A. Planta. (Plascencia-Díaz, s.f.) B. Flores (Zafeiriou, s.f.) C. Semillas frescas (Montes-Hernández, s.f.)

1.2.2. Composición de semillas de chicharro

El chicharro es conocido en todo el mundo como una fuente principal de componentes nutricionales que incluyen proteína, fibra dietética, ácidos grasos, elementos traza y fenólicos; estos pueden ser fraccionados y utilizados como ingredientes en productos alimenticios enriquecidos en proteína, almidón, fibra, etc., siendo así, han recibido gran atención en los últimos años (Chen et al., 2023; Lu et al., 2020); aunque, una desventaja que ha sido señalada en diversas investigaciones es que las semillas de chicharro contienen variaciones importantes en su composición química, la cual está condicionada por factores ambientales, genotipo y regiones en las que crecen (Tulbek et al., 2016); esto puede ser una limitante importante para su aplicabilidad industrial. En general, el chicharro es rico en proteínas, fibra dietética, carbohidratos, bajo en grasas y contiene un número importante de vitaminas y minerales (Lam et al., 2018). En la Tabla 1.8 se presenta la composición porcentual en base seca de semillas de chicharro y los principales componentes asociados con cada una de estas fracciones. Asimismo, a continuación, se discutirán aspectos relevantes de cada fracción.

Tabla 1.8. Composición de semillas de chicharro y componentes relevantes por fracción.

Porcentaje	60-65%	18-30%	17-27%	2-10%	1.2-1.8%	1.61%	-
Fracciones	Carbohidratos	Proteínas	Fibra dietética	Almidón resistente	Grasas	Minerales	Vitaminas
Componentes	Almidón (ARD y ALD)	Albuminas			Ácido oleico	Potasio	Del grupo B
	Verbascosa	Globulinas				Fósforo	
	Estaquiosa	Prolaminas			Ácido linoleico	Magnesio	
	Rafinosa	Glutelinas				Calcio	
	Sacarosa	Residuos proteicos					

Obtenida de Shanthakumar et al, 2022; Tulbek et al, 2016.

1.2.2.1. Carbohidratos

Los carbohidratos se encuentran naturalmente en el reino vegetal en diversas categorías de alimentos que incluyen frutas, vegetales y granos, por lo que son los compuestos más abundantes en la naturaleza y también los que más consume el ser humano, ya que nutricionalmente son su principal fuente de energía (Nasir et al., 2022). En el chícharo, los carbohidratos son principalmente oligosacáridos, almidón y algunos polisacáridos no almidonados, con cantidades más pequeñas de monosacáridos y disacáridos (Tulbek et al., 2016). Entre los monosacáridos, los más comunes son glucosa, galactosa y arabinosa, todos derivados del almidón; así como cantidades reducidas de xilosa, fructosa, ramnosa y ácido urónico, que son derivados de polisacáridos pécticos, mientras que el disacárido principal es la sacarosa (Kumari & Deka, 2021). De los oligosacáridos, están presentes aquellos de la *familia rafinosa* (RFOs) o α -galactósidos, que incluyen por orden abundancia a estaquiosa, verbascosa y rafinosa (Kumari & Deka, 2021), creados por una reacción en cadena de galactosa. En las leguminosas, los RFOs inciden sobre la tolerancia al estrés por factores bióticos y abióticos, la germinación de semillas, la tolerancia a la deshidratación y en el vigor de las semillas, entre otras funciones (Salvi et al., 2022; Martínez-Villaluenga et al., 2008). El contenido de oligosacáridos puede estar relacionado con ciertas características físicas del chícharo, como el tamaño o el color del recubrimiento de la semilla. Se ha reportado que los α -galactósidos funcionan como probióticos (Parihar et al., 2021), compuestos no digeribles beneficiosos que modulan el crecimiento y actividad de bacterias probióticas en el colon (Martínez-Villaluenga et al., 2008).

El almidón es el principal carbohidrato del chícharo; su contenido varía de 27 a 56% en base seca, y en promedio, contiene 46%, aunque su proporción, al igual que con otros compuestos del chícharo cambia con la variedad, condiciones de crecimiento, madurez y por posibles mutaciones (Parihar et al., 2021). El almidón de chícharo posee una proporción ligeramente mayor de amilopectina y una menor de amilosa (24-49%) (Farshi et al., 2024), aunque en comparación con otras fuentes vegetales, la proporción de esta última es relativamente alta. Las proporciones de amilosa y amilopectina en el almidón no solo influyen en su digestibilidad (la amilosa es más resistente a la digestión enzimática), sino que también repercuten de manera importante en sus propiedades fisicoquímicas, aunque no es la única determinante, debido a que, la forma, el tamaño y la distribución de tamaños de los gránulos afecta propiedades tecnológico – funcionales, como la viscosidad; se han observado ciertas irregularidades en cuanto a la forma y tamaño de los gránulos de almidón de chícharo (Wu et al., 2023).

1.2.2.2. Grasa

En cuanto al contenido de grasa, los chícharos exhiben un contenido bajo, en el rango de 0.8 a 6.1%. El balance entre ácidos grasos saturados e insaturados favorece a estos últimos, representando del 42 al 61% del total; se ha reportado que hasta cerca de la mitad de los ácidos grasos presentes en el chícharo pueden corresponder al linoleico (35-48%) y, en menor proporción al linolénico (7-13%), aunque el ácido palmítico es el mayoritario de los saturados y se encuentra presente en cantidades importantes (~12-20%) (Wu et al., 2023); otros reportes indican cantidades apreciables de ácido oleico. Aun cuando se encuentran en cantidades reducidas, la presencia de ácidos grasos poliinsaturados como el linoleico y el linolénico y sus productos de degradación se ha visto recientemente asociada al desarrollo de sabores amargos en proteínas aisladas de chícharo, lo que puede convertirse en un factor limitante que puede comprometer el uso industrial de estos productos (Gläser et al., 2021).

1.2.2.3. Fibra dietética

El término fibra designa a un grupo muy amplio de polisacáridos estructurales que no son aprovechados metabólicamente por los animales monogástricos como el ser humano, pues son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con una fermentación completa o parcial en el intestino grueso (Badui-Dergal, 2013). En el chícharo, la fibra dietética está presente en una proporción de 17 a 27% dependiendo del tipo de cultivo, ambiente y la región (Tulbek et al., 2017) y surge de la testa (fibra exterior), comúnmente conocida como cáscara, y del cotiledón (fibra interna). La cáscara contiene altas cantidades de polisacáridos hidrosolubles, especialmente celulosa, mientras que la fibra interior contiene polisacáridos con distintos grados de solubilización, incluyendo celulosas, hemicelulosas y pectinas (Parihar et al., 2021).

Una fracción del almidón presente en el chícharo puede funcionar como fibra dietética. De acuerdo con el grado de susceptibilidad a la hidrólisis enzimática, el almidón puede ser rápidamente digerible (ARD), lentamente digerible (ALD) y resistente (AR) (Kumari & Deka, 2021). AR se define como el almidón y sus productos de degradación no absorbidos en el intestino delgado, que continua su tránsito al intestino grueso, donde es fermentado por la microbiota presente (Magallanes-Cruz et al., 2017). Los almidones con razones más altas de amilosa: amilopectina, como el de chícharo, tienden a formar más AR por la estructura más compacta y menos susceptible a la hidrólisis enzimática de la amilosa, que también tiene una mayor tendencia a la retrogradación (Villarroel Heise et al., 2018). Las semillas de chícharo contienen de 2-10% de AR dependiendo del procesamiento, cultivo y región en donde se coseche. Esta cantidad, en comparación con el trigo y otros cereales, resulta ser alta (Tulbek et al., 2017).

1.2.2.4. Vitaminas y Minerales

Los chícharos son una excelente fuente de micronutrientes como hierro (Fe), zinc (Zn), calcio (Ca), fósforo (P) y magnesio (Mg); y es naturalmente bajo en ácido fítico o fitato, aunque se han encontrado variaciones significativas en el perfil de minerales con el genotipo. En general, el mineral más abundante en chícharo es el potasio (K), seguido de P, Mg y Ca, respectivamente. El chícharo, además, es una excelente fuente de selenio (Se), molibdeno (Mo), manganeso (Mn), cobre (Cu) y boro (B) (Shanthakumar et al., 2022; Parihar et al., 2021). Tanto Ca como Zn destacan por su alta biodisponibilidad en el chícharo (Nasir et al., 2022). El chícharo es una fuente notable de diversas vitaminas, como tiamina y folato, y también contiene vitamina C, piridoxina, niacina y riboflavina.

1.2.2.5. Componentes bioactivos, antinutrientes y compuestos de sabor

Los compuestos bioactivos presentes en alimentos de origen vegetal, aunque se encuentran en pequeñas cantidades, son cruciales para la salud. Las leguminosas son ricas en componentes como isoflavonas, péptidos bioactivos, saponinas, clorofila, polifenoles y galactósidos. Este tipo de componentes generalmente exhibe efectos que promueven la buena salud, con beneficios específicos que varían de acuerdo con el tipo de componente (Shea et al., 2024, Boukid et al., 2021, Parihar et al., 2021). A los compuestos bioactivos en el chícharo se le atribuyen propiedades antimicrobianas, inmunomoduladoras, antioxidantes, antidiabéticas, antiinflamatorias y anticancerígenas; también ayudan a reducir la hipertensión, niveles de colesterol y algunas otras enfermedades crónicas (Shea et al., 2024).

Al contrario, algunas leguminosas pueden contener sustancias que afectan la salud humana, incluyendo inhibidores de amilasa, ácido fítico, lectinas, taninos, oxalatos y saponinas. Dichas sustancias se consideran factores antinutricionales, que reducen la digestibilidad y biodisponibilidad

de diversos nutrientes, como proteínas y polisacáridos (Boukid et al., 2021), además de que pueden disminuir los beneficios a la salud generados por la presencia de bioactivos (Tulbek et al., 2016). Se ha reportado que, en comparación con otras leguminosas, las semillas de chícharo poseen un menor contenido de ácido fítico, inhibidores de tripsina, saponinas y estaquiosa (Shea et al., 2024). Otras sustancias objetables incluyen a componentes que pueden limitar el consumo de leguminosas, por generar defectos de sabor. Así, la presencia de notas terrosos y a frijol en leguminosas se relacionan con la presencia de aldehídos, cetonas, furanos, pirazinas y alcoholes en los chícharos. Estos componentes tienden a enlazarse con proteínas, por lo que pueden percibirse con sabores a pasto, heno o tierra; lo que puede llevar a que algunos usuarios eviten su consumo (Boukid et al., 2021). Asimismo, la presencia de galactósidos en las semillas de leguminosas limita su consumo, pues estas sustancias son digeridas por la microbiota bacteriana del colon, generando gases que provocan flatulencias y malestar intestinal (Parihar et al., 2021). En ese sentido, diferentes investigadores han sugerido modificar la estructura de las proteínas y componentes en general a través de fermentaciones, procesos enzimáticos, químicos y térmicos para cambiar la percepción sensorial, disminuir la cantidad de antinutrientes, mejorar las propiedades tecnológico–funcionales o reducir el impacto de compuestos sensorialmente objetables (Boukid et al., 2021).

1.2.2.6. Proteínas de chícharo

En los sistemas alimenticios, las proteínas cumplen funciones nutrimentales (como fuente de aminoácidos y de energía), estructurales (contribuyendo en gran medida a la definición de textura o comportamiento reológico de los productos), tecnológico-funcionales (por su capacidades espumante, gelificante, emulsificante, de capacidad de retención de agua y aceite, etc.) catalíticas (porque algunas poseen actividad enzimática) y sensoriales (por su efecto sobre la textura y consistencia y por participar en reacciones químicas que contribuyen al desarrollo de aroma y *flavor* característicos de los alimentos, como Maillard) (Sim et al., 2021; Gálvez-Mariscal et al., 2013), por lo tanto, son uno de los componentes más importantes de los alimentos.

La proteína de chícharo, en general, ha ganado un gran interés en la industria de alimentos; es un tipo de proteína vegetal relativamente nuevo y cada vez se vuelve más popular a nivel global, debido a su baja alergenicidad, alto valor nutricional, disponibilidad y bajo costo (Lu et al., 2020; Lam et al., 2018), además, son consideradas proteínas de alta calidad ya que son una fuente rica de aminoácidos esenciales, incluyendo arginina, fenilalanina, leucina, isoleucina y lisina, que es usualmente bajo en cereales; sin embargo, son deficientes en aminoácidos sulfurados, como metionina y cisteína; por consiguiente, los chícharos pueden consumirse en combinación con otros cereales (Boukid et al., 2021; Tulbek et al., 2016). Adicionalmente, las proteínas de chícharo aportan beneficios adicionales a la salud debido a su capacidad antioxidante, antidiabética, antihipertensiva, antiinflamatoria, de modulación de la composición de microbiota intestinal y disminución del colesterol; además, ayudan a atenuar la absorción de glucosa y afectan la liberación de hormonas reguladoras de apetito (Wu et al., 2023). Dependiendo de la variedad, madurez y condiciones de crecimiento, los chícharos pueden presentar diferencias en contenido proteico, el cual puede alcanzar hasta 30 g/100g de producto; por ejemplo, se han asociado altas temperaturas ambientales y bajos niveles de precipitación pluvial con mayores contenido de proteína (Burger & Zhang, 2019).

Las proteínas presentes en tejidos de origen vegetal generalmente son estructuras simples, usualmente asociadas con proteínas de almacenamiento en semillas; éstas se pueden clasificar en cuatro grandes grupos, diferenciados entre sí por su solubilidad (ver Tabla 1.9) en albuminas, globulinas, prolaminas y glutelinas. Estas proteínas se estructuran a partir de cadenas polipeptídicas

plegadas densamente debido a interacciones débiles como puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals interacciones hidrofóbicas y enlaces disulfuro. La solubilidad de estas proteínas se ve afectada por varios factores, como diferencias en peso molecular, flexibilidad molecular, presencia de subunidades hidrofóbicas, ácidas y alcalinas en la superficie de la proteína, así como por asociación y disociación de subunidades (Nasir et al., 2022; Sim et al., 2021). En chícharo existen seis tipos mayoritarios de proteínas; tres de ellas son globulinas, que corresponden al 65-80% del total de proteínas, seguidas de albúminas, que representan del 10 al 20% del total e incluyen a enzimas, proteínas metabólicas y algunas proteínas de defensa. En aplicaciones alimentarias, como bebidas, salsas y postres, estas fracciones son importantes por su contribución a la funcionalidad proteica, pues son capaces de formar geles suaves, que pueden servir para la elaboración de productos análogos de lácteos incluyendo fermentados, coagulados y fluidos (Shanthakumar et al., 2022; Sim et al., 2021). En La Tabla 1.9 se enumeran los principales tipos de proteína presentes en el chícharo y sus características más relevantes, mismas que se explican a detalle a continuación.

Tabla 1.9. Características principales de las diferentes proteínas en chícharo.

Tipo	Proteínas	Contenido [%]	Solubilidad en:	Masa molar [kDa]	Características
Globulinas	Legumina	65-80	Soluciones salinas	320-410	Subunidades α - y β - unidas por enlaces disulfuro
	Vicilina			150	No presenta enlaces covalentes en sus subunidades ni glicosilación
	Convicilina			180-210	80% de aminoácidos homólogos con 7S
Albuminas	Albúmina	18-25	Agua	5-80	Alta en cisteína
Prolaminas	Prolamina	4-5	Soluciones alcohólicas	-ND	Alta en glutamina y prolina
Glutelinas	Glutelina	3-4	Soluciones alcalinas	-ND	Rica en aminoácidos hidrofóbicos

Tomada de Asen et al., 2023; Shantakumar et al. (2022). ND: No disponible

1.2.3. Clasificación de proteínas de chícharo

1.2.3.1. Globulinas

Las globulinas son las principales proteínas de reserva de los chícharos, estas pueden degradarse durante la germinación de las semillas, proporcionando nutrientes para el crecimiento de la planta; poseen un gran contenido de lisina y son solubles en soluciones salinas. Las globulinas pueden disociarse en pequeñas unidades a pH extremos y por fuerza iónica. En general, los diferentes componentes de globulina proporcionan a la proteína propiedades funcionales únicas. Basado en sus coeficientes de sedimentación (expresado en svedbergs), las principales globulinas son legumina (11S) y vicilina (7S) (Parihar et al., 2021). La proporción de legumina a vicilina es de 2:1, aunque el contenido de esta última puede ser mayor aumentar con el genotipo, condiciones de crecimiento, etc. (Wu et al., 2023; Daba & Morris, 2022). Las globulinas pueden formar películas interfaciales fuertes debido al desdoblamiento e interacciones entre subunidades más grandes. Sus características emulsificantes y espumantes pueden variar con la fracción de globulina empleada. En general, estas

proteínas pueden ser utilizadas como agentes gelificantes porque se desdobl原因 al calentarse, exponiendo grupos no polares y sulfhidrilo en fase acuosa, causando agregación vía hidrofóbica y formación de enlaces disulfuro, se ha explorado aplicar pretratamientos físicos, químicos o enzimáticos para modificarlas y modular sus propiedades tecnológicas (Sim et al., 2021).

La legumina es una proteína que se desarrolla tardíamente en las semillas; un aumento en el contenido de proteína en chícharo usualmente se asocia a un incremento en su concentración (Daba & Morris, 2022). Es una proteína hexamérica con estructura cuaternaria compacta, estabilizada por interacciones electrostáticas, hidrofóbicas y enlaces disulfuro; posee una masa molecular de 300 a 400 kDa, con presencia de aminoácidos sulfurados. Contiene seis subunidades unidas por interacciones no covalentes, cada una de ellas con dos tipos de polipéptidos, uno ácido y uno alcalino, que se mantienen unidos por un enlace disulfuro. La parte hidrofílica α -hélice, rica en ácido glutámico y leucina, se encuentra en la superficie de la molécula, mientras que la β -laminar, que contiene más alanina, valina, leucina y glicina, está inmersa en el interior para minimizar el contacto con el agua (Shanthakumar et al., 2022). La legumina posee buenas capacidades espumante y emulsificante (Daba & Morris, 2022), aunque puede sufrir disociación, desdoblamiento y reagregación a fuerzas iónicas y condiciones de calentamiento adecuadas, lo que mejora su solubilidad y capacidades de gelación, emulsificación y espumado (Sim et al., 2021).

La vicilina es un agregado trimérico escasamente glicosilado con un peso molecular de 150-200 kDa (Burger & Zhang, 2019), conformado por una combinación de polipéptidos heterogéneos con una superficie hidrofílica (Lu et al., 2020); se produce en una etapa temprana del desarrollo del chícharo y algunas variedades de chícharo la tienen en mayor proporción que la legumina (Daba & Morris, 2022). Contiene altos niveles de arginina, lisina y ácidos aspártico y glutámico, aunque bajos niveles de triptófano y sin residuos de cisteína o de metionina, por lo que carece de enlaces disulfuro (Lam et al., 2021). Es capaz de producir espumas estables y emulsiones, además exhibe una buena capacidad de gelación inducida por calor; de manera similar a la legumina, condiciones de proceso adecuadas, como fuerza iónica y temperaturas de calentamiento mejorar otras propiedades funcionales como solubilidad y gelación (Sim et al., 2021).

La convicilina es la tercera proteína de almacenamiento del chícharo; con una masa molecular de 70 kDa, usualmente forma trímeros consigo misma o con vicilinas. Presenta una importante homología de secuencia con vicilina (80%), aunque su perfil incluye a aminoácidos sulfurados (Shanthakumar et al., 2022; Lam et al., 2021).

1.2.3.2. Albúmina

Las albúminas son proteínas hidrosolubles que incluyen diversas proteínas esenciales en el metabolismo celular. Son proteínas metabólicas y enzimáticas, que muestran funciones relacionadas al citosol de las células, y juegan un rol funcional en el crecimiento y germinación de las semillas. Generalmente se presentan en etapas tardías del desarrollo de las semillas (Daba & Morris, 2022; Lu et al., 2020). Su coeficiente de sedimentación es de 2S, y se distribuyen en dicotiledóneas (Parihar et al., 2022). Puede llegar a tener niveles excepcionales de cisteína, dependiendo de su secuenciación genética (Shanthakumar et al., 2022; Burger & Zhang, 2019). Las albuminas de chícharo poseen poca flexibilidad molecular e hidrofobicidad, por lo que requieren de pretratamientos para aprovechar su funcionalidad (Sim et al., 2021).

1.2.3.3. Prolaminas y gluteninas

Las prolaminas son otras proteínas de almacenamiento que se presentan en pequeñas cantidades en semillas de chícharo; poseen altos contenidos de glutamina y prolina; son solubles en soluciones alcohólicas (70–80%), ácidos ligeros y soluciones alcalinas. Esta proteína no coagula por calentamiento (Lu et al., 2020). Las prolaminas poseen fracciones de alto peso molecular y baja solubilidad en agua a pH neutro, lo que puede afectar su capacidad espumante y emulsificante.

La glutenina es rica en aminoácidos hidrofóbicos como fenilalanina, valina, tirosina y prolina. En general, posee un perfil de aminoácidos balanceado, y con alto contenido de lisina, aunque es relativamente baja en aminoácidos sulfurados. La glutenina es soluble en ácidos diluidos o bases, agentes caotrópicos o reductores y surfactantes, es rico en aminoácidos hidrofóbicos como fenilalanina, valina, tirosina y prolina (Shanthakumar et al., 2022; Lu et al., 2020). En cuanto a sus propiedades tecnológico–funcionales, las gluteninas poseen un comportamiento similar al de las prolaminas (Sim et al., 2021).

1.2.4. Propiedades tecnológico–funcionales de proteínas de chícharo

Como ingredientes de productos alimenticios, las proteínas contribuyen a definir su estructura y propiedades tecnológico–funcionales. Su uso como ingredientes requiere del conocimiento detallado de su comportamiento químico para optimizar sus procesos de extracción, modificación, procesamiento y almacenamiento (Galvéz-Mariscal et al., 2013).

Aunque la mayoría de los aislados de proteína de leguminosas ricos en globulinas contienen sub-fracciones (como legumina, vicilina y convicilina en chícharo) cada una de ellas posee propiedades tecnológicas distintas, lo cual puede afectar su comportamiento global como ingrediente (Sim et al., 2021). Por tanto, para usar la proteína de chícharo de manera eficiente en aplicaciones alimentarias, con frecuencia es necesario darle algún tipo de pretratamiento para mejorar sus propiedades de superficie, digestibilidad, atributos de sabor, entre otras propiedades fisicoquímicas. Estos métodos pueden ser clasificados como químicos (glicosilación, conjugación y fosforilación), físicos (térmicos, microfluidización, sonicación, homogeneización a alta presión, plasma frío atmosférico, cavitación hidrodinámica) y biológicos (hidrólisis enzimática, fermentación, germinación (Asen et al., 2023). A continuación, se explicarán las propiedades tecnológicas de la proteína de chícharo más importantes para este proyecto.

1.2.4.1. Solubilidad

La solubilidad es un atributo importante de los aislados proteicos dado que es un requisito para que se presenten otras propiedades funcionales como emulsificación, espumado, espesado y propiedades gelificación en un amplio rango de aplicaciones (Daba & Morris, 2022; Stone et al., 2015). La solubilidad de una proteína está relacionada con su estructura (carga, hidrofobicidad y punto isoeléctrico) y condiciones de hidratación (pH, temperatura y tipo y concentración de sales en el solvente). La proteína de chícharo exhibe un comportamiento de solubilidad de curva “tipo U” muy dependiente del pH, aunque a condiciones ácidas es deficiente (Wu et al., 2023), en particular en su punto isoeléctrico (pI, entre 4-5), donde la proteína no presenta una carga superficial, lo que da como resultado una solubilidad mínima, debido a que las proteínas adyacentes tienden a agruparse en estructuras más grandes, provocando su sedimentación. En contraste, en una solución a pH lejos del valor de pI, la proteína exhibe una carga de superficie positiva (pH<pI) o negativa (pH>pI) y muestra una solubilidad máxima. La solubilidad de aislados proteicos comerciales de chícharo no difiere significativamente de los obtenidos en laboratorio (Daba & Morris, 2022).

1.2.4.2. Capacidad de Retención de Agua (CRA)

El agua es un componente vital en los alimentos y altera las propiedades fisicoquímicas de las proteínas. Varias propiedades funcionales de los alimentos dependen de las interacciones entre proteínas y agua. Debido a que un amplio grupo de productos alimenticios contienen más de 50% agua, una baja CRA puede ocasionar pérdida de humedad durante el procesamiento y a alterar la textura del producto. La asociación entre agua y proteína puede ser afectada por la estructura de la matriz proteica, especialmente el tamaño de poro (Tulbek et al., 2016; Gálvez–Mariscal et al., 2023).

La CRA de proteínas se mide en g agua/ g proteína cuando una proteína en polvo se equilibra con vapor de agua e indicar la cantidad de ésta que se necesita para retener agua en contra de la gravedad. La CRA ocurre a través de una combinación de interacciones ion-dipolo, dipolo-dipolo y dipolo-dipolo inducido, además de interacciones hidrofóbicas; por lo tanto, la composición de aminoácidos de las proteínas es determinante para la CRA, debido a que las moléculas de agua se enlazan con grupos peptídicos, grupos cargados, amida, hidroxilo y residuos no polares. Para proteína de chícharo se han reportado valores de CRA de $\sim 4.0 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Lam et al., 2018; Gálvez–Mariscal et al., 2023).

1.2.4.3. Capacidad Emulsificante

La capacidad emulsificante es una de las propiedades más importantes de las proteínas como ingredientes alimentarios (Liang & Tang, 2013). Las propiedades emulsificantes de las proteínas poseen una baja correlación con la hidrofobicidad superficial debido a que estas propiedades están más relacionadas con la capacidad de las proteínas para reducir la tensión superficial en la interfaz aceite–agua, por resulta más importante considerar la flexibilidad molecular de la proteína, ya que necesita hacer contacto con las fases aceite–agua, y adaptarse rápidamente en la interfase (Badui-Dergal, 2013). Esta propiedad, ayuda a retrasar la coalescencia y la floculación. Un balance adecuado entre hidrofobicidad e hidrofiliidad en las proteínas es necesario para una buena adsorción, debido a que ésta usualmente ocurre en dos etapas; en la primera, las proteínas migran y se conectan a la interfase agua/ aceite; debido a su naturaleza hidrofílica la proteína puede migrar a la interfase independientemente de su solubilidad; una vez ahí, las zonas hidrofóbicas en la superficie de la proteína promueven la adsorción; en la segunda etapa, se presenta un reacomodo estructural en el cual las proteínas se desnaturalizan parcialmente y se reordenan para que la parte hidrofílica esté en contacto con la fase acuosa, mientras que la parte hidrofóbica permanece en contacto con la fase lipídica.

Las propiedades emulsificantes de las proteínas de chícharo están basadas en su naturaleza anfifílica. Este reorganización de las moléculas de proteína permite la formación de una película viscoelástica en la capa interfacial que estabiliza la dispersión de las gotas a través de una repulsión electrostática e impedimento estérico (Burger & Zhang, 2019). Las proteínas de chícharo poseen excelentes propiedades emulsificantes en mezclas aceite/ agua; poseen una menor capacidad emulsificante a valores de pH cercanos a su punto isoeléctrico y una mejor a $\text{pH} > 7$ (Lu et al., 2020). De las proteínas de chícharo, vicilina exhibe mayor estabilidad emulsificante, lo que puede ser atribuido a su estructura flexible y relativamente bajo peso molecular en comparación con legumina y globulina. Es importante mencionar que las propiedades emulsificantes de las proteínas de chícharo varían enormemente debido a su composición, ya que la relación vicilina/ legumina puede incidir directamente sobre la capacidad emulsificante (Liang & Tang, 2013).

1.2.4.4. Capacidad de formación de geles

La capacidad de formación de geles con proteínas globulares es relevante para el desarrollo de textura en productos alimenticios. Un gel se define como un sistema disperso con al menos dos componentes en los cuáles el agente disperso puede formar una red cohesiva tridimensional bien definida compuesta de moléculas de proteínas integradas dentro de un solvente acuoso y está caracterizado por la carencia de fluidez y deformabilidad elástica. La gelación proteica puede ser inducida por tratamientos térmicos, químicos, físicos, enzimáticos, o por cizallamiento, aunque, la mayoría de los geles proteicos alimenticios se forman a través de un tratamiento térmico. La gelación de proteínas globulares ocurre en dos etapas: cambio conformacional o desnaturalización parcial de proteínas y una asociación gradual o agregación en una estructura tridimensional que atrapa agua, grasa y otros ingredientes alimenticios (Lam et al., 2021). La gelación de la proteína de chícharo ocurre cuando grupos funcionales, como sulfhidrilos, son expuestos al desplegarse la estructura; así, se forman agregados irreversibles a través de puentes disulfuro, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y/o fuerzas de Van der Waals (Asen et al., 2023).

La habilidad de las proteínas para formar geles es evaluada como la mínima capacidad de gelación (LGC, por sus siglas en inglés), que es la menor concentración de proteína requerida para formar un gel autosuficiente. Una proteína con menor LGC indica una mejor habilidad de formación de geles. Cuando la proteína de chícharo es calentada por encima de la temperatura de desnaturalización, se presenta una expansión parcial de la misma; que contribuye a exponer sitios de interacción y promueve la formación de interacciones intermoleculares, que eventualmente llevan a la acumulación de agregados proteicos para formar una gel de red espacial (Shanthakumar et al., 2022). Los geles de proteína de chícharo han sido descritos como firmes y flexibles, o débiles, dependiendo del tipo de producto al que contribuya. Se ha reportado que la proteína aislada de chícharo (PACH) posee un LGC de 20 -23%, dependiendo del tipo de cultivo, método de extracción, solubilidad, presencia de otros componentes (carbohidratos, lípidos y fibra), heterogeneidad de la proteína y porcentaje en la composición de las subunidades proteicas. La vicilina posee mejores propiedades gelificantes que la legumina, por lo que una alta proporción de esta subunidad en un aislado de proteína de chícharo redundará en una mejor capacidad gelificante; mientras tanto, prolaminas y gluteninas, se auto ensamblan como una red de gel al hidratarse (Asen et al., 2024).

1.2.5. Aplicaciones de proteína aislada de chícharo como ingrediente alimenticio

Las proteínas vegetales, especialmente de chícharo, han ganado protagonismo en el desarrollo de nuevos productos alimentarios por diversas razones incluyendo su bajo costo, percepción como productos saludables, disponibilidad, sustentabilidad ambiental y propiedades tecnológico–funcionales apropiadas. La proteína de chícharo se ha reportado como la proteína vegetal más apropiada y la más popular para reemplazar las proteínas animales debido a su rentabilidad y escasos efectos adversos a la salud y al ambiente (Asen et al., 2023).

Los ingredientes elaborados a partir de la proteína de chícharo (harina, concentrado proteico y aislado proteico) pueden ser utilizados en diferentes alimentos procesados incluyendo productos horneados fortificados, mezclas proteicas (mezclas legumbres–cereales), bebidas proteicas y productos de proteína texturizada como snacks altos en proteína, productos cárnicos y análogos de carne (Daba & Morris, 2022). Se ha reportado a PACH como una posible alternativa para producir películas comestibles y biodegradables, exhibiendo baja permeabilidad de oxígeno y vapor de agua, excelentes resistencia a la tracción y apariencia aceptable (Shanthakumar et al., 2022). También se ha utilizado como materiales de barrera para microencapsulación.

Se ha propuesto el uso de proteínas de chícharo como ingrediente en productos cárnicos, por su capacidad para ligar agua y formar geles; se ha explorado su uso como aglutinantes, rellenos y mejoradores tecnológico–funcionales, aunque se han reportado problemas con sabor y sensación en boca, los cuales influyen negativamente en los atributos sensoriales de la carne procesada (Asen et al., 2023; Tulbek et al., 2016). Las proteínas de chícharo se han empleado también en la elaboración de productos extruidos de alta humedad para simular productos cárnicos.

Asimismo, ha habido interés por utilizar ingredientes de leguminosas para enriquecer nutricionalmente a productos de panificación (pan blanco, muffins, pasteles) y otros productos de cereales (como tortillas) buscando una mejora en su perfil de aminoácidos esenciales, sirviendo también como fuente de folato y como sustituto de posibles fuentes de alérgenos (huevo, soya); la inclusión de proteína de chícharo estos productos puede también mejorar su textura y estructura, aunque altas tasas de sustitución pueden generar masas débiles y productos finales duros y compactos (Shanthakumar et al., 2022; Parihar et al., 2021). La PACH también se ha usado como fortificante en pastas, sin afectar su textura o sabor y reduciendo la tasa de liberación de glucosa (Shanthakumar et al., 2022).

Un grupo de productos donde la PACH ha encontrado aplicaciones de interés son los lácteos. Así, se ha reportado la preparación de alternativas de yogurt a base de proteínas vegetales utilizando hasta 10% de PACH, aunque mayores concentraciones pueden afectar sus atributos sensoriales, pues puede incrementar su acidez y tasa de sinéresis y debilitar la estructura del gel (Asen et al., 2023). Se han fermentado formulaciones de mezclas de proteína bovina y PACH a base de bacterias acidolácticas y levaduras, resultando en aromas lácteos, lo que resulta promisorio para su uso en otros productos lácteos fermentados, como los quesos (Boukid et al., 2021). También se ha encontrado que formulas infantiles enriquecidas con proteína de chícharo y proteína de suero (50%-50%) obtuvieron un grado de hidrólisis similar y bioaccesibilidad de aminoácidos igual a una formulación de 100% de proteína de suero. Genet et al. (2023) mencionan que las proteínas de chícharo y sus fracciones han despertado un gran interés reciente para la elaboración de quesos híbridos, generalmente mediante tratamientos térmicos intensos (80-95°C, 20-60 min), explorando también la influencia del pH y de tratamientos enzimáticos para incrementar las interacciones interproteicas y mejorar la formación del gel; en general, se han observado cambios en las propiedades reológicas y texturales, en la temperatura de gelificación y en la tasa de acidificación de los productos híbridos con PACH; pretratamientos selectos de proteínas de chícharo pueden mejorar su solubilidad y las interacciones entre proteínas de chícharo y caseínas, reduciendo las implicaciones negativas que puede conllevar la formación de redes independientes de estas proteínas (ver Figura 1.2). Los principales tratamientos para modificar proteínas de chícharo se describen a continuación.

1.2.6. Modificación de proteínas de chícharo

Los ingredientes de proteína de chícharo como PACH pueden alterar la apariencia, textura, sabor, color y *flavor* de los alimentos; su aplicación en productos alimenticios sigue siendo un reto debido, a su baja solubilidad, además de su sabor a frijol, textura arenosa y la sensación de que algunos grumos pueden adherirse a la garganta durante la deglución. Para superar estas desventajas, estudios recientes han explorado algunos métodos de modificación químicos, enzimáticos, físicos, individuales y combinados (Gao et al., 2022; Shen et al., 2022; Ge et al., 2020), que pueden incrementar la flexibilidad proteica y mejorar sus propiedades de superficie, digestibilidad y aceptabilidad sensorial por los consumidores y su interacción con otros ingredientes (Asen et al., 2023).

1.2.6.1. Métodos químicos

1.2.6.1.1. pH

Entre los tratamientos químicos, la modificación inducida por cambio de pH es un método simple y tradicional, ampliamente utilizado para modular las propiedades de proteínas animales y vegetales; dicho tratamiento consiste en someter una dispersión de proteína a condiciones de pH extremas alcalinas o ácidas, y después a un pH neutro, lo que permite a la proteína experimentar un despliegue parcial, y después replegarse para obtener propiedades superficiales únicas (Ge et al., 2020; Jiang et al., 2017). Una desnaturalización parcial, sin llegar a la insolubilización, puede mejorar las propiedades interfaciales de proteínas al aumentar su flexibilidad molecular, hidrofobicidad superficial y potencial zeta, parámetro que mide la carga superficial proteica y, por ello, la magnitud de atracción o repulsión electrostática (Gálvez-Mariscal et al., 2013); se ha observado que la tensión interfacial de las proteínas de leguminosas puede ser menor a un pH alcalino que a uno neutro, lo que contribuye a una estructura proteica más abierta en la interfase (Burger & Zhang, 2019). Este procedimiento se ha aplicado para mejorar las propiedades funcionales de proteínas de chícharo, incluyendo su capacidad emulsificante (Ge et al., 2020; Jiang et al., 2017) y su habilidad para formar hidrogeles (Zhu et al., 2021), propiedades relevantes para la producción de productos coagulados tipo queso.

1.2.6.1.2. Conjugaciones con polisacáridos

Algunas propiedades funcionales de la PACH como CRA y capacidad emulsificante que se ven afectadas por su escasa solubilidad pueden mejorarse por la formación de un conjugado proteína-polisacárido a través de la reacción de Maillard. Esta conjugación ayuda a formar enlaces covalentes entre estos polímeros a través de la condensación del grupo carbonil y ϵ -amino (Shen et al., 2022). El polisacárido empleado es hidrofílico, por lo que la solubilidad y algunas propiedades tecnológico-funcionales pueden mejorarse, especialmente alrededor del pI de la proteína; además, la condensación ayuda a mejorar la estabilidad térmica y a eliminar sabores indeseables de la proteína de chícharo (Shen & Li, 2021; Zha et al., 2019). En este sentido se ha reportado la formación de conjugados de proteína de chícharo con goma arábiga, pectina, alginato, propilenglicol y polisacáridos de soja, los cuáles han demostrado mejorar la emulsificación, propiedades espumantes, solubilidad y estabilidad térmica de la proteína (Shen et al., 2022, Shen & Li, 2021; Zha et al., 2019).

1.2.6.2. Métodos enzimáticos

Un método de modificación enzimático se considera más eficiente que una modificación química o física. En comparación con las modificaciones químicas, las reacciones enzimáticas en proteína de chícharo pueden tener ventajas como la especificidad hacia los sustratos, pocas reacciones secundarias, condiciones de tratamiento moderadas y facilidad de control. Las reacciones enzimáticas desarrolladas son de naturaleza proteolítica y, típicamente, incrementan el número de grupos ionizables y exponen los grupos hidrofóbicos originalmente ocultos en el centro de la proteína que pueden mejorar propiedades tecnológico-funcionales de PACH (Shanthakumar et al., 2022; Lu et al., 2020). Las enzimas hidrolíticas empleadas incluyen tripsina, papaína, pepsina y otras proteasas comerciales cuya actividad depende del tipo de enzima, la naturaleza del sustrato proteico, la proporción entre enzima y volumen de sustrato, las condiciones de proceso (pH, temperatura y presión), y la presencia o ausencia de inhibidores proteolíticos. Se ha observado que la hidrólisis

enzimática de PACH puede mejorar características tecnológicas selectas; por ejemplo, las dispersiones de esta proteína tienden a ser altamente viscosas a altas concentraciones, por lo que la hidrólisis puede adelgazarlas, aumentando su solubilidad a pH ácido, hidrofobicidad, capacidad de emulsificación y espumado. Asimismo, la proteólisis puede ayudar a reducir la cantidad de alérgenos potenciales y a mitigar algunos sabores amargos indeseables (Wu et al., 2023).

1.2.6.3. Físicos

1.2.6.3.1. Calor

Los tratamientos térmicos son los procesos físicos más comunes utilizados en la industria alimentaria para cambiar la estructura de las proteínas a través de una desnaturalización térmica, fomentando interacciones proteína-proteína. La desnaturalización expone residuos inicialmente no disponibles para reaccionar por estar dentro de la proteína, promoviendo una subsecuente agregación causada por diferentes interacciones moleculares que posiblemente involucran enlaces no covalentes y/o covalentes. Sin embargo, la elevación de temperatura usualmente causada por dichas interacciones puede provocar una reducción en la solubilidad debido a cierto grado de agregación proteica y precipitación. Generalmente, la solubilidad de proteína de chícharo incrementa con el aumento de temperatura de 0-50°C hasta alcanzar una temperatura en que interacciones débiles como puentes de hidrógeno se desestabilizan, y las estructuras secundaria y terciaria desaparecen (Lam, et al., 2018). Sin embargo, también se ha demostrado que la solubilidad de PACH puede disminuir de manera significativa al someterse a tratamientos térmicos; aunque, se ha encontrado que exhibe mejor estabilidad de cremado y capacidad emulsificante, pero no una buena capacidad espumante. Asimismo, se ha demostrado que los geles de PACH manufacturados por calor pueden presentar características texturales inadecuadas. El tipo y composición de las proteínas utilizadas, y los diferentes procedimientos térmicos de cada estudio pueden afectar el desarrollo de dichas características (Ge et al., 2020; Messin et al., 2015).

1.2.6.3.2. Alta presión hidrostática

El procesamiento por alta presión hidrostática (HPP, por sus siglas en inglés) es una técnica no térmica para procesar alimentos, que se utiliza para inactivar bacterias deteriorativas y patógenas con el menor efecto en las propiedades sensoriales de los alimentos. La presión aplicada (100-800 MPa) y el tiempo de proceso depende del tipo de producto tratado. Se ha utilizado para inactivación enzimática y microbiana, modificaciones física (textura, color, propiedades reológicas) y modulación de propiedades tecnológicas (CRA, emulsificación, espumado, etc). HPP afecta a las interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, a los puentes de hidrógeno y a otras interacciones que resultan en una reducción en el volumen molecular (Ma et al., 2024).

En cuanto a las proteínas, HPP incrementa su hidrofobicidad y modifica su solubilidad por su habilidad para exponer grupos sulfhidrilo por desnaturalización proteica, lo que puede promover la formación de interacciones proteína-proteína, su coagulación y una posible mejora en su termostabilidad y en propiedades funcionales selectas (Asen et al., 2023). Así, algunas proteínas son capaces de formar geles de manera espontánea tras el tratamiento, si sus concentraciones son lo suficientemente altas (Ma et al., 2024). Diversos trabajos recientes exploraron la influencia de diversas variables de proceso de HPP (presión, tiempo) y características del sistema (pH, concentración proteica) sobre la formación de geles (Zhang et al., 2023b, Sim et al., 2020), emulsiones (Queiros et al., 2023) y espumas (Chao et al., 2018) con concentrados y aislados de proteína de chícharo.

1.2.6.3.3. Ultrasonido de alta intensidad

El procesamiento ultrasónico es un método físico que se considera una alternativa emergente rápida, eficiente, promisorio, tecnológicamente práctica y confiable para mejorar la calidad de los alimentos y bebidas, con el potencial de desarrollar nuevos productos con funcionalidad única; por ello, su aplicación en la industria alimentaria ha despertado gran interés recientemente (Gharibzahedi & Smith, 2020; Xiong et al., 2018).

Esta tecnología se divide en dos categorías básicas: *de alta frecuencia y baja intensidad* (100 kHz–1MHz, potencia $1 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$), que se emplea con fines de diagnóstico y para el análisis no destructivo de muestras; y *de baja frecuencia y alta intensidad* (UAI) (16–100 kHz, potencia 10–1000 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$), que ha sido el más explorado en la industria alimentaria en tiempos recientes debido a su potencial para modificar la estructura de las matrices alimentarias.

Los efectos del UAI se deben a la cavitación acústica, donde ondas que promueven ciclos de crecimiento y contracción de microburbujas pre-existentes, que implosionan violentamente al alcanzar el radio máximo relativo en el medio líquido bajo el campo ultrasónico; la implosión genera incrementos localizados instantáneos de temperatura (5000 K) y presión (>30 MPa) y efectos mecánicos como cizallamiento mecánico, ondas de choque, turbulencias y micro corrientes que, en conjunto, inducen rompimiento y/o reestructuración de polímeros (Martins Strieder et al., 2019) que a su vez promueven cambios físicos, químicos y térmicos en los sistemas tratados (Chen et al., 2022; Gharibzahedi & Smith, 2020)

El UAI se aplica mediante procesadores ultrasónicos, que son dispositivos capaces de generar ondas ultrasónicas a través de un transductor que convierte energía eléctrica a mecánica y de ahí a ultrasónica. Estos dispositivos se elaboran con instrumentos *inteligentes* que responden a estímulos externos como campos eléctricos y magnéticos, cambios de temperatura y/o humedad de manera controlada. En la aplicación del proceso de UAI, los materiales piezoeléctricos se consideran importantes, pues tienen la capacidad de producir potencial eléctrico bajo estrés mecánico (Zhang et al., 2018; Gallego-Juárez, 2017). Existen dos equipos básicos de UAI: el de baño y el de sonda; en el primero, la energía ultrasónica generada se aplica de manera indirecta, dado que los transductores se encuentran en contacto con la base de un tanque que contiene el líquido de transmisión del UAI, mientras que, en el segundo, una sonda (sonotrodo) conectada al transductor se introduce directamente en el fluido a procesar (Arroyo & Lyng, 2017), por lo que resulta más eficiente, debido a que ésta se pone en contacto directo con el alimento. Cada sonotrodo tiene una geometría específica para distintas aplicaciones (Marques Silva & Sulaiman, 2017).

Diversos parámetros permiten evaluar la eficiencia del proceso UAI para convertir energía eléctrica a ultrasónica.

- *Frecuencia* del campo eléctrico aplicado (f) [Hz], parámetro que expresa el período de tiempo [s] de un ciclo ($f=1\cdot s^{-1}$), es decir, el número de ondas por segundo (Kentish, 2017; Watson et al., 2017). La frecuencia posee un rol importante en la sonicación, dado que, si es baja, un gran número de compresiones y rarefacciones suceden en ciclos más largos, retrasando la fase de colapso debido a que las burbujas crecen más, permitiendo una cavitación más efectiva. La frecuencia entonces está inversamente relacionada con la potencia acústica.
- *Amplitud de la vibración* (A), que generalmente es de 25 μm (pico a pico) en la superficie del transductor (Savun-Hekimoğlu, 2020; Kentish, 2017). Una amplitud alta genera una mayor energía mecánica en el medio, e influye en el número de burbujas formadas.

- *Potencia de entrada o nominal* [W], que es la energía eléctrica con la que se alimenta al generador ultrasónico. La eficiencia de la transformación de dicha energía depende no solo del mismo equipo, sino también de distintas condiciones de proceso, así como las características de la materia a tratar (Raso et al., 1999).
- *Potencia acústica* [W], la energía efectiva transmitida al líquido se expresa como potencia acústica y es directamente proporcional a la amplitud de la onda [μm]. Generalmente, al incrementar la potencia se aumenta la tasa de reacción; en consecuencia, se genera un número mayor de burbujas en la solución, las cuales pueden formar otras más grandes. La potencia acústica no es lo mismo que potencial nominal, pues una parte importante de esta última se pierde como calor, por lo que se calcula mediante una calibración calorimétrica.
- *Tiempo de proceso* [s], al incrementarse puede producir partículas individuales en lugar de aglomerados, que son desintegrados. Si se presenta una mayor concentración de partículas en el medio, existirá un mayor número de colisiones, por lo que se necesitará un mayor tiempo de proceso (Asadi et al., 2019).
- *Intensidad acústica* (IA) [$\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$], la sonda distribuye la vibración ultrasónica en un área determinada, mientras más amplia sea ésta, la IA disminuye. También, se reduce a medida que aumenta la distancia entre el transductor y la base del recipiente, debido a la absorción de las ondas sonoras por el medio; por lo tanto, es importante asegurarse de que las muestras se coloquen siempre en una posición idéntica (distancia de inmersión de la sonda), y que el fluido sea uniforme en todos los experimentos (Kentish, 2017).
- *Densidad energética* [$\text{W}\cdot\text{mL}^{-1}$], es la relación entre la potencia acústica con el volumen del medio, obteniendo así la energía acústica específica es decir la cuantificación de energía proporcionada por unidad de volumen. Mientras mayor sea, mayores serán los efectos mecánicos (Savun-Hekimoğlu, 2020).
- *Coeficiente de energía específica* [$\text{Ws}\cdot\text{mL}^{-1}$], es esencial para facilitar los cálculos de escalamiento de procesos; la energía aplicada en el procedimiento depende de la potencia acústica, del tiempo de proceso y volumen de muestra; dado que el volumen varía con la presión y la temperatura; otra manera de expresarlo es en función de la masa [$\text{Ws}\cdot\text{g}^{-1}$] (Martins Strieder et al., 2019).

En comparación con métodos tradicionales térmicos, el UAI puede representar mejoras importantes en rendimiento, tasas de procesamiento más rápidas, mejor calidad y funcionalidad de alimentos procesados, una favorable conservación de constituyentes termolábiles, mejor costo-beneficio y menor energía de consumo, además de una implementación y operación sencilla, con mínimo potencial de contaminación del equipo; por lo anterior, el UAI ha sido seleccionado para la modificación de la funcionalidad de algunos polímeros (Gao et al., 2022).

1.2.7. Aplicaciones del UAI para el procesamiento de proteínas alimentarias

Las altas fuerzas de impacto relacionadas con la cavitación ultrasónica ayudan a reducir el tamaño de agregados proteicos y a alterar la estructura molecular de las proteínas (Jiang et al., 2017). Se cree que dichas fuerzas de cizalla pueden perturbar las interacciones disulfuro intermoleculares electrostáticas e hidrofóbicas no covalentes, y romper puentes de hidrógeno; lo que lleva a la exposición de grupos hidrofílicos de aminoácidos y al despliegue parcial de las proteínas, modificando su estructura, e incrementando su área de contacto con el agua (Zhao et al., 2024; Gao et al., 2022). De este modo, se ha demostrado que el UAI puede convertir la estructura original proteica rígida en

una más flexible, mejorando sus propiedades funcionales (Chen et al., 2022), especialmente la solubilidad (Zhao et al., 2024), ya que también puede reducir agregados moleculares grandes a unos de menor tamaño optimizando su interacción con el agua (Gao et al., 2022). Adicional a esto, la reducción del tamaño de partícula puede incrementar la tasa de adsorción de la proteína en la interfaz agua/aceite, mejorando su capacidad emulsificante (Jiang et al., 2017).

Por otra parte, se han observado algunas limitantes del UAI para el tratamiento de proteínas, ya que su aplicación a condiciones no óptimas -especialmente altos niveles de potencia o tiempos prolongados de sonicación- pueden generar inducir la formación de radicales libres altamente reactivos formados a través del rompimiento de enlaces covalentes de las moléculas de agua, formando radicales H^+ y OH^- , e incluso produciendo H_2O_2 . Algunos autores han propuesto que elegir una baja frecuencia ultrasónica para aplicar el procedimiento puede minimizar las reacciones dañinas entre los radicales libres generados por el UAI y los componentes alimenticios. Acorde a esto, existe una necesidad de encontrar modelos prácticos para optimizar los parámetros de operación (tiempo, temperatura, intensidad o potencia aplicada, frecuencia y amplitud) (Chen et al., 2022).

En la aplicación de UAI a proteínas vegetales, se ha encontrado que afecta a la estructura terciaria en mayor medida que la secundaria, debido a que los residuos de triptófano, contenido de sulfhidrilos, enlaces disulfuro e hidrofobicidad en la superficie son indicadores esenciales de la estructura terciaria y son los principales afectados, aunque se ha sugerido que los efectos de UAI en la estructura secundaria dependen de diferentes factores como el tipo de proteínas, el estado de agregación original de las proteínas, el grado de desnaturalización de las proteínas y los parámetros de proceso (Chen et al., 2022). Se ha indicado que el UAI afecta la funcionalidad de las proteínas de leguminosas modificando el número de grupos sulfhidrilo libres; aunque, también puede asumirse que la formación de H_2O_2 en burbujas de gas durante la sonicación puede formar nuevos enlaces S-S (Gharibzahedi & Smith 2020), debido a que los grupos libres sulfhidrilo en las moléculas de proteína pueden ser oxidados. Algunos mecanismos involucrados en el incremento de grupos SH^- libres a diferentes tiempos e intensidad de UAI incluyen la formación de grupos SH^- por cavitación asistida, reducción de enlaces S-S y el incremento de la exposición a superficie de grupos SH^- por el desdoblamiento de las moléculas de proteína afectados por las ondas de cizalla del UAI.

El UAI ha sido estudiado para modificar propiedades tecnológico-funcionales de proteínas vegetales como las de chícharo, aunque el efecto del UAI sobre la funcionalidad de PACH aún no está completamente elucidado (Gao et al., 2022; Jiang et al., 2017). Se ha reportado que la PACH tratada con UAI presenta una tensión interfacial reducida, y esto se ha correlacionado con la formación de emulsiones de menor tamaño de partícula; aun así, existen algunos desacuerdos en cuanto a los efectos de la hidrofobicidad en la superficie, ya que la literatura concuerda con que una mayor carga en la superficie y una menor tensión interfacial pueden incrementar las propiedades de superficie de la proteína de chícharo (Burger & Zhang, 2019).

2. Metodología

2.1. Plan de Investigación

De acuerdo con los objetivos descritos, se planteó el siguiente plan de investigación, dividido en cuatro etapas, que se resumen gráficamente en la Figura 2.1 y se detallan a continuación.

ETAPA I – Pruebas preliminares

Para asegurar que la solubilidad en agua de la proteína aislada de chícharo empleada en este proyecto fuese comparable a la reportada en la bibliografía, se prepararon dos dispersiones (3, 5 g de proteína por 100 mL agua) a las cuales se les ajustó el pH a condiciones alcalinas (pH 12) y, tras un periodo de reposo, se reajustaron a pH neutro (*pH shifting*); seguido de esto, ambas dispersiones se sometieron a un proceso ultrasónico de alta intensidad (UAI) (0, 3 y 6 min). Se evaluó la cantidad de proteína soluble por triplicado empleando el método de Bradford y se eligió la proporción de proteína y el tiempo de proceso UAI a emplearse en el resto del proyecto.

ETAPA II – Pruebas predictivas en sistemas modelo mixtos

Se elaboraron geles mixtos de leche entera bovina (LEB) y PACH ultrasonicada al tiempos seleccionado en la Etapa I en razones específicas de leche: PACH (4:1, 3:1). A través de la evaluación de propiedades predictivas selectas (CRA, FG) se eligieron la(s) razón(es) LEB: PACH a usarse para la fabricación y evaluación de productos coagulados.

ETAPA III – Elaboración y evaluación de productos coagulados mixtos

Se elaboraron Productos Coagulados Mixtos (PCMs) de con mezclas LEB: PACH ultrasonicada, en las razones elegidas en la Etapa II. La manufactura se llevó a cabo mediante el procedimiento estándar de elaboración de queso panela convencional; después, se evaluaron las diferencias en parámetros de manufactura como pH de desuerado, tiempo de coagulación, rendimiento verde, volumen y FTIR de suero, y FTIR de las mezclas. También se midieron propiedades fisicoquímicas selectas, incluyendo Análisis de Perfil de Textura (TPA), suavidad instrumental, colorimetría instrumental y sinéresis durante los días 1, 7 y 14 de almacenamiento refrigerado. Todos los parámetros y pruebas se compararon con un queso panela (control).

ETAPA IV – Análisis sensorial descriptivo de textura de PCMs

Se conformó y entrenó un panel sensorial, seleccionando a sus miembros mediante pruebas preliminares; tras entrenarse con una escala descriptiva cuantitativa basada en referencias específicas basadas en el método Spectrum®, el panel evaluó los PCMs elaborados en la Etapa III, describiendo parámetros texturales selectos (dureza, cohesividad, fuerza de compresión y adhesividad).

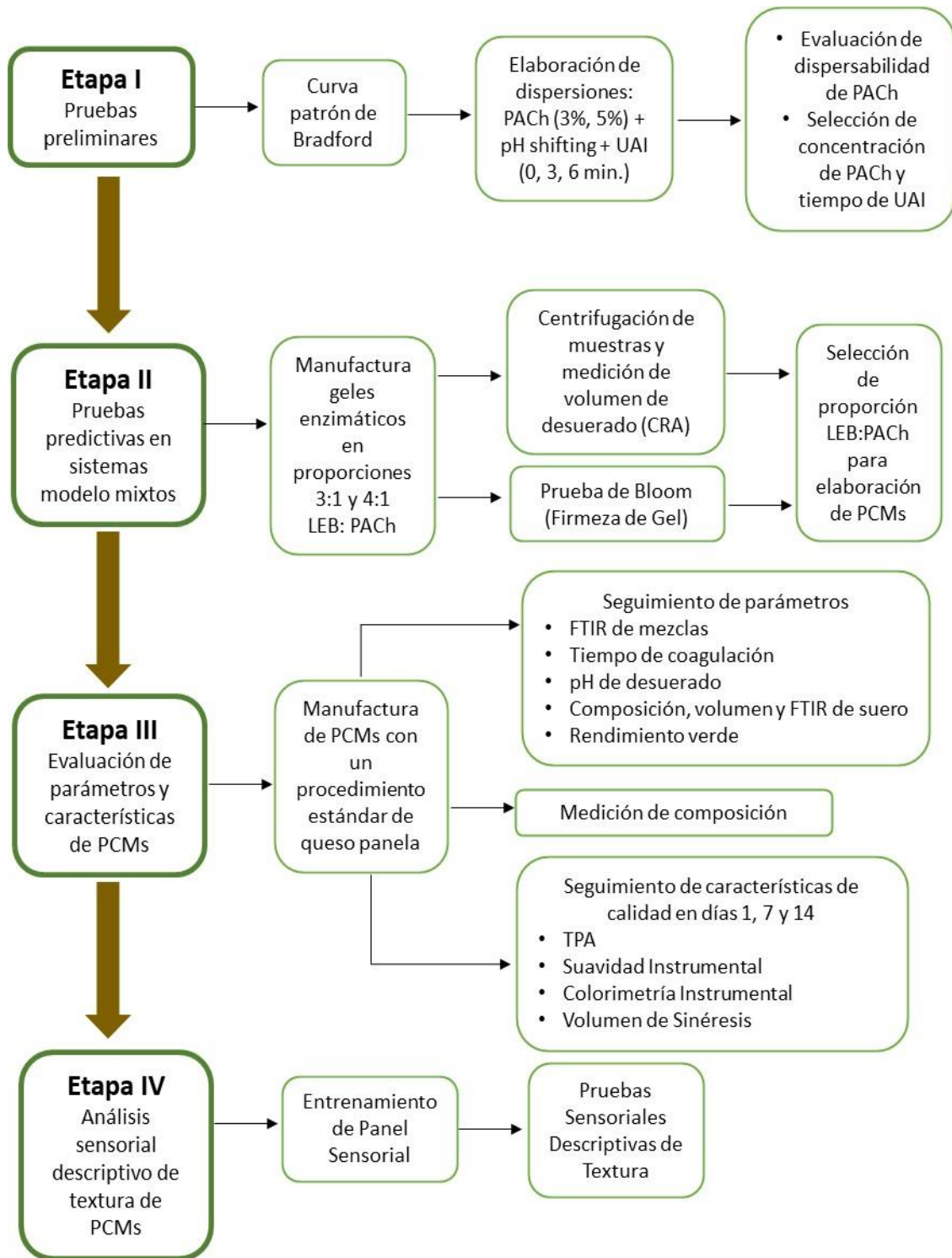


Figura 2.1. Diagrama general del plan de investigación.

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Materiales

Para la primera etapa se empleó un Kit del Método de Bradford ABP Biosciences® (Rockville, Maryland, EE. UU.) el cual también incluía albúmina bovina sérica (BSA) como proteína estándar. Todos los experimentos se realizaron con leche entera cruda bovina adquirida con un proveedor local (Chipilo, Puebla, México), transportada a $T < 6^{\circ}\text{C}$, mantenida en refrigeración (4°C) hasta su utilización y procesada el mismo día. Se empleó PACH con 85% de concentración proteica marca Clarity® (NBD Proteins, León, Guanajuato, México); la composición promedio del aislado de acuerdo con la ficha técnica del fabricante se presenta en la Tabla 2.1. Para el ajuste de pH de la PACH (*pH shifting*) se empleó hidróxido de sodio (NaOH) 1N y ácido clorhídrico (HCl) 1N grado reactivo (Hycel®, Zapopan, Jalisco, México). Para la manufactura de PCMs y quesos se utilizó cuajo microbiano líquido estandarizado Cuamix® (Chr. Hansen de México, Cd. de México, México), cloruro de calcio grado alimenticio (Medinatural®, Puebla, México), sal yodada (Great Value®, Cd de México, México) y agua purificada baja en sales Epura® (GEPP, Cd de México, México).

Tabla 2.1. Composición porcentual de PACH.

Componente	Contenido (g por 100 g)
Proteína	86.2
Grasa	3.1
Carbohidratos	3.0
Azúcar	0.5
Fibra	0.3
Minerales	1.3
Agua	5.6

2.2.2. Métodos

2.2.2.1. ETAPA I Pruebas preliminares

El contenido de proteína soluble después de cada pretratamiento se determinó con base en lo reportado por Jiang et al., (2017). Se elaboró una curva patrón (ver 2.2.2.1.1) utilizando BSA como referencia; posteriormente, se realizaron dispersiones de PACH al 3 y 5% por triplicado de acuerdo con los rangos de concentración reportados por Jiang et al. (2017) y Mazinani et al. (2020), respectivamente, las cuáles recibieron pretratamientos distintos para mejorar su dispersabilidad y se compararon con controles, los cuales fueron 3, 5% PACH sin pretratamientos, únicamente siguiendo el apartado 3.2.2.4. Los pretratamientos aplicados fueron *pH shifting*, *pH shifting* + 3 min de UAI y *pH shifting* + 6 min de UAI empleando las condiciones de proceso descritas más adelante en esta misma sección (ver 2.2.2.1.5. y 2.2.2.1.6.). Una vez que todas las muestras se hubiesen pretratado, se centrifugaron (ver 2.2.2.1.8.), se midió el volumen del sobrenadante y se realizaron soluciones a concentraciones apropiadas para que la absorbancia coincidiera en el rango del estándar después de haber agregado el colorante empleado en la prueba de Bradford. Finalmente, se calculó el porcentaje de proteína solubilizada sustituyendo la absorbancia determinada en el sobrenadante en la ecuación de la curva patrón elaborada.

2.2.2.1.1. Construcción de curva patrón

Se utilizó BSA como estándar, la cual se diluyó a concentraciones especificadas por el fabricante (0–2000 mg·mL⁻¹); se elaboraron 9 diluciones a las cuales se les midió la absorbancia (2.2.2.1.2.) en alícuotas de 30 mL por duplicado después de haber sido agitadas (2.2.2.1.3.). Se realizaron dos réplicas y a partir de estos datos, se construyó una curva patrón de concentración de BSA (mg·mL⁻¹) vs Absorbancia.

2.2.2.1.2. Método de Bradford

A cada dilución se añadieron 1.5 mL de azul Comassie G-250, se agitaron (ver sección 2.2.2.1.4) y posteriormente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UV Visible Thermo Scientific Serie GENESYS 10S (Madison, Wisconsin, EE. UU.) a una longitud de onda de 595 nm.

2.2.2.1.3. Agitación con vortex

Las muestras se agitaron de modo continuo en un agitador vortex modelo Vortexer multipropósito HS-120209 Heathrow Scientific (Viresa, Ciudad de México, México) a 1000 RPM por 30 s a temperatura ambiente (20°C).

2.2.2.1.4. Agitación magnética

El volumen de dispersión o mezcla se agitó a 630 RPM a temperatura ambiente (20 °C) por 30 min en un agitador de placas calefactoras de cerámica Cimarec+® (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.) empleando un vaso de precipitados de vidrio de acuerdo con el volumen utilizado en cada etapa.

2.2.2.1.5. pH shifting

El ajuste de pH se realizó con base en la metodología sugerida por Yang et al. (2022) empleando un potenciómetro de banco WPA CD 510 (Kwai Chung, Hong Kong). La estructura de la PACH se modificó mediante un tratamiento de pH alcalino, en el cual, la dispersión se mantuvo en agitación a las condiciones mencionadas anteriormente (ver sección 2.2.2.1.4); después fue titulada a pH 12 con NaOH 1 N; la dispersión alcalina se mantuvo a temperatura ambiente por 1 h para inducir un despliegue parcial. Subsecuentemente, el pH fue ajustado al inicial (~7.4) con HCl 1 N.

2.2.2.1.6. UAI

El tratamiento de UAI se llevó a cabo con base en lo descrito por Oliveira *et al.* (2020) y Gallegos-Pineda (2015) empleando un procesador ultrasónico de alta intensidad y baja frecuencia (24 kHz) Hielscher UP400S (Teltow, Alemania) con sonda de titanio de 22 mm de diámetro (H22L2D, amplitud máxima de 100 mm) y una potencia de salida de 400 W, manteniendo la temperatura del sistema en el rango de 20±2°C. El sonotrodo se sumergió a una profundidad de 2.3 cm en 2 L de dispersión de PACH contenida en un vaso de precipitado de 3 L.

2.2.2.1.7. Calibración calorimétrica del UAI

Para determinar la potencia efectiva de los tratamientos se utilizó el mismo procedimiento descrito en la sección anterior por duplicado, utilizando 273 g de dispersión de PACH (5%) pretratada con pH como se indica en el apartado 3.2.2.5.; se empleó un vaso de precipitados de vidrio de 600

mL, el procedimiento se realizó tomando en cuenta las condiciones mencionadas en la sección 2.2.2.1.6., durante 60 s. En esta determinación no se utilizó un baño de enfriamiento para controlar la temperatura durante la aplicación de UAI, sino, únicamente se registró el incremento de la temperatura con un multímetro digital profesional RMS Steren® (Ciudad de México, México). El aumento inicial de temperatura (dT/dt) se determinó de la pendiente de los datos de T vs t por duplicado. La potencia efectiva para cada uno se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$P = mCp \left(\frac{dT}{dt} \right) \quad (\text{Ec. 2.1})$$

Donde:

P = Potencia efectiva determinada [W]

m = Masa utilizada en el tratamiento [kg]

Cp = Calor específico de la muestra [$\text{kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{C}^{-1}$]

El Cp se calculó a partir de la composición de la dispersión de PACH (5%) con base en la composición reportada por el fabricante, con las ecuaciones de Choi y Okos (Gallegos-Pineda, 2015):

$$Cp = \sum_{i=1}^n C_{pi} X_i \quad (\text{Ec. 2.2})$$

Donde:

Cp_i: Calor específico del componente i

X_i: Fracción peso del componente i

Los calores específicos para los componentes de la dispersión se determinaron con las siguientes fórmulas cuadráticas, utilizando la temperatura promedio (T) de todos los tratamientos:

Proteína $c_p = 2.0082 + 1.2089 \times 10^{-3}T - 1.3129 \times 10^{-6}T^2$

Grasa $c_p = 1.9842 + 1.4733 \times 10^{-3}T - 4.8008 \times 10^{-6}T^2$

Lactosa $c_p = 1.5488 + 1.9625 \times 10^{-3}T - 5.9399 \times 10^{-6}T^2$

Cenizas $c_p = 1.0926 + 1.8896 \times 10^{-3}T - 3.6817 \times 10^{-6}T^2$

Agua $c_p = 4.1762 - 9.0864 \times 10^{-5}T + 5.4731 \times 10^{-6}T^2$

2.2.2.1.8. Centrifugado

Se realizó a 4500 RPM a 15°C por 16.5 min, con 2 rampas de 2 min al inicio y final del proceso, empelando un equipo Hettich 320R (Massachusetts, E.U.A.) con base en la metodología reportada por de Oliveira et al., (2020), con modificaciones. Mediante las Ecuaciones. 2.3 y 2.4 se adaptaron las condiciones reportadas en bibliografía a las del equipo empleado en este proyecto. El procedimiento se llevó a cabo para separar las muestras y obtener un volumen de sobrenadante.

$$VR = \sqrt{\frac{g}{r \times 1.118 \times 10^{-5}}} \quad (\text{Ec. 2.3})$$

$$VR \times VC \times tR = tC \quad (\text{Ec. 2.4})$$

Donde:

VR = Velocidad reportada [RPM]

g = Fuerza centrífuga relativa [g]

r = Radio del rotor [cm]

VC = Velocidad de la centrífuga utilizada en el proyecto [RPM]

tR = Tiempo reportado [min]

tC = Tiempo de proceso en el proyecto [min]

2.2.2.2. ETAPA II

Se estableció la composición inicial de la LEB (grasa, proteína, sólidos no grasos) de acuerdo con el valor promediado de 9 determinaciones empleando un analizador ultrasónico rápido Lactoscan (sección 2.2.2.2.1.). Los valores obtenidos en g por 100 g fueron: grasa 3.78 ± 0.14 , proteína 2.47 ± 0.05 , sólidos no grasos 7.66 ± 0.06 , los cuáles fueron considerados para el resto del proyecto. En esta etapa se manufacturaron geles mixtos a base de mezclas de LEB y PACH pretratada mediante un ajuste de pH (ver 2.2.2.1.5.) y tratamiento de UAI cuya potencia efectiva se determinó calorimétricamente (ver 2.2.2.1.6.). Las razones de LEB: PACH empleadas (4:1, 3:1) se definieron con base en pruebas preliminares donde se observó que una mezcla 80% LEB, 20% dispersión de PACH (4:1) presentaba características de coagulación adecuadas mientras que una mezcla 70% LEB, 30% PACH presentaba características sensoriales objetables y, por tanto, se optó por explorar una formulación intermedia de 75% LEB, 25% PACH (3:1); también se elaboró un control empleando sólo LEB (Figura 2.2). La composición de mezclas LEB: PACH y de LEB se muestra en la Tabla 2.2.

2.2.2.2.1. Medición de composición de LEB o suero

Se calculó la composición de las muestras de LEB y/o suero por triplicado empleando el módulo específico en cada experiencia utilizando un analizador rápido ultrasónico Lactoscan LA (Nova Zagora, Bulgaria). Este equipo expresa los porcentajes de grasa, proteína, lactosa, sales minerales y sólidos no grasos. La composición de las mezclas se definió por un balance másico.

2.2.2.2.2. Medición de muestras en FTIR

Con la finalidad de identificar cambios en la estructura terciaria y secundaria de las proteínas, se realizó el análisis por FTIR de las muestras de mezclas 4:1 y 3:1 con y sin tratamientos de *pH shifting* y UAI a partir de la metodología reportada por Omrani et al. (2020); asimismo, se midió la composición de los sueros obtenidos a partir de las cuajadas de dichas mezclas. Se utilizó un espectrómetro Bruker® modelo Vertex 70 (Massachusetts, EE. UU.) en el modo de Reflectancia Total Atenuada (ATR por sus siglas en inglés). Para el análisis se colocó una alícuota de 15 μL de cada una de las dispersiones y se colectó el espectro dentro del rango de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ realizando 120 mediciones por muestra.

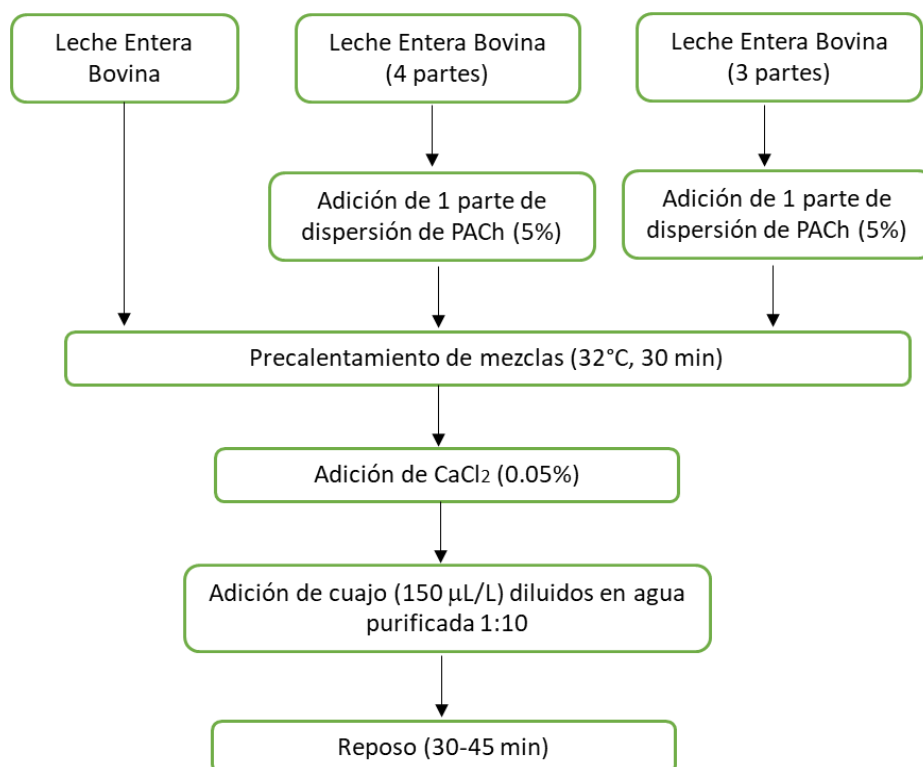


Figura 2.2. Diagrama de elaboración de geles mixtos.

Tabla 2.2. Composición de LEB y mezclas de LEB:PACH*.

Componente (%)	Leche entera	4:1	3:1
Proteína	2.49	2.85	2.94
Grasa	3.82	3.08	2.90
Carbohidratos	4.20	3.40	3.20
Cenizas	0.63	0.59	0.59
Agua	88.87	90.08	90.38

* La composición de las mezclas se obtuvo por balance másico.

2.2.2.2.3. Preparación de geles

Después realizar las tres mezclas diferentes (apartado 3.2.3.), a cada una se le agregó CaCl_2 (0.05%) tras termizarse a 32°C; se pasteurizaron (72°C, 15 s) por lotes en un Mini Eco Pasteurizador Milky FJ 15 (Althofen, Austria). A continuación, se enfriaron en recipientes de acero inoxidable, frascos de vidrio o tubos Falcon (dependiendo de la prueba a realizar) sumergidos en un baño de hielo hasta alcanzar la temperatura ambiente. Enseguida se adicionaron $150 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ de una solución 1:10 de cuajo microbiano líquido a cada mezcla para conseguir los coágulos mixtos, las mezclas se quedaron en reposo (40°C) en un baño digital *Poly Science* 2LS-M (Illinois, EE. UU.) por 30-45 min según el tiempo de coagulación de cada una, el cual se tomó en cuenta como el tiempo desde la adición de cuajo hasta la formación de flóculos de cuajada visibles en las paredes del recipiente.

2.2.2.2.4. Prueba de Bloom

En esta etapa se generaron 100 g de cada gel por triplicado en frascos de vidrio siguiendo lo mencionado en la sección 3.2.3.3. Después de que las cuajadas estuviesen formadas, se evaluó firmeza de cada uno mediante la prueba de Bloom en un texturómetro *Texture Technologies*, TAXT-Plus (Surrey, Reino Unido) con una sonda estándar de 0.5 ± 0.001 in de diámetro y a una profundidad de 4 mm en la superficie del gel, de acuerdo con el procedimiento oficial. La velocidad de inmersión fue de $1 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ con una distancia de compresión de 10 mm a la muestra, la prueba se realizó a temperatura ambiente 10 ± 2 °C. Los resultados se expresaron como cocientes de fuerza en geles de mezclas entre la fuerza de gel del control (LEB).

2.2.2.2.5. Capacidad de retención de agua

Se elaboraron geles de cada mezcla por triplicado en tubos Falcon de 50 mL para medir la capacidad de retención de agua siguiendo el procedimiento mencionado en la sección 2.2.2.2.3. Una vez formada la cuajada, los tubos se centrifugaron (ver sección 2.2.2.1.8). Enseguida se midió el volumen de sobrenadante o desuerado empleando una probeta de vidrio de 50 mL y la composición del suero expelido por centrifugación de acuerdo con la sección 2.2.2.2.1.

2.2.2.3. ETAPA III

Se elaboraron los PCMs y queso panela como control a partir de LEB y PACH pretratada mediante *pH shifting* (ver sección 2.2.2.1.5.) y UAI (ver sección 2.2.2.1.6.) a las condiciones optimizadas como se muestra en la Figura 2.3.

2.2.2.3.1. Manufactura de PCMs y queso control

Para la fabricación de los productos coagulados se siguió el procedimiento mostrado en la Figura 2.2; se tomó el tiempo de coagulación con un temporizador digital y una vez que se formaron los coágulos a partir de las distintas mezclas, se realizó el corte con liras de acero inoxidable de 1 cm, se agitaron suavemente los cubos de cuajada para después reposar por 5 min. Durante la elaboración de los productos se evaluaron parámetros fisicoquímicos, incluyendo el pH del suero empleando el potenciómetro de banco mencionado anteriormente (2.2.2.1.5.) y su composición con la metodología descrita en el apartado 2.2.2.2.1; se separó la cuajada del suero empleando una manta de cielo previamente desinfectada con una dilución de $48 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ de hipoclorito de sodio. Después de 40 min de desuerado por goteo a temperatura ambiente (20°C), se pesó la cantidad de suero obtenida y cada cuajada formada para calcular el rendimiento verde (Ec. 2.4).

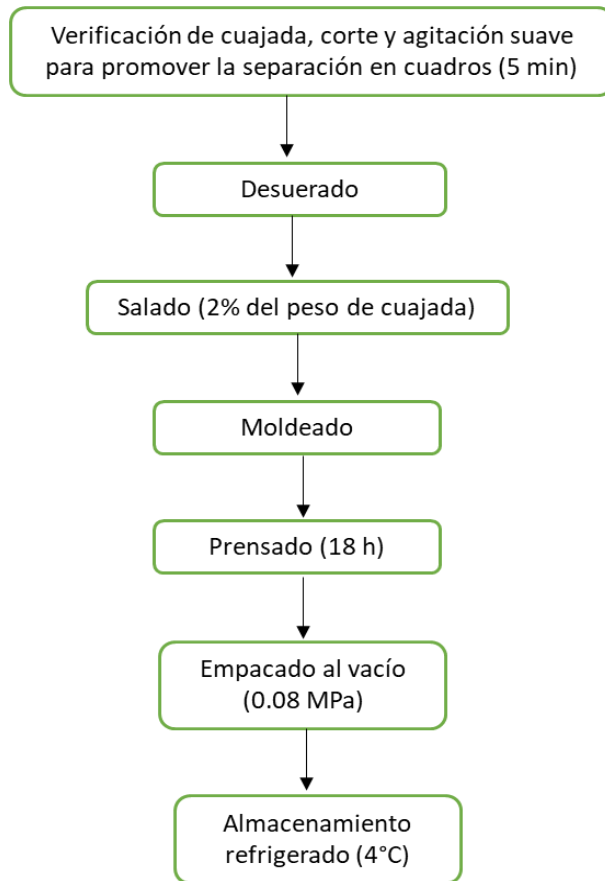


Figura 2.3. Diagrama de elaboración de PCMs y queso control.

$$\text{Rendimiento verde} = \frac{Pq}{Pm} \times 100 \quad (\text{Ec. 2.4})$$

Donde:

Pq = Peso de PCM o queso [g]

Pm = Peso de mezcla o leche [g]

Después de ~15 h de prensado en refrigeración, se pesaron los tres productos para obtener el rendimiento simple (Ec. 3.5).

$$\text{Rendimiento simple} = \frac{Pqp}{Pm} \times 100 \quad (\text{Ec. 2.5})$$

Donde:

Pqp = Peso del PCM o queso prensado [g]

Pm = Peso de mezcla o leche [g]

2.2.2.3.2. Análisis bromatológico

Se realizó un análisis bromatológico para determinar la composición de los PCMs finales (3:1, 4:1), determinando la humedad con base en la NOM-116-SSA1-1994, el contenido proteico de acuerdo con la NMX-F-608-NORMEX-2011, extracto etéreo a partir de la NMX-F-615-NORMEX-2018, cenizas conforme a la NMX-F-607-NORMEX-2020, fibra cruda según la NMX-F-613-NORMEX-2017, carbohidratos por diferencia y el contenido energético por la Ec. 2.6, tomada de la NOM-051-SCFI/SSA1-2010.

$$C(4 \text{ kcal} \cdot g^{-1}) + P(4 \text{ kcal} \cdot g^{-1}) + G(9 \text{ kcal} \cdot g^{-1}) = CET \quad (\text{Ec. 2.6})$$

Donde:

C = Carbohidratos disponibles [g]

P = Proteínas [g]

G = Grasas [g]

CET = Contenido energético total [kcal]

2.2.2.3.3. Análisis de perfil de textura (TPA)

El análisis textural de los productos coagulados se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Masiá, et al. (2020); se empleó un texturómetro *TAXT Plus* (Stable Microsystems; Surrey, Reino Unido) para realizar un TPA de los PCMs y queso control, y así evaluar parámetros de dureza, elasticidad (capacidad de recuperar su forma tras ser sometido a una fuerza externa) y cohesividad (cómo se comportan los productos ante una segunda deformación en relación con cómo se comportó con la primera). Las muestras se obtuvieron utilizando un sacabocados cilíndrico de diámetro interno de 15 mm y se cortaron hasta obtener cilindros de 25 mm de altura. Las muestras se ajustaron a 20°C antes de realizar la prueba, en la que se utilizó una doble compresión con velocidad de 2 mm·s⁻¹ y 50% de deformación. Se obtuvieron gráficas de fuerza vs tiempo, y los parámetros de dureza, elasticidad y cohesividad se calcularon a través de un software incluido en el equipo (*Texture Exponent*) como la fuerza máxima en el primer pico, la razón de distancia para alcanzar la fuerza máxima en la segunda compresión vs. la primera, y la razón entre áreas bajo la curva de la segunda y la primera compresión (Ruiz-Espinosa, 2017), además se obtuvo el nivel de masticabilidad de cada muestra, con base en la multiplicación de los tres atributos primarios.

2.2.2.3.4. Medición de pH en almacenamiento

La medición del pH de las muestras se realizó de acuerdo con la metodología reportada por Omrani Khiabani et al. (2020) por duplicado en tres lotes diferentes. Se elaboró una suspensión mezclando 10 g de muestra (queso o PCM) en 10 mL de agua desionizada empleando un mortero y pistilo, y un potenciómetro de banco (ver punto 2.2.2.1.5.).

2.2.2.3.5. Medición de color instrumental

El análisis de color se hizo con base en lo realizado por Mazinani et al. (2020), empleando un colorímetro triestímulo Hunterlab Colorflex EZ (*Hunter Associates*, Reston, VA) para medir los cambios en los parámetros de L* (luminosidad), a* [rojo (+) a verde (-)] y b* [amarillo (+) a azul (-)] de los PCMs y queso control.

El colorímetro se calibró previamente con mosaicos negro y blanco, y se operó colocando 5 g de muestra en un vaso de precipitados de 50 mL a un ángulo de 10° de observación empleando el iluminante D₆₅. Las determinaciones se realizaron por triplicado. Worldstad & Smith (2017) mencionan que el monitoreo de cambios en el color es mucho más entendible tomando en cuenta el ángulo *hue* (h desde 0 a 360°) y *chroma*; este último aumenta al incrementar la concentración del pigmento y disminuye cuando la muestra se hace más oscura. Por lo tanto, se obtuvieron dichos valores a partir de las Ec. 2.7 y 2.8.

$$C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{Ec. 2.7})$$

$$h = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (\text{Ec. 2.8})$$

Donde:

C = Chroma

h = Ángulo hue o matiz [grados, °]

2.2.2.3.6. Sinéresis en queso y productos coagulados mixtos

A lo largo del tiempo de almacenamiento se llevó a cabo la evaluación de sinéresis de los PCMs y del queso control; se realizó de acuerdo con lo descrito por Omrani, *et al.* (2020). En los días mencionados anteriormente se midió el volumen de sinéresis por triplicado empleando una probeta de 50 mL.

2.2.2.3.7. Empacado al vacío

Los productos procesados se empacaron al vacío (0.08 MPa, 20°C) utilizando una máquina selladora al vacío DZ-500 (Zhejiang Youlian Machinery Manufacturing, Wenzhou, China) empleando bolsas multicapa de vacío de polietileno y poliamida grado alimenticio (libres de BPA y ftalatos) de 20 × 30 cm y se refrigeraron a 4°C.

2.2.2.4. ETAPA IV

Se realizó una prueba sensorial descriptiva cuantitativa para identificar y cuantificar los atributos fisicoquímicos que presentaron los PCMs empleando el método Spectrum® de acuerdo con lo descrito por Meilgaard *et al.* (2016). La prueba consistió en tres etapas: la primera radicó en la selección del panel de jueces para realizar la evaluación sensorial, la segunda incluyó el desarrollo y definición de vocabulario mediante el cual se describieron los PCMs, y la tercera fue la cuantificación de estas características sensoriales (Drake, 2022).

2.2.2.4.1. Selección de panel de jueces

Se invitó a diferentes sectores de la BUAP a participar en este proyecto como jueces entrenados; las personas interesadas respondieron una encuesta en línea que incluía preguntas en torno a alimentos que evitan consumir, así como sus alergias alimenticias. Se convocó a los aspirantes a realizar una prueba presencial que consistió en el consumo y descripción de textura de 4 alimentos

(chocolate en barra, clara de huevo hervida, zanahoria cruda y malvaviscos). Los resultados fueron analizados por una experta en evaluación sensorial (Dra. Xadeni Villegas Ruiz), y se llevó a cabo una preselección de aquellas personas que eran adecuadas para el entrenamiento con base en su habilidad lingüística y percepción sensorial para describir sus experiencias.

2.2.2.4.2. Entrenamiento de panel sensorial

Se seleccionaron a 8 personas (mujeres de 19 – 39 años) para participar en el entrenamiento, el cual consistió en una plática informativa para describir el proyecto, calendarizar las sesiones y definir las actividades a realizar en cada una. Se llevaron a cabo cuatro sesiones de entrenamiento que incluyeron establecer un lenguaje de textura y familiarizarse con los descriptores a evaluar empleando distintos alimentos con diferentes niveles de intensidad de esos atributos (ver Tabla 2.3). A todos los jueces se les proporcionó un vaso desechable opaco (en caso de expectorar) y agua purificada para enjuagar la boca; el tiempo total de entrenamiento fue de 10 h.

Tabla 2.3. Descriptores empleados para caracterizar el perfil de textura de PCMs.

Términos de evaluación	Definición	Técnica	Referencias
Dureza con molares	Fuerza requerida para provocar una deformación	Colocar el producto entre los molares y aplicar una fuerza uniforme hasta deformarlo, sin romperlo	Queso crema = 1 Huevo cocido = 2.5 Aceituna verde = 6 Cacahuates = 9.5 Caramelo duro = 14.5
Cohesividad de la masa	Cantidad de muestra que queda unida	Colocar el producto en la boca y masticar por 5 veces, juntar la masa formada con ayuda de la lengua y medir la cantidad de muestra que se queda de manera conjunta	Regaliz = 1 Zanahorias = 2 Champiñón = 4 Queso amarillo = 9 Chicle = 15
Fuerza de compresión con dedos	Cantidad de fuerza que se aplica al producto para deformarlo antes de romperlo	Colocar el producto entre el dedo pulgar e índice y aplicar una fuerza uniforme hasta deformar el producto, sin romperlo	Mini bombones = 1.5 Dedos de queso = 3 Gelatina = 7 Gomitas = 9
Adhesividad a los molares	Cantidad de producto que se adhiere a los molares durante la masticación	Colocar el producto en la boca y masticar por 3 veces, remover con ayuda de la lengua el producto que queda pegado alrededor de los molares	Topping de bombón = 2 Chocolate con leche = 4 Regaliz = 8 Gomitas = 13

* Adaptada de Meilgaard et al. (2016).

2.2.2.4.3. Evaluación de PCMs

Se manufacturaron PCMs en razones de 3:1 y 4:1 de acuerdo con lo mencionado en la sección 2.2.2.3.1. Una vez que los PCMs estuvieron listos, se cortaron cubos de 1.5 cm de lado y se mantuvieron a una temperatura de ~15°C, se proporcionaron dos muestras nuevas a cada juez al inicio de la evaluación de cada atributo y cuando estos lo solicitaban; además, todos los alimentos mencionados en el apartado previo estuvieron a disposición, si se requerían. Los jueces anotaron en una hoja blanca la intensidad de los atributos de acuerdo con su percepción individual, para finalizar con la definición de un consenso que se realizó al momento, con participación de todos los jueces.

2.2.2.5. Diseño Experimental y Análisis de datos

Para la etapa 1 se implementó un modelo experimental completamente aleatorizado con 2 variables independientes: tiempo de sonicación con 3 niveles (0, 3, 6 min) y % de concentración de PACH con 2 niveles de concentración (3, 5%) pretratada por *pH shifting*. Se realizaron tres experimentos independientes para cada combinación de variables independientes. La variable de respuesta fue el % de solubilidad y cada medición de absorbancia se hizo por duplicado. Los resultados experimentales se compararon con dos controles correspondientes a los dos porcentajes de concentración proteica explorados sin ningún tipo de pretratamiento. Los resultados se analizaron con un modelo linear general en Minitab 19 (State College, PA); las comparaciones entre medias se realizaron mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$.

Para la etapa 2 se implementó un diseño completamente aleatorizado con una variable independiente (razón LEB: PACH) a dos niveles (4:1 y 3:1) empleando un gel elaborado con leche entera bovina como control. Se realizaron 5 experimentos independientes empleando capacidad de retención de agua, Bloom y firmeza de gel y la composición de sueros expelidos como variables dependientes; se realizaron mediciones por triplicado. Adicionalmente, se realizaron pruebas de FTIR de geles de forma complementaria. Los resultados de pruebas predictivas se analizaron con un ANOVA de una sola vía en el mismo software estadístico; las comparaciones entre medias se realizaron mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$.

Para la etapa 3 se implementó un diseño completamente aleatorizado para evaluar los cambios en los parámetros de elaboración. Este diseño se realizó con una variable independiente (tipo de producto) con tres niveles (control de queso panela, PCMs elaborados con mezclas 4:1 y 3:1). Se realizaron 3 experimentos independientes empleando pH de desuerado, tiempo de coagulación, rendimiento verde y simple, parámetros de composición del producto (4 parámetros), retención de gras y retención de proteína como variables dependientes. Todas las mediciones se hicieron por triplicado. Los resultados se analizaron por un ANOVA de una vía. Adicionalmente, se determinó la evolución de las características de calidad de los quesos y productos coagulados mixtos al tiempo cero y durante el almacenamiento refrigerado empleando como variables independientes el tipo de producto (mismos tres niveles) y tiempo de muestreo (tres niveles: días 1, 7 y 14) y color instrumental (5 parámetros), análisis de perfil de textura (4 parámetros) y sinéresis como variables dependientes; en este caso, el análisis se realizó usando un modelo linear general. Todas las mediciones se realizaron por cuadruplicado. En ambos casos, las comparaciones entre medias se realizaron mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$ en el mismo software estadístico antes mencionado.

Para la última etapa se analizaron diferencias texturales sensoriales, comparando variables dependientes (dureza, cohesividad, fuerza de compresión y adhesividad) de dos tipos de productos coagulados mixtos como variables independientes (3:1, 4:1). Los análisis sensoriales se hicieron por duplicado. Los resultados se analizaron con un ANOVA de una vía; las comparaciones entre medias se realizaron mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$.

3. Resultados y discusión

3.1. Etapa I: Pruebas preliminares

3.1.1. Curva patrón

Se determinó la capacidad de solubilidad de la PACH en medio acuoso mediante una prueba de Bradford. De manera inicial se construyó una curva patrón de diluciones de BSA en el rango esperado de concentración proteica final de las dispersiones al 3 y 5% de PACH tras aplicar los distintos pretratamientos mencionados previamente. La curva patrón resultante de BSA vs Absorbancia se muestra en la Figura 3.1.

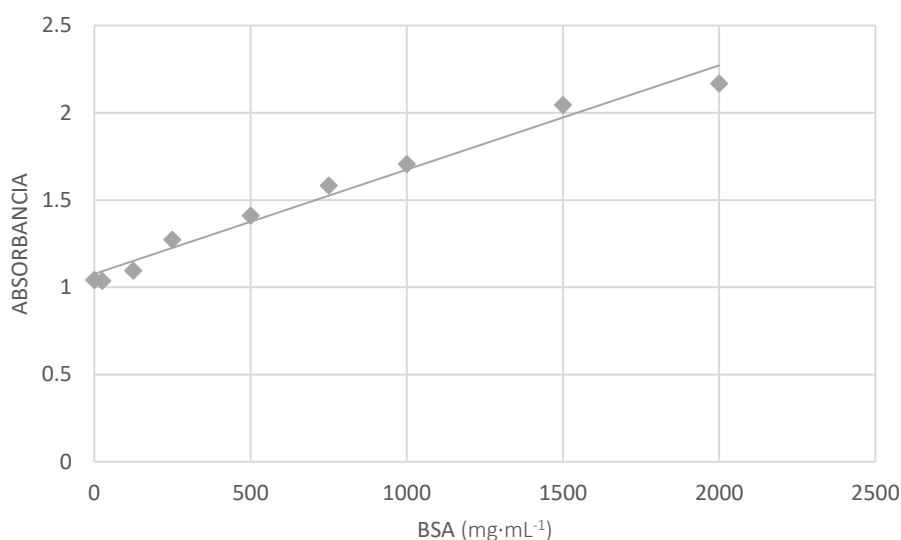


Figura 3.1. Curva estándar de absorbancia de BSA para prueba de Bradford.

El análisis de regresión lineal de los resultados mostrados en la Fig. 3.1 indican un buen ajuste de la ecuación predictiva resultante, con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9783$. La ecuación de línea recta fue:

$$ABS = 0.0006 [BSA] + 1.0763 \quad (\text{Ec. 3.1})$$

Donde:

ABS = Absorbancia

BSA = Concentración de albumina bovina sérica [mg·mL⁻¹]

La BSA se emplea en esta prueba debido a que es una proteína fácilmente obtenible, económica y que presenta una respuesta colorimétrica lineal y predecible cuando interactúa con el colorante empleado en esta prueba (Kruger, 2009).

3.1.2. Incremento en solubilidad de proteína aislada de chícharo por ajuste de pH y UAI

Con la curva patrón se determinaron las concentraciones de proteína solubilizada en los sobrenadantes de las dispersiones de 3, 5% de PCh sometidas a *pH shifting* y distintos tiempos de UAI. En la Tabla 3.1 se observan las diferencias en porcentaje de solubilidad de proteína aislada de chícharo en dispersiones acuosas al 3% y 5%, tras someterse a tratamiento de *pH shifting* y posteriormente a 0, 3 o 6 min de UAI.

Tabla 3.1. Porcentaje de proteína aislada de chícharo soluble en agua tras aplicar *pH shifting* y tratamientos selectos de ultrasonicación.

% de Solubilidad*			
pH shifting + Tiempo (min)			
PCh (%)	0	3	6
3	33.84 ± 0.01 ^{Ba}	44.38 ± 0.02 ^{Aba}	49.75 ± 0.06 ^{Ab}
5	40.78 ± 0.06 ^{Ba}	45.67 ± 0.08 ^{Ba}	64.92 ± 0.08 ^{Aa}
Control 3%		7.85 ± 0.02	
Control 5%		7.97 ± 0.00	

*N = 4

^{AB} Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa (p<0.05)

^{ab} Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

La solubilidad proteica puede definirse como el equilibrio entre interacciones proteína–proteína y proteína–solvente, es decir interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas, respectivamente. La capacidad de disolución depende de las propiedades intrínsecas y extrínsecas de la proteína; entre las primeras podemos mencionar la distribución y tipo de aminoácidos presentes en ellas (Asen et al., 2023), mientras que los principales factores extrínsecos que afectan la solubilidad son el pH del disolvente, fuerza iónica y temperatura, así como otros factores no térmicos.

Las proteínas vegetales, como las contenidas en el aislado de chícharo poseen estructuras espaciales únicas, por lo tanto, exhiben con frecuencia una limitada capacidad de dispersarse en agua a pH neutro, restringiendo su aplicación en la industria alimenticia; esto ha dado pauta a investigaciones que exploren modificaciones de pH en dispersiones de PCh (Zhi et al., 2022; Jiang et al., 2017).

En la Tabla 3.1 puede observarse que al pretratar la dispersión de PCh mediante *pH shifting*, la solubilidad de la proteína incrementó notablemente. Esto se debe a que, como se ha mencionado previamente, cuando la PCh se dispersa en una solución con un valor de pH lejano a su pl exhibe una superficie de carga positiva o negativa, mientras que en un valor de pH cercano al pl de la proteína, su estructura no posee carga en la superficie, demostrando una mínima solubilidad, lo que lleva a que las proteínas formen agregados más grandes y sedimenten (Stone et al., 2015).

Los resultados de Jiang et al. (2017) demostraron que someter a la PCh a un pH extremadamente alcalino mejoró la solubilidad en comparación a un pH extremadamente ácido. Con base en lo anterior, podemos decir que el *pH shifting* aplicado en este proyecto por un periodo de

tiempo corto, dio como resultado el despliegue de las globulinas (tipo de proteína mayoritaria presente en el chícharo), lo que ocasionó interacciones en sus cadenas adyacentes; subsecuentemente, el reajuste de la dispersión a un pH neutro, permitió el repliegue en una *estructura de glóbulo fundido*, la cual puede expresarse como un estado intermedio en el que la estructura terciaria de la proteína es parcialmente desdoblada, mientras que gran parte de su estructura secundaria se mantiene. En este estado mejoró notablemente la funcionalidad tecnológica de la PCh (Zhang et al., 2023a; Zhi et al., 2022). Asimismo, se visualiza en la Tabla 3.1 que la aplicación del pretratamiento de UAI por 6 min es el que mejoró la solubilidad en mayor magnitud, incrementándola hasta por 8 veces en comparación con el control; estos resultados coinciden con los de Jiang et al. (2017) emplearon tratamientos ultrasónicos a 20 KHz, 5 min, 20°C sin y con *pH shifting* (a pH 12) e indujeron una solubilidad final de la PCh de 55.8% y 60.8%, respectivamente, considerando una solubilidad de 8.17% de la PCh control. Recientemente, Gao et al. (2022), explorando un tratamiento ultrasónico secuencial de 100 a 400 W de potencia de salida obtuvieron un incremento máximo de solubilidad de 7.2 (control) a 58.4% con un proceso UAI a 20 KHz, 150 W a pH 7. Se ha mencionado que la aplicación de UAI puede alterar la conformación y el despliegue debido a la cavitación, causando que los grupos hidrofílicos en la superficie se expongan y se facilite la interacción proteína-agua, resultando un incremento en la solubilidad (Erdoğan, et al., 2023). Algunos estudios también sugieren que el UAI puede descomponer los complejos proteicos grandes en subunidades más pequeñas y solubles (Gao et al., 2022). Por otra parte, es posible observar que la concentración proteica tuvo un efecto significativo sobre la solubilidad, donde a mayores concentraciones de PCh se incrementó su solubilidad. Esto fue especialmente visible para el tratamiento de UAI de 6 min, donde la solubilidad en dispersiones de PCh aumentó de 49.75 a 64.92% con dispersiones de 3 y 5% respectivamente. Esta tendencia fue observada previamente por Bogahawaththa et al. (2019) donde igualmente la solubilidad de PCh se incrementó al aumentar la concentración de 4 a 8% a distintos niveles de pH y fuerza iónica. Se presume que esta tendencia puede deberse a que los pretratamientos aplicados a la PCh aumentan la fuerza iónica en el medio; en este trabajo en particular el tratamiento ultrasónico más intenso y la mayor concentración proteica probablemente proporcionaron el mayor cambio en fuerza iónica de la dispersión, lo cual pudo impactar positivamente en su solubilidad.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en esta etapa, el tratamiento de UAI (20 KHz, 20°C) por 6 min a una dispersión de PCh al 5% (p/p) fueron seleccionadas como las condiciones de proceso a emplearse en el resto del proyecto.

3.1.3. Calibración calorimétrica, cálculo de C_p y de potencia efectiva

Se determinó la potencia efectiva del tratamiento ultrasónico aplicado a la dispersión de 5% (p/p) de PCh pretratada con *pH shifting* a una amplitud de 100% de acuerdo con la metodología indicada en 2.2.2.7. La calibración calorimétrica es necesaria para evaluar la cantidad real de energía ultrasónica que llega al medio y cuánta se transforma en calor. Los resultados de la calibración se observan en la Tabla 3.2; estos consideraron una densidad de la mezcla de 0.978 g·mL⁻¹ y radio de la sonda de 11 mm, y siguiendo lo descrito en el mismo punto mencionado anteriormente.

Tabla 3.2. Parámetros efectivos del tratamiento ultrasónico seleccionado

Parámetros	
Potencia de entrada [W]	400
C_p [$\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{°C}^{-1}$]	4.06±0.00
dT/dt [$\text{°C}\cdot\text{s}^{-1}$]	0.07±0.00
Potencia acústica [W]	78.01±1.18
Rendimiento [%]	19.50±0.29
Intensidad acústica [$\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$]	20.52±0.31
Densidad acústica [$\text{W}\cdot\text{mL}^{-1}$]	0.28±0.00
Coefficiente de energía específica [$\text{Ws}\cdot\text{mL}^{-1}$]	83.92±1.27

Los resultados mostrados de dT/dt en comparación con los obtenidos por Gao et al. (2022) fueron menores, quienes reportan una tasa de aumento de temperatura de $0.18\text{ °C}\cdot\text{s}^{-1}$ para 300 W y de $0.34\text{ °C}\cdot\text{s}^{-1}$ para 500 W. El C_p reportado por los mismos autores fue de $4.18\text{ kJ}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{°C}^{-1}$, que en comparación con nuestros resultados fue ligeramente mayor para la dispersión de PACH debido a que ellos experimentaron con una concentración dos veces mayor a la empleada en este proyecto. Por otra parte, Xiong et al. (2018), reportaron una intensidad acústica de 45 a $48\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ utilizando la misma concentración de dispersión que la nuestra y un equipo con entrada de 630 W sugiriendo un rendimiento del $\sim 8.62\%$, el cual fue menor que el obtenido en nuestros cálculos. Es importante mencionar que como se ha descrito anteriormente, debido a las amplias diferencias en cuanto a la composición de la PACH estudiada, que pueden mostrarse a causa de variaciones genéticas, diferencias en tipos de cultivo y condiciones de crecimiento, es posible obtener resultados distintos en este tipo de tratamientos.

3.2. ETAPA II: Pruebas predictivas en sistemas modelo mixtos

Se llevaron a cabo pruebas predictivas para evaluar la capacidad tecnológica de los sistemas LEB: PACH para elaborar PCMs; las propiedades evaluadas fueron FG, Bloom y CRA en geles mixtos. Los resultados de estas propiedades evaluadas en dichos sistemas modelo obtenidos mediante coagulación enzimática se presentan en la Tabla 3.3. Las cifras reportadas son ponderadas y se obtuvieron dividiendo la magnitud de las variables obtenidas para los sistemas mixtos entre aquellas del control.

Tabla 3.3. Propiedades predictivas selectas en geles enzimáticos mixtos de LEB: PACH.

Tratamiento	Firmeza de gel	Bloom	CRA
4:1	0.739 ± 0.037^A	0.749 ± 0.080^A	1.169 ± 0.032^B
3:1	0.630 ± 0.037^B	0.603 ± 0.054^B	1.204 ± 0.017^A

*N = 12

^A Letras diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

El proceso de fabricación de geles enzimáticos lácteos se basa en la acción proteolítica del cuajo sobre las micelas de caseína; esta coagulación enzimática se divide en dos etapas: la primera implica la separación enzimática de κ -caseína (presente en la superficie de las micelas) con liberación de fragmentos hidrofílicos de caseinomacropéptido, mientras que la segunda fase consiste en la agregación y gelificación de micelas desestabilizadas cuando cerca del 90% de κ -caseína ha sido hidrolizada (Britten & Giroux, 2022). En la segunda fase inicialmente se forma una cadena de hebras finas y agregados pequeños de micelas que dejan poros que se llenan con suero. Inicialmente, estos poros micelares son pequeños y la cuajada se denomina como *coagulo fino*. Esta red se desarrolla envolviendo glóbulos de grasa, de gran tamaño en comparación con los agregados micelares. Al continuar la coagulación, las hebras de caseína comienzan a formar agregados interconectados más grandes, así como los poros entre ellos; en esta etapa se da la formación del *coagulo grueso*, y pueden presentarse nuevas interacciones (Johnson & Law, 2010). Distintos factores pueden afectar la firmeza del gel formado y su capacidad para retener suero, incluyendo la adición de ingredientes no lácteos, como lo aquí explorado. Así, se han estudiado gelaciones de sistemas mixtos de proteína de chícharo y láctea concluyendo que las micelas de caseína no se entrecruzan con PChs, pues éstas forman geles independientes; además se considera que la firmeza del gel es controlada por la proteína que se encuentre en mayor concentración y es modulada por procesos extrínsecos como alta temperatura, alta presión y sonicación (Ouyang et al., 2022). Es posible que el impedimento de estas proteínas para formar geles continuos se debe a que las PChs desplegadas pueden formar una capa alrededor de las submicelas de caseína a través de interacciones hidrofóbicas, generando secciones de submicela-PCh incapaces de formar un gel tan fuerte como los formados sólo con leche (Ma et al., 2024).

La firmeza y la prueba de Bloom se emplearon como índices de la dureza del gel. Esta última mide su capacidad para resistir una deformación inducida por una sonda estándar al presionar en 4 mm su superficie (GMIA, 2019), por lo que se esperaba que tuviese un comportamiento similar al de firmeza de gel. Al ser menores que la unidad, los valores ponderados de firmeza de gel y de firmeza de Bloom para los geles mixtos 3:1 (0.630, 0.603) y 4:1 (0.739, 0.749) (ver Tabla 3.3) sugieren que la adición de PACH a la LEB resultó en una modificación de la estructura del gel en comparación con aquellos de sólo leche, debido a cada proteína tiende a formar redes independientes con una capacidad limitada de interacción que provoca su debilitamiento; asimismo se observó que la dureza del gel (tanto en firmeza como en *bloom*) disminuye al incrementarse la proporción de aislado de chícharo en la mezcla. Estos resultados coinciden con aquellos de Brückner et al. (2019) con geles mixtos lácteos con proteínas no lácteas (avena); de manera análoga, Oliveira et al. (2022) observaron una reducción progresiva en la firmeza de geles mixtos ácidos elaborados con leche descremada rehidratada y PACH al aumentar la proporción de esta última, atribuyendo este comportamiento a la formación de poros más grandes en la red proteica, que reducen su dureza, pero que pueden incrementar su CRA por aumento en la proporción de proteína; consideran que los agregados de legumina formados durante el calentamiento y acidificación de las PChs puede estar correlacionada con la formación de interacciones no covalentes que modifican la estructura del gel y pueden evitar la formación de geles suficientemente elásticos. Recientemente, Wang et al. (2023) elaboraron geles enzimáticos mixtos de leche fresca descremada y lechada de soya, reportando que la formación de geles débiles al agregar proteína vegetal puede atribuirse a que esta última no es hidrolizada por el cuajo, y, por lo tanto, las características del gel podrían estar condicionadas únicamente por el

proceso de coagulación enzimática de las micelas de caseína. Al aumentar la proporción de proteína vegetal en la mezcla, se disminuye el número de caseínas presentes; así, las proteínas no lácteas se adhieren a las micelas, reduciendo el número de colisiones entre ellas e incrementando la distancia entre caseínas, lo que inhibe la formación de un gel lácteo con la consistencia apropiada para el corte.

Se ha demostrado que el UAI y la adición de proteínas distintas a las caseínas pueden alterar las propiedades de coagulación de leche y por ello las propiedades de los geles lácteos. Carrillo-Lopez et al. (2021) afirman que el UAI puede reducir el tamaño de componentes lácteos, lo cual modifica la firmeza de gel por reducción de tamaño micelar y del glóbulo de grasa, desnaturalización de proteína de suero y cambios en la asociación de la membrana del glóbulo graso con las micelas, aumentando la CRA con el tiempo de proceso. Liu et al. (2014) reportaron que el UAI (20kHz, 286 kJ·kg⁻¹) de leche descremada reconstituida (10% p/p, pH 8) alteró su coagulación enzimática, disminuyendo el tiempo de gelación y produciendo poros con una estructura más cerrada y una mayor interconectividad entre redes de caseína, aumentando la concentración de agregados solubles en suero y sugiriendo que al incrementar el pH nativo de leche (6.7) se aumentaba la repulsión electrostática entre caseínas micelares, haciéndose más grandes y susceptibles a disociación por estrés mecánico.

De manera análoga, se ha explorado la incorporación de otras proteínas pretratadas por UAI en geles enzimáticos de caseína, incluyendo séricas (Amador-Espejo et al., 2021) y proteínas de origen vegetal como soya y chícharo. En este sentido, recientemente, Lima–Nascimento et al. (2023) evaluaron la solubilidad y CRA de geles ácidos formados por adición de glucono- δ -lactona en una mezcla (80:20) de una dispersión de caseínas micelares rehidratadas (8%) y PACH (8%) pretratadas con UAI (495 W, 20 kHz, 15 min) en mezcla y por separado; estos autores observaron un aumento en el tiempo de gelación del sistema 80:20 de casi tres veces en comparación con un control (100:0), considerando que la adición de PACH puede retardar la gelación de caseínas por impedimento estérico; la velocidad de formación de una red tridimensional se relaciona con la magnitud de la hidrofobicidad superficial de las proteínas, lo que aumenta las interacciones de este tipo entre ellas.

La CRA es una propiedad crítica en proteínas, pues influencia la sensación bucal, textura y capacidad de retención de compuestos de sabor al incorporarse como ingrediente en un producto (Daba & Morris, 2021). La solubilidad y las interacciones hidrofílicas de la PACH son limitadas y varían de manera importante con la subespecie de chícharo empleado para su fabricación, pero se sabe que la aplicación de UAI aumenta de manera sensible su hidrofiliidad (Mathew et al., 2023). En la Tabla 3.3 se observa que la CRA de los geles mixtos aumentó con respecto al control (CRA ponderada > 1) y se incrementó de manera significativa ($p < 0.05$) al aumentar la proporción de PChs (1.20 vs 1.17 en mezclas 3:1 y 4:1, respectivamente). Lima–Nascimento et al. (2023) reportaron un aumento en la CRA por la aplicación de UAI en los componentes del gel, especialmente en la presencia de PACH, mismo comportamiento observado en el presente trabajo, considerando que la aplicación de UAI divide los agregados proteicos, aumentando su solubilidad sin afectar la carga de las partículas. Por otra parte, la mayor cantidad de proteína global presente en las mezclas (2.85-2.94%, ver Tabla 2.2), en comparación con LEB (2.49%) pudo incidir directamente en el aumento de CRA observado.

La modificación de la dureza del gel por modificaciones en su impacta su capacidad para retener agua y grasa y, por tanto, la composición del suero resultante tras el corte de la cuajada. Por ello, se determinó la composición del suero (ver sección 2.2.3.1.) por duplicado con las muestras obtenidas para la prueba de CRA, los resultados se muestran en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4. Composición de suero en geles enzimáticos mixtos de LEB: PACH.

	Proteína*	Grasa*	Cenizas*
Control	3.07 ± 0.02 ^A	0.08 ± 0.01 ^B	0.47 ± 0.00 ^A
4:1	2.57 ± 0.03 ^B	0.10 ± 0.01 ^A	0.40 ± 0.01 ^B
3:1	2.42 ± 0.03 ^C	0.10 ± 0.03 ^{AB}	0.37 ± 0.01 ^C

*N = 16

^A Letras diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

Como puede observarse en la tabla previa, los contenidos de proteína y de cenizas fueron significativamente menores ($p < 0.05$) en los sueros de geles mixtos en comparación con aquellos del control, mientras que el contenido de grasa fue mayor, aunque la diferencia sólo fue significativa ($p < 0.05$) entre el gel 4:1 y el control. El mayor contenido de proteína en el suero del control en comparación con los geles mixtos sugiere una posible interacción entre las PChs, caseínas y proteínas de suero, dado que éste es inversamente proporcional a la cantidad de PACH en la mezcla para preparar el gel, lo que indica que una mayor cantidad de proteína de la mezcla se queda en el PCM. Esta tendencia puede explicarse con lo mencionado por Oliveira et al. (2022), quienes mencionan que es posible cierto grado de gelación conjunta entre proteínas de suero de leche y PChs en geles mixtos. Otros autores reportan que, aunque no todas las cisteínas presentes en el sistema mixto están libres, pueden contribuir a la formación de puentes de disulfuro, al igual que los grupos tiol reactivos; los cuales pueden llevar a la agregación o co-precipitación de proteínas de distintos orígenes. Dichas interacciones covalentes pueden generarse a partir de tratamientos a alta temperatura, que exponen grupos tiol de las moléculas involucradas, formando puentes disulfuro entre monómeros de β LG y subunidades de legumina (Kristensen et al., 2021). En el sistema aquí estudiado puede considerarse que el UAI incrementó la disponibilidad de sulfhidrilos reactivos por desnaturalización y el tratamiento térmico de la mezcla promovió la formación de complejos por puentes de disulfuro entre micelas de caseína, proteínas séricas y PChs. La reducción progresiva en el contenido de minerales en suero al aumentar la proporción de PChs se relaciona con la capacidad de las micelas de caseínas para captar minerales en forma coloidal.

El cambio en la estructura de los geles puede estar relacionado con el aumento de contenido promedio de grasa en sueros de geles mixtos. Es bien sabido que un mayor contenido de proteínas lácteas y la presencia de cuajadas más firmes ayudan a minimizar la pérdida de grasa en el suero (Hussain et al., 2012) Lin et al. (2012) elaboraron geles enzimáticos mixtos a base de leche descremada rehidratada y lechada vegetal (soya), y mediante microscopía confocal compararon la estructura de geles mixtos con un control conteniendo sólo proteína láctea, reportando que los primeros forman redes estructurales con poros más grandes, cúmulos de proteína más densos, con un mayor número de ramificaciones. Se puede decir, entonces, que, al formarse redes proteicas con características distintas, se dificultó la retención de grasa en algunas secciones de los geles mixtos elaborados con la consecuente pérdida de grasa en suero reportada.

Para intentar confirmar la presencia de PACH en los sueros expelidos durante la centrifugación de geles se realizó un análisis espectrofotométrico de ATR-FTIR. Los espectros de absorción obtenidos para la dispersión de 5% PACH ultrasonificada y para los sueros de geles de leche y de mezclas 3:1 y 4:1 se muestran en la Figura 3.2

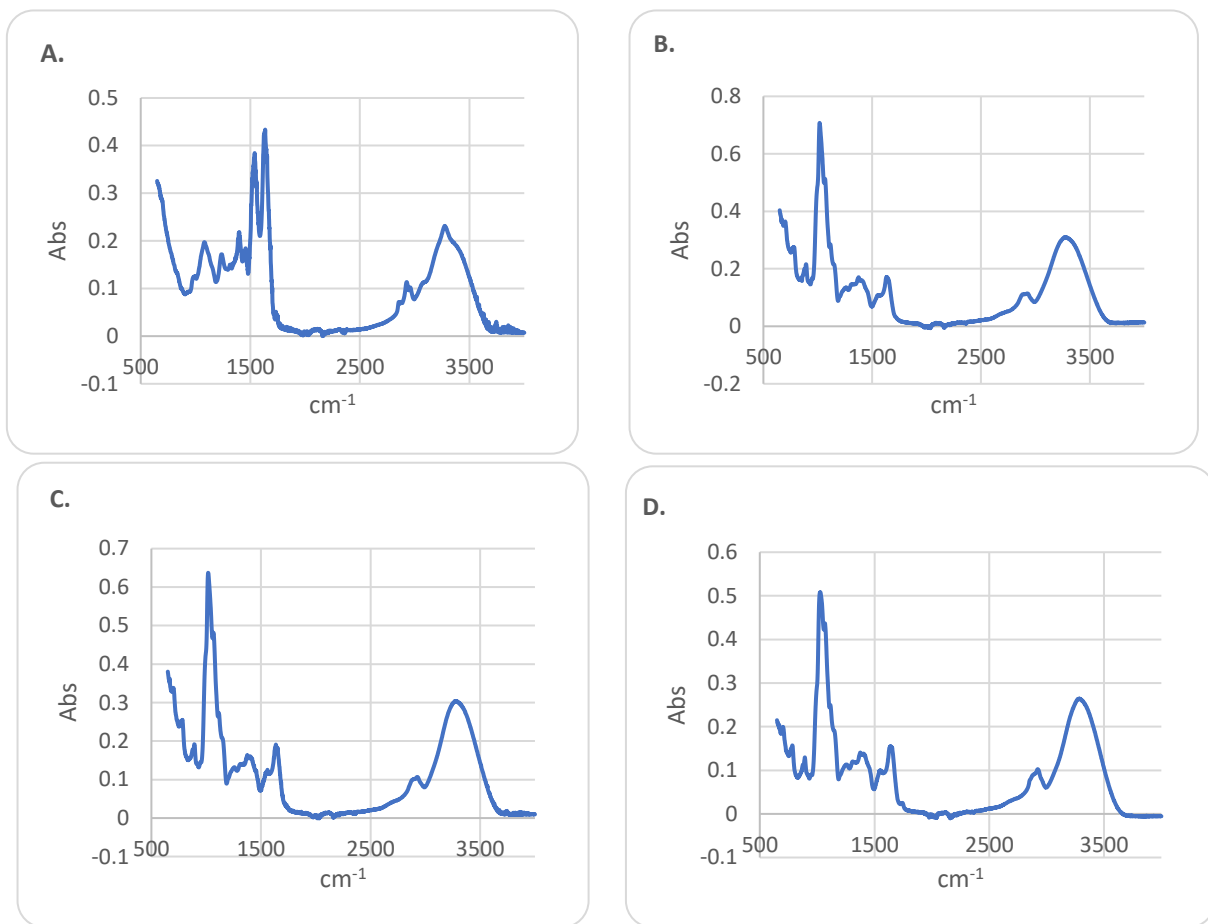


Figura 3.2. Espectros FTIR de proteína aislada de chícharo y sueros de geles de leche y de sistemas mixtos.

A. Dispersión de proteína aislada (5%) ultrasonificada. **B.** Suero expelido de gel de leche **C.** Suero de gel de mezcla 4:1 de LEB: PACH. **D.** Suero de gel de mezcla 3:1 de LEB: PACH.

Como puede observarse en la figura previa, las diferencias entre los espectros de los sueros expelidos de geles de leche y coágulos mixtos no es tan evidente, pues el comportamiento espectral típico de la PACH detectado en los picos de 1615 cm^{-1} y 1648 cm^{-1} , el cual es semejante al reportado por Gao et al., (2018), no se detectan con claridad en los espectros C y D. Por ello, el análisis se centró en la región de $800\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$.

En espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), las bandas amida I, II y III son características de las proteínas y los enlaces peptídicos (C=O, N-H, y C-N), que es el enlace fundamental en las proteínas (Conceição et al. 2019). En la Figura 3.3 A se presentan los espectros FTIR-ATR en la región de $800\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$. Se observan diferencias con respecto al control y a las proteínas de chícharo en las bandas que corresponden a la amida I ($1600\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$), amida II ($1500\text{ - }1600\text{ cm}^{-1}$) y la amida III ($1200\text{ - }1300\text{ cm}^{-1}$) de todas las muestras. La región de la amida I ($1600\text{ - }1700\text{ cm}^{-1}$) está relacionada con la vibración de estiramiento del enlace C=O, es considerada una de las bandas más útiles para analizar a detalle las estructuras secundarias de las proteínas. La región de la amida II ($1500\text{ - }1600\text{ cm}^{-1}$) se asocia a la combinación de las vibraciones de flexión del enlace N-H y a las vibraciones de estiramiento del enlace C-N en la amida, por lo tanto, esta banda es útil para

analizar interacciones de hidrógeno. Por su parte, la región de la amida III (1200 - 1300 cm^{-1}) involucra una mezcla de vibraciones de flexión del enlace N-H y estiramiento del enlace C-N, menos intensa que las bandas Amida I y II. Estas bandas son fundamentales para estudiar las proteínas mediante FTIR, ya que permiten identificar la estructura secundaria y los cambios conformacionales de las proteínas (Ruysschaert & Raussens, 2018). Por ello, los cambios en la forma e intensidad de estas bandas podrían indicar cambios en la estructura de las proteínas que se pueden deber a la interacción entre las mismas (González-Martínez et al. 2017). Por otro lado, también se observa una disminución en la intensidad de la banda que corresponde a la lactosa, lo que podría indicar una pérdida significativa de esta durante el proceso de manufactura.

Por otra parte, en la Figura 3.3 B se observan los espectros FTIR-ATR que corresponden a los sueros, en donde si se observa la presencia de este azúcar específicamente en la región que va de 1000-1200 cm^{-1} y que corresponde a la región de los carbohidratos (Conceição et al. 2019). No se observan diferencias con respecto al control en la forma de las bandas de los espectros que corresponden a los sueros evaporados, sin embargo, si se observa una disminución en la intensidad de las bandas, lo que podría estar relacionado con una mejor retención de las proteínas tanto de chícharo como de leche en el gel. Sin embargo, se precisas análisis más detallados para cuantificar y caracterizar las proteínas del suero.

Considerando que las evidencias obtenidas en esta etapa indicaban que los geles mixtos eran más suaves, retenían más agua, proteína y minerales y menos grasa que el control y que este efecto se potenciaba al aumentar la cantidad de PACH en la mezcla se decidió no seleccionar una sola razón de mezcla LEB: PACH para elaborar los PCMs sino que se optó por hacer las pruebas de la Etapa III con los dos tipos de mezcla para determinar si lo observado con sistemas modelo era reproducible empleando protocolos estándar de elaboración de queso.

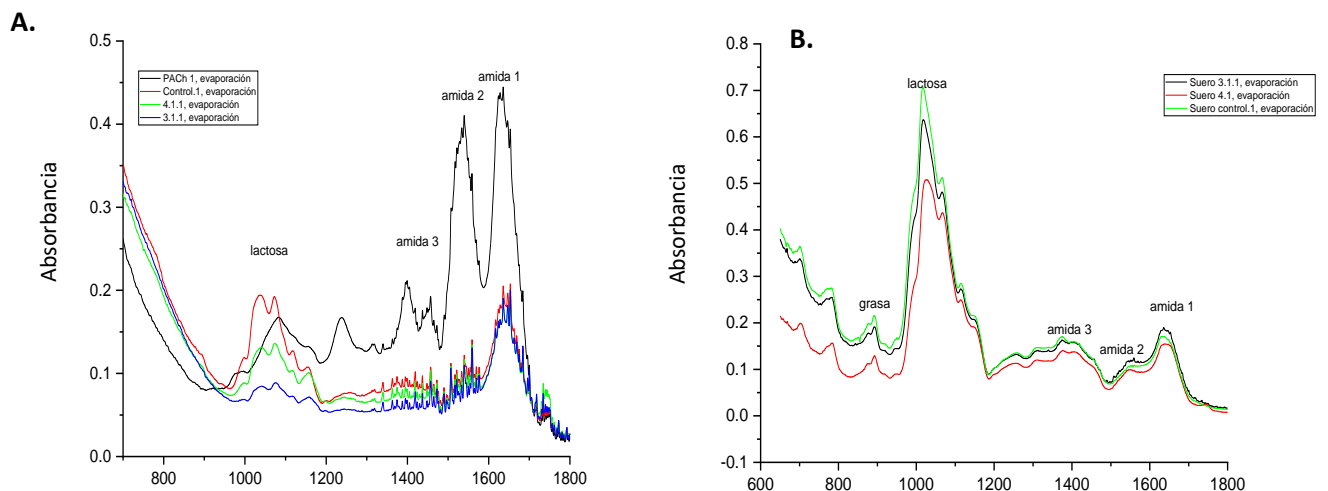


Figura 3.3. Espectros FTIR de proteína aislada de chícharo, leche y sueros de geles de leche y de sistemas mixtos en la región de 600 a 1800 cm^{-1}

A. Dispersión de proteína aislada (5%) ultrasonicada, leche y mezclas leche:PACH **B.** Suero de geles de leche y mezclas 4:1 y 3:1

3.3. ETAPA III: Elaboración de productos coagulados mixtos y evaluación de parámetros selectos durante su manufactura y almacenamiento refrigerado

3.3.1. Evaluación de parámetros de PCMs durante su elaboración

Se realizaron pruebas para evaluar la capacidad de las mezclas 4:1 y 3:1 de LEB: PACH para elaborar un PCM empleando un protocolo de manufactura semejante al de un queso panela, comparando cambios en los parámetros de elaboración y en las características de calidad de éstos durante el almacenamiento refrigerado con relación a un queso panela convencional. Los principales resultados de estas pruebas se discuten a continuación; imágenes selectas del proceso de elaboración de queso y PCMs y de la apariencia del producto terminado se presentan en el Anexo VI.

Se determinaron tiempo de coagulación, pH de desuerado, rendimiento verde y simple como parámetros de manufactura de PCMs y el control; los resultados se presentan en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5. Parámetros selectos durante la elaboración de PCMs y queso panela.

	Tiempo de coagulación (min)*	pH de desuerado**	Rendimiento verde (%)***	Rendimiento simple (%)***
Control	29.50 ± 3.00 ^B	6.48 ± 0.04 ^B	17.73 ± 1.79 ^A	14.30 ± 1.14 ^A
4:1	38.00 ± 2.00 ^A	6.57 ± 0.07 ^A	16.26 ± 1.12 ^A	15.25 ± 1.09 ^A
3:1	39.50 ± 3.00 ^A	6.59 ± 0.04 ^A	16.48 ± 1.00 ^A	15.63 ± 0.59 ^A

*N = 4; **N = 8; ***N = 6

^A Letras diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

En cuanto al tiempo de coagulación puede observarse que la adición de PACH produce un incremento significativo en su duración, el cual en promedio aumenta hasta 10 min (aproximadamente 33% más) para la mezcla 3:1, aunque no existe diferencia significativa (p<0.05) con respecto a la cantidad de PChs en la mezcla (38 min para la razón 4:1 vs 39.5 min para la 3:1). Esta tendencia coincide parcialmente con la reportado por diversos autores, dado que, como se mencionó en la discusión de la Etapa II, la formación de redes de micelas de caseína desestabilizadas en los geles lácteos, la adición de PChs en dichas estructuras puede retrasar la formación de un gel con grado adecuado de firmeza. En este sentido, Mazinani et al. (2020) elaboraron quesos feta coagulados por acidificación y adición de cuajo empleando mezclas de LEB, PACH y concentrado de proteína láctea, reportando un incremento en el tiempo requerido para la obtención del gel al aumentar la concentración de PACH. Lima-Nascimento et al., (2023) produjeron geles mixtos a partir de una dispersión ultrasonificada de caseínas micelares rehidratadas y PACH en una razón de 4:1; reportando que el tiempo de gelificación se incrementó en 11 min en comparación con el control de LEB (21.67 min); estos autores consideraron que el reemplazar parcialmente (20%) a las caseínas micelares por PACH provocó un retraso las etapas iniciales de agregación micelar que condujo a un aumento significativo en el tiempo de coagulación

Con respecto al pH de desuerado, la Tabla 3.5 muestra un aumento significativo en los valores de pH de los PCMs con respecto al control, independientemente de la cantidad de PChs en la mezcla. Trabajando con mezclas isoproteicas de leche descremada bovina y PACH, Oliveira et al (2022) observaron un comportamiento similar al aquí reportado, pues a un mismo nivel de proteína

las mezclas que contenían solo leche bovina presentaban una menor magnitud de pH que los sistemas mixtos antes de la coagulación, sin importar la cantidad de PCh agregada, esto debido a la presencia de compuestos acidificantes naturalmente presentes en la leche y a la considerable capacidad buffer que exhiben las proteínas solubles de chícharo (Bußler et al., 2015). En cuanto al pH del suero dulce del control éste se encuentra en el rango esperado para productos de esa naturaleza; Alsaed et al., (2013) reunieron sueros dulces de diversas plantas de procesamiento de quesos para determinar sus propiedades fisicoquímicas, reportando valores de pH de 6.02 a 6.58, por lo que se considera que el valor presentado en la Tabla 3.5 se encuentra dentro del rango esperado.

En cuanto al rendimiento verde y simple, la misma Tabla 3.5 muestra que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tres tipos de productos, aunque puede señalarse que el queso posee un valor promedio de rendimiento verde mayor que los PCMs, aunque también sufre la mayor pérdida de suero tras el prensado, como se explica más adelante. La menor sinéresis exhibida por el queso puede estar relacionada con el mayor contenido de grasa (3.82% vs 2.90-3.08%) y caseína (~2% vs ~1.5-1.6%) la leche en comparación con las mezclas LEB: PCh (Tabla 2.2) (Banks, 2007). Se ha observado que un mayor contenido de grasa en la leche puede coadyuvar a retrasar la sinéresis dado que los glóbulos actúan como obstáculos que impiden la salida de humedad del gel, lo que puede traducirse en un incremento en el rendimiento verde, aunque el efecto de una mayor concentración de caseína en la leche no tiene un efecto conclusivo (McSweeney, 2007c). Por otro lado, el rendimiento simple tampoco muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tres tipos de productos, aunque la tendencia cambia, pues el menor rendimiento promedio lo tiene el queso y se aprecia una mayor reducción entre el rendimiento verde y simple del control (3.43%), que entre aquellos de los PCMs (1.01% en 4:1 y 0.85% en 3:1), probablemente debido a la presencia de la PCh modificada estructuralmente. Se observa que, si se incrementa el contenido de PCh en los PCMs, hay una mayor retención de humedad, lo que se correlaciona con lo reportado en la Tabla 3.5 donde la CRA aumenta con la concentración de PCh en la mezcla; de acuerdo con Ben-Harb et al. (2018), una de las propiedades distintivas de las proteínas de legumbres es su alta CRA, la cual puede mejorar debido a la aplicación de diversos pretratamientos, como aquellos empleados en este proyecto.

En la Tabla 3.6 se presentan los datos de composición para los PCMs, así como los cálculos teóricos de porcentaje de carbohidratos y contenido energético.

Tabla 3.6. Composición al día 1 de PCMs de leche bovina y proteína aislada de chícharo.

Componente	3:1	4:1
<i>Humedad (%)</i>	66.78 ± 0.24 ^A	65.78 ± 0.31 ^A
<i>Proteínas (%)</i>	12.09 ± 0.32 ^A	12.5 ± 0.18 ^A
<i>Grasa (%)</i>	9.86 ± 0.11 ^B	11.19 ± 0.03 ^A
<i>Cenizas (%)</i>	3.35 ± 0.01 ^B	3.6 ± 0.00 ^A
<i>Carbohidratos (%)</i>	7.92	6.93
<i>Contenido energético teórico (kcal/100 g)</i>	168.78	178.43

*N = 4; **N = 8; ***N = 6

^A Letras diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

Dado que los PCMs no pueden ser considerados queso panela al contener proteínas vegetales, la comparación entre medias presentada en la Tabla 3.6 no toma en cuenta al control. De acuerdo con la NMX-F742-COFOCALEC-2012 el queso panela no debe contener proteínas de otro origen más que de leche y su composición debe ser tal que posea un mínimo de 20% de grasa, 17% de proteína y un máximo de 59% de humedad, que puede incrementarse hasta el 62% si se trata de un queso reducido en grasa. La composición del queso panela fue de 50.77 ± 0.44 , 18.46 ± 0.52 y 20.65 ± 0.15 g por 100 g para humedad, proteína y grasa, respectivamente, por lo que todos los parámetros composicionales están de acuerdo con la norma.

Como puede observarse, los contenidos de humedad y proteína no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre PCMs, a diferencia de los contenidos promedio de grasa y cenizas. En el caso de estos dos últimos, la mayor proporción de minerales y de grasa en los PCMs 4:1 se presume se debe simplemente a su mayor proporción de leche con relación al 3:1, la cual aporta la mayor parte de la grasa y todos los minerales insolubles (presentes en micelas de caseína) (ver Tabla 2.2). Dado que el PCM con mayor proporción de PCh (3:1) no redundó en un producto con mayor contenido de proteína, se presume que la matriz alimentaria tiene una capacidad limitada para captar proteínas no lácteas; considerando la similitud en el contenido proteico de ambos tipos de PCM y sabiendo que la influencia de las PChs sobre la CRA, esto pudo incidir directamente en que tampoco se observaran diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de humedad de los productos. Este comportamiento difiere de lo expuesto por Krentz et al. (2022) quienes reportaron que las cuajadas de mezclas de caseína dissociada: PACH exhibían mayores contenidos de humedad y de proteína cuando la concentración de PCh de la mezcla se reducía, atribuyéndolo a una mejora en la CRA debido a la ausencia de interferencias de las PChs en la conformación de la red proteica y a la contribución adicional de las proteínas de suero presentes en la leche, respectivamente.

Los PCMs exhiben un porcentaje sensiblemente mayor de humedad que aquel del control (49.48%), por ello, para evitar el efecto de dilución, valorar correctamente el grado de inclusión de las proteínas de leche y chícharo en los productos resultantes y realizar un análisis estadístico en forma, fue conveniente evaluar los porcentajes de proteína y grasa en base seca y los porcentajes de proteína y grasa retenidas, mismos que se muestran en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7. Proteína y grasa (base seca) y retenidas en productos coagulados mixtos vs control.

Producto	Proteína en base seca (%)	Proteína retenida (%)	Grasa en base seca (%)	Grasa retenida (%)
Control	37.49 ± 0.73^A	64.87 ± 0.32^B	41.94 ± 0.68^A	66.20 ± 2.02^A
4:1	36.54 ± 0.84^A	73.72 ± 1.04^A	32.68 ± 0.39^B	60.87 ± 0.19^B
3:1	36.40 ± 1.20^A	70.69 ± 1.82^A	29.68 ± 0.13^C	58.38 ± 0.67^B

*N = 4

^A Letras diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

Como puede observarse en la tabla previa los porcentajes de proteína en base seca de los PCMs y el control no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), a diferencia de los porcentajes de proteína retenida, de grasa en base seca y de grasa retenida. En cuanto a los índices de proteína, el porcentaje de base seca no varió significativamente ($p < 0.05$) a pesar de que las mezclas de LEB:

PACH poseían un mayor contenido neto de proteína que el control (+14.46% y +18.07% para 4:1 y 3:1, respectivamente), aunque con un menor contenido de caseína (89.74% y 86.77% del total de caseína en el control, respectivamente), lo cual indica una inclusión parcial de proteínas globulares en la cuajada, sin tener una plena certeza de si se tratan de proteínas de suero o chícharo. De acuerdo con Messian et al. (2017) en sistemas dispersos de PChs en presencia de caseína y sometidos a tratamiento térmico, la formación de agregados proteicos de PChs es más factible que la unión de éstas con micelas de caseína. Por ello, se presume que la inclusión de PChs en la cuajada puede estar entonces mediada por interacciones tipo puente de disulfuro entre éstas con proteínas de suero, como es descrito por Kristensen et al. (2020), las cuales eventualmente pueden unirse como agregados primarios a la micela de caseína, de manera análoga como ocurre con los agregados de beta lactoglobulina en tratamientos térmicos de leche a pH nativo. El porcentaje de proteína retenida aumentó significativamente ($p < 0.05$) en los PCM's en comparación con el control, sin importar la razón LEB: PACH empleada. Hinderink et al. (2021) afirman que la formación de geles mixtos por coagulación enzimática (como los elaborados en este proyecto) puede ser limitada dado que la renina por sí misma es incapaz de garantizar la inclusión de PChs en el coágulo a pesar de que el cuajo puede generar cierto grado de proteólisis en concentrados de origen vegetal, sugiriendo que se emplee en combinación con alguna enzima de entrecruzamiento como la transglutaminasa para mejorar la captación proteica. Como se mencionó anteriormente, el aumento en la proteína retenida puede atribuirse a que en los PCM's las PChs sustituyeron parcialmente a la caseína, probablemente asociadas con proteínas de suero desnaturalizadas (Kristensen et al., 2021) o formando interacciones PCh-PCh y unidas a para kappa caseína a través de puentes disulfuro, aunque el mecanismo de interacción no es claro. Por su parte, la reducción en los porcentajes de grasa en base seca y de grasa retenida en los PCM's puede explicarse por la ya citada inclusión de PChs en la red de caseína, que modifica la microestructura del producto, resultando en la formación de poros más grandes y huecos irregulares que impedían una retención apropiada de grasa; por otra parte, es bien sabido que la retención de grasa en la cuajada y eventualmente en el queso está fuertemente influenciada por las interacciones entre las regiones hidrofóbicas de la caseína y los glóbulos de grasa, los cuales son primero atrapados en la red proteica del gel y posteriormente mantenidos en el interior de la estructura del queso; entonces, se hipotetiza que al sustituir parcialmente la caseína hidrofóbica con PCh modificada para incrementar su interacción con el agua, la captación de grasa se disminuye. Estos resultados concuerdan con los de Monga et al. (2022), quienes elaboraron un PCM ácido tipo *paneer* con distintas razones de leche: extracto de PCh, observando que la concentración de grasa en los productos disminuía al aumentar el porcentaje de PCh en la mezcla.

Una vez separada la cuajada para continuar con su procesamiento, se realizó la medición de la composición de los sueros por ultrasonido de diagnóstico; los parámetros más relevantes se muestran en la Tabla 3.8. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) de los contenidos de grasa, lactosa, proteína y cenizas, así como de la densidad entre los PCM's y el control. En cuanto a la grasa, los sueros de PCM's exhibieron menor contenido que el control, aunque la diferencia entre los productos elaborados con mezclas 4:1 y 3:1 no fue significativa ($p < 0.05$). En cambio, el resto de los componentes (lactosa, proteína y cenizas) y la densidad disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) al aumentar la proporción de PACH en la mezcla.

Tabla 3.8. Composición de sueros de productos coagulados mixtos y control.

Producto	Proteína	Grasa	Lactosa	Cenizas	Densidad (kg·m ⁻³)
Control	0.86 ± 0.01 ^A	0.57 ± 0.08 ^B	5.28 ± 0.01 ^A	0.48 ± 0.01 ^A	1024.06 ± 0.44 ^A
4:1	0.73 ± 0.02 ^B	0.78 ± 0.06 ^A	4.51 ± 0.10 ^B	0.41 ± 0.01 ^B	1020.22 ± 0.48 ^B
3:1	0.70 ± 0.01 ^C	0.80 ± 0.05 ^A	4.35 ± 0.06 ^C	0.40 ± 0.01 ^C	1019.25 ± 0.74 ^C

*N = 17

^A Letras diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

La concentración de proteína en los sueros está en concordancia con los resultados de proteína retenida mostrados en la Tabla 3.7, dado que los productos que menos la mantuvieron al interior de su estructura lógicamente tendían a perderla en el suero. Bajo el mismo criterio, pero en sentido opuesto, los productos que más retuvieron grasa presentaron menores concentraciones de este componente en el suero, probablemente relacionado al aumento en el contenido de PCh discutido previamente. La mezcla 4:1 y 3:1 poseen, respectivamente, 90.8 y 88.1% del contenido de lactosa del control; por ello, la reducción observada en el porcentaje de este carbohidrato en sueros se atribuye a un balance másico mientras que la diferencia en contenido mineral al aumentar la cantidad de PCh en la mezcla puede atribuirse a la capacidad quelante exhibida por estas proteínas, en particular hacia algunos iones divalentes como calcio y magnesio (Kornet et al., 2021). Finalmente, las diferencias de densidad se considera que están relacionadas al mayor contenido de grasa de los sueros de los PCMs; la densidad de la grasa es menor a la leche descremada y por ello, una variación en contenido de este parámetro redundaría en una disminución en la magnitud de esta variable (Walstra et al., 2006).

Se obtuvo el volumen de desuerado a lo largo de 21 días de cada producto (Tabla 3.9). Los resultados para el análisis de varianza correspondiente demuestran nuevamente diferencias entre el control y los PCMs.

3.3.2. Evaluación de parámetros de PCMs durante su almacenamiento refrigerado

Se evaluaron características de calidad (textura y color instrumental) de los PCMs y control al día 1 y durante 14 d de almacenamiento refrigerado (4°C); además, se determinó el volumen de sinéresis en productos que permanecieron empacados en bolsas plásticas de manera inalterada durante los mismos 14 d de almacenamiento refrigerado. Los resultados de esta última prueba se presentan en la Tabla 3.9.

La pérdida de suero por sinéresis durante el almacenamiento es un fenómeno común encontrado en diversos tipos de queso fresco, tanto coagulados enzimáticamente como por ácidos y frecuentemente busca evitarse dado que se considera un defecto (Fox et al., 2017). Diversas soluciones tecnológicas se han propuesto en este sentido incluyendo la aplicación de barreras novedosas de conservación (Ruiz-Espinosa, 2017) o la incorporación de ingredientes que permitan disminuir la pérdida de humedad, como fuentes proteicas de bajo costo con sobresaliente CRA, capacidad emulsificante y gelificante (Salinas-Valdés et al., 2015), como es el caso de la proteína de chícharo (Lu et al., 2020).

Tabla 3.9. Volumen total de sinéresis en PCMs y queso panela tras 14 d de almacenamiento refrigerado.

Producto	Desuerado total (mL)*
Control	29.38 ± 4.92 ^A
4:1	21.75 ± 4.87 ^{AB}
3:1	17.88 ± 2.17 ^B

*N = 4

^A Letras diferentes indican diferencia significativa (p<0.05)

Como puede observarse en la tabla previa, los PCMs 3:1 exhibieron una reducción significativa (p<0.05) en la pérdida neta de suero (17.88 mL) durante el almacenamiento refrigerado en comparación con el control (29.38 mL), aunque los PCMs 4:1 no presentaron cambios significativos (p<0.05) en esta propiedad en comparación con el resto de los productos. La pérdida porcentual de suero por día de muestreo fue de aproximadamente 50% en cada uno (datos no mostrados). Considerando que la cantidad de humedad observada en los PCMs en comparación con el control fue significativamente mayor (p<0.05) al día 1 (ver Tabla 3.9) la sinéresis reducida durante el almacenamiento indica una mayor CRA de la PCh y una microestructura apta para la retención del suero, lo cual fue más evidente en los productos con mayor proporción de esta proteína (3:1). Evidencia previa muestra que en sistemas mixtos de PCh con caseína ambas proteínas exhiben un comportamiento competitivo al gelificar, por lo que tienden a formar redes proteicas independientes (Lima Nascimento et al., 2023) que pueden atrapar agua en medio de ellas, ayudando a mejorar la CRA del producto; el incremento en la cantidad de agua estructural en la PCh por los pretratamientos aplicados y de agua inmovilizada en los poros de la cuajada contribuyen a la reducción en la sinéresis de los PCMs (Oliveira et al., 2022).

Las propiedades texturales instrumentales evaluadas en el control y los PCMs se presentan en las Tablas 3.10- 3.13. La medición de las características texturales de los quesos y PCMs involucra la aplicación de una fuerza sobre una muestra con dimensiones preestablecidas, las cuales se miden a una tasa de deformación y temperatura específicas, monitoreando estos cambios a lo largo del tiempo. La forma en que reacciona el producto a esta fuerza depende de su composición (% de humedad, grasa y proteína); microestructura (la distribución espacial de sus componentes y su nivel de atracción para enlazarse inter e intra molecularmente); macroestructura (la organización de sus macrocomponentes incluyendo partículas de cuajada, depósitos de aire y corteza y la presencia de heterogeneidades como grietas y fisuras) y el estado fisicoquímico de sus componentes (razón grasa sólida: líquida, grado de agregación e hidratación de la matriz proteica) (Guinee, 2022). Existen diversas pruebas instrumentales que pueden emplearse para evaluar la textura de estos productos; el TPA y la evaluación de suavidad fueron las empleadas en este proyecto.

El TPA es una prueba donde la muestra de producto se somete a una doble compresión para determinar sus propiedades texturales y funciona como una simulación de su comportamiento durante la masticación (Johnson, 2023). Esta prueba puede cuantificar diversos parámetros en un solo experimento, pero las características relevantes para los productos evaluados en este proyecto fueron dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad. Los resultados de dureza, la fuerza máxima obtenida en el primer ciclo de compresión, se muestran en la Tabla 3.10.

Tabla 3.10. Evolución de dureza instrumental [g]

Producto	Días*		
	1	7	14
Control	667.65 ± 47.27 ^{Ca}	1078.31 ± 71.13 ^{Ba}	1804.10 ± 22.18 ^{Aa}
4:1	148.33 ± 7.28 ^{Ab}	160.24 ± 4.74 ^{Ab}	183.44 ± 8.45 ^{Ab}
3:1	122.34 ± 9.45 ^{Ab}	167.30 ± 23.41 ^{Ab}	176.08 ± 2.05 ^{Ab}

*N = 3

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa (p<0.05)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

Como puede observarse en la tabla previa el control exhibió una dureza significativamente mayor (p<0.05) en comparación con los dos PCMs a todos los tiempos de muestreo, mientras que entre ambos tipos de PCMs no se observó una diferencia significativa entre los valores promedio de esta propiedad. En cuanto a la evolución con el tiempo de la dureza para cada tipo de producto es evidente que la del control se incrementó significativamente conforme aumentaba el tiempo de almacenamiento refrigerado, mientras que el mismo parámetro en ambos PCMs no cambió significativamente con el tiempo; esto se relaciona con los resultados de etapas anteriores, debido a que como se ha mencionado, la CRA de los productos se incrementa al agregar PCh, provocando una reducción en la dureza. El comportamiento de aumento de dureza con el tiempo de almacenamiento en quesos frescos como el Panela se ha relacionado con una mayor pérdida de suero por sinéresis (Guinee, 2016), como se muestra en la Tabla 3.9. La misma tendencia de comportamiento fue observada por Amador-Espejo et al. (2021), quienes reportaron un aumento en la dureza de queso panela elaborado con LEB superior al 60% tras 14 d de almacenamiento, aunque en este caso, el aumento fue sensiblemente mayor para el control (~170%). En cuanto al comportamiento exhibido por los PCMs, éste se asemeja parcialmente al reportado por Mazinani et al. (2020) quienes indican que para productos mixtos tipo queso feta, elaborados por acidificación y adición de renina, todos los PCMs de mezclas de LEB: PCh exhibieron valores de dureza significativamente menores al control, aunque, a diferencia de los resultados de este proyecto, la dureza se redujo conforme la proporción de PChs se incrementaba en la mezcla y los PCMs aumentaban su dureza durante el almacenamiento refrigerado; en este proyecto, aunque la dureza de estos productos aumentó en un rango de ~20-40% tras 14 d de refrigeración, este no fue significativo (ver Tabla 3.10). La textura más suave en los PCMs puede estar relacionada con un mayor contenido de humedad y menor de caseína en comparación con el control. Mazinani et al. (2020) concluyeron que la PCh puede disminuir la dureza de los productos, debido a que impide que se forme adecuadamente la red de caseína, además de que puede colocarse en espacios libres de la red láctea y hacerla más débil.

En la Tabla 3.11 se presentan los datos de cohesividad durante el almacenamiento de PCMs vs control.

Tabla 3.11. Evolución de cohesividad instrumental.

Producto	Días*		
	1	7	14
Control	0.20 ± 0.03 ^{Bb}	0.25 ± 0.01 ^{Aab}	0.26 ± 0.01 ^{Aa}
4:1	0.23 ± 0.01 ^{Aab}	0.21 ± 0.01 ^{Ab}	0.17 ± 0.01 ^{Bb}
3:1	0.27 ± 0.03 ^{Aa}	0.27 ± 0.02 ^{Aa}	0.23 ± 0.02 ^{Aa}

*N = 3

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

La cohesividad instrumental en un producto alimenticio hace referencia a qué tanto éste resiste una segunda deformación relativa a su resistencia después de una primera compresión (Johnson, 2023). En quesos, la cohesividad es una propiedad crítica, pues nos da idea de la capacidad que tiene el producto para mantener su estructura sin desmoronarse cuando se ve expuesto a un esfuerzo de corte o deformación (Fox et al., 2017). Como puede observarse en la tabla previa, los valores de cohesividad de los PCMs exhibieron una tendencia significativamente decreciente con el tiempo de almacenamiento, a diferencia del control, cuyos valores de cohesividad se incrementaron durante el mismo periodo. Al día 1 la cohesividad del control fue significativamente menor ($p < 0.05$) que la del PCM 3:1, que exhibió el valor más alto de esta propiedad, aunque no se detectó una diferencia significativa entre ambos con el PCM 4:1; aunque al día 7 el PCM 3:1 continuó siendo el más cohesivo, la tendencia se invirtió al día 14, donde el valor más alto de cohesividad lo presentó el control, aunque sin diferencia significativa con el tratamiento 3:1.

Diversos factores composicionales (contenido de humedad, contenido y tipo de grasa, la concentración de caseína y la razón caseína: suero, pH, concentración de calcio y sal) y de procesamiento (particularmente la tasa de acidificación y el grado de proteólisis) pueden incidir sobre la cohesividad del queso. Así, por ejemplo, evidencia previa demuestra que la fusión de las partículas de caseína durante la manufactura de quesos lleva a una estructura continua con mayor cohesividad, formando una masa homogénea como reflejo de la desaparición de enlaces entre partículas (Guinee, 2016); esto implica que los productos con mayor contenido de proteína tienden a ser más densos y cohesivos por la abundancia de enlaces en la red proteica. Los resultados de cohesividad obtenidos en este proyecto presentan una tendencia opuesta, dado que, en base húmeda, el control al día 1 exhibe el mayor contenido de proteína, mientras que, en base seca, los PCMs y el control no presentan diferencia significativa ($p < 0.05$), por lo que se presume que otro factor composicional tuvo una mayor injerencia sobre la magnitud de cohesividad exhibida. El comportamiento observado se asemeja al del estudio realizado por Salinas-Valdés et al., (2015) quienes elaboraron PCMs tipo queso panela adicionados con proteína de soya, reportando que las muestras con una mayor cantidad de proteína vegetal fueron más flexibles, con valores de cohesividad más altos.

En este sentido se ha reportado que la cohesividad puede incrementarse al reducirse el contenido de humedad de los quesos por un aumento en la proporción relativa de caseínas y de ácidos orgánicos en productos más secos (Zheng et al., 2016). Esta tendencia fue observada en el control, que fue el que tuvo una mayor pérdida de agua por sinéresis durante el almacenamiento y presentó un incremento en su valor de cohesividad. Adicionalmente, se sabe que un pH más bajo en

el queso incrementa las interacciones proteicas y aumenta la cohesividad, fenómeno observado en el control, como puede constatarse en la Tabla 3.11, aunque la tendencia fue la opuesta para el caso de los dos PCMs, que también redujeron su pH de manera significativa durante el almacenamiento. Finalmente, la cohesividad generalmente disminuye al aumentar el porcentaje de grasa por efecto lubricante (Gunasekaran & Ak, 2003), mismo comportamiento observado en el control al día 1. Como puede observarse, los cambios de cohesividad son complejos y las tendencias reportadas para quesos no necesariamente se adaptan al comportamiento observado en PCMs. Algunos autores mencionan que el agregar proteína vegetal a una matriz láctea puede modificar su cohesividad, pues este tipo de ingredientes no sólo induce cambios en la calidad y características funcionales de los quesos, sino también promueven una composición variada en proteínas (Zhang et al., 2023a)

La elasticidad es una propiedad textural donde un sólido regresa a su forma original después de haber sido deformado en una primera compresión, y tras un tiempo determinado, ha sido comprimido una segunda vez. Se expresa como la distancia de la altura detectada durante la segunda compresión dividida entre la distancia de la compresión original (Johnson, 2023). La elasticidad se considera una propiedad textural esencial del queso panela, que está relacionada con su capacidad para recuperar la misma estructura después de una primera mordida (Salinas-Valdés et al., 2015). En la Tabla 3.12 se observan los datos de elasticidad durante el almacenamiento de PCMs vs control.

Tabla 3.12. Evolución de elasticidad instrumental.

Producto	Días*		
	1	7	14
Control	0.90 ± 0.03 ^{Aa}	0.92 ± 0.01 ^{Aa}	0.94 ± 0.01 ^{Aa}
4:1	0.43 ± 0.03 ^{Bb}	0.59 ± 0.06 ^{Ab}	0.56 ± 0.01 ^{Ab}
3:1	0.37 ± 0.01 ^{Ab}	0.40 ± 0.01 ^{Ac}	0.44 ± 0.00 ^{Ac}

* N = 3

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa (p<0.05)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

La adición de proteína de chícharo provocó una disminución significativa en los valores de elasticidad de los PCMs a todos los tiempos de muestreo; en todos los casos, la mayor disminución de elasticidad se presentó en los productos con mayor incorporación de PACH (3:1), aunque las diferencias sólo fueron significativas con los otros PCMs a los días 7 y 14 de almacenamiento refrigerado. De acuerdo con Fox et al. (2016) el contenido de humedad de los quesos y productos análogos afecta en gran medida su capacidad elástica; la humedad presente en los quesos actúa como un agente plastificante, incrementando su susceptibilidad a la fractura al ser comprimido y reduciendo su elasticidad, lo cual está en concordancia con el contenido incrementado de humedad de los PCMs (Tabla 3.6). Estos resultados difieren de los reportados por Salinas-Valdés et al. (2015), quienes elaboraron productos tipo queso panela adicionados con proteína de soya, reportando que la elasticidad de los PCMs fue similar en todo momento a la exhibida por el queso panela, independientemente de la concentración de proteína vegetal añadida, aunque estos autores usaron transglutaminasa para favorecer las interacciones interproteicas. Por otra parte, los resultados de

este proyecto si se asemejan a lo reportado por Lobato-Calleros et al. (2016), quienes añadieron otro polímero de distinta naturaleza como la pectina a los PCMs tipo panela, lo cual indujo la formación de una matriz más abierta que disminuyó la elasticidad de los PCMs; estos autores argumentan que este polisacárido puede disminuir la flexibilidad y capacidad de la red proteica después de una deformación, probablemente por una interrupción de las interacciones caseína-caseína en las cadenas proteicas causadas por la presencia de las moléculas de pectina altamente hidratadas. La presencia de una red más abierta debido a la adición de proteínas no lácteas debilita la textura del PCM y altera sus propiedades reológicas y texturales incluyendo la elasticidad de quesos (Zhang et al., 2023a).

Por otra parte, en todos los productos evaluados, la elasticidad, presentó pocos cambios significativos a lo largo del tiempo de almacenamiento ($p < 0.05$); el control y el PCM 3:1 no modificaron su elasticidad durante la refrigeración, mientras que el PCM 4:1 la incrementó significativamente ($p < 0.05$). Los quesos pueden llegar a modificar sus valores de elasticidad durante el almacenamiento refrigerado dependiendo del nivel de pH, el grado disociación de fosfato de calcio coloidal y la proporción de caseína que permanece intacta (USDEC, 2017); el factor más importante que produce un cambio en la elasticidad de los quesos durante el almacenamiento es el grado de proteólisis de la caseína, la cual es afectado predominantemente por la maduración; debido a que los quesos y PCMs elaborados fueron frescos, un cambio mínimo en la elasticidad era esperado. Se ha reportado que un producto con pH en el rango de 5.2 a 5.6 puede exhibir una fractura marcada y un ligero incremento en la elasticidad (Bansal & Veena, 2024), lo cual puede explicar el comportamiento del PCM 4:1 a partir del día 7.

En la Tabla 3.13 se observan los valores de masticabilidad para los PCMs y queso panela manufacturados y su evolución durante el almacenamiento refrigerado.

Tabla 3.13. Evolución de masticabilidad instrumental [g]

Producto	Días*		
	1	7	14
Control	121.86 ± 27.66 ^{Ca}	245.44 ± 19.11 ^{Ba}	444.56 ± 20.75 ^{Aa}
4:1	14.82 ± 2.34 ^{Ab}	20.21 ± 3.75 ^{Ab}	17.25 ± 2.27 ^{Ab}
3:1	11.53 ± 0.37 ^{Ab}	18.91 ± 2.58 ^{Ab}	18.63 ± 1.31 ^{Ab}

*N = 3

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

La masticabilidad se aplica sólo a productos sólidos; este parámetro se obtiene de manera indirecta y se calcula multiplicando dureza × elasticidad × cohesividad (Johnson, 2023); puede definirse también como la energía requerida para masticar el queso hasta que sea adecuado para deglutir; por ende, mientras mayor sea este valor, más alta será la resistencia del producto a romperse tras la masticación (Fox et al., 2017). Como puede observarse en la Tabla 3.13, la masticabilidad del control fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que la de los PCMs, a todos los tiempos de muestreo, mientras que esta propiedad no varió significativamente con la cantidad de PACH añadida, pues los PCMs no exhibieron diferencia significativa entre si a ningún tiempo de

muestreo. Además, dado que la masticabilidad se encuentra fuertemente correlacionada con los valores de dureza (Zisu & Shah, 2005), ésta se incrementó en el control durante el almacenamiento, siguiendo una tendencia similar a la observada en estos productos con la dureza (ver Tabla 3.10). De manera análoga, Lobato-Calleros et al. (2006) elaboraron un PCM tipo queso panela de leche descremada adicionada con pectina, reportando que la inclusión de este polisacárido disminuía la dureza del producto, impactando indirectamente en la magnitud de su masticabilidad; la masticabilidad puede estar también influenciada por la estructura y la fuerza de los enlaces internos de las muestras debido a su perfil de aminoácidos y a las interacciones que éstos pueden establecer (Salinas-Valdés et al., 2015); así, la inclusión de un polímero ajeno a la estructura usual de la cuajada, como la PACH pudo alterar el tipo y magnitud de estos enlaces y, en consecuencia, reducir el valor de masticabilidad en PCMs.

Amador-Espejo et al. (2021) indican que algunos parámetros de textura del queso panela pueden cambiar a lo largo del tiempo, especialmente dureza y masticabilidad; además, reportaron una relación directa entre estos dos parámetros, especialmente por la pérdida de humedad y concentración de proteína, independientemente del pretratamiento de la leche para elaborar los productos. Las proteínas poseen una importancia determinante en la textura de los quesos, dado que representan el principal componente de la fase sólida del producto. Por tanto, cualquier modificación relativa al contenido o la naturaleza de la proteína en un queso modificará su textura.

Finalmente, un término textural que puede ser importante para caracterizar a los quesos es la gomosidad; *a priori*, este parámetro no se contempló en este proyecto, dado que es mutuamente excluyente de la masticabilidad, debido a que un producto no puede ser sólido (masticable) y semisólido (gomoso) a la vez (Johnson, 2023); la gomosidad se refiere a la energía requerida para desintegrar un alimento semisólido hasta que esté apto para deglutir (Fox et al., 2017). Considerando sus características típicas y numerosas referencias previas que emplean a la masticabilidad como el parámetro apropiado para describir al queso panela, éste se utilizó en este proyecto, sin embargo, dadas las características diferentes y funcionalidades únicas que exhibieron los PCMs elaborados se sugiere tomar en cuenta la evaluación de la gomosidad en investigaciones futuras.

Los valores de pH de los PCMs comparados con el queso panela control al inicio y al final del periodo de almacenamiento se muestran en la Tabla 3.14.

Tabla 3.14. Evolución de pH de PCMs vs control durante su almacenamiento refrigerado.

	Días*		
	1	7	14
Control	6.71 ± 0.13 ^{Aa}	6.29 ± 0.07 ^{Ba}	5.80 ± 0.03 ^{Ca}
4:1	6.76 ± 0.07 ^{Aa}	6.18 ± 0.01 ^{Ba}	5.50 ± 0.08 ^{Cb}
3:1	6.79 ± 0.07 ^{Aa}	6.31 ± 0.09 ^{Ba}	5.75 ± 0.27 ^{Cab}

*N = 4

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa (p<0.05)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

Como puede observarse en la tabla previa, los valores de pH para queso panela y PCMs se redujeron significativamente ($p < 0.05$) durante el almacenamiento, aunque no se presentaron diferencias significativas entre los productos en cada tiempo de muestreo, con excepción del control y el PCM 4:1 a los 14 días de refrigeración. No se observó un cambio en el pH al incrementar la concentración de PACH en el producto. Dicho comportamiento difiere de los resultados de Mazinani et al. (2020), donde al añadir una mayor concentración de PACH a los PCMs tipo queso feta, el pH disminuyó en mayor magnitud desde la primera medición y durante 30 d de almacenamiento refrigerado.

Los quesos pueden exhibir una disminución de pH durante su almacenamiento refrigerado debido a la influencia de diversos factores, incluyendo fermentación de bacterias acidolácticas (particularmente en quesos frescos, que poseen una cantidad elevada de lactosa residual), por procesos lipolíticos (la hidrólisis de triglicéridos genera producción de ácidos grasos) y por metabolismo secundario de compuestos generados por proteólisis (Fox & McSweeney, 2017), aunque probablemente en queso panela el primer mecanismo es el predominante. En este sentido, Parra-Ocampo et al. (2020) reportaron una reducción en el pH de queso panela de 6.5 a 4.89 tras 15 d de almacenamiento refrigerado, atribuyéndolo al crecimiento de bacterias acidolácticas sobrevivientes al proceso térmico de leche o que pueden introducirse al producto por contaminación postproceso, como especies de diversos géneros como *Lactobacillus* sp y *Lactococcus* sp. Por su parte, Amador-Espejo et al. (2021) reportan valores más bajos de pH al día 1 (6.38 ± 0.02) en queso panela, aunque al día 14, a diferencia de lo aquí reportado (una disminución de ~ 0.9 unidades), no observaron cambios significativos en el pH de la muestra (6.36 ± 0.08). Los cambios en pH durante el almacenamiento pueden afectar la microestructura de los quesos, y, por lo tanto, sus características texturales y tecno-funcionales, tanto positiva o negativamente. El pH incide altamente sobre la proporción de fosfato y iones de calcio en la cuajada, la retención de quimosina y pepsina, así como la tasa de sinéresis y la composición (particularmente, el porcentaje de humedad), parámetros que determinan la estructura básica del queso, en particular por su efecto sobre la solubilización de fosfato de calcio coloidal e incremento en la tasa de rearrreglos dentro de la matriz proteica (Bansal & Veena, 2024, Watkinson et al., 2011). Un pH en el rango de 5.2-5.6, como aquel exhibido por los PCMs al día 14, puede producir quesos con fracturas marcadas y un ligero incremento en elasticidad.

Se ha reportado que la adición de proteínas vegetales a quesos análogos puede alterar la magnitud del pH y su evolución durante el almacenamiento refrigerado. De acuerdo con los resultados de Oliveira et al., (2022), al incrementar el contenido de PACH en mezclas con proteína láctea empleada para elaborar geles puede provocar un ligero aumento del pH en productos elaborados con sólo proteína láctea (lo que también se observa en la Tabla 3.14 al día 1, aunque sin que dicha diferencia sea significativa).

Entre los atributos de calidad que pueden determinar la aceptación de un producto se encuentra el color; debido a que puede poseer una gran influencia en el juicio de los consumidores al adquirir un producto (McSweeney, 2007f). El color es la sensación experimentada por un individuo cuando la energía radiante dentro del espectro visible (380 -770 nm) cae en la retina del ojo; para que este fenómeno ocurra es importante que se presente un objeto con color, luz en la región del espectro visible y un observador (Wrolstad & Smith, 2017).

Los valores de luminosidad (L) obtenidos en la determinación de color triestímulo de PCMs vs control al día 1 y durante el almacenamiento refrigerado se presentan en la Tabla 3.15.

Tabla 3.15. Evolución de L de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.

	Días*		
	1	7	14
Control	84.02 ± 0.63 ^{Aa}	82.99 ± 0.92 ^{Aa}	83.33 ± 1.38 ^{Aa}
4:1	80.99 ± 1.27 ^{ABb}	79.44 ± 0.59 ^{Bb}	81.62 ± 0.69 ^{Ab}
3:1	80.63 ± 0.67 ^{Ab}	77.70 ± 1.58 ^{Bc}	81.22 ± 1.46 ^{Ab}

*N = 9

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa (p<0.05)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

Sin importar el día de muestreo, los valores de L del control fueron significativamente (p<0.05) más altos que los de los PCMs. Además, en términos generales, L disminuyó levemente a los 7 días de almacenamiento, para volver a incrementarse a los 14 d, aunque no en todos los casos el cambio observado fue significativo (p<0.05). El valor reducido en L en los PCMs puede atribuirse a varios factores, incluyendo al tamaño de partícula de las proteínas de chícharo y a la presencia de pigmentos en el aislado proteico. La luminosidad de una PACH amarillo es de ~70, aunque puede haber variaciones atribuibles al método de secado de la proteína, al tipo de cultivo y la naturaleza de los compuestos fenólicos presentes en las leguminosas (Asen et al., 2023).

Diversos factores influyen el valor de L en quesos, incluyendo los porcentajes de humedad y grasa en el producto; la microestructura del queso (en particular en cuanto a la uniformidad del arreglo de las proteínas), el pH y la presencia de compuestos coloridos, usualmente provenientes de la alimentación del ganado. L toma valores de 100 cuando el producto tiende a ser blanco y 0 cuando se aproxima al color negro. El queso panela usualmente posee valores altos de L debido al bajo contenido de grasa, en comparación con otros estilos de queso; los quesos más altos en grasa usualmente desarrollan colores más amarillos por la mayor concentración de pigmentos liposolubles como los carotenos. Los valores de L de queso panela se encuentran en el rango obtenido en otras investigaciones previas. Así, Amador-Espejo et al., (2021), reportan valores promedio de L de 80.06, mientras que Caro et al., (2014) indican que el valor L promedio fue de 88.3. Variaciones de este parámetro en el control pueden atribuirse al número de partículas en leche capaces de dispersar la luz, especialmente caseínas (Oliveira et al., 2022). De manera similar a lo aquí reportado, Mazinani et al. (2020) obtuvieron valores de L de PCMs elaborados con PACH por debajo de aquella del control a todos los tiempos de muestro (1-30 d); sin embargo, a diferencia de este trabajo, estos autores reportan valores de L en un rango ligeramente menor al día 1 (86.66) y observaron una reducción significativa de luminosidad con el tiempo y al incrementar el contenido de PACH en el PCM, atribuyéndolo a la mayor proporción de pigmento presente en la PACH. Los resultados de un incremento en L podrían estar relacionados positivamente con un incremento en la humedad del producto, es decir del día 7 al 14 (Caro et al., 2014).

Como se mencionó antes, el parámetro *a* abarca colores que van desde verde (-a) hasta rojo (+a); el valor de *a* al día 1 fue positivo, lo que se relaciona con la presencia de pequeñas cantidades

de carotenoides que pueden aportar tonalidades naranjas o rojizas y a cantidades remanentes de lactoferrina en la LEB (Oliveira et al., 2022). Por otra parte, el incremento de *a* en el control a lo largo del almacenamiento del control coincide con los resultados de Ramírez-López & Veléz-Ruiz (2018), quienes mencionan un incremento en dicho valor en mediciones de color en almacenamiento de queso panela, probablemente relacionada a la concentración de sólidos durante el almacenamiento.

Tabla 3.16. Evolución de *a* de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.

	Días*		
	1	7	14
Control	0.39 ± 0.13 ^{Cb}	0.54 ± 0.04 ^{Bb}	0.70 ± 0.07 ^{Ac}
4:1	1.36 ± 0.10 ^{Ba}	1.54 ± 0.09 ^{Aa}	1.56 ± 0.13 ^{Ab}
3:1	1.44 ± 0.06 ^{Ba}	1.61 ± 0.08 ^{Aa}	1.70 ± 0.08 ^{Aa}

*N = 9

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa (p<0.05)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

De acuerdo con la Tabla 3.16, se muestran diferencias significativas (p<0.05) entre el control y los PCMs al día 1, lo que demuestra que cuando se agrega PACH a la LEB, se obtiene un producto más rojo. Sabemos que el aislado de PCh que se empleó en el proyecto fue obtenido a partir de chícharo amarillo, un estudio (Asen et al., 2023) reporta que el valor de *a* de un aislado de esta leguminosa es de 2.21, por lo tanto, se puede afirmar que los pigmentos del aislado, incluyendo diversos tipos de carotenoides (Kan et al., 2018) influyeron en el color de las muestras. Se aprecia que el valor de *a* incrementa al agregar una mayor concentración de PACH en los productos, debido a un mayor número de pigmentos por unidad de masa. Durante el almacenamiento, se aprecia un incremento del valor de *a* en los PCMs, lo que coincide con los resultados de Mazinani et al. (2020), quienes mencionan que los carotenoides principales que posee el chícharo son xantófilos, y pueden encontrarse en remanentes de la testa de la semilla, y por lo tanto en la PACH.

Tabla 3.17. Evolución de *b* de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.

	Días		
	1	7	14
Control	11.61 ± 0.74 ^{Bb}	12.73 ± 0.42 ^{Ab}	12.79 ± 0.62 ^{Ab}
4:1	13.49 ± 0.95 ^{Ba}	14.62 ± 0.67 ^{Aa}	14.77 ± 0.91 ^{Aa}
3:1	13.89 ± 0.55 ^{Ba}	15.00 ± 0.35 ^{Aa}	15.34 ± 0.64 ^{Aa}

*N = 9

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa (p<0.05)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

El parámetro *b* está asociado con la presencia o ausencia de moléculas que reflejan el color amarillo o azul. En el caso de la leche, los carotenoides están asociados con la proporción de grasa, ya que son los responsables de la tendencia hacia el amarillo; por su parte, el color azul puede estar asociado a la presencia de antocianinas (Kan et al., 2018). Por lo tanto, un valor más alto de *b* en un

queso panela se puede atribuir a una mayor concentración de grasa en la muestra (Oliveira et al., 2022). De acuerdo con los resultados de Amador-Espejo et al. (2021), se observa un incremento de b durante el almacenamiento en refrigeración de queso panela, lo que coincide con nuestros resultados. La Tabla 3.17 muestra que los tres productos evaluados presentaron el mismo comportamiento, aunque los valores de b de los PCMs fueron, evidentemente mayores con respecto del control. Un estudio indicó que el valor de b de una PACH amarillo fue de 19.25 (Asen et al., 2023), lo que puede relacionarse con un incremento en la concentración de pigmentos amarillos en los PCMs finales; a conclusiones similares llegaron Omrani Khiabani et al., (2019) quienes reportaron que al incrementar la cantidad de PACH en quesos feta adicionados con PCh el valor de b incrementó. Esto coincide con lo aquí observado, aunque no se mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ambos PCMs a lo largo del tiempo; por otro lado, se aprecia que a partir del día 7, hubo un incremento significativo ($p < 0.05$) en el parámetro b de ambos PCMs.

En la Tabla 3.18 se presentan los valores de hue para los productos evaluados. El valor del ángulo hue depende de los valores de a y b. En el sistema de plano cartesiano, 0° representa rojo, 90° representa amarillo, 180° verde y 270° azul (Wrolstad & Smith, 2017), por tanto, podemos afirmar que el control tiende a ser más amarillo que el resto de las muestras, debido a que en todos los días de medición se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los PCMs y el queso panela. Esto puede deberse a la presencia de diferentes niveles y tipos de carotenoides en las muestra (Kan et al., 2018). Durante el almacenamiento, además, no se mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las mediciones a lo largo del tiempo en el control; esta tendencia se asemeja a la obtenida por Amador-Espejo, et al., (2021), aunque los valores obtenidos por dichos autores fueron aprox. 3° más bajos, lo que puede indicar una mayor concentración de grasa en nuestra materia prima.

En cuanto a las muestras de PCMs, observamos que no presentan diferencias significativas entre ambos ni a lo largo del almacenamiento; sin embargo, es importante mencionar que pueden contener una menor cantidad de carotenoides debido a una menor proporción de grasa en el producto como indica la Tabla 3.7. A pesar de lo anterior, podemos decir que los tres productos presentan un valor del ángulo hue localizado en el cuadrante amarillo, como se esperaba para este tipo de productos (Ramírez-López & Veléz-Ruiz, 2018).

Tabla 3.18. Evolución de Hue de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.

	Días*		
	1	7	14
Control	88.11 ± 0.01 ^{Aa}	87.56 ± 0.00 ^{Aa}	86.86 ± 0.01 ^{Ba}
4:1	84.20 ± 0.06 ^{Ab}	83.99 ± 0.03 ^{Ab}	83.97 ± 0.04 ^{Ab}
3:1	83.87 ± 0.03 ^{Ab}	83.67 ± 0.02 ^{Ab}	84.09 ± 0.03 ^{Ab}

*N = 9

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

En la Tabla 3.19 se observa la evolución de chroma durante el almacenamiento de quesos panela vs PCMs. El valor de chroma incrementa cuando aumenta la concentración de los pigmentos, y disminuye cuando la muestra se vuelve más oscura (Wrolstad & Smith, 2017), además, se ha

reportado que un incremento en el valor de chroma puede ocasionarse en consecuencia de un aumento de a y b (Ramírez-López & Veléz-Ruiz, 2018). Ruiz-Espinosa (2017) reportó valores de C de queso panela en almacenamiento, observó un incremento a lo largo de 21 días, aunque sin diferencia significativa ($p < 0.05$). Dicha tendencia coincide con la de este proyecto, aunque es importante mencionar que sí se encontró una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el día 1 y 7 en todas las muestras; lo que puede indicar que en los primeros 7 días de almacenamiento hubo una concentración de las moléculas en los PCMs, que puede relacionarse a una disminución en la humedad. Se observa que chroma sigue una tendencia similar que b (Tabla 3.17), por lo que es posible que los pigmentos que influyen en b incidan directamente también en el valor de chroma.

Tabla 3.19. Evolución de chroma de PCMs vs control durante almacenamiento refrigerado.

	Días		
	1	7	14
Control	11.62 ± 0.75 ^{Bb}	12.74 ± 0.43 ^{Ab}	12.81 ± 0.62 ^{Ab}
4:1	13.56 ± 0.94 ^{Ba}	14.70 ± 0.67 ^{Aa}	14.85 ± 0.92 ^{Aa}
3:1	13.97 ± 0.55 ^{Ba}	15.08 ± 0.35 ^{Aa}	15.43 ± 0.64 ^{Aa}

*N = 9

^A Mayúsculas diferentes en la misma fila representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

^a Minúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa ($p < 0.05$)

3.4. ETAPA IV Análisis Sensorial Descriptivo de textura de PCMs

Aunque existen tres diferentes planteamientos para identificar los distintos tipos de quesos, el principio de textura, el cual está ampliamente determinado por el % de humedad y contenido de grasa, suele ser el principal; de acuerdo con este parámetro los quesos pueden ser descritos como duros, semiduros y suaves. El siguiente método de clasificación suele ser el tipo de coagulación, en el que la mayoría puede identificarse como quesos coagulados con cuajo; y finalmente, los productos *tipo queso* son clasificados en un grupo por separado (McSweeney, 2007b). Por lo tanto, al agregar PACH a la formulación de un queso, según SAGARPA (2018), éste ya no puede denominarse como tal, por ende, no podemos clasificar a dicho producto de acuerdo con los regímenes impuestos para los quesos; a pesar de que el procedimiento de manufactura es igual al de un queso panela, el contenido de humedad fue mayor y el de grasa menor. Por lo tanto, se decidió aplicar una prueba de análisis descriptivo a los PCMs para establecer posibles diferencias texturales de acuerdo con la cantidad de PACH incorporada. De acuerdo con lo anterior, podemos decir que una evaluación sensorial puede llevarse a cabo para verificar características perceptibles entre dos o más productos y cómo éstas pueden ser descritas y cuantificadas, además de si los consumidores las encuentran aceptables o no. Existen diversos métodos de análisis descriptivo, dentro de los cuales se encuentra el método Spectrum[®], que involucra y define una terminología o vocabulario mediante el cual se describen las características sensoriales de un producto; este método tiene como objetivo entrenar a un grupo de individuos para operar como un instrumento que identifique atributos sensoriales (Drake, 2022).

El método Spectrum[®] es pragmático pues proporciona guías para el diseño de un procedimiento de perspectiva para una categoría de productos; y se emplea para un mejor entendimiento de las propiedades sensoriales de él. Las recomendaciones obtenidas en este método

pueden ayudar a formular nuevos productos o mejorar los actuales. Este método puede aplicarse a un producto o una variedad de ellos, los cuales pueden ser descritos en términos de apariencia, aroma, sabor, *flavor*, textura o características de sonido.

El entrenamiento del panel ayuda a formar un equipo que se desempeñe de manera independiente, debido a que el entrenador ayuda a construir la confianza del panel, además, en dicho método es esencial emplear términos técnicos que puedan ser relacionados directamente a los ingredientes y el proceso de acuerdo con la química del alimento. Es importante mencionar que un panelista entrenado no necesita ser consumidor del producto a evaluar, y que la familiaridad con él no influye en las habilidades de descripción y análisis de los panelistas. Este método puede ejecutarse como un consenso o no, aunque la mayoría de los usuarios lo emplean para recolectar datos individuales. Los datos obtenidos en un consenso ofrecen la flexibilidad de tener discusiones críticas sobre los atributos y la percepción de la intensidad, lo que lleva a perfiles más precisos y permiten a cada panelista afinar y mejorar sus habilidades de degustación, ya que algunos integrantes pueden presentar confusiones, y es posible emplear las habilidades de todo el grupo para asignar los términos apropiados. Vale la pena señalar que el realizar consensos en la prueba sensorial no exime aplicar análisis estadísticos en esta etapa, lo que indica que aun así pueden existir variaciones en los resultados de cada juez (Meilgaard et al., 2016).

Con base en lo descrito anteriormente, la Tabla 3.20 presenta los resultados del análisis sensorial descriptivo desarrollado para los PCMs elaborados en el presente proyecto.

Tabla 3.20. Análisis Sensorial descriptivo de parámetros de textura en PCMs elaborados con PACH.

	Dureza	Cohesividad	Fuerza de compresión	Adhesividad
4:1	1.82 ± 0.25 ^A	6.07 ± 0.27 ^A	1.89 ± 0.29 ^A	2.64 ± 0.31 ^B
3:1	1.46 ± 0.13 ^B	6.28 ± 1.07 ^A	1.36 ± 0.50 ^B	3.04 ± 0.31 ^A

*N = 14

^A Mayúsculas diferentes en la misma columna representan una diferencia significativa (p<0.05)

El primer parámetro evaluado fue la dureza, que se refiere a la fuerza requerida para comprimir la muestra en la primera mordida. De acuerdo con la Tabla 3.20, podemos decir que la dureza detectada por el panel sensorial es más cercana a la del queso crema (1) que a la del huevo cocido (2.5), especialmente cuando se incrementa la cantidad de PACH en el PCM, en la escala empleada de 1 a 14.5 puntos, la dureza con molares detectada fue baja. El queso crema es un lácteo ácido que se considera fresco, posee una textura cremosa y untable (Bryant & Steffe, 1995), por consiguiente, los PCMs muestran este tipo de características, debido a que como se ha discutido anteriormente, es posible que las PChs intervinieran en las cadenas de caseína formadas en la cuajada, formando un gel más blando que el de un queso panela.

El siguiente parámetro fue la cohesividad, este término se refiere al grado en el cual la masa se mantiene junta después de la masticación (Meilgaard et al., 2016). Se observa que a pesar de que no existe diferencia significativa entre la cohesividad de la muestra de 4:1 y 3:1, al agregar una mayor cantidad de PACH se obtiene un producto ligeramente más cohesivo. Los champiñones que se emplearon para realizar la medición de cohesividad (nivel 4) fueron de la especie *Agaricus bisporus*

(champiñón común fresco); su textura se ha catalogado como blanda y jugosa (Jaworska et al., 2010), por lo que después de la masticación su cohesividad puede ser intermedia; por otro lado, el queso amarillo (nivel 9) ha sido descrito como viscoelástico y gomoso; ambos PCMs se encontraron con características de cohesividad más parecidas al champiñón en una escala de 1 a 15, por lo que podemos decir que sensorialmente posee una cohesividad intermedia baja. Algunos autores han mencionado que el valor de cohesividad de quesos bajos en grasa puede ser mayor al valor de cohesividad de quesos con alto contenido de grasa, aunque la diferencia puede no ser significativa ($p < 0.05$) (Koca & Metin, 2004) como se ha comentado anteriormente, agregar ingredientes de origen vegetal en lácteos no sólo induce cambios en la calidad sino también en características funcionales de los alimentos (Zhang et al., 2023a). Se evaluó también la fuerza de compresión con dedos, que se refiere a la fuerza requerida para comprimir el producto entre los dedos pulgar e índice (Meilgaard et al., 2016); los resultados indican que dicha fuerza necesaria para deformar a la muestra 3:1 fue menor en comparación con los mini bombones (nivel 1.5), pero la muestra 4:1 fue mayor que dicho producto; se muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ambos productos, un valor de fuerza de compresión tan bajo puede estar relacionado a la cantidad de humedad que contienen los PCMs, de acuerdo con la tabla 4.3, el contenido de agua que poseen dichos productos es alto, lo que puede relacionarse también con la dureza con molares reportada en este mismo punto (Guinee, 2016). Por último, se evaluó la adhesividad de los PCMs, esta se refiere a la fuerza necesaria para remover la muestra de los dientes empleando la lengua (Meilgaard et al., 2016); de acuerdo con la tabla previa, la adhesividad muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ambos productos, la adhesividad de los quesos puede ser menor al disminuir el contenido de grasa, lo que está relacionado con una matriz proteica más abierta debido a un menor contenido de grasa; cuando la matriz se vuelve más compacta, los quesos pierden adhesividad. Al poseer un mayor contenido de humedad, las proteínas pueden degradarse durante el almacenamiento, y volverse más adhesivos (Bryant & Steffe, 1995).

Para visualizar más claramente si existían posibles diferencias entre los perfiles texturales de los PCMs elaborados se presentan los atributos evaluados en un gráfico de araña que se muestra en la Figura 3.4; como puede observarse, ambos PCMs presentan un perfil textural muy similar.

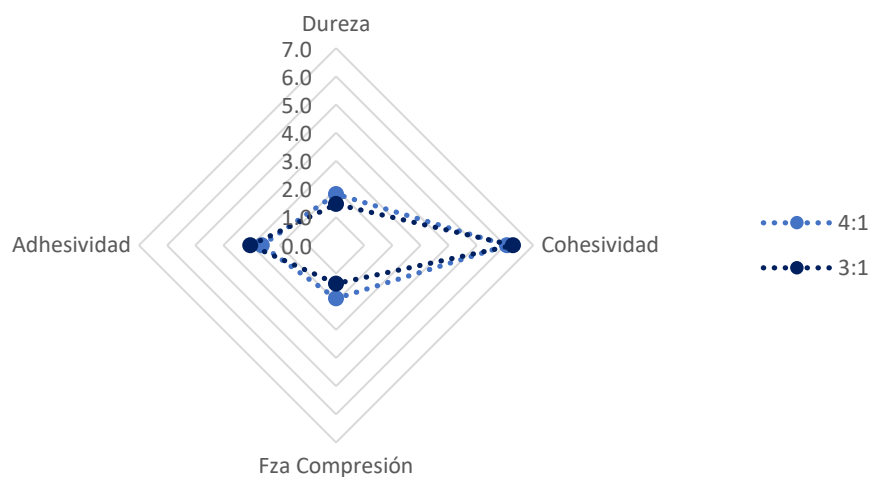


Figura 3.4. Perfil de textura sensorial de PCMs elaborados con mezclas de LAB y PACH.

4. Conclusiones y Trabajo Futuro

1. En cuanto a las condiciones de proceso requeridas para maximizar la solubilidad de PACH en medio acuoso tras ser sometida a un preproceso con *pH shifting* y UAI se obtuvo que la concentración de aislado más adecuada fue del 5% (p/p) empleando un tiempo de sonicación de 6 min. Con dichas condiciones se logró incrementar la solubilidad de la PACH casi 8 veces, de ~ 8% hasta ~65% (p/p). Esto demuestra la viabilidad de emplear estos tratamiento en conjunto para obtener un aislado tecnológicamente más funcional y apropiado para emplearse como ingrediente alimenticio.
2. La capacidad de retención de agua y la firmeza de gel probaron ser variables predictivas apropiadas para establecer la viabilidad de elaborar productos coagulados con mezclas de leche y proteína aislada de chícharo pretratada, así como para observar posibles diferencias entre los geles mixtos elaborados con razones de mezcla leche: PACH de 4:1 y 3:1 y el control de LEB. En términos generales la adición de proteína vegetal a la leche provocó un ablandamiento generalizado de los geles debido a una mayor capacidad de éstos para captar agua.
3. El proceso de elaboración de productos coagulados mixtos de leche con PACH presentó diferencias importantes en comparación con el procedimiento tradicional para fabricar queso panela, con incrementos significativos en el tiempo de coagulación y el pH de desuerado, aunque el rendimiento final no se vio modificado. Los PCMs 4:1 y 3:1 no presentaron variaciones en el contenido neto de proteína y humedad, aunque, en comparación con el control retuvieron más proteína y menos grasa, y exhibieron menos sinéresis, lo que conduce a pensar que la adición de PACH modificó la microestructura del producto. El control fue sensiblemente más duro, elástico y masticable que los PCMs y su dureza tendió a incrementarse con el tiempo de almacenamiento por la mayor pérdida de humedad en refrigeración. En comparación con los PCMs, el control fue más luminoso, menos amarillo y rojo que los PCMs y en consecuencia exhibieron valores más altos de hue y menores de chroma, con variaciones moderadas durante su almacenamiento. En términos generales, los PCMs resultaron ser productos sensiblemente diferentes al queso panela, con características de calidad muy distintas y, por ello, se considera que son productos que pueden tener usos distintos a los tradicionales del queso fresco.
4. La técnica de análisis sensorial descriptivo de Spectrum® resultó apropiada para evaluar la textura de los PCMs elaborados, los cuales presentaron un perfil textural único en comparación con el esperado por el producto control, lo cual lleva a pensar que la metodología desarrollada permitirá obtener productos coagulados con funcionalidades y usos diferentes a los esperados de un queso fresco coagulado enzimáticamente.

Con base en lo reportado y en pruebas alternas realizadas a lo largo del desarrollo de este proyecto, se visualizan las siguientes posibilidades de trabajo futuro.

1. Explorar el uso del ultrasonido de potencia como herramienta para tratar la mezcla de LEB: PACH para observar cómo se modifican las características del gel y de los PCMs elaborados.
2. Ahondar en los análisis espectrales de FTIR-ATR de las muestras, introduciendo nuevas técnicas de procesamiento matemático de datos para intentar aclarar señales superpuestas o distorsionadas y permitir identificar más claramente picos que contribuyan a identificar la presencia de proteínas vegetales en los geles mixtos y sueros.
3. Realizar pruebas reológicas en los geles elaborados para observar cambios en el comportamiento de coagulación de las mezclas híbridas en comparación de aquellos elaborados con leche únicamente.
4. Considerando las características texturales de los PCMs resultantes, explorar su elaboración empleando una tecnología más simple de fabricación de quesos, como la coagulación ácida, dado que la consistencia se asemeja más a la de un queso no estructurado que a la de un queso coagulado enzimáticamente.
5. Realizar un estudio con microscopía electrónica de barrido para observar diferencias microestructurales entre los PCMs y el control.
6. Realizar pruebas sensoriales de los productos evaluados con consumidores, para establecer un nivel de aceptabilidad de los PCMs.

5. Bibliografía

- Alsaed, A. K., Ahmad, R., Aldoomy, H., Abd El-Qader, S., Saleh, D., Sakejha, H., & Mustafa, L. (2013). Characterization, Concentration and Utilization of Sweet and Acid Whey. *Pakistan Journal of Nutrition*, 12(2), 172–177. <https://www.researchgate.net/publication/236347361>
- Altamonte, I., Salari, F. & Martini, M. (2020). Milk fat components and milk quality En Givens, D. I. (Ed.), *Milk and Dairy Foods*. Elsevier Academic Press.
- Altomonte I., Salari F. & Martini M. (2018). Milk fat components and milk quality En Poltronieri, P. (Ed.), *Microbiology in Dairy Processing*. John Wiley & Sons Ltd and the Institute of Food Technologists.
- Amador-Espejo, G. G., Ruiz-Lopez, I. I., Gibbens-Bandala, P. J., Delgado-Macuil, R. J., & Ruiz-Espinosa, H. (2021). Thermosonicated whey protein concentrate blends on quality attributes of reduced fat Panela cheese. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76:105621 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105621>
- Arroyo, C. & James G.L. (2017). The Use of Ultrasound for the Inactivation of Microorganisms and Enzymes En Villamiel, M., García-Pérez, J.V., Montilla, A., Cárcel, J.A. & Benedito, J. (Ed.), *Ultrasound in Food Processing*. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK.
- Asadi, A., Pourfattah, F., Miklós Szilágyi, I., Afrand, M., Żyła, G., Seon Ahn, H., Wongwises, S., Minh Nguyen, H., Arabkoohsar, A., & Mahian, O. (2019). Effect of sonication characteristics on stability, thermophysical properties, and heat transfer of nanofluids: A comprehensive review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58: 104701. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104701>
- Asen, N. D., Aluko, R. E., Martynenko, A., Utioh, A., & Bhowmik, P. (2023). Yellow Field Pea Protein (*Pisum sativum* L.): Extraction Technologies, Functionalities, and Applications. *Foods*,12(21):3978 <https://doi.org/10.3390/foods12213978>
- Badui-Dergal, S. (2013) Hidratos de Carbono En Badui-Dergal, S. (Ed.), *Química de los Alimentos* (5° Edición). Pearson Education.
- Badui-Dergal, S. (2013) Vitaminas y nutrimentos inorgánicos En Badui-Dergal, S. (Ed.), *Química de los Alimentos* (5° Edición). Pearson Education.
- Banks, J.M. (2007) How is cheese yield defined? En McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited.
- Baptista-Silva, T. H., Parra-Baptista, D., De Paiva e Silva, K. K., Mariano-Marfil, P. H., & Gigante, M. L. (2024). Hybrid high-protein yogurt made with partial replacement of milk proteins by pea proteins. *International Journal of Food Science & Technology*. 59(11):8806-8815 <https://doi.org/10.1111/ijfs.17556>
- Bauland, J., Gaucheron, F. & Croguennec, T. (2022). Milk Salt Composition, Distribution and Analysis En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.

- Beghdadi, A., Picart-Palmade, L., Cunault, C., Marchesseau, S., and Chevalier-Lucia, D., 2022. Impact of two thermal processing routes on protein interactions and acid gelation properties of casein micelle-pea protein mixture compared to casein micelle-whey protein one. *Food Research International*, 155:111060
- Ben-Harb, S., Panouillé, M., Huc-Mathis, D., Moulin, G., Saint-Eve, A., Irlinger, F., Bonnarme, P., Michon, C., & Souchon, I. (2018). The rheological and microstructural properties of pea, milk, mixed pea/milk gels and gelled emulsions designed by thermal, acid, and enzyme treatments. *Food Hydrocolloids*, 77:75–84. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.022>
- Bhargava, N., Mor, R. S., Kumar, K., & Sharanagat, V. S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70:105293. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105293>
- Biddle, J. (2017). Peas and Beans *En* Atherton, J. (Ed.), Crop Production Science in Horticulture Series. AMA DataSet Ltd, Preston, UK.
- Bintsis, T. & Papademas, P. (2018). An Overview of the Cheesemaking Process. En: Papademas, P. & Bintsis, T. (Ed.), Global Cheesemaking Technology. John Wiley & Sons, Ltd.
- Blout, A. P. M., Kalschne, D. L., Amaral, J. A. S., Baraldi, I. J., & Canan, C. (2023). A Review of Phytic Acid Sources, Obtention, and Applications. *Food Reviews International*, 39(1): 73–92. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1906697>
- Bogahawaththa, D., Chau, N. H. B., Trivedi, J., Dissanayake, M., & Vasiljevic, T. (2019). Impact of controlled shearing on solubility and heat stability of pea protein isolate dispersed in solutions with adjusted ionic strength. *Food Research International*, 125:108522. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108522>
- Boland, M. (2011). Whey proteins En Phillips, G.O. & Williams, P.A. (Ed.), Handbook of food proteins. Woodhead Publishing Limited.
- Bouhallab, S. & Bougle, D. (2004). Biopeptides of milk: caseinophosphopeptides and mineral bioavailability. *Reproduction Nutrition Development*, 44 (2004) 493-498. <https://doi.org/10.1051/rnd:2004053>
- Boukid, F., Rosell, C. M., & Castellari, M. (2021). Pea protein ingredients: A mainstream ingredient to (re)formulate innovative foods and beverages. *Trends in Food Science and Technology*, 110. 729–742. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.040>
- Bryant, A., & Steffe, J. (1995). Texture of Cheddar Cheese as Influenced by Fat Reduction. *Journal of Food Science*. 60(6):1216-1219. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb04559.x>
- Burger, T. G., & Zhang, Y. (2019). Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 86:25–33 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.007>

Cao, X., Liao, W. & Wang, S. (2022). Food protein-derived bioactive peptides for the management of nutrition related chronic diseases En Wu, J. (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier Academic Press.

Caro, I., Soto, S., Fuentes, L., Gutiérrez-Méndez, N., García-Islas, B., Monroy-Gayosso, K. E., & Mateo, J. (2014). Compositional, Functional and Sensory Characteristics of Selected Mexican Cheeses. *Food and Nutrition Sciences*, 5(4), 366–375. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.54044>

Centeno-Rodríguez, M. A. C., Gutiérrez-Cárdenas, M. G., Jaime-Patlán, M., Meza-Plaza, E. F., Montecillos-Ramírez, K. E., Rojas-Salinas, W. B., & Ozuna, C. (2020). Genuine Mexican cheeses: technological processes and manufacturing parameters. *Agro Productividad*, 13(11):9-15. <https://doi.org/10.32854/agrop.v13i11.1769>

Chandan, R.C. (2015). Dairy processing and quality assurance: An overview En Chandan, R.C., Kilara, A. & Shah N. (Ed.), *Dairy Processing and Quality Assurance*. Wiley Blackwell.

Chao, D., Jung, S., & Aluko, R. E. (2018). Physicochemical and functional properties of high pressure-treated isolated pea protein. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 45: 179-185.

Chen, S. K., Lin, H. F., Wang, X., Yuan, Y., Yin, J. Y., & Song, X. X. (2023). Comprehensive analysis in the nutritional composition, phenolic species and in vitro antioxidant activities of different pea cultivars. *Food Chemistry: X*, 17:100599. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100599>

Chen, W., Ma, H., & Wang, Y. Y. (2022). Recent advances in modified food proteins by high intensity ultrasound for enhancing functionality: Potential mechanisms, combination with other methods, equipment innovations and future directions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 85: 105993. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105993>

Coelho, M. C., Silva, C. C. G., Ribeiro, S. C., Dapkevicius, M. L. N. E., & Rosa, H. J. D. (2014). Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 191: 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.029>

Conceição, D.G., Gonçalves, B.H.R.F., da Hora, F.F., Faleiro, A.S., Santos, L.S., and Ferrão, S.P.B., 2019. Use of FTIR-ATR spectroscopy combined with multivariate analysis as a screening tool to identify adulterants in raw milk. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30 (4), 780–785.

Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados, A.C. (2010). Anteproyecto de Norma Mexicana NMX-F-742-COFOCALEC-2010 Sistema producto leche – Alimentos – Lácteos – Queso Panela – Denominación, Especificaciones y Métodos de Prueba.

Cooke, D.R. & McSweeney, P.L.H. (2018). From Micelle to Melt: The Influence of Calcium on Physicochemical Properties of Cheese En Papademas, P. & Bintsis, T. (Ed.), *Global Cheesemaking Technology*. John Wiley & Sons, Ltd.

Curutchet, A., Arcia, P., & Rodríguez Arzuaga, M. (2024). The future of hybrid foods: will consumers embrace dairy-plant blends?. *International Journal of Food Science & Technology*, 59(11): 8777-8785. <https://doi.org/10.1111/ijfs.17473>

Crabbe M. J. C. (2017). Rennets: General and Molecular Aspects En Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed.) Elsevier Academic Press, London UK.

Daba, S. D., & Morris, C. F. (2022). Pea proteins: Variation, composition, genetics, and functional properties. *Cereal Chemistry*, 99(1): 8-20. <https://doi.org/10.1002/cche.10439>

Eghbaljoo, H., Sani, I. K., Sani, M. A., Rahati, S., Mansouri, E., Molae-Aghae, E., Fatourehchi, N., Kadi, A., Arab, A., Sarabandi, K., Samborska, K., & Jafari, S. M. (2022). Advances in plant gum polysaccharides; Sources, techno-functional properties, and applications in the food industry - A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 222:2327–2340). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.020>

Erdoğdu, Ö., Görgüç, A., & Yılmaz, F. M. (2023). Functionality Enhancement of Pea Protein Powder via High-Intensity Ultrasound: Screening in-vitro Digestion, o/w Emulsion Properties and Testing in Gluten-Free Bread. *Plant Foods for Human Nutrition*, 78(3), 597–603. <https://doi.org/10.1007/s11130-023-01087-1>

Escobar, M. C., van Tassell, M. L., Martínez-Bustos, F., Singh, M., Castaño-Tostado, E., Amaya-Llano, S. L., & Miller, M. J. (2012). Characterization of a Panela cheese with added probiotics and fava bean starch. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 2779–2787. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4655>

Fagan, C.C., O’Callaghan, D.J., Mateo, M.J. & Dejmek, P. (2017) En Fox, P.F. y McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed.) Elsevier Academic Press, London UK.

Faligowska, A., Kalembasa, S., Kalembasa, D., Panasiewicz, K., Szymańska, G., Ratajczak, K., & Skrzypczak, G. (2022). The Nitrogen Fixation and Yielding of Pea in Different Soil Tillage Systems. *Agronomy*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/agronomy12020352>

Farshi, P., Mirmohammadali, S. N., Rajpurohit, B., Smith, J. S., & Li, Y. (2024). Pea protein and starch: Functional properties and applications in edible films. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15: 100927. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100927>

Fernández-López, J., Ponce-Martínez, A. J., Rodríguez-Párraga, J., Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., & Pérez-Alvarez, J. A. (2024). Quinoa and its Co-Products as Ingredients for the Development of Dairy Analogs and Hybrid Dairy Products. *Current Food Science and Technology Reports*, 1-13.

Fox P.F. & Guinee T.P. (2022). Overview of Cheese En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.

Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. (2017). Cheese: An Overview En Fox, P.F. y McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed.) Elsevier Academic Press, London UK.

Fox, P.F. (2022). Lactose: Chemistry, Properties En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.

Fox, P.F., Cogan, T.M. & Guinee, T.P. (2017). Factors That Affect the Quality of Cheese En Fox, P.F. y McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed.) Elsevier Academic Press, London UK.

Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M. & McSweeney, P.L.H. (2017). *Fundamentals of Cheese Science*. (2nd ed) Springer.

Franzoi, M., Ghetti, M., De Lorenzi, C., & De Marchi, M. (2021). Effectiveness of two different at-line instruments for the assessment of cheese composition, major minerals and fatty acids content. *International Dairy Journal*, 123, 105184.

Franzoi, M., Ghetti, M., de Lorenzi, C., & de Marchi, M. (2021). Effectiveness of two different at-line instruments for the assessment of cheese composition, major minerals and fatty acids content. *International Dairy Journal*, 123:105184. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105184>

Galani, E., Ly, I., Laurichesse, E., Schmitt, V., Xenakis, A., & Chatzidaki, M. D. (2023). Pea and Soy Protein Stabilized Emulsions: Formulation, Structure, and Stability Studies. *Colloids and Interfaces*, 7(2):30. <https://doi.org/10.3390/colloids7020030>

Gallego-Juárez, J.A. (2017). Basic Principles of Ultrasound En Villamiel, M., García-Pérez, J.V., Montilla, A., Cárcel, J.A. & Benedito, J. (Ed.), *Ultrasound in Food Processing*. Wiley Blackwell, Sussex, UK.

Gallegos Pineda, A. (2015). Efectos del pretratamiento de termosonicación en la elaboración y maduración de queso Chihuahua. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/7158>

Gálvez-Mariscal, A., Flores-Argüello, I. & González-Saravia, A.F. (2013) Proteínas En Badui-Dergal, S. (Ed.), *Química de los Alimentos* (5^a Edición). Pearson Education.

Gao, K., Rao, J., & Bingcan, C. (2022). Unraveling the mechanism by which high intensity ultrasound improves the solubility of commercial pea protein isolates. *Food Hydrocolloids*,131:107823

Gao, K., Zha, F., Yang, Z., Rao, J., & Chen, B. (2022). Structure characteristics and functionality of water-soluble fraction from high-intensity ultrasound treated pea protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 125(4):107409. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107409>

Gazi, I., Johansen, L.B. & Huppertz, T. (2022). Heterogeneity, Fractionation and Isolation En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.

Ge, J., Sun, C. X., Corke, H., Gul, K., Gan, R. Y., & Fang, Y. (2020). The health benefits, functional properties, modifications, and applications of pea (*Pisum sativum* L.) protein: Current status, challenges, and perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1835–1876. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12573>

Genet, B. M., Sedó Molina, G. E., Wätjen, A. P., Barone, G., Albersten, K., Ahrné, L. M., Hansen, E.B.& Bang-Berthelsen, C. H. (2023). Hybrid Cheeses—Supplementation of Cheese with Plant-Based Ingredients for a Tasty, Nutritious and Sustainable Food Transition. *Fermentation*, 9(7), 667.

- Gharibzahedi, S.M.T., Smith, B. (2020). The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 98:107-166. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.002>
- Giromini, C., Fekete, A. A., Pinotti, L. & Baldi, A. (2020). Milk proteins: their role in cardiovascular health En Givens, D. I. (Ed.), *Milk and Dairy Foods*. Elsevier Academic Press.
- Gläser, P., Mittermeier-Kleßinger, V. K., Spaccasassi, A., Hofmann, T., & Dawid, C. (2021). Quantification and bitter taste contribution of lipids and their oxidation products in pea-protein isolates (*Pisum sativum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 69(31), 8768-8776. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c02889>
- González-Martínez, D.A., Carrillo-Navas, H., Barrera-Díaz, C.E., Martínez-Vargas, S.L., Alvarez-Ramírez, J., and Pérez-Alonso, C., 2017. Characterization of a novel complex coacervate based on whey protein isolate-tamarind seed mucilage. *Food Hydrocolloids*, 72, 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.037>
- Grossmann, L., & McClements, D. J. (2021). The science of plant-based foods: Approaches to create nutritious and sustainable plant-based cheese analogs. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 118, pp. 207–229). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.004>
- Guerrero, S.N., Ferrario, M., Schenk, M. & Carrillo, M.G. (2017) *Hardle Technology Using Ultrasound for Food Preservation* En Bermudez-Aguirre, D. (Ed.), *Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation*. Academic Press, London, UK.
- Guinee, T. P. (2021). Effect of high-temperature treatment of milk and whey protein denaturation on the properties of rennet–curd cheese: A review. *International Dairy Journal*, 121:105095. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105095>
- Guinee, T.P. & O'Brien, (2010). The Quality of Milk for Cheese Manufacture En Law, B. A. & Tamime, A.Y. (Ed.), *Technology of Cheesemaking*. Blackwell Publishing Ltd.
- Guinee, T.P. (2017). Pasteurized Processed and Imitation Cheese Products En Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed.) Elsevier Academic Press, London UK.
- Guinee, T.P. (2022). Cheese Analogs En McSweeney, P.L.H. & McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.
- Guinee, T.P. (2022). Cheese Rheology and Texture En McSweeney, P.L.H. & McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.
- Gutiérrez-Méndez, N., Troncoso-Reyes, N., & Leal-Ramos, M. Y. (2013). Texture profile analysis of Fresh cheese and Chihuahua cheese using miniature cheese models. *Tecnociencia Chihuahua*, 7(2), 65-74.

Harboe, M., Broe M.L. & Qvist, K.B. (2010). The Production, Action and Application of Rennet and Coagulatns En Law, B. A. & Tamime, A.Y. (Ed.), Technology of Cheesemaking (2nd ed) Blackwell Publishing Ltd.

Hickey, R.M. & Urashima T. (2022) Indigenous Oligosaccharides in Bovine Milk En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), Encyclopedia of Dairy Sciences (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.

Ho, M. H. & Bansal, N. (2022). α -Lactalbumin *En* McSweeney, P.L.H. & McNamara, J.P. (3rd Ed.), Encyclopedia of Dairy Sciences (Vol. 5). Elsevier Academic Press, London UK.

Horne, D.S. & Lucey, J.A. (2017) Rennet-Induced Coagulation of Milk En Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. (Ed.), Cheese Chemistry, Physics and Microbiology (4th ed.) Elsevier Academic Press.

Huang, J., Schols, H. A., van Soest, J. J. G., Jin, Z., Sulmann, E., & Voragen, A. G. J. (2007). Physicochemical properties and amylopectin chain profiles of cowpea, chickpea and yellow pea starches. Food Chemistry, 101(4), 1338–1345. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.039>

Janhøj, T. & Qvist, K.B. (2010) The Formation of Cheese Curd En Law, B. A. y Tamime, A.Y. (Ed.), Technology of Cheesemaking (2nd ed). Blackwell Publishing Ltd.

Jaworska, G., Bernaś, E., Biernacka, A., & Maciejaszek, I. (2010). Comparison of the texture of fresh and preserved *Agaricus bisporus* and *Boletus edulis* mushrooms. International journal of food science & technology, 45(8), 1659-1665.

Jeewanthi, R. K. C., & Paik, H. D. (2018). Modifications of nutritional, structural, and sensory characteristics of non-dairy soy cheese analogs to improve their quality attributes. Journal of Food Science and Technology, 55(11): 4384–4394. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3408-3>

Jiang, S., Ding, J., Andrade, J., Rababah, T. M., Almajwal, A., Abulmeaty, M. M., & Feng, H. (2017). Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments. Ultrasonics Sonochemistry, 38, 835–842. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.046>

Jiménez-Flores, R. (2022). Buttermilk and Milk Fat Globule Membrane Fractions En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), Encyclopedia of Dairy Sciences (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.

Johnson, M. & Law, B. A. (2010). The Origins, Development and Basic Operations of Cheesemaking Technology En Law, B. A. y Tamime, A.Y. (Ed.), Technology of Cheesemaking (2nd ed). Blackwell Publishing Ltd.

Johnson, M. (2023). Overview of Texture Profile Analysis. <https://texturetechnologies.com/resources/texture-profile-analysis>. Verificado en 18/12/2023.

Kamath, R., Basak, S., & Gokhale, J. (2022). Recent trends in the development of healthy and functional cheese analogues-a review. LWT,155(3):112991. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112991>

Kan, L., Nie, S., Hu, J., Wang, S., Bai, Z., Wang, J., ... & Song, K. (2018). Comparative study on the chemical composition, anthocyanins, tocopherols and carotenoids of selected legumes. *Food chemistry*, 260:317-326.

Kelly, A.L. (2007) What is the typical composition of cow's milk and what milk constituents favour cheesemaking? En McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited.

Kelly, A.L. (2007) Why do elevated somatic cell counts cause difficulty in cheesemaking? En McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited.

Kentish, S.E. (2017). *Engineering Principles of Ultrasound Technology* En Bermudez-Aguirre, D. (Ed.), *Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation*. Academic Press, London, UK.

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(4), 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.08.006>

Konica Minolta Sensing Americas. (2020). *Color Spaces | Konica Minolta Sensing*. Konica Minolta Sensing. <https://sensing.konicaminolta.us/us/learning-center/color-measurement/color-spaces>. Verificado en:20/08/2024

Kovačević, J., Bechtold, T., & Pham, T. (2024). Plant-Based Proteins and Their Modification and Processing for Vegan Cheese Production. *Macromol.* 4(1): 23–41. <https://doi.org/10.3390/macromol4010002>

Kruger, N.J. (2009). The Bradford Method For Protein Quantitation. In: Walker, J.M. (eds) *The Protein Protocols Handbook*. Springer Protocols Handbooks. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-198-7_4

Kumari, T., & Deka, S. C. (2021). Potential health benefits of garden pea seeds and pods: A review. In *Legume Science*, 3(2):e82. <https://doi.org/10.1002/leg3.82>

Kwak, H., Ganesan, P. & Hong, Y. (2011). Nutritional Benefits in Cheese En Foster, R.D. (Ed.), *Cheese: Types, Nutrition and Consumption*. Nova Science Publishers, Inc.

Laboratorio Profeco. (2021). Queso panela e Imitaciones. *Revista del consumidor*, (538) 20-43.

Lam, A. C. Y., Can Karaca, A., Tyler, R. T., & Nickerson, M. T. (2018). Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality. *Food Reviews International*, 34(2):126–147. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1242135>

Liang, H. N., & Tang, C. H. (2013). PH-dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum* (L.)] proteins. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 309–319. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.04.005>

Lima-Nascimento, G. L., Queiroz, L. S., Petersen, H. O., Marie, R., Silva, N. F. N., Mohammadifar, M. A., de Sá Peixoto Júnior, P. P., Delaplace, G., de Carvalho, A. F., & Casanova, F. (2023). High-intensity ultrasound treatment on casein: Pea mixed systems: Effect on gelling properties. *Food Chemistry*, 422:136178 . <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136178>

Lobato-Calleros, C., Ramos-Solís, L., Santos-Moreno, A., & Rodríguez-Huezo, M. E. (2006). Microstructure and texture of panela type cheese-like products: Use of low methoxyl pectin and canola oil as milk-fat substitutes. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 5(1), 71–79. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62050106>

Lu, Z. X., He, J. F., Zhang, Y. C., & Bing, D. J. (2020). Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(15): 2593–2605. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651248>

Lucey, J.A. (2017). Formation, Structural Properties, and Rheology of Acid-Coagulated Milk Gels En McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P.D. & Everett, D.W. (Ed.), *Cheese Chemistry, Physics & Microbiology* (4th ed.) Academic Press Elsevier.

Lyon, P., Strippoli, V., Fang, B., & Cimmino, L. (2020). B vitamins and one-carbon metabolism: Implications in human health and disease. *Nutrients*, 12(9), 1–24. <https://doi.org/10.3390/nu12092867>

Lyu, Z., Sala, G., & Scholten, E. (2023). Melting properties of vegan cheese: Effect of emulsion and protein addition on the thermal behaviour of starch gels. *Food Hydrocolloids*, 144:108917. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108917>

Ma, X., Feng, R., Ahrné, L., & Orlien, V. (2024). Pressure-induced gelation of blended milk and pea protein suspensions. *Food Hydrocolloids*, 146:109284. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109284>

Magallanes-Cruz, P. A., Flores-Silva, P. C., & Bello-Perez, L. A. (2017). Starch structure influences its digestibility: a review. *Journal of food science*, 82(9), 2016-2023. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13809>

Marques Silva, F.V. & Sulaiman, A. (2017). Advances in Thermosonication for the Inactivation of Endogenous Enzymes in Foods *En* Bermudez-Aguirre, D. (Ed.), *Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation*. Academic Press, London, UK.

Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., & Vidal-Valverde, C. (2008). Alpha-galactosides: Antinutritional factors or functional ingredients? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(4), 301–316. <https://doi.org/10.1080/10408390701326243>

Martins Strieder, M., Keven Silva, E., & Angela A. Meireles, M. (2019). Specific Energy: A New Approach to Ultrasound-assisted Extraction of Natural Colorants. *Food and Public Health*, 9(2), 45–52. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20190902.02>

Masiá, C., Jensen, P. E., Petersen, I. L., & Bulso, P. (2022). Design of a Functional Pea Protein Matrix for Fermented Plant-Based Cheese. *Foods*, 11(2) 178. <https://doi.org/10.3390/foods11020178>

Mazinani, S., Motamedzadegan, A., Naghizadeh Raeisi, S., & Alimi, M. (2020). Impact of pea protein isolate in partial substitution of milk protein concentrate on the microstructural, rheological, and

sensory properties of bacteriologically acidified feta-type cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(6):14448. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14448>

McSweeney, P.L.H. (2007a). How are cheese varieties classified? En McSweeney, P.L.H. (Autoedición), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited.

McSweeney, P.L.H. (2007b). How does one improve the cheesemaking properties of over-pasteurised milk? En McSweeney, P.L.H. (Autoedición), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited.

McSweeney, P.L.H. (2007c). How does the composition of milk affect syneresis? En McSweeney, P.L.H. (Autoedición), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited.

McSweeney, P.L.H. (2007d). What effects does pasteurization have on cheesemilk? En McSweeney, P.L.H. (Autoedición), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited.

McSweeney, P.L.H. (2007e). What factors affect rennet coagulation time? En McSweeney, P.L.H. (Autoedición), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited.

McSweeney, P.L.H. (2007f). Why are colours sometimes added to cheesemilk? En McSweeney, P.L.H. (Autoedición), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited.

McSweeney, P.L.H. (2007g). Why is the Phe-Met bond of κ -casein so susceptible to rennet action? En McSweeney, P.L.H. (Autoedición), *Cheese problems solved*. Woodhead Publishing Limited

Meilgaard M, Civille G. V., & Carr B. T. (2016). *Sensory Evaluation Techniques* (5th ed). CRC Press.

Mession, J. L., Chihi, M. L., Sok, N., & Saurel, R. (2015). Effect of globular pea proteins fractionation on their heat-induced aggregation and acid cold-set gelation. *Food Hydrocolloids*, 46, 233–243. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.025>

Miller, L., Skinner, T., & Tsai, M. (2012). *Cheese for Dummies*. John Wiley & Sons Canada, Ltd.

Mohd Shukri, A., Alias, A. K., Murad, M., Yen, K. S., & Cheng, L. H. (2022). A review of natural cheese and imitation cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(1):e16112. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16112>

Montes–Hernández, E. (s.f.). *Pisum sativum* [Fotografía]. Chícharo *Pisum sativum*, CONABIO. <https://enciclovida.mx/especies/188281>. Verificado en: 20/06/2024

Murtaza, M.A. (2022). Cheddar-type Cheeses En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.

Nasir, G., Zaidi, S., Tabassum, N., & Asfaq. (2022). A review on nutritional composition, health benefits and potential applications of by-products from pea processing. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 14(10):10829-10842. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03324-0>

O'Brien N. M. y O'Connor T. P. (2017). Nutritional Aspects of Cheese En Fox, P.F. y McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed.) Elsevier Academic Press.

Ochoa-Flores, A. A., Hernández-Becerra, J. A., Velázquez-Martínez, J. R., Piña-Gutiérrez, J. M., Hernández-Castellano, L. E., Toro-Mujica, P., Chay-Canul, A. J., & Vargas-Bello-Pérez, E. (2021). Chemical and fatty acid composition of Manchego type and Panela cheeses manufactured from either hair sheep milk or cow milk. *Journal of Dairy Science*, 104(7), 7457–7465. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19301>

Ochoa-Flores, A. A., Hernández-Becerra, J.A., López-Hernández, E., & García-Galindo, H. S. (2013). Rendimiento de queso panela con estabilizantes. *Universidad y Ciencia*, 29(3):277-286.

Oliveira, I. C., de Paula Ferreira, I. E., Casanova, F., Cavallieri, A. L. F., Lima Nascimento, L. G., de Carvalho, A. F., & Nogueira Silva, N. F. (2022). Colloidal and Acid Gelling Properties of Mixed Milk and Pea Protein Suspensions. *Foods*, 11(10):1383. <https://doi.org/10.3390/foods11101383>

Omrani Khiabani, N., Motamedzadegan, A., Naghizadeh Raisi, S., & Alimi, M. (2020). Chemical, textural, rheological, and sensorial properties of wheyless feta cheese as influenced by replacement of milk protein concentrate with pea protein isolate. *Journal of Texture Studies*, 51(3), 488–500. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12508>

Open Food Facts. (2023). *Vegan cheese- World* https://world-es.openfoodfacts.org/cgi/search.pl?action=process&search_terms=Vegan%20cheese&sort_by=unique_scans_n&page_size=50. Verificado en: 20/08/2023

Ouyang, H., Kilcawley, K. N., Miao, S., Fenelon, M., Kelly, A., & Sheehan, J. J. (2022). Exploring the potential of polysaccharides or plant proteins as structuring agents to design cheeses with sensory properties focused toward consumers in East and Southeast Asia: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(16):4342–4355. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1874869>

Panthi, R. R., Jordan K. N., Kelly, A. L. & Sheehan, J.J. (2017) Selection and Treatment of Milk for Cheesemaking En Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed) Elsevier Academic Press.

Parihar, A. K., Dixit, G. P., Singh, U., Singh, A. K., Kumar, N., & Gupta, S. (2021). Potential of Field Pea as a Nutritionally Rich Food Legume Crop *En* Gupta, D. S., Gupta, S., Kumar, J. (Ed.), *Breeding for Enhanced Nutrition and Bio-Active Compounds in Food Legumes*. Springer Nature Switzerland AG.

Park, Y. W., & Nam, M. S. (2015). Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: A Review. *Korean journal for food science of animal resources*, 35(6), 831–840. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.6.831>

Paterson, A.H.J. (2022). Lactose: Production, Applications En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 3). Elsevier Academic Press, London UK.

Pinto, G., Caira, S., Cuollo, M., Lilla, S., Chianese, L. & Addeo, F. (2012). Bioactive Casein Phosphopeptides in Dairy Products as Nutraceuticals for Functional Foods *En* Hurley, W. L. (Ed.), *Milk Protein*. InTech. doi: 10.5772/2933

Plante, A. M., McCarthy, A. L., & O'Halloran, F. (2021). Cheese as a functional food for older adults: comparing the bioactive properties of different cheese matrices following simulated gastrointestinal in vitro digestion. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72(4), 456–469. <https://doi.org/10.1080/09637486.2020.1825644>

Plascencia-Díaz, R. (s.f.). *Pisum sativum* [Fotografía]. Chícharo *Pisum sativum*, CONABIO. <https://enciclovida.mx/especies/188281> Verificado: 7/05/2024

Queirós, R., Ferreira, R., Saraiva, J. A., & Lopes-da-Silva, J. A. (2023). High-Pressure Effects on Selected Properties of Pea and Soy Protein Isolates. *Applied Sciences*, 13(4), 2359.

Raak, N. & Corredig, M. (2022). Caseins, Caseinates and Micellar Casein En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 5). Elsevier Academic Press, London UK.

Raso, J., Manas, P., Pagan, R., & Sala, F. J. (1999). Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultrasound. *Ultrasonics sonochemistry*, 5(4), 157-162. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(98\)00042-X](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(98)00042-X)

Rocha-Mendoza, D. & Jiménez-Flores, R. (2022). Casein Nomenclature, Structure, and Association En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 5). Elsevier Academic Press, London UK.

Ruiz-Espinosa, H. (2017). Homogeneización de Leche a Alta Presión y Su Efecto Sobre Características Físico-Químicas, Microbiológicas y Sensoriales de Queso Fresco [Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias en alimentos]. Instituto Tecnológico de Veracruz.

Ruyschaert, JM., Raussens, V. (2018). ATR-FTIR Analysis of Amyloid Proteins. In: Nilsson, B., Doran, T. (eds) *Peptide Self-Assembly. Methods in Molecular Biology*, vol 1777. Humana Press, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7811-3_3

Salinas-Valdés, A., Millán, J. D. la R., Serna-Saldívar, S. O., & Chuck-Hernández, C. (2015). Yield and textural characteristics of panela cheeses produced with dairy-vegetable protein (Soybean or peanut) blends supplemented with transglutaminase. *Journal of Food Science*, 80(12), S2950–S2956. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13126>

Salvi, P., Varshney, V., & Majee, M. (2022). Raffinose family oligosaccharides (RFOs): role in seed vigor and longevity. *Bioscience Reports*, 42(10): BSR20220198. <https://doi.org/10.1042/BSR20220198>

Savun-Hekimoğlu, B. (2020). A Review on Sonochemistry and Its Environmental Applications. *Acoustics*, 2 (4):766–775. <https://doi.org/10.3390/acoustics2040042>

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2018). NORMA Oficial Mexicana NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018, Queso-Denominación, especificaciones, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5549319&fecha=31/01/2019#gsc.tab=0

Secretaría de Salud. (1994). Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias. (NOM-121-SSA1-1994). https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4872312&fecha=23/02/1996#gsc.tab=0

Shanthakumar, P., Klepacka, J., Bains, A., Chawla, P., Dhull, S. B., & Najda, A. (2022). The Current Situation of Pea Protein and Its Application in the Food Industry. *Molecules* 27(16):5354. <https://doi.org/10.3390/molecules27165354>

Shea, Z., Ogando do Granja, M., Fletcher, E. B., Zheng, Y., Bewick, P., Wang, Z., Singer, W. M., & Zhang, B. (2024). A Review of Bioactive Compound Effects from Primary Legume Protein Sources in Human and Animal Health. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(5), 4203–4233. <https://doi.org/10.3390/cimb46050257>

Shen, Y., & Li, Y. (2021). Acylation modification and/or guar gum conjugation enhanced functional properties of pea protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 117:106686 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106686>

Shen, Y., Hong, S., Singh, G., Koppel, K., & Li, Y. (2022). Improving functional properties of pea protein through “green” modifications using enzymes and 1 polysaccharides. *Food Chemistry*, 385:132687 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814622006495>

SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2023. Panorama de la lechería en México. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/940824/Panorama_de_la_lecher_a_en_M_xico_2023.pdf. Verificado en: 14/02/2024

Silva, J. V., Cochereau, R., Schmitt, C., Chassenieux, C., & Nicolai, T. (2019). Heat-induced gelation of mixtures of micellar caseins and plant proteins in aqueous solution. *Food research international*, 116, 1135-1143. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.058>

Silva, C. C. G., Domingos-Lopes, M. F. P., Magalhães, V. A. F., Freitas, D. A. S. R., Coelho, M. C., Rosa, H. J. D., & Dapkevicius, M. L. N. E. (2015). Latin-style fresh cheese enhances lactic acid bacteria survival but not *Listeria monocytogenes* resistance under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4377–4383. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9420>

Sim, S. Y. J., Sriv, A., Chiang, J. H., & Henry, C. J. (2021). Plant proteins for future foods: A roadmap. *Foods*, 10 (8):1967. <https://doi.org/10.3390/foods10081967>

Sim, S. Y., & Moraru, C. I. (2020). High-pressure processing of pea protein–starch mixed systems: Effect of starch on structure formation. *Journal of Food Process Engineering*, 43(2): e13352. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13352>

Smithers, G.W. (2022). Milk lipids: Removal of cholesterol from Dairy Products En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 5). Elsevier Academic Press, London UK

Soedamah-Muthu, S. & Guo, J. (2020). Dairy consumption and cardiometabolic diseases: Evidence from prospective studies En Givens, D. I. (Ed.), *Milk and Dairy Foods*. Elsevier Academic Press.

- Stone, A. K., Avarmenko, N. A., Warkentin, T. D., & Nickerson, M. T. (2015). Functional properties of protein isolates from different pea cultivars. *Food Science and Biotechnology*, 24(3), 827–833. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0107-y>
- Sulima, A. S., & Zhukov, V. A. (2022). War and Peas: Molecular Bases of Resistance to Powdery Mildew in Pea (*Pisum sativum* L.) and Other Legumes. *Plants*, 11(3):339. <https://doi.org/10.3390/plants11030339>
- Treweek, T. (2012). Alpha-Casein as Molecular Chaperone En Hurley, W.L. (Ed.), *Milk Protein*. Intech. doi: 10.5772/2933
- Tulbek, M. C., Lam, R. S. H., Wang, Y. C., Asavajaru, P., & Lam, A. (2016). Pea: A Sustainable Vegetable Protein Crop *En* Nadathur, S.R., Wanasundara, J.P.D. & Scalin, L. (Ed.), *Sustainable Protein Sources* (pp. 145–164). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00009-3>
- Tunick, M.H. (2022). Minerals *En* McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (3rd Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 2). Elsevier Academic Press, London UK.
- Uniacke-Lowe, T. & Fox, P.F. (2017) Chymosin, Pepsins and Other Aspartyl Proteinases: Structures, Functions, Catalytic Mechanism and Milk-Clotting Properties *En* Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (4th ed.) Elsevier Academic Press.
- Villarroel Heise, P., Gómez, C., Vera, C., & Torres, J. (2018). Resistant starch: Technological characteristics and physiological interests. *Revista Chilena de Nutrición*, 45(3)271–278. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182018000400271>
- Walstra, P., Walstra, P., Wouters, J. T., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy science and technology* (2nd ed). CRC Press.
- Watson, N.J., Povey, M.J.W. & Parker, N.G. (2017). Acoustic Microscopy *En* Villamiel, M., García-Pérez, J.V., Montilla, A., Cárcel, J.A. & Bedito, J. (Ed.), *Ultrasound in Food Processing*. Wiley Blackwell.
- Wedzerai, M. (2024, March 23). *Mexico to leverage production of dairy products in 2024*. Dairy Global. <https://www.dairyglobal.net/industry-and-markets/market-trends/mexico-to-leverage-production-of-dairy-products-in-2024/>. Verificado en: 20/06/2024
- Wrolstad, R. E., & Smith, D. E. (2017). Color analysis *En* Nielsen, S.S. (Ed.), *Food analysis* (5th ed). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_31
- Wu, D. T., Li, W. X., Wan, J. J., Hu, Y. C., Gan, R. Y., & Zou, L. (2023). A Comprehensive Review of Pea (*Pisum sativum* L.): Chemical Composition, Processing, Health Benefits, and Food Applications. *Foods*, 12(13):2527. <https://doi.org/10.3390/foods12132527>
- Xiong, T., Xiong, W., Ge, M., Xia, J., Li, B., & Chen, Y. (2018). Effect of high intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate. *Food Research International*, 109, 260–267. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.044>

Yang, K., Lin, R., Zhang, S., Zhao, X., Jiang, J., & Liu, Y. (2022). Ultrasound-modified interfacial properties and crystallization behavior of aerated emulsions fabricated with pH-shifting treated pea protein. *Food Chemistry*, 367:130536. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130536>

Zafeiriou, S. (s.f.). Abeja en flores de planta de chícharo [Fotografía]. Chícharo *Pisum sativum*, CONABIO. <https://enciclovida.mx/especies/188281> Verificado en: 07/05/2024

Zhang, M., Dong, X., Huang, Z., Li, X., Zhao, Y., Wang, Y., Zhu, H., Fang, A., & Giovannucci, E. L. (2023a). Cheese consumption and multiple health outcomes: an umbrella review and updated meta-analysis of prospective studies. In *Advances in Nutrition*, 14(5):1170–1186 <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2023.06.007>

Zhang, S., Han, J., & Chen, L. (2023b). Fabrication of pea protein gels with modulated rheological properties using high pressure processing. *Food Hydrocolloids*, 144, 109002. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109002>

Zhang, S., Ren, C., Wang, C., Han, R., & Xie, S. (2024). Effects of hydrocolloids and oleogel on techno-functional properties of dairy foods. *Food Chemistry: X*, 21: 101215. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101215>

Zhang, Y., Jie, W., Chen, P., Liu, W., & Hao, J. (2018). Ferroelectric and piezoelectric effects on the optical process in advanced materials and devices. *Advanced Materials*, 30(34):1707007. <https://doi.org/10.1002/adma.201707007>

Zhao, R., Fu, W., Li, D., Dong, C., Bao, Z., & Wang, C. (2024). Structure and functionality of whey protein, pea protein, and mixed whey/pea proteins treated by pH-shift or/and high intensity ultrasound. *Journal of Dairy Science*, 107(2):726-741. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23742>

Zhu, P., Huang, W., Guo, X., & Chen, L. (2021). Strong and elastic pea protein hydrogels formed through pH-shifting method. *Food Hydrocolloids*, 117: 106705. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106705>

6. Anexos

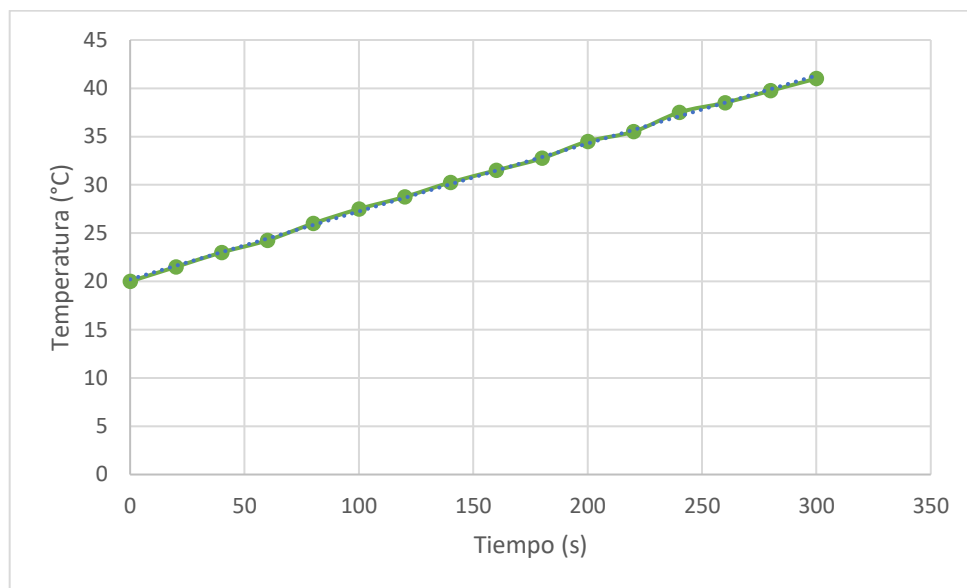
Anexo I Curva patrón

$$T = 0.0703 t + 20.213$$

Donde:

T = Temperatura [°C]

t = Tiempo [s]



Comportamiento del aumento de Temperatura con respecto al tiempo en el tratamiento de UAI para PACH 5%.

Anexo II Diagrama gráfico



Anexo III Grasa y proteína retenidas

La siguiente fórmula se adaptó de Banks (2007) para calcular el % de grasa retenida en el control y PCMs.

$$\% \textit{ Grasa retenida} = \frac{\textit{ peso del queso} \times \textit{ cgq}}{\textit{ peso de la mezcla} \times \textit{ cgm}} \times 100$$

De forma análoga, se calculó el % de proteína retenida mediante la siguiente ecuación para los mismos productos.

$$\% \textit{ Proteína retenida} = \frac{\textit{ peso del queso} \times \textit{ cpq}}{\textit{ peso de la mezcla} \times \textit{ cpm}} \times 100$$

Donde:

Cgq = Contenido de grasa en el queso

Cgm = Contenido de grasa en la mezcla (o leche)

Cpq = Contenido de proteína en el queso

Cpm = Contenido de proteína en la mezcla (o leche)

Anexo IV Composición de mezclas y leche en base seca

<i>Componente en base seca</i>	<i>Control</i>	<i>4:1</i>	<i>3:1</i>	<i>Relación con el control</i>	
<i>PACH</i>	0.00	8.65	11.15	4:1 (%)	3:1 (%)
<i>Caseína</i>	17.86	16.03	15.50	89.74	86.77
<i>Proteínas de suero</i>	4.46	4.01	3.87	89.74	86.77
<i>Grasa</i>	34.28	31.07	30.15	90.65	87.94
<i>Carbohidratos</i>	37.75	34.26	33.25	90.75	88.08
<i>Cenizas</i>	5.65	5.98	6.08	105.93	107.65

Anexo V Análisis Estadísticos

V a – Solubilidad de PACH en medio acuoso

General Linear Model: Solubilidad versus Tiempo, % PACH

Method

Factor coding (-1, 0, +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Tiempo	Fixed	3	0, 3, 6
% PACH	Fixed	2	3, 5

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tiempo	2	0.16327	0.081637	24.64	0.000
% PACH	1	0.03652	0.036515	11.02	0.004
Tiempo*% PACH	2	0.01949	0.009747	2.94	0.078
Error	18	0.05964	0.003313		
Total	23	0.27892			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0575599	78.62%	72.68%	61.99%

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Solubilidad, Term = Tiempo

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tiempo	N	Mean	Grouping
6	8	0.573385	A
3	8	0.450213	B
0	8	0.373108	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Solubilidad, Term = % PACH

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

% PACH	N	Mean	Grouping
5	12	0.504575	A
3	12	0.426563	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Solubilidad, Term = Tiempo*% PACH

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tiempo*	% PACH	N	Mean	Grouping
6	5	4	0.649247	A
6	3	4	0.497523	B
3	5	4	0.456665	B C
3	3	4	0.443762	B C
0	5	4	0.407812	B C
0	3	4	0.338403	C

Means that do not share a letter are significantly different.

V b – Ponderado de Firmeza de gel
One-way ANOVA: Ponderado fuerza versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	1	0.07132	0.071324	52.27	0.000
Error	22	0.03002	0.001365		
Total	23	0.10135			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0369411	70.38%	69.03%	64.75%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	12	0.6301	0.0371	(0.6079, 0.6522)
4:1	12	0.7391	0.0368	(0.7170, 0.7612)

Pooled StDev = 0.0369411

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
4:1	12	0.7391	A
3:1	12	0.6301	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V c – Ponderado de prueba de Bloom
One-way ANOVA: Ponderado Bloom versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	1	0.1278	0.127782	27.34	0.000
Error	22	0.1028	0.004673		
Total	23	0.2306			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0683612	55.41%	53.39%	46.94%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	12	0.6029	0.0540	(0.5620, 0.6439)
4:1	12	0.7489	0.0802	(0.7080, 0.7898)

Pooled StDev = 0.0683612

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
4:1	12	0.7489	A
3:1	12	0.6029	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V d – Ponderado de Área
One-way ANOVA: Ponderado área versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	1	0.000032	0.000032	0.00	0.950
Error	22	0.178387	0.008109		
Total	23	0.178419			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0900472	0.02%	0.00%	0.00%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	12	0.7014	0.0457	(0.6475, 0.7553)
4:1	12	0.6991	0.1189	(0.6452, 0.7530)

Pooled StDev = 0.0900472

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
3:1	12	0.7014	A
4:1	12	0.6991	A

Means that do not share a letter are significantly different.

V e – Ponderado de CRA
One-way ANOVA: Ponderado CRA versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	1	0.007252	0.007252	10.89	0.003
Error	22	0.014655	0.000666		
Total	23	0.021907			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0258096	33.10%	30.06%	20.39%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	12	1.20377	0.01678	(1.18831, 1.21922)
4:1	12	1.16900	0.03241	(1.15355, 1.18445)

Pooled StDev = 0.0258096

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
3:1	12	1.20377	A
4:1	12	1.16900	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V f – Cantidad de proteína de suero en geles enzimáticos mixtos de LEB: PACH.
One-way ANOVA: Proteína versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	3.72738	1.86369	2241.66	0.000
Error	45	0.03741	0.00083		
Total	47	3.76479			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0288338	99.01%	98.96%	98.87%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	16	2.41688	0.03301	(2.40236, 2.43139)
4:1	16	2.57375	0.03052	(2.55923, 2.58827)
Control	16	3.07063	0.02175	(3.05611, 3.08514)

Pooled StDev = 0.0288338

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	16	3.07063	A
4:1	16	2.57375	B
3:1	16	2.41688	C

Means that do not share a letter are significantly different.

V g – Cantidad de grasa de suero en geles enzimáticos mixtos de LEB: PACH
One-way ANOVA: Grasa versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	0.002863	0.001431	3.94	0.026
Error	45	0.016337	0.000363		
Total	47	0.019200			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0190540	14.91%	11.13%	3.19%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	16	0.09813	0.02810	(0.08853, 0.10772)
4:1	16	0.10250	0.01342	(0.09291, 0.11209)
Control	16	0.08438	0.01094	(0.07478, 0.09397)

Pooled StDev = 0.0190540

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
4:1	16	0.10250	A
3:1	16	0.09813	A B
Control	16	0.08438	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V h – Cantidad de cenizas de suero en geles enzimáticos mixtos de LEB: PACH

One-way ANOVA: Cenizas versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	0.084554	0.042277	1593.69	0.000
Error	45	0.001194	0.000027		
Total	47	0.085748			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0051505	98.61%	98.55%	98.42%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	16	0.37375	0.00619	(0.37116, 0.37634)
4:1	16	0.39625	0.00500	(0.39366, 0.39884)
Control	16	0.47187	0.00403	(0.46928, 0.47447)

Pooled StDev = 0.00515051

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	16	0.47187	A
4:1	16	0.39625	B
3:1	16	0.37375	C

Means that do not share a letter are significantly different.

V i – Tiempo de coagulación de PCMs y control

One-way ANOVA: Tiempo coagulación versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	232.67	116.333	15.86	0.001
Error	9	66.00	7.333		
Total	11	298.67			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
2.70801	77.90%	72.99%	60.71%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	4	39.50	3.00	(36.44, 42.56)
4:1	4	38.00	2.00	(34.94, 41.06)
Control	4	29.50	3.00	(26.44, 32.56)

Pooled StDev = 2.70801

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
3:1	4	39.50	A
4:1	4	38.00	A
Control	4	29.50	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V j – pH de desuerado de PCMs y control
One-way ANOVA: pH desuerado versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	0.04607	0.023037	8.50	0.002
Error	21	0.05692	0.002711		
Total	23	0.10300			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0520645	44.73%	39.47%	27.81%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	8	6.5887	0.0364	(6.5505, 6.6270)
4:1	8	6.5725	0.0688	(6.5342, 6.6108)
Control	8	6.4888	0.0455	(6.4505, 6.5270)

Pooled StDev = 0.0520645

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
3:1	8	6.5887	A
4:1	8	6.5725	A
Control	8	6.4888	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V k – Rendimiento verde de PCMs y control
One-way ANOVA: R verde versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	7.487	3.743	2.05	0.163
Error	15	27.394	1.826		
Total	17	34.881			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.35140	21.46%	10.99%	0.00%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	6	16.483	1.002	(15.307, 17.659)
4:1	6	16.258	1.121	(15.082, 17.434)
Control	6	17.725	1.794	(16.549, 18.901)

Pooled StDev = 1.35140

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	6	17.725	A
3:1	6	16.483	A
4:1	6	16.258	A

Means that do not share a letter are significantly different.

V l – Rendimiento simple de PCMs y control
One-way ANOVA: R simple versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	5.597	2.7987	2.97	0.082
Error	15	14.124	0.9416		
Total	17	19.721			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.970352	28.38%	18.83%	0.00%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	6	15.625	0.587	(14.781, 16.469)
4:1	6	15.250	1.085	(14.406, 16.094)
Control	6	14.300	1.141	(13.456, 15.144)

Pooled StDev = 0.970352

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
3:1	6	15.625	A
4:1	6	15.250	A
Control	6	14.300	A

Means that do not share a letter are significantly different.

V m – Humedad en PCMs
One-way ANOVA: Humedad versus Producto

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	1	1.0100	1.01003	13.44	0.067
Error	2	0.1502	0.07512		
Total	3	1.1603			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.274089	87.05%	80.58%	48.20%

Means

Producto	N	Mean	StDev	95% CI
PCM 3	2	66.780	0.240	(65.946, 67.614)
PCM 4	2	65.775	0.304	(64.941, 66.609)

Pooled StDev = 0.274089

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
PCM 3	2	66.780	A
PCM 4	2	65.775	A

Means that do not share a letter are significantly different.

V n – Contenido de proteína en PCMs
One-way ANOVA: Proteínas versus Producto

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	1	0.1722	0.17223	2.69	0.243
Error	2	0.1281	0.06403		
Total	3	0.3003			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.253032	57.36%	36.03%	0.00%

Means

Producto	N	Mean	StDev	95% CI
PCM 3	2	12.090	0.311	(11.320, 12.860)
PCM 4	2	12.505	0.177	(11.735, 13.275)

Pooled StDev = 0.253032

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
PCM 4	2	12.505	A
PCM 3	2	12.090	A

Means that do not share a letter are significantly different.

V o – Contenido de grasa en PCMs
One-way ANOVA: Grasa versus Producto

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	1	1.75563	1.75563	249.91	0.004
Error	2	0.01405	0.00703		
Total	3	1.76968			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0838153	99.21%	98.81%	96.82%

Means

Producto	N	Mean	StDev	95% CI
PCM 3	2	9.8600	0.1131	(9.6050, 10.1150)
PCM 4	2	11.1850	0.0354	(10.9300, 11.4400)

Pooled StDev = 0.0838153

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
PCM 4	2	11.1850	A
PCM 3	2	9.8600	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V p – Composición de cenizas en PCMs
One-way ANOVA: Cenizas versus Producto

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	1	0.062500	0.062500	1250.00	0.001
Error	2	0.000100	0.000050		
Total	3	0.062600			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0070711	99.84%	99.76%	99.36%

Means

Producto	N	Mean	StDev	95% CI
PCM 3	2	3.35500	0.00707	(3.33349, 3.37651)
PCM 4	2	3.60500	0.00707	(3.58349, 3.62651)

Pooled StDev = 0.00707107

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
PCM 4	2	3.60500	A
PCM 3	2	3.35500	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V q – Contenido de proteína en base seca de PCMs y control
One-way ANOVA: Proteína BS versus Producto

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	1.420	0.7100	0.80	0.528
Error	3	2.679	0.8930		
Total	5	4.099			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.944971	34.64%	0.00%	0.00%

Means

Producto	N	Mean	StDev	95% CI
3 a 1	2	36.398	1.200	(34.272, 38.525)
4 a 1	2	36.541	0.841	(34.415, 38.668)
Control	2	37.494	0.729	(35.368, 39.621)

Pooled StDev = 0.944971

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
Control	2	37.494	A
4 a 1	2	36.541	A
3 a 1	2	36.398	A

Means that do not share a letter are significantly different.

V r – Porcentaje de proteína retenida en PCMs
One-way ANOVA: Retención Proteína versus Producto

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	80.817	40.409	26.94	0.012
Error	3	4.499	1.500		
Total	5	85.317			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.22467	94.73%	91.21%	78.90%

Means

Producto	N	Mean	StDev	95% CI
3 a 1	2	70.69	1.82	(67.93, 73.44)
4 a 1	2	73.715	1.042	(70.960, 76.471)
Control	2	64.871	0.323	(62.115, 67.627)

Pooled StDev = 1.22467

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
4 a 1	2	73.715	A
3 a 1	2	70.69	A
Control	2	64.871	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V s – Contenido de grasa en base seca de PCMs y control
One-way ANOVA: Grasa BS versus Producto

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	163.306	81.6528	390.96	0.000
Error	3	0.627	0.2089		
Total	5	163.932			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.457001	99.62%	99.36%	98.47%

Means

Producto	N	Mean	StDev	95% CI
3 a 1	2	29.6805	0.1258	(28.6521, 30.7089)
4 a 1	2	32.683	0.394	(31.654, 33.711)
Control	2	41.939	0.675	(40.910, 42.967)

Pooled StDev = 0.457001

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
Control	2	41.939	A
4 a 1	2	32.683	B
3 a 1	2	29.6805	C

Means that do not share a letter are significantly different.

V t – Porcentaje de grasa retenida en PCMs

One-way ANOVA: Retención Grasa versus Producto

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	63.978	31.989	20.97	0.017
Error	3	4.577	1.526		
Total	5	68.555			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.23518	93.32%	88.87%	73.29%

Means

Producto	N	Mean	StDev	95% CI
3 a 1	2	58.375	0.670	(55.596, 61.155)
4 a 1	2	60.869	0.192	(58.090, 63.649)
Control	2	66.20	2.02	(63.42, 68.98)

Pooled StDev = 1.23518

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
Control	2	66.20	A
4 a 1	2	60.869	B
3 a 1	2	58.375	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V u – Contenido de proteína en sueros

One-way ANOVA: Proteínas versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	0.223224	0.111612	580.45	0.000
Error	48	0.009230	0.000192		
Total	50	0.232453			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0138667	96.03%	95.86%	95.52%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	17	0.70529	0.00990	(0.69853, 0.71206)
4:1	17	0.73206	0.01669	(0.72530, 0.73883)
Control	17	0.85709	0.01415	(0.85033, 0.86386)

Pooled StDev = 0.0138667

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	17	0.85709	A
4:1	17	0.73206	B
3:1	17	0.70529	C

Means that do not share a letter are significantly different.

V v – Contenido de grasa en suero
One-way ANOVA: Grasa versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	0.5756	0.287778	59.75	0.000
Error	48	0.2312	0.004816		
Total	50	0.8067			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0693981	71.34%	70.15%	67.65%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	17	0.8003	0.0545	(0.7664, 0.8341)
4:1	17	0.7810	0.0645	(0.7471, 0.8148)
Control	17	0.5659	0.0856	(0.5321, 0.5997)

Pooled StDev = 0.0693981

Tukey Pairwise Comparisons
 Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
3:1	17	0.8003	A
4:1	17	0.7810	A
Control	17	0.5659	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V w – Contenido de lactosa en suero
One-way ANOVA: Lactosa versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	8.4008	4.20041	556.64	0.000
Error	48	0.3622	0.00755		
Total	50	8.7630			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0868679	95.87%	95.69%	95.33%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	17	4.3461	0.0595	(4.3038, 4.3885)
4:1	17	4.5103	0.1051	(4.4680, 4.5527)
Control	17	5.2774	0.0897	(5.2350, 5.3197)

Pooled StDev = 0.0868679

Tukey Pairwise Comparisons
 Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	17	5.2774	A
4:1	17	4.5103	B
3:1	17	4.3461	C

Means that do not share a letter are significantly different.

V x – Contenido de cenizas en suero
One-way ANOVA: Cenizas versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	0.071490	0.035745	507.03	0.000
Error	48	0.003384	0.000070		
Total	50	0.074874			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0083964	95.48%	95.29%	94.90%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	17	0.39682	0.00732	(0.39272, 0.40091)
4:1	17	0.41194	0.00850	(0.40785, 0.41604)
Control	17	0.48271	0.00925	(0.47862, 0.48681)

Pooled StDev = 0.00839636

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	17	0.48271	A
4:1	17	0.41194	B
3:1	17	0.39682	C

Means that do not share a letter are significantly different.

V y – Densidad de suero
One-way ANOVA: Densidad versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	220.42	110.209	341.53	0.000
Error	48	15.49	0.323		
Total	50	235.91			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.568061	93.43%	93.16%	92.59%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	17	1019.25	0.74	(1018.97, 1019.53)
4:1	17	1020.22	0.48	(1019.94, 1020.49)
Control	17	1024.06	0.44	(1023.79, 1024.34)

Pooled StDev = 0.568061

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	17	1024.06	A
4:1	17	1020.22	B
3:1	17	1019.25	C

Means that do not share a letter are significantly different.

V z – Volumen de desuerado

One-way ANOVA: Desuerado versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	273.9	136.94	7.79	0.011
Error	9	158.1	17.57		
Total	11	432.0			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
4.19159	63.40%	55.26%	34.93%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	4	17.88	2.17	(13.13, 22.62)
4:1	4	21.75	4.87	(17.01, 26.49)
Control	4	29.38	4.92	(24.63, 34.12)

Pooled StDev = 4.19159

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	4	29.38	A
4:1	4	21.75	A B
3:1	4	17.88	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V aa – Medición de dureza instrumental a lo largo del tiempo
General Linear Model: Dureza versus Tratamiento, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	6288468	3144234	3300.31	0.000
Día	2	764715	382358	401.34	0.000
Tratamiento*Día	4	1229103	307276	322.53	0.000
Error	18	17149	953		
Total	26	8299435			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
30.8660	99.79%	99.70%	99.54%

Comparisons for Dureza

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Dureza, Term = Tratamiento

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	9	1183.35	A
4:1	9	164.01	B
3:1	9	155.24	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Dureza, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
14	9	721.205	A
7	9	468.617	B
1	9	312.772	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Dureza, Term = Tratamiento*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento*Día	N	Mean	Grouping
Control 14	3	1804.10	A
Control 7	3	1078.31	B
Control 1	3	667.65	C
4:1 14	3	183.44	D
3:1 14	3	176.08	D
3:1 7	3	167.30	D
4:1 7	3	160.24	D
4:1 1	3	148.33	D
3:1 1	3	122.34	D

Means that do not share a letter are significantly different.

V ab – Medición de cohesividad instrumental a lo largo del tiempo
General Linear Model: Cohesividad versus Tratamiento, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	0.010827	0.005413	24.60	0.000
Día	2	0.001277	0.000638	2.90	0.081
Tratamiento*Día	4	0.011815	0.002954	13.42	0.000
Error	18	0.003961	0.000220		
Total	26	0.027879			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0148336	85.79%	79.48%	68.03%

Comparisons for Cohesividad

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Cohesividad, Term = Tratamiento
 Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
3:1	9	0.252211	A
Control	9	0.237007	A
4:1	9	0.204222	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Cohesividad, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
7	9	0.240337	A
1	9	0.229303	A
14	9	0.223800	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Cohesividad, Term = Tratamiento*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento*Día	N	Mean	Grouping
Control 14	3	0.261990	A
3:1 7	3	0.259882	A
3:1 1	3	0.255536	A
Control 7	3	0.248159	A B
3:1 14	3	0.241215	A B C
4:1 1	3	0.231502	A B C
4:1 7	3	0.212970	B C
Control 1	3	0.200871	C D
4:1 14	3	0.168195	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Vac – Medición de elasticidad instrumental a lo largo del tiempo
General Linear Model: Elasticidad versus Tratamiento, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	1.31268	0.656339	1040.29	0.000
Día	2	0.03297	0.016484	26.13	0.000
Tratamiento*Día	4	0.01917	0.004793	7.60	0.001
Error	18	0.01136	0.000631		
Total	26	1.37617			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0251181	99.17%	98.81%	98.14%

Comparisons for Elasticidad

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Elasticidad, Term = Tratamiento

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	9	0.919278	A
4:1	9	0.524989	B
3:1	9	0.402475	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Elasticidad, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
14	9	0.645321	A
7	9	0.634889	A
1	9	0.566532	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Elasticidad, Term = Tratamiento*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento*Día	N	Mean	Grouping
Control 14	3	0.940171	A
Control 7	3	0.917379	A
Control 1	3	0.900285	A
4:1 7	3	0.588308	B
4:1 14	3	0.557409	B
3:1 14	3	0.438384	C
4:1 1	3	0.429250	C
3:1 7	3	0.398979	C
3:1 1	3	0.370062	C

Means that do not share a letter are significantly different.

V ad – Medición de masticabilidad a lo largo del tiempo
General Linear Model: Masticabilidad versus Tratamiento, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	2	386286	193143	1090.36	0.000
Día	2	55783	27891	157.46	0.000
Tratamiento*Día	4	103423	25856	145.96	0.000
Error	18	3188	177		
Total	26	548681			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
13.3093	99.42%	99.16%	98.69%

Comparisons for Masticabilidad

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Masticabilidad, Term = Tratamiento

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control	9	270.623	A
4:1	9	17.426	B
3:1	9	16.356	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Masticabilidad, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
14	9	160.150	A
7	9	94.852	B
1	9	49.404	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Masticabilidad, Term = Tratamiento*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento*Día	N	Mean	Grouping
Control 14	3	444.565	A
Control 7	3	245.442	B
Control 1	3	121.864	C
4:1 7	3	20.207	D
3:1 7	3	18.906	D
3:1 14	3	18.632	D
4:1 14	3	17.255	D
4:1 1	3	14.817	D
3:1 1	3	11.530	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Vae – pH a lo largo del almacenamiento
General Linear Model: pH versus Producto, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	0.1359	0.06794	5.09	0.013
Día	2	6.9259	3.46295	259.63	0.000
Producto*Día	4	0.1323	0.03307	2.48	0.068
Error	27	0.3601	0.01334		
Total	35	7.5542			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.115489	95.23%	93.82%	91.53%

Comparisons for pH

Tukey Pairwise Comparisons: Response = pH, Term = Producto

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
3:1	12	6.28340	A
Control	12	6.26538	A
4:1	12	6.14500	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = pH, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
1	12	6.75417	A
7	12	6.25878	B
14	12	5.68083	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = pH, Term = Producto*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto*Día	N	Mean	Grouping
3:1 1	4	6.79250	A
4:1 1	4	6.76250	A
Control 1	4	6.70750	A
3:1 7	4	6.31019	B
Control 7	4	6.28865	B
4:1 7	4	6.17750	B
Control 14	4	5.80000	C
3:1 14	4	5.74750	C D
4:1 14	4	5.49500	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Vaf – Evolución de L en almacenamiento refrigerado
General Linear Model: L versus Producto, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	191.13	95.563	80.81	0.000
Día	2	67.04	33.520	28.34	0.000
Producto*Día	4	24.29	6.072	5.13	0.001
Error	72	85.15	1.183		
Total	80	367.60			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.08747	76.84%	74.26%	70.68%

Comparisons for L

Tukey Pairwise Comparisons: Response = L, Term = Producto

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
Control	27	83.4447	A
4:1	27	80.6856	B
3:1	27	79.8496	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = L, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
14	27	82.0561	A
1	27	81.8798	A
7	27	80.0441	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = L, Term = Producto*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto*Día	N	Mean	Grouping
Control 1	9	84.0182	A
Control 14	9	83.3304	A
Control 7	9	82.9856	A B
4:1 14	9	81.6189	B C
3:1 14	9	81.2189	C
4:1 1	9	80.9944	C D
3:1 1	9	80.6267	C D
4:1 7	9	79.4433	D
3:1 7	9	77.7033	E

Means that do not share a letter are significantly different.

V ag – Evolución de a durante el almacenamiento refrigerado
General Linear Model: a versus Producto, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	17.7878	8.89391	1082.50	0.000
Día	2	0.9125	0.45626	55.53	0.000
Producto*Día	4	0.0482	0.01205	1.47	0.221
Error	72	0.5916	0.00822		
Total	80	19.3401			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0906427	96.94%	96.60%	96.13%

Comparisons for a

Tukey Pairwise Comparisons: Response = a, Term = Producto

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
3:1	27	1.58248	A
4:1	27	1.48667	B
Control	27	0.54395	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = a, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
14	27	1.31939	A
7	27	1.23037	B
1	27	1.06333	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = a, Term = Producto*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto*Día	N	Mean	Grouping
3:1 14	9	1.69965	A
3:1 7	9	1.61111	A B
4:1 14	9	1.55889	B C
4:1 7	9	1.53667	B C
3:1 1	9	1.43667	C D
4:1 1	9	1.36444	D
Control 14	9	0.69963	E
Control 7	9	0.54333	F
Control 1	9	0.38889	G

Means that do not share a letter are significantly different.

V ah – Evolución de b en almacenamiento
General Linear Model: b versus Producto, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	85.074	42.5368	92.55	0.000
Día	2	26.791	13.3955	29.14	0.000
Producto*Día	4	0.243	0.0608	0.13	0.970
Error	72	33.093	0.4596		
Total	80	145.201			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.677955	77.21%	74.68%	71.15%

Comparisons for b

Tukey Pairwise Comparisons: Response = b, Term = Producto

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
3:1	27	14.7418	A
4:1	27	14.2911	B
Control	27	12.3778	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = b, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
14	27	14.2977	A
7	27	14.1159	A
1	27	12.9970	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = b, Term = Producto*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto*Día	N	Mean	Grouping
3:1 14	9	15.3377	A
3:1 7	9	14.9967	A
4:1 14	9	14.7689	A B
4:1 7	9	14.6189	A B
3:1 1	9	13.8911	B C
4:1 1	9	13.4856	C D
Control 14	9	12.7867	D
Control 7	9	12.7322	D
Control 1	9	11.6144	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Vai – Evolución de h en almacenamiento refrigerado
General Linear Model: h versus Producto, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	0.068952	0.034476	717.12	0.000
Día	2	0.001633	0.000816	16.98	0.000
Producto*Día	4	0.000839	0.000210	4.36	0.003
Error	72	0.003461	0.000048		
Total	80	0.074885			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0069337	95.38%	94.86%	94.15%

Comparisons for h

Tukey Pairwise Comparisons: Response = h, Term = Producto

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
Control	27	1.52729	A
4:1	27	1.46700	B
3:1	27	1.46390	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = h, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
1	27	1.49162	A
7	27	1.48594	B
14	27	1.48062	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = h, Term = Producto*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto*Día	N	Mean	Grouping
Control 1	9	1.53773	A
Control 7	9	1.52818	A
Control 14	9	1.51594	B
4:1 1	9	1.46950	C
3:1 1	9	1.46762	C
4:1 7	9	1.46590	C
4:1 14	9	1.46559	C
3:1 7	9	1.46375	C
3:1 14	9	1.46034	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Vaj – Chroma en almacenamiento refrigerado
General Linear Model: C versus Producto, Día

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Producto	2	90.531	45.2656	98.66	0.000
Día	2	27.353	13.6766	29.81	0.000
Producto*Día	4	0.251	0.0627	0.14	0.968
Error	72	33.035	0.4588		
Total	80	151.170			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.677358	78.15%	75.72%	72.34%

Comparisons for C

Tukey Pairwise Comparisons: Response = C, Term = Producto

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto	N	Mean	Grouping
3:1	27	14.8268	A
4:1	27	14.3687	B
Control	27	12.3904	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = C, Term = Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
14	27	14.3630	A
7	27	14.1756	A
1	27	13.0473	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = C, Term = Producto*Día

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Producto*Día	N	Mean	Grouping
3:1 14	9	15.4318	A
3:1 7	9	15.0831	A
4:1 14	9	14.8512	A B
4:1 7	9	14.6998	A B
3:1 1	9	13.9654	B C
4:1 1	9	13.5551	C D
Control 14	9	12.8060	D
Control 7	9	12.7438	D
Control 1	9	11.6214	E

Means that do not share a letter are significantly different.

V ak – Evaluación de dureza mediante análisis sensorial
One-way ANOVA: Dureza versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	1	0.8929	0.89286	22.41	0.000
Error	26	1.0357	0.03984		
Total	27	1.9286			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.199587	46.30%	44.23%	37.72%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	14	1.4643	0.1336	(1.3546, 1.5739)
4:1	14	1.8214	0.2486	(1.7118, 1.9311)

Pooled StDev = 0.199587

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
4:1	14	1.8214	A
3:1	14	1.4643	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V al – Evaluación de cohesividad mediante análisis sensorial
One-way ANOVA: Cohesividad versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	1	0.3214	0.3214	0.53	0.473
Error	26	15.7857	0.6071		
Total	27	16.1071			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.779194	2.00%	0.00%	0.00%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	14	6.286	1.069	(5.858, 6.714)
4:1	14	6.0714	0.2673	(5.6434, 6.4995)

Pooled StDev = 0.779194

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
3:1	14	6.286	A
4:1	14	6.0714	A

Means that do not share a letter are significantly different.

V am – Evaluación de fuerza de compresión mediante análisis sensorial
One-way ANOVA: Fuerza de compresión versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	1	2.009	2.0089	12.14	0.002
Error	26	4.304	0.1655		
Total	27	6.313			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.406844	31.82%	29.20%	20.93%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	14	1.357	0.497	(1.134, 1.581)
4:1	14	1.8929	0.2895	(1.6694, 2.1164)

Pooled StDev = 0.406844

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
4:1	14	1.8929	A
3:1	14	1.357	B

Means that do not share a letter are significantly different.

V an – Evaluación de adhesividad con análisis sensorial
One-way ANOVA: Adhesividad versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	1	1.080	1.08036	11.48	0.002
Error	26	2.446	0.09409		
Total	27	3.527			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.306746	30.63%	27.96%	19.55%

Means

Tratamiento	N	Mean	StDev	95% CI
3:1	14	3.0357	0.3079	(2.8672, 3.2042)
4:1	14	2.6429	0.3056	(2.4743, 2.8114)

Pooled StDev = 0.306746

Tukey Pairwise Comparisons

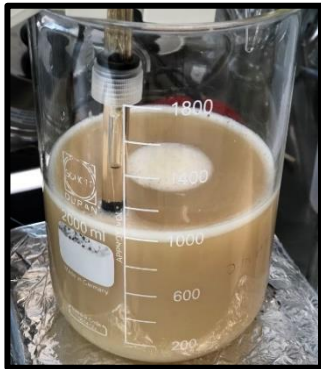
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamiento	N	Mean	Grouping
3:1	14	3.0357	A
4:1	14	2.6429	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Anexo VI Resumen gráfico del proceso de elaboración de PCMs

TRATAMIENTO DE DISPERSIÓN DE PROTEÍNA AISLADA DE CHÍCHARO

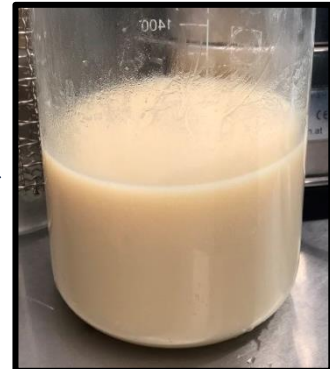


pH 12



pH shifting

Regreso a pH nativo (~7.4)



Después de proceso ultrasónico

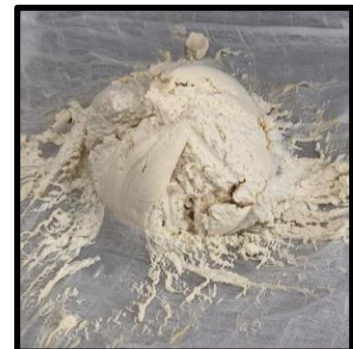
APARIENCIA DE LOS PCMS Y QUESO DURANTE SU ELABORACIÓN



Cortado de cuajada



Desuerado



Después del desuerado



Antes del prensado



Salado 3:1



Salado 4:1

APARIENCIA DE PRODUCTO TERMINADO DE PCMS



Control



4:1



3:1

Anexo VII Encuesta de preselección del panel sensorial



Registro para formar parte de un Panel Sensorial Entrenado

B I U ↻ ✕

¡Gracias por tu interés en participar en el panel sensorial! A continuación, te presento una serie de preguntas requeridas para iniciar el proceso. Posteriormente, tendremos una sesión preliminar presencial y una sesión virtual de introducción.

Nombre completo (Nombre, Apellidos) *

Tu respuesta _____

¿Fumas regularmente?

Si

No

¿Consumes café regularmente? *

Si

No

¿Consumes medicamentos actualmente?

Si

No

¿Consumes medicamentos actualmente?

Si

No

¿Tienes posibilidad de realizar la prueba en la Facultad de Ingeniería Química en CU-BUAP?

Si

No

Preferencia de horarios disponibles para realizar la prueba

Por la mañana (antes de 14:00 hs)

Por la tarde (A partir de 15:00 hs)

Puedo en cualquier horario

Deja por favor tu número de whatsapp si tendrás la posibilidad de realizar la prueba, te escribiremos pronto.

Tu respuesta _____

Enviar [Borrar formulario](#)

Nunca envíes contraseñas a través de Formularios de Google.

Google no creó ni aprobó este contenido. [Denunciar abuso](#) - [Condiciones del Servicio](#) - [Política de Privacidad](#)

Liga a la encuesta en Google forms:

https://docs.google.com/forms/d/1EXBxJET2W9ldaJqaAVUJVCg_lzJsGd5ZUUsRdPDH2E/edit

Entrenamiento de un panel sensorial

RENATA RUIZ ENRÍQUEZ

¿Qué es el Análisis Sensorial?

"Una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar reacciones a las características de los alimentos y materiales tal como son percibidos por los sentidos de la vista, el gusto, el tacto y el oído"

"Un conjunto de herramientas para medir con precisión las respuestas humanas a los estímulos externos."

Las propiedades sensoriales de los alimentos

- aroma
- sabor
- textura
- atributos de apariencia

Integración de diversas propiedades de composición y estructura del producto

Drake, M.A. (2022) Sensory Evaluation En McSweeney, P.L.H. y McNamara, J.P. (Eds.) Encyclopedia of Dairy Sciences (Vol.3). Elsevier Academic Press, London UK.

Justificación del Proyecto

- Incremento de enfermedades cardiovasculares en la población
- Productos veganos y vegetarianos
- Defectos en textura y sabor
- Flexitarianismo
- Formulación de un producto coagulado mixto
- Evaluar diferencias entre texturas

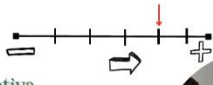



Objetivo de la prueba

- Formación de un **Panel Sensorial Entrenado**
- Reportar la percepción de cambios en la composición de un alimento
- Garantía de calidad, herramienta de investigación, comercialización

Evaluación Sensorial Descriptiva

- Determinar una descripción cuantitativa de todos los atributos que se pueden identificar, no solo los defectos
- No se hace ningún juicio de "bueno" o "malo" porque este no es el propósito de la evaluación
- Panel de Evaluadores

Descripción de actividades

El panel de evaluadores debe:

- El método se basa en la experiencia existente mediante reuniones con los evaluadores
- Definir cada característica sensorial (estandarización)
- Ser capaz de reconocer las características sensoriales diferentes de un producto
- Llegar a un acuerdo sobre cómo se perciben y cómo deben etiquetarse
- Ser capaces de calificar la intensidad de cada característica en escalas de línea




Calendarización

ABRIL							MAYO						
Lun	Mar	Miér	Jue	Vie	Sáb	Dom	Lun	Mar	Miér	Jue	Vie	Sáb	Dom
1	2	3	4	5	6	7	6	7	8	9	10	11	12
8	9	10	11	12	13	14	13	14	15	16	17	18	19
15	16	17	18	19	20	21	20	21	22	23	24	25	26
22	23	24	25	26	27	28	27	28	29	30	31		
29	30												

Hoy

Horario
4:00 p.m. - 6:00 p.m.

1. Reunión virtual, explicación de la prueba
2. Entrenamiento presencial FIQ 7-202 vía remota Dra. Xadeni Villegas (Guadalajara)
3. Seguimiento (referencias)
4. Seguimiento (referencias)
5. Prueba de Producto
6. Prueba de Producto (tentativa)

Anexo IX Participación en eventos académicos

Certificado de participación en Congreso Internacional Latin Food 2022



Aceptación de trabajo en el Congreso Internacional Latin Food 2024

Dear participant,

We are pleased to inform you that your abstract **PP III 77**: Physicochemical and sensory characterization of a blended coagulated milk product added with ultrasonicated pea protein, has been **accepted** as **Poster presentation** at the Latin Food 2024.

Each participant can present up to three abstracts.

Oral and poster presentations in the Congress and their inclusion in the book of abstracts is subject to the registration of the presenting author no later than **Septiembre 28** according to the corresponding quota described in the Fees Section.

Invitations for Special Issues (Food Research International, Revista Ciencia UAT and Tecnociencia-Chihuahua) will be sent after Septiembre 28.

More information:

<https://amecamex.mx/congresos/latin-food-2024/>

Best regards,



Organizing Committee

<https://amecamex.mx/>