BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

# "CAMBIOS EN PROPIEDADES FUNCIONALES DE QUESO TIPO MOZZARELLA ELABORADO CON LECHE TRATADA POR TERMOSONICACIÓN"

TESIS DE MAESTRÍA

QUE PARA OBTENER GRADO DE
MAESTRO EN INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:
I.Q. MAYRA GUADALUPE PÉREZ MATA

ASESOR:
M.C. HÉCTOR RUIZ ESPINOSA

COASESOR:
DRA. EDITH CORONA JIMÉNEZ

H. Puebla Z., Diciembre 2014

BUAP

*Oficio: FIQ SIEP/101/2014*
**C.P. Juan José Morales Rodríguez**
**Director de Administración Escolar de la**
**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**
**P R E S E N T E,**

Reciba un afectuoso saludo y al mismo tiempo me permito presentar a usted a los integrantes del jurado de examen que para obtener el grado de Maestra en Ingeniería Química sustentará la:

**Ing. Mayra Guadalupe Pérez Mata**

perteneciente a la generación 2012 con número de matrícula 212470805 y cuyo tema de tesis es: *"Cambios en las propiedades funcionales de queso tipo mozarella elaborado con leche tratada por termosonicación"*. Dicho jurado está integrado por:

JURADO

| | |
|---|---|
| Presidente | Dr. Irving Israel Ruiz López |
| Secretario | Dr. Juan José Luna Guevara |
| Vocal | Dra. Edith Corona Jiménez |
| Vocal | M.C. Héctor Ruiz Espinosa |

Asimismo, comunico a usted que la alumna cumple con todos los requisitos para poder llevar a cabo su examen de grado y que los integrantes de este jurado están citados con anticipación para la siguiente fecha y lugar:

| | |
|---|---|
| FECHA DE EXAMEN: | 15 de diciembre de 2014 |
| HORA: | 10:00 horas |
| LUGAR: | Facultad de Ingeniería Química 106H/302 |
| DÍA: | Lunes |

Sin más por el momento, me es grato quedar de usted,

Atentamente,

"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z. a 4 de diciembre 2014

Dr. Álvaro Sampieri Croda
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado

c.c.p. Interesado
Archivo

Facultad de Ingeniería Química
Av. San Claudio s/n, Col. San Manuel, Ciudad Universitaria, Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00
Ext. 7250 y 7251

*Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.*

**Agradecimientos**

*A mi director de tesis, M.C. Héctor Ruiz Espinosa, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de estos años, que me han ayudado a formarme como persona e investigador.*

*A la Dra. Edith Corona Jiménez porinvaluable ayuda brindarme su apoyo, paciencia, amistad y asesoría en el desarrollo de mi tesis.*

*Al Dr. Irving Israel Ruiz López y al Dr. Juan José Luna Guevara por sus aportaciones y observaciones; las cuales me permitieron enriquecer la tesis y cumplir una meta más en mi vida, por lo cual, emito a ustedes mi profundo agradecimiento.*

*También quiero dar al Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP) de la Universidad Autonoma del Estado de Hidalgo por acogerme en sus aulas y compartir sus conocimientos y guiarme en el presente proyecto, en especial a la Dra. Aurora Quintero Lira, por su colaboración en el suministro de los datos necesarios para la realización de la parte empírica de esta investigación, sus consejos, su enseñanza y más que todo por su amistad.*

*A la Doctora Xadeni Villegas Ruiz, por su paciencia y disponibilidad en todo momento y por compartir conmigo sus conocimientos sobre el análisis sensorial.*

*A mi madre con todo mi cariño y mi amor, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, con tu bondad y sacrificio me inspiraste a ser mejor, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de ti, gracias por estar siempre a mi lado ¡TE AMO! a mi padre por sembrar en mi la semilla de la responsabilidad y del trabajo duro.*

*Agradezco a mis abuelos por sus cuidados y apoyo que me proporcionan para obtener mi meta.*

*A mis hermanos Jazmín y Alan por ser apoyarme en todas y cada una de mis decisiones, por escucharme y compartir conmigo mis alegerias, errores y tristezas. Gracias por todo su cariño y porque nunca dejaron de creer en mí, los quiero mucho.*

*A Daniel Adán Hernández Chávez, por acompañarme en esta etapa de mi vida, por su apoyo incondicional, comprensión, paciencia y amor, dándome la fuerza y valor para seguir adelante, por enseñarme que hay mejor forma de ganarse la vida que amando nuestro trabajo, no hay palabras suficientes para expresarte lo importante que eres en mi vida, ¡Te amo!*

*A Hilda Elias por su amistad, sacrificio, esmero y voluntad, su ayuda fue pieza clave para concluir esta etapa tan importante de mi vida.*

*A mi compañera Arianna Gallegos, por brindarme su respeto y amistad, por haber compartido dificultades y alegrías, durante todo el proceso de nuestro trabajo experimental.*

*Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones. Para ellos: Muchas gracias y que Dios los bendiga.*

## ÍNDICE GENERAL


Resumen xi

Introducción xiii

Planteamiento del problema xv

Justificación xvi

Objetivos xvii

**CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO**

1.1. La leche 1

1.1.1. Definición 1

1.1.2. Composición de la leche 1

1.1.2.1. Agua 2

1.1.2.2. Grasa 3

1.1.2.3. Lactosa 3

1.1.2.4. Proteínas 4

1.1.2.5. Sales, minerales y vitaminas 4

1.1.3. Propiedades fisicoquímicas 5

1.1.4. Características sensoriales 7

1.2. Queso 7

1.2.1. Generalidades del queso 7

1.2.2. Producción mundial 8

1.2.3. Proceso de elaboración 8

1.2.3.1. Preparación de la leche 8

1.2.3.2. Adición de cultivo 10

1.2.3.3. Coagulación 11

1.2.3.4. Cortado, desuerado y removido 12

1.2.3.5. Moldeado y prensado 12

1.2.3.6. Salado 13

1.2.3.7. Maduración 13

1.2.4. Queso tipo Mozzarella 13
1.2.5. Tratamientos de conservación 16
1.2.5.1. Tratamientos térmicos 16
1.2.5.2. Tratamientos emergentes 17
1.2.6. Ultrasonicación 18
1.2.6.1 Fundamentos del ultrasonido 18
1.2.6.2 Tipos de ultrasonido 19

**CAPÍTULO II. METODOLOGÍA**

2.1. Plan de investigación 27
2.2. Materiales y métodos 29
2.2.1. Materiales 29
2.2.2. Procesamiento de leche 29
2.2.3. Determinación de la energía entregada y potencia disipada 31
2.2.4. Determinación de hidroperóxidos 31
2.2.5. Análisis a las características tecnológicas de leche 32
2.2.6. Elaboración de queso tipo Mozzarella 36
2.2.7. Análisis a los parámetros de control durante la elaboración de queso 37
2.2.8. Análisis a las características del queso tipo Mozzarella 38
2.2.8.1. Análisis bromatológicos 38
2.2.8.2. Liberación de grasa 43
2.2.8.3. Rendimiento 44
2.2.8.4. Determinaciones reológicas dinámicas 44
2.2.8.5. Evaluación de características funcionales 45
2.2.8.6. Análisis sensorial 47
2.2.9. Diseño experimental 48

**CAPÍTULO III. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

3.1. Etapa I. Evaluación preliminar de parámetros de operación 50
3.1.1. Preparación de muestras de leche 51
3.1.2. Determinación de hidroperóxidos 52
3.2. Etapa II. Evaluación de las características tecnológicas de la leche para elaborar queso tipo Mozzarella

3.2.1. Determinación del tamaño de partícula 55
3.2.2. Microscopia 55
3.2.3. Acidez y pH 59
3.2.4.Capacidad de retención de agua 62
3.2.5. Firmeza de gel 63
3.2.6. Tiempo de coagulación 65
3.3. Etapa III. Comparación de cambios fisicoquímicos en leches TS y pasteurizada térmicamente 66
3.3.1. Caracterización de parámetros de control 69
3.3.1.1. Porcentaje de ácido láctico y pH 69
3.3.1.2. Pérdida de sólidos finos y volumen de suero expelido 71
3.3.1.3. Composición del suero 72
3.3.2. Análisis bromatológicos 73
3.3.3. Liberación de grasa 76
3.3.4. Rendimiento 78
3.3.5. Determinaciones reológicas dinámicas 80
3.3.6. Evaluación de características funcionales 84
3.3.6.1. Acidez y pH 84
3.3.6.2. Análisis de perfil de textura 86
3.3.6.3. Capacidad de fundido 88
3.3.6.4. Color 91
3.3.7. Sensorial 94
Conclusiones 99
Recomendaciones 101

Referencias bibliográficas
Anexos
Anexo 1. Determinación de la energía entregada etapa I 115
Anexo 2. Determinación de la energía entregada y potencia disipada etapa II 117
Anexo 3. Elaboración de queso 121
Anexo 4. Composición del queso tipo Mozzarella comercial “Esmeralda” 123
Anexo 5. Sensorial 124
Anexo 6. Análisis de la Varianza (ANOVAS) 126
Anexo 7. Analisis de componentes principales 165

## ÍNDICE DE FIGURAS


**Figura 1.1.** Diagrama general de la fabricación del queso 10
**Figura 1.2.** Procedimiento de elaboración de queso Mozzarella 15
**Figura 1.3.** Fenómeno de cavitación 20
**Figura 2.1.** Analizador rápido ultrasónico 29
**Figura 2.2.** Descremadora LKL 29
**Figura 2.3.** Esquema sistema de sonicación 30
**Figura 2.4.** Equipos empleados durante el proceso de termosonicación 30
**Figura 2.5.** .Determinación del índice de peróxidos 31
**Figura 2.6.** Analizador de Tamaño de Partícula Microtac. 33
**Figura 2.7.** Microscopio ZEISS Axiolab A. 33
**Figura 2.8.** Determinación de la capacidad de retención de agua 34
**Figura 2.9.** Determinación de fuerza de rotura en el Texturómetro TA XT-Plus. 35
**Figura 2.10.** Determinación de tiempo de coagulación. 36
**Figura 2.11.** Determinación de cenizas. 38
**Figura 2.12.** Determinación de cloruros. 38
**Figura 2.13.** Determinación de grasas. 39
**Figura 2.14.** Determinación de humedad. 41
**Figura 2.15.** Determinación de proteínas. 42
**Figura 2.16.** Determinación de grasa liberada. 43
**Figura 2.17.** Determinaciones reológicas 44
**Figura 2.18.** Determinación de capacidad de fundido. 46
**Figura 2.19.** Determinaciones de color 46
**Figura 2.20.** Determinación de pH en queso. 46
**Figura 3.1.1.** Cinéticas de formación de hidroperóxidos a 50% de amplitud. 52
**Figura 3.1.2.** Cinéticas de formación de hidroperóxidos a 100% de amplitud. 53
**Figura 3.2.1.** Distribución de tamaño de partículas 56
**Figura 3.2.2.** Micrografías de leche sonicada sometida a tratamientos de termosonicación 60
**Figura 3.3.1.** Evolución de acidez y pH en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS 69
**Figura 3.3.2.** Liberación de grasa para los diferentes tratamientos de termosonicación 77
**Figura 3.3.3.** Gráficos de reología dinámica vs frecuencia angular 81
**Figura 3.3.4**. Imagen de análisis de reometría al queso del Tratamiento 3 83
**Figura 3.3.5.** Muestras fundidas en quesos TS durante el almacenamiento refrigerado 90
**Figura 3.3.6.** Cambios en parámetros de color de queso Mozzarella durante almacenamiento refrigerado (A. Luminosidad; B. a*; C. b*) 92
**Figura 3.3.7.** Evolución del color de los quesos TS 93
**Figura 3.3.8.** Análisis de Componentes principales al día 1 96
**Figura 3.3.9.** Análisis de Componentes principales al día 15 97
**Figura A1.** Descripción gráfica de operaciones críticas durante elaboración de queso Mozzarella a pequeña escala 123
**Figura A.2.** Queso Mozzarella comercial Esmeralda 118

## ÍNDICE DE TABLAS


**Tabla 1.1**. Composición general de la leche (g/l) 2
**Tabla 1.2.** Composición de los lípidos en la leche 3
**Tabla 1.3** Densidad de los componentes de la leche 5
**Tabla 1.4.** Clasificación de quesos Mexicanos 9
**Tabla 2.1.** Tratamientos de termosonicación realizados 31
**Tabla 3.1.1.** Promedios de temperatura, energías y potencias en los diferentes tratamientos. 51
**Tabla 3.1.2.** Medias del incremento en el contenido de grasa en leche después del tratamiento de TS 52
**Tabla 3.2.1.** Cambio en valores promedio de diámetro volumétrico de GG 57
**Tabla 3.2.2.** Medias de muestras analizadas para la distribución del tamaño de partícula. 58
**Tabla 3.2.3.** Promedios de acidez y pH de leche entera sometida a tratamientos selectos de TS 62
**Tabla 3.2.4.** Promedios de CRA de agua en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS 63
**Tabla 3.2.5.** Promedios de FG (g) en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS 65
**Tabla 3.2.6.** Promedios de TC (min) en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS 67
**Tabla 3.3.1.** Promedios de energías y potencias en los diferentes tratamientos. 68
**Tabla 3.3.2.** Evolución del tiempo de acidificación en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS 71
**Tabla 3.3.3.** Pérdida de sólidos finos y volumen de suero expulsado para tratamientos selectos de TS 71
**Tabla 3.3.4.** Composición de suero para los tratamientos de TS 72
**Tabla 3.3.5.** Análisis bromatológicos para los diferentes tratamientos de TS 73
**Tabla 3.3.6.** Parámetros químicos de diferentes quesos 74
**Tabla 3.3.7.** Rendimiento verde y rendimiento húmedo para los diferentes tratamientos 79
**Tabla 3.3.8.** Medias de acidez en los diferentes días de análisis
**Tabla 3.3.9.** Medias de parámetros del análisis de perfil de textura 84
**Tabla 3.3.10.** Medias de % de incremento en capacidad de fundido para los diferentes días de análisis 88 89
**Tabla 3.3.11.** Valores propios de los factores para los análisis de textura descriptivos sensoriales 94
**Tabla 3.3.12.** Atributos principales para los análisis de textura descriptivos sensoriales 95

**Resumen**

Actualmente la industria alimentaria presenta el reto de obtener productos finales inocuos, minimizando las pérdidas de nutrientes y propiedades sensoriales, lo cual ha llevado a buscar técnicas que permitan obtener alimentos mínimamente afectados. Los ultrasonidos (US) son ondas acústicas cuya frecuencia es superior a 20 kHz, valor que representa el límite de audición humano (Hoover, 2000), las cuales representan una técnica prometedora en el procesamiento de alimentos. No obstante, dado que sólo han sido llevados a cabo a escala de laboratorio y no se ha realizado a nivel industrial, se opta por un proceso mixto (Salazar *et al.,* 2012). La termosonicación (TS) es la aplicación de US en combinación con un tratamiento térmico (TT) que ha mostrado resultados promisorios en el procesamiento de alimentos (Robles y Ochoa, 2012); por lo tanto, el objetivo general de este trabajo fue comparar las características de quesos elaborados con leche sometida a un tratamiento de TS y quesos elaborados con leche tratada por pasteurización, que permitan aportar nuevos conocimientos en el tema de tecnologías no térmicas.

La leche bovina empleada en el desarrollo de esta tesis fue adquirida con un productor local, posteriormente se estandarizó (3% grasa) y se sometió al tratamiento de US a T = 40±1 °C mediante un equipo ultrasónico de sonda operando a 400 W y 24 kHz con una sonda de 22 mm de diámetro, seguido de una pasteurización Low Temperature Long Time (LTLT, 63 °C, 30 min), de acuerdo a un diseño de caras centradas comparado con un control con potencia (200, 300 y 400 W) y tiempo de ultrasonicación (2, 4 y 6 min) como variables independientes. Todas las pruebas se realizaron por duplicado. Se analizaron las características tecnológicas de la leche (pH, porcentaje de ácido láctico, tiempo de coagulación (TC), capacidad de retención de agua (CRA), firmeza de gel (FG), índice de peróxidos, tamaño de partícula y microscopía de glóbulo graso), para poder conocer los cambios físicos de los diferentes tratamientos térmicos. Los resultados se analizaron por un ANOVA con un modelo lineal general con $\alpha=0.05$, las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de Dunnet ($p<0.05$) para determinar diferencias con el control y con la prueba de Tukey ($p<0.05$) para comparar tratamientos de TS. Se encontraron valores de índice de peróxidos más altos a tiempos mayores a 4.8 y 6 min a una potencia de 400 W y 200 W respectivamente; por su parte, los tratamientos de TS a 200 y 400 W durante 6 min presentaron una mayor CRA en comparación con la leche pasteurizada y la FG disminuyó

conforme aumentó el tiempo de sonicación; se consideraron promisorios los tratamientos de TS a 200 W, 6 min y 400 W, 4 min.

Posteriormente se elaboraron quesos tipo Mozzarella de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado con tipo de tratamiento como variable independientes (Tratamiento térmico (TT) = Tratamiento 1, TS a 1080 s y 50% de amplitud = Tratamiento 2 y TS a 720 s y 100% amplitud = Tratamiento 3) y composición bromatológica, características funcionales, reológicas y sensoriales como variables dependientes. Todos los tratamientos y determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se analizaron por un ANOVA de una sola vía y un ANOVA con un modelolineal general y las medias de los tratamientos se compararon mediante prueba de Tukey ($\alpha$=0.05). Dentro de los principales cambios se encuentran los siguientes resultados: el rendimiento quesero para productos elaborados con leche TS fue mayor en todos los casos que aquellos fabricados con el TT (10.10±0.34), especialmente en el Tratamiento 3 (12.89±0.05). Todos los quesos TS fueron más blancos (mayor luminosidad) que con TT durante todo el periodo de muestreo, atribuible a la homogeneización de glóbulo de grasa (GG) inducida por el US. La incorporación proteica aumentó (21.78±0.21%) con el Tratamiento 3 en comparación con quesos control (20.80±0.65%). Los quesos TS exhibieron una menor firmeza a todos los tiempos de muestreo en comparación con los quesos con TT. Tanto la capacidad de fundido como la liberación de grasa disminuyeron significativamente producto de la TS. La capacidad de fundido en quesos TS a 100% de amplitud se redujo en 27.71±2.11% con respecto a los quesos con TT, mientras que la liberación de grasa disminuyó en 55.6±3.47%. Los efectos observados en queso pueden atribuirse a la integración de proteína de suero desnaturalizada, a la reducción de tamaño de GG y a la mayor humedad en cuajada, los cuales posibilitan el desarrollo de propiedades funcionales únicas. El presente trabajo de tesis sugiere que la TS puede resultar favorable como pretratamiento de leche para elaborar quesos tipo *Mozzarella* con funcionalidad única y rendimiento incrementado.

## Introducción

De acuerdo con datos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI, 2010) desde finales del año 2004 los precios del maíz y de los combustibles se han incrementado considerablemente, arrastrando a la alza el precio de otros granos, afectando sensiblemente los costos de alimentación del ganado y generando un problema para los productores lecheros. La industria lechera constituye una de las más dinámicas en el mercado de productos alimenticios; de acuerdo con datos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, 2012), la producción nacional de leche pasó de 9,784 a 10,677 millones de litros/ año, en el periodo 2003-2010, lo que representó una tasa de crecimiento anual promedio de 1.3%. Los incrementos mencionados anteriormente se encuentran relacionados con el desarrollo y crecimiento del sector lácteo, en el cual los consumidores son cada día más exigentes y esperan un producto seguro desde el punto de vista higiénico-sanitario, que se obtenga a partir de un proceso sustentablemente, sea sensorialmente aceptable y posea una mayor vida útil.

Las operaciones unitarias tradicionalmente utilizadas para procesar y conservar alimentos son los tratamientos térmicos, los cuales han sido probadamente eficaces; sin embargo, no satisfacen enteramente las expectativas del consumidor, pues pueden provocar alteraciones sensoriales indeseables (textura, sabor, color, olor) y afectar las cualidades nutricionales. Es en este contexto que surgen las tecnologías no térmicas de conservación, las cuales permiten mantener el valor nutritivo de los alimentos y mejorar su seguridad y funcionalidad. Dentro de estas se incluyen campos eléctricos pulsados (Fernández-Molina *et al.,* 2001), alta presión hidrostática (Urtasun, 2012), homogeneización a alta presión (Pereda, 2008), ozonificación (Seminario *et al.,* 2011), entre otros. Sin embargo, recientemente se ha empezado a explorar el procesamiento de leche por US (Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas (2010), el cual como otros métodos no térmicos de conservación, se considera que posee un impacto limitado sobre el sabor de leche cruda, y representa un costo de inversión sensiblemente menor al de otras tecnologías. No obstante, debido a que la información científica que permita asegurar la inocuidad de estos procesos es insuficiente, pues no se han identificado indicadores adecuados de proceso ni los microorganismos patógenos más resistentes a este proceso, se ha propuesto el uso de tecnologías mixtas. Éstas combinan el uso de un TT, que garantiza la inocuidad microbiológica del producto, y un tratamiento emergente que mejora los parámetros de calidad y permita modificar características

funcionales selectas del queso, incluyendo el incremento del rendimiento. Dentro de éstas destaca la TS, la cual se define como la combinación de US con tratamientos térmicos, y con la que se han obtenido resultados promisorios en la conservación de alimentos y la generación de características funcionales y sensoriales únicas.

A la fecha no hay reportes enfocados en el estudio de este proceso sobre quesos tipo Mozzarella, uno de los más populares y consumidos alrededor del mundo. Por tanto, se consideró pertinente abordar un estudio de esta naturaleza.

## Planteamiento del problema

La industria de elaboración de quesos es considerada parte importante del sector lácteo y se encuentra en constante crecimiento. Entre el 2005 y 2011 la producción de quesos presentó un incremento promedio de 5.7% (Industria Láctea, 2014); el cual se encuentra asociado al incremento de la población, los ingresos en alza, los cambios en los hábitos alimenticios y la expansión de la industria de comidas rápidas (Schaller, 2009).

Sin embargo, el constante aumento en los precios de los insumos utilizados para la alimentación del ganado, ha disminuido considerablemente las ganancias de los fabricantes. Es así como, para la producción artesanal e industrial de quesos, la rentabilidad del negocio radica en mejorar la eficiencia del proceso de fabricación generando menores costos y aumentando su producción.

Existe evidencia que demuestra que el empleo de US combinados con una TT convencional permite obtener resultados favorables en el procesamiento de productos lácteos, por esta razón, la investigación en esta área se ha orientado a desarrollar métodos de pretratamiento de leche para quesería que permitan controlar la actividad microbiana, incrementar rendimiento y mejorar las características funcionales y sensoriales del queso.

## Justificación

Los tratamientos térmicos son ampliamente utilizados en la industria de alimentos ya que permiten obtener productos seguros con una larga vida de anaquel; sin embargo, a pesar de sus beneficios se presentan una serie de cambios que repercuten la calidad final del alimento; es por ello que actualmente la industria de alimentos atraviesa una crisis, al grado que requiere una urgente modernización y búsqueda de nuevos esquemas para sobrevivir a la competencia.

En los últimos años se han estudiado tecnologías alternativas a los tratamientos térmicos convencionales para conseguir alimentos seguros y que conserven las calidades nutritivas de los alimentos frescos; dentro de estas tecnologías destaca el uso de US, los cuales pueden definirse como ondas acústicas inaudibles de una frecuencia superior a 20 KHz (Chemat *et al.,* 2004). Sin embargo, su uso no ha garantizado la inactivación de microrganismos, por lo cual se emplean en combinación con presión y temperatura (TS) para generar un efecto sinérgico que reduzca la población microbiana de forma significativa (Robles y Ochoa, 2012).

En este trabajo de investigación se elaboraron quesos tipo Mozzarella con leche tratada por TS y leche pasteurizada con la finalidad de realizar un análisis comparativo de sus características más representativas que permitan obtener quesos funcionales y sensorialmente más aceptables.

# Objetivos

## Objetivo General

Estudiar los efectos de la termosonicación como una alternativa al tratamiento térmico convencional para mejorar el rendimiento y características fisicoquímicas de queso tipo Mozzarella.

## Objetivos Específicos

1. Definir los parámetros de termosonicación en leche bovina entera para elaboracion de queso tipo mozzarrella basadas en pruebas de oxidación.

2. Comparar características tecnológicas (capacidad de retención de agua, firmeza de gel, tiempo de coagulación, tamaño de partícula, micrografía de glóbulo graso, % de ácido láctico, pH) como ínfdices para evaluar la factibilidad de usar leche termosonicada bajo condiciones selectas para elaborar queso tipo Mozzarella.

3. Evaluar las características fisicoquímicas y sensoriales de quesos tipo Mozzarella elaborados con leche termosonicada y pasteurizada térmicamente al día 1 y durante el almacenamiento refrigeradof (1,8, 15 y 22 días).

# CAPÍTULO I.
# MARCO TEÓRICO

## 1.1. La leche

### 1.1.1. Definición

La leche se define desde el punto de vista fisiológico como el líquido que segregan las glándulas mamarias de hembras sanas (Morales, 2011). Desde el punto de vista comercial, es el producto del ordeño higiénico efectuado en hembras de ganado lechero bien alimentado y en buen estado de salud, no debiendo contener calostro, el cual es la secreción líquida de color amarillento, de aspecto viscoso y amargo, que segrega la vaca aproximadamente 6 o 7 días después del parto (Amiot, 1995).

### 1.1.2. Composición de la leche

Desde el punto de vista fisicoquímico, la leche es un producto nutritivo complejo que posee más de 100 componentes que se encuentran en tres fases diferentes (Cabrera *et al*., 1987), por lo tanto, es una dispersión alimenticia constituida por:

- Fase dispersa. En la cual se encuentran presentes las proteínas complejas de suero y las enzimas.
- Fase en emulsión. En la que se encuentra la grasa de la leche, las caseínas (CN) y las proteínas de suero (PS).
- Fase dispersante. Es una solución acuosa de componentes solubles, entre los que se encuentran lactosa, vitaminas y minerales.

La composición de la leche y la concentración de los diferentes componentes varían en función de múltiples factores entre los que se encuentran: especie, individuo, raza, genética animal, alimentación, número de ordeños diarios, edad y factores medioambientales. La composición típica de la leche se muestra en la Tabla 1.1. La leche es un producto altamente perecedero que debe ser enfriado a 4 $^{o}$C lo más rápidamente posible luego de su recolección. Las temperaturas extremas, la acidez (pH) o la contaminación por microorganismos pueden deteriorar su calidad rápidamente (Wattiaux, 2000).

**Tabla 1.1**. Composición general de la leche

| Componente | Cantidad (g/L) |
|---|---|
| Agua | 87 |
| Proteínas | 1.1 |
| Lípidos | 4.5 |
| Glúcidos | 7.6 |
| Minerales | 0.3 |

Fuente: Moreiras *et al.,* 2003

Los principales componentes de la leche y algunas de sus características más notables se describen a continuación:

**1.1.2.1. Agua**

El valor nutricional de la leche como un todo, es mayor que el valor individual de los nutrientes que la componen debido a su balance nutricional único. La cantidad de agua presente en la fase dispersante de leche refleja ese balance (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura, 2006). En todos los animales, el agua es el nutriente requerido en mayor cantidad y la leche suministra una gran cantidad de agua, conteniendo aproximadamente 90% de la misma, convirtiéndolo en un medio que favorece el crecimiento microbiano e influye en la vida del queso, afectando su textura y rendimiento.

La cantidad de agua en la leche es regulada por la concentración de lactosa; el agua presente en la leche es transportada a la glándula mamaria por la corriente circulatoria. La producción de leche es afectada rápidamente por una disminución de agua y cae cuando su suministro es limitado o no se encuentra disponible. Esta es una de las razones por las que la vaca debe de tener libre acceso a una fuente de agua abundante todo el tiempo (Wattiaux, 2000).

#### 1.1.2.2. Grasa

La grasa es el componente más variable en leche, alcanzando valores superiores al 4%, los cuales difieren en especie, edad, temporada, etapa de lactancia, nutrición. Ésta se encuentra presente en la leche como pequeños glóbulos en suspensión con el agua, el tamaño de los glóbulos es también variable, típicamente es 3 mm (Wattiaux, 2000). Cada glóbulo se encuentra rodeado por una capa de fosfolípidos, que tienden a impedir se unan entre sí repeliendo a los otros glóbulos y atrayendo agua (Barioglio, 2001). La grasa afecta a la textura, sabor, rendimiento y color de los quesos. La mayor parte de la grasa de la leche se encuentra en forma de triglicéridos, formados por la unión de glicerol y ácidos grasos. Las proporciones de ácidos grasos de diferente longitud determinan el punto de fusión de la grasa y pueden variar con la alimentación que la vaca está recibiendo. La Tabla 1.2 muestra la distribución de las diferentes fracciones de lípidos en la leche.

**Tabla 1.2.** Composición de los lípidos en la leche

| **Lípido** | **Porcentaje (%)** |
|---|---|
| Triglicéridos | 97 |
| Diglicéridos | 0.3-0.5 |
| Monoglicéridos | 0.02-0.04 |
| Fosfolípidos | 1 |
| Esteroles, Esterolésteres, carotenoides, etc. | 0.3-0.8 |

Fuente: Unión Ganadera Regional de Jalisco, 2014.

#### 1.1.2.3 Lactosa

La lactosa, es el carbohidrato mayoritario de la leche; es el único glúcido libre que existe en cantidades importantes en todos los tipos de leche; químicamente es un disacárido formado por un residuo de D-glucosa y otro de D-galactosa unidos por un enlace β-1,4-glicosídico. La molécula presenta capacidad de rotación debido a la existencia de asimetría de un carbono en su molécula, generando el anómero α y el anómero β (Romero y Mestres, 2004). Es la

principal fuente de energía para la mayor parte de las bacterias que se desarrollan en leche y puede separarse de la misma por cristalización. Es el componente que afecta al pH de desuerado, textura, sabor y maduración de los quesos (Yanza, 2010).

#### 1.1.2.4 Proteínas

Las proteínas son el componente principal de la leche, su contenido es constante, entre 3 a 4% del peso, varía con la raza de la vaca y la selección genética. Las proteínas de la leche se dividen en proteínas de suero (PS) y caseínas (CN). Las CN son el constituyente proteico mayoritario en la leche y se encuentra en forma de grandes agregados, llamados “micelas”, cada una constituida por varias moléculas de CN; esta organización es la responsable por muchas de las características físicas de la leche. Las micelas precipitan a un pH isoeléctrico (4.6) y se encuentran constituidas por una mezcla de aproximadamente 10 proteínas diferentes (Fox *et al.,* 2011). Las proteínas del suero, normalmente permanecen en solución y constituyen casi el 20% del total, siendo la más abundante la β-lactoglobulina (10%); adicionalmente, algunas de las proteínas serológicas se hallan presentes en concentraciones menores que en la leche original, debido a la desnaturalización por calor durante la pasteurización de la leche. Las proteínas del suero también contienen fragmentos de moléculas de CN y proteínas que se adhieren a la superficie y conforman la membrana de glóbulo graso (MGG) y solamente son liberadas por acción mecánica (Park *et al.*, 2007). Las proteínas son responsables del rendimiento, sabor, olor, valor nutritivo y la coagulación del queso.

#### 1.1.2.5. Sales, minerales y vitaminas

La leche es una fuente nutritiva excelente de calcio y posee otros minerales como potasio, sodio, magnesio, cloro y fosfato, los ácidos inorgánicos se encuentran como iones o como sales; el más abundante es el citrato. Los minerales participan en la coagulación, influyen en el desuerado y textura de la cuajada, además es una fuente rica en vitaminas; contiene vitaminas liposolubles A y D, sujetas a variaciones importantes; también posee vitaminas hidrosolubles que se encuentran en cantidades relativamente constantes en la leche pues provienen de la biosíntesis de las bacterias del rumen; tal es el caso de vitaminas como $B_2$ y C (Luquet, 1991).

### 1.1.3. Propiedades fisicoquímicas

La leche presenta propiedades particulares que son reflejo de su composición y de las interacciones entre sus constituyentes. Las características fisicoquímicas son de gran importancia en la industria láctica, pues suelen ser tomadas en cuenta para diseñar procesos como pasteurización, esterilización, homogeneización y transporte a los que se somete la leche. En los párrafos siguientes se enumeran algunas de las principales propiedades fisicoquímicas de la leche.

La densidad de la leche puede fluctuar entre 1.028 a 1.034 g/cm$^3$ a una temperatura de 15 ºC; su variación con la temperatura es 0.0002 g/cm$^3$ por cada °C de incremento; esta variación es atribuible a la combinación de las densidades de los componentes de la leche, los cuales se muestran en la Tabla 1.3

**Tabla 1.3** Densidad de los componentes de la leche

| **Componente** | **Densidad aparente a 15 °C (g/cm$^3$)** |
|---|---|
| Agua | 1.000 |
| Grasa | 0.931 |
| Proteínas | 1.346 |
| Lactosa | 1.666 |
| Minerales | 5.500 |

Fuente: Romero y Mestres (2012).

La leche fresca es más viscosa que el agua, tiene valores de 1.7 - 2.2 Pa*s para la leche entera, mientras que una leche descremada tiene una viscosidad de alrededor de 1.2 Pa*s. La viscosidad disminuye con el aumento de la temperatura hasta alrededor de 70 ºC; por encima de esta temperatura aumenta su valor (Yoon y McCarthy, 2002).

El punto crioscópico normalmente posee un valor promedio de -0.54 ºC (varía entre -0.513 y -0.565 ºC) y tiene gran interés para la industria láctea pues permite detectar fraudes en la composición de la leche, su descenso es proporcional a la concentración de solutos en el agua; dando lugar, la adición de agua a una disminución de la concentración de solutos (Yoon y McCarthy, 2002). La actividad de agua es elevada, alrededor de 0.993, convirtiéndola en un medio ideal para el desarrollo de muchos microorganismos (Sabena, 2009).

El grado de acidez de la leche involucra la acidez actual y la acidez potencial, la acidez actual representa a los grupos $H^+$ libres, mientras que la acidez potencial incluye todos aquellos componentes de la leche que por medio de la titulación liberan grupos $H^+$ al medio. La acidez titulable es la suma de las siguientes reacciones: acidez debida a la CN (2/5 de la acidez natural), acidez debida a sustancias minerales y a los indicios de ácidos orgánicos (2/5 de la acidez natural) y finalmente a reacciones secundarias debidas a los fosfatos (1/5 de la acidez natural); sin embargo la valoración acidimetría de la leche es una medición indirecta de su riqueza en CN y fosfatos resultado de varias reacciones que han modificado su estado original, por lo que cuando se requiere una medición precisa que represente un estado de la leche se recurre a la medición potenciométrica (Walstra y Jenness, 1987), el pH más que la cantidad de ácido determina los cambios en la conformación de las proteínas y la capacidad de supervivencia de los microorganismos que pueden crecer en la leche, así como la actividad de las enzimas, no es un valor constante y diversos factores tienen influencia sobre él (temperatura, etapa de lactancia, alimentación, especie, entre otros); las variaciones de la temperatura causan muchos cambios en el sistema buffer de la leche, afectando principalmente la solubilidad del fosfato de calcio (Fox y McSweeney, 1998).

El pH en la leche es influenciado por las operaciones de procesamiento, asi por ejemplo la pasterización causa algunos cambios en el pH debido a la pérdida de $CO_2$ y a la precipitación de fosfato de calcio, tratamientos térmicos severos (superiores a 100ºC) resultan en una disminución del pH debido a la degradación de la lactosa a varios ácidos orgánicos, especialmente a ácido fórmico. La concentración de la leche por evaporación de agua causa una disminución en el pH cuando la solubilidad del fosfato de calcio es excedida, resultando en una mayor formación de fosfato de calcio coloidal (Fox y McSweeney, 1998),
El pH normal de la leche varía entre 6.6-6.8 a 20 °C y disminuye conforme la temperatura aumenta. Valores distintos de pH se producen por deficiente estado sanitario de la glándula

mamaria, por la cantidad de $CO_2$ disuelto; por el desarrollo de microorganismos, que desdoblan o convierten la lactosa en ácido láctico o por la acción de microorganismos alcalinizantes, mientras que la acidez de la leche fresca posee un valor de 0.15 a 0.16%. (Guzmán, 1996).

### 1.1.4. Características sensoriales

La leche fresca es de color blanco opaco, presenta una cierta coloración crema cuando es muy rica en grasa. La leche descremada o muy pobre en contenido graso presenta un blanco con ligero tomo azulado; cuando la leche es fresca casi no tiene un olor característico, pero adquiere con mucha facilidad el aroma de los recipientes en los que se la guarda; una pequeña acidificación ya le da un olor especial al igual que ciertos contaminantes, tiene un sabor ligeramente dulce, dado por su contenido de lactosa. Por contacto, puede adquirir fácilmente el sabor de hierbas (Wattiaux, 2000).

## 1.2 Queso

### 1.2.1. Generalidades del Queso

El queso es un derivado lácteo, considerado como uno de los mejores alimentos del hombre; su origen está en discusión y no se pueden datar con exactitud, aunque se estima que se encuentra entre el año 8000 a. C. (cuando se domestica la oveja) y el 3000 a. C. Sus orígenes históricos se sitúan en Asia y se estima se relaciona con el uso de vísceras animales como recipientes que provocaron la coagulación de leche al contacto con estómagos de mamíferos (Secretaría de Economía, 2014). Sin embargo, a pesar de su antigüedad, la elaboración del queso fue hasta hace muy poco tiempo un oficio. La adquisición de conocimientos en química y en microbiología de la leche y de los quesos ha permitido un mayor control sobre los procesos de elaboración (Fox, 2000).

Su nombre deriva de la palabra latina *caseus* que significa caseína. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) define el queso como el nombre genérico que se da a un grupo de productos alimenticios fermentados lácteos que separan CN de PS (FAO, 2009).

### 1.2.2. Producción mundial

El queso es uno de los principales productos agrícolas del mundo. Según la FAO se producen anualmente en el mundo más de 20.6 millones de toneladas y se estima un incremento en el orden del 15% en la producción mundial de quesos en el 2018 (Agrimundo, 2013); a nivel mundial, México ocupa el 9º lugar de producción quesera (244 000 toneladas) y 8º en consumo (SAGARPA, 2012). Son producidos en todo el mundo en una gran diversidad de sabores, texturas y formas, distinguiéndose hasta 1000 variedades. La norma mexicana (NOM 121-SSA1-1994) reconoce 14 tipos de quesos mexicanos (Tabla 1.4).

**Tabla 1.4.** Clasificación de quesos Mexicanos

| **TIPO DE QUESO** | | |
|---|---|---|
| **Frescos** | Frescales | Panela, Canasto, Sierra, Ranchero, Fresco, Blanco, Enchilado, Adobado. |
| | De pasta cocida | Oaxaca, Asadero, Mozzarella, Morral, Adobado |
| | Acidificados | Cottage, Crema, Doble crema, Petit Suisse, Nuefchatel |
| **Madurados** | Madurados prensados de pasta dura | Añejo, Parmesano, Cotija, Reggianito |
| | Madurados prensados | Cheddar, Chester, Chihuahua, Manchego, Brick, Edam, Gouda, Gruyere, Emmental, Cheshire, Holandés, Dambo, Patagrás, Havarti, Provolone, Port Salut, Tilsiter, Bola, Jack. |
| | De maduración con mohos | Azul, Cabrales, Camembert, Roquefort, Danablu, Limburgo, Brie. |
| **Procesados** | Fundidos y para untar | Amarillo |

**Fuente:** NOM 121-SSA1-1994

### 1.2.3 Proceso de elaboración

Los pasos a seguir en la elaboración de quesos son variables, dependiendo del tipo de leche, la clase y la zona geográfica de procedencia, sin embargo existen procedimientos básicos que se observan en todas las variedades, los cuales se encuentran en la Figura 1.1:

#### 1.2.3.1 Preparación de la leche

Previo al inicio de la fabricación de queso es necesario someter a la leche a una serie de tratamientos que permitirán obtener un producto homogéneo y con los parámetros óptimos para la obtención del queso que se trate de fabricar; entre esos tratamientos encontramos la homogeneización y la pasteurización.

La homogeneización de los GG es el proceso de disminución del tamaño de las gotas de grasa que se lleva a cabo con la finalidad de crear productos con características similares. Por su parte, la pasteurización destruye los microorganismos perjudiciales (patógenos causantes de enfermedades, productores de defectos como ciertas hinchazones de los quesos, etc.), pero también destruye la flora beneficiosa, fundamentalmente bacterias lácticas y diversos enzimas que juegan un papel importante en la maduración de quesos elaborados a partir de leche cruda.

#### 1.2.3.2 Adición de cultivo

Los procesos de fermentación en los quesos elaborados con leche cruda dependen de la contaminación natural de la leche con bacterias lácticas. En los quesos de leche pasterizada es necesario inocular bacterias lácticas seleccionadas, de características conocidas. La función principal de estas bacterias es la producción de ácido láctico mediante la fermentación de la lactosa.

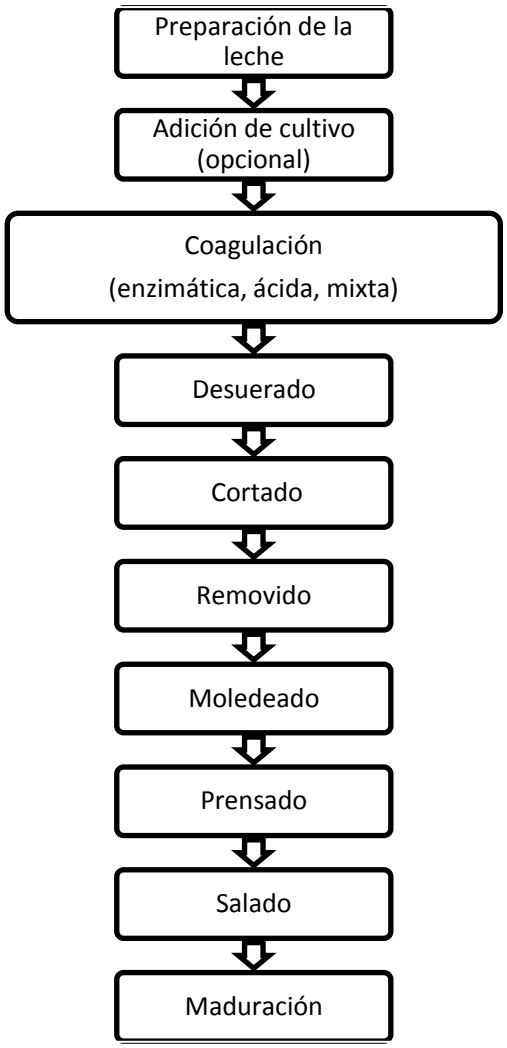



**Figura 1.1.** Diagrama general de la fabricación del queso

(Romero del Castillo y Mestres-Larriga, 2004)

El ácido láctico promueve la formación y desuerado de la cuajada, evita que crezcan en ésta microorganismos patógenos debido a que disminuya el pH a unos valores de 5.0-5.2 y le confiere un sabor ácido; además, estas bacterias dan lugar a sustancias responsables del aroma y contribuyen a la maduración mediante la proteólisis (ruptura de las proteínas) y la lipólisis (ruptura de las grasas). Dichas bacterias lácticas añadidas se denominan fermentos y se clasifican, esencialmente por su temperatura óptima de crecimiento, en dos grupos:

- Mesófilos. Con un óptimo de 20-30 ºC, están formados por una o varias cepas de *Streptococcus lactis* subsp *diacetylactis* y *Leuconostoc* spp.

- Termófilos. Con un óptimo de 37-45 ºC, se utilizan cuando la temperatura de calentamiento de la cuajada es elevada (45-54 ºC), y están formados por una o varias cepas de *Streptoccus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus helveticus* y *Lactobacillus lactis*.

El fermento debe producir la formación de ácido requerido, no debe ocasionar sabores desagradables y debe conferir a la cuajada las condiciones necesarias para el desarrollo del sabor buscado (Domínguez –Anton, 2013).

#### 1.2.3.3 Coagulación

La coagulación consiste en una serie de modificaciones fisicoquímicas de la CN (proteína de la leche), que conducen a la formación de un coágulo (González, 2002). Tiene lugar debido a la acción conjunta de la acidificación por las bacterias lácticas (coagulación láctica) y de la actividad del cuajo (coagulación enzimática). La coagulación láctica o ácida es realizada por cultivos iniciadores que pertenecen principalmente a los géneros *Streptococcus, Lactococcus, Leuconostoc* y *Lactobacillus*, los cuales se adicionan para producir la acidificación adecuada para las temperaturas de fabricación, lo que permite controlar y frenar el desarrollo de la flora microbiana presente en la leche y desciende el pH favoreciendo la actividad del coagulante del cuajo (Ramírez, 2005); la coagulación enzimática se produce cuando se añade cuajo a la leche.

Durante siglos se ha utilizado en quesería cuajo animal, es decir, la enzima renina extraída del cuarto estómago de los rumiantes lactantes; sin embargo las dificultades de aprovisionamiento a nivel mundial de cuajo, junto con el aumento de precio de las preparaciones comerciales del enzima, han favorecido el desarrollo de otras enzimas coagulantes, tanto de origen animal (pepsina bovina y porcina), como de origen microbiano (proteasas fúngicas) o vegetal (flores de *Cynara cardunculus*). El cuajo es una enzima proteolítica que actúa desestabilizando a la CN, lo que da lugar a la formación de un gel o coágulo que engloba al suero y a los GG en su interior. Igualmente, su actividad proteolítica conduce a la formación de compuestos que serán utilizados por las bacterias del fermento para su multiplicación (Aguilera *et al.,* 2013). La adición del cuajo a la leche es un punto de considerable importancia en la fabricación del queso. En los quesos frescos de coagulación

fundamentalmente láctica, se utilizan pequeñas cantidades de cuajo y se opera a temperaturas bajas (15-20 ºC) para evitar la actividad óptima del enzima; en este caso, el cuajo se emplea más para facilitar el desuerado, que por su acción coagulante o por su capacidad proteolítica a lo largo de la maduración (González, 2002).

#### 1.2.3.4. Cortado, desuerado y removido

Una vez que el gel está cuajado se lleva a cabo el cortado, el cual radica en la división del coágulo en porciones con objeto de aumentar la superficie de desuerado y, por tanto, de favorecer la evacuación de suero (Villa, 2010). Según el tipo de queso, el cortado es más o menos intenso, se efectúa con las "liras" manuales o mecánicas. El cortado de la cuajada debe realizarse lentamente con el fin de no deshacer el coágulo, pues de lo contrario se formarían granos irregulares que desuerarían con dificultad (Montenegro, 2006); el desuerado consiste en la separación del suero que impregna el coágulo, obteniéndose entonces la parte sólida que constituye la cuajada, el pH obtenido durante el desuerado (6.3-6.1) le confiere al queso su característica de textura elástica y continua (Romero del Castillo y Mestres Larriga, 2004); para permitir la salida del suero retenido en el coágulo es preciso recurrir a acciones de tipo mecánico, como es el removido, cuya acción se completa mediante el calentamiento y la acidificación; el removido tiene por objeto acelerar el desuerado e impedir la adherencia de los granos, así como posibilitar un calentamiento uniforme (Pilamunga, 2013). Se efectúa con ayuda de "agitadores", que pueden ser manuales o mecánicos.

#### 1.2.3.5. Moldeado y prensado

Es la colocación de la cuajada en moldes, cuya forma y tamaño varía con cada tipo de queso; el prensado se efectúa en prensas de quesería, con las que se ejerce sobre la cuajada determinada presión que puede aumentar progresivamente durante el curso de la operación (González, 2002). Las condiciones del prensado son distintas para cada tipo de queso, variando el desarrollo y la duración de la operación.

#### 1.2.3.6. Salado

Es una operación que se efectúa en todos los quesos con el fin de regular el desarrollo microbiano, tanto suprimiendo bacterias indeseables como controlando el crecimiento de los agentes de la maduración (Montenegro, 2006). Puede realizarse en seco o por inmersión en un baño de salmuera. Si es en seco, se extiende la sal sobre la superficie del queso, o directamente en la cuajada, mientras que el salado de salmuera es el más extendido en nuestro país, los quesos se mantienen sumergidos en un baño de salmuera durante un periodo variable, dándose la vuelta en a los quesos periódicamente (Jara, 2013).

#### 1.2.3.7. Maduración

Es la última fase de la fabricación del queso. La cuajada, antes de iniciarse la maduración, presenta una capacidad, volumen y forma ya determinadas. En el caso de los quesos frescos la fabricación se interrumpe en esta fase. La maduración comprende una serie de cambios de las propiedades físicas y químicas adquiriendo el queso su aspecto, textura y consistencia, así como su aroma y sabor característicos (González, 2002).

### 1.2.4. Queso tipo Mozzarella

El queso mozzarella data del siglo XVI, de las regiones del Lacio y Campania en Italia; antiguamente sólo se elaboraba con leche de búfala pero en la actualidad también se emplea leche entera de vaca; de acuerdo a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM, 2005) el rendimiento de quesos Mozzarella, es de aproximadamente 10% en promedio; los principales componentes que contribuyen al rendimiento de los quesos son las CN (componente mayoritario de las proteínas) y la grasa butírica. Los pasta filata son quesos frescos que poseen contenidos de grasa en materia seca, agua y sal en los rangos del 20 al 60%, del 35 al 60% y del 0.5 al 2% respectivamente (Codex Alimentarius, 2006). Entre sus principales características sensoriales se encuentran su consistencia semidura a semiblanda (la cual varía según el contenido de humedad), textura fibrosa, elástica y cerrada, color blanco amarillento, sabor láctico poco desarrollado a ligeramente picante y olor láctico poco perceptible.

Los quesos tipo Mozzarella son la variedad más representativa de los quesos tipo pasta filata; este tipo de quesos representa uno de los dos segmentos de quesos más importantes

del mundo; los quesos Mozzarella generalmente son elaborados mediante un proceso que comprende las etapas mostradas en la Figura 1.2.

La base teórica para producir un queso de pasta hilada es obtener una pasta semi-descalcificada a partir de leche cuajada, que por acción del calor y el trabajo mecánico pueda plastificarse y estirarse, la cantidad de calcio asociada a la CN (específicamente proveniente del fosfato de calcio) es quien gobierna principalmente la reorganización estructural de las CN. Para obtener un alineamiento de las proteínas y lograr una estructura fibrosa es necesario transformar al caseinato dicálcico de la leche fresca en caseinato y paracaseinato monocálcico. El incremento en la acidificación de la cuajada en proceso influye en la estructura y textura del producto. Al descender el pH, el fosfato de calcio coloidal ligado a la CN y a la para –*k*- CN que forman la red de la cuajada se vuelve soluble y migra hacia la fase acuosa, dejando la matriz estructural parcialmente desmineralizada, mejorando así la capacidad de hilado (Ramírez-Navas,2010).

De las operaciones indicadas en la Figura 1.2 se considera que los puntos críticos para la elaboración del queso tipo Mozzarella son: acidificación de la cuajada, fundido en pasta y amasado; las principales características de cada una de estas operación se describen a continuación, durante la acidificación de la cuajada, la masa es apilada, lo cual permite se compacte y adopte una consistencia lisa y elástica; la etapa del fundido en pasta consiste en sumergir la pasta en agua a una temperatura aproximada de 72 ºC, de tal forma que todos los cubos separados de la cuajada se vuelven a unir por efecto de la temperatura y la acidez adecuada, formando una masa con la que se trabaja mecánicamente durante el amasado, transformando la matriz tridimensional de proteínas en una red de fibras proteicas alineadas en forma paralela; el agua, bacterias y GG se acumulan en canales que separan los paquetes de fibras proteicas (McMahon *et al.,* 1999), resultando en una alineación parcial de fases de suero y grasa en el queso (Ak y Gunasekaran, 1997), adoptando una consistencia elástica y flexible cuando el queso no está derretido y una textura altamente estructurada, fibrosa y masticable cuando está derretido.

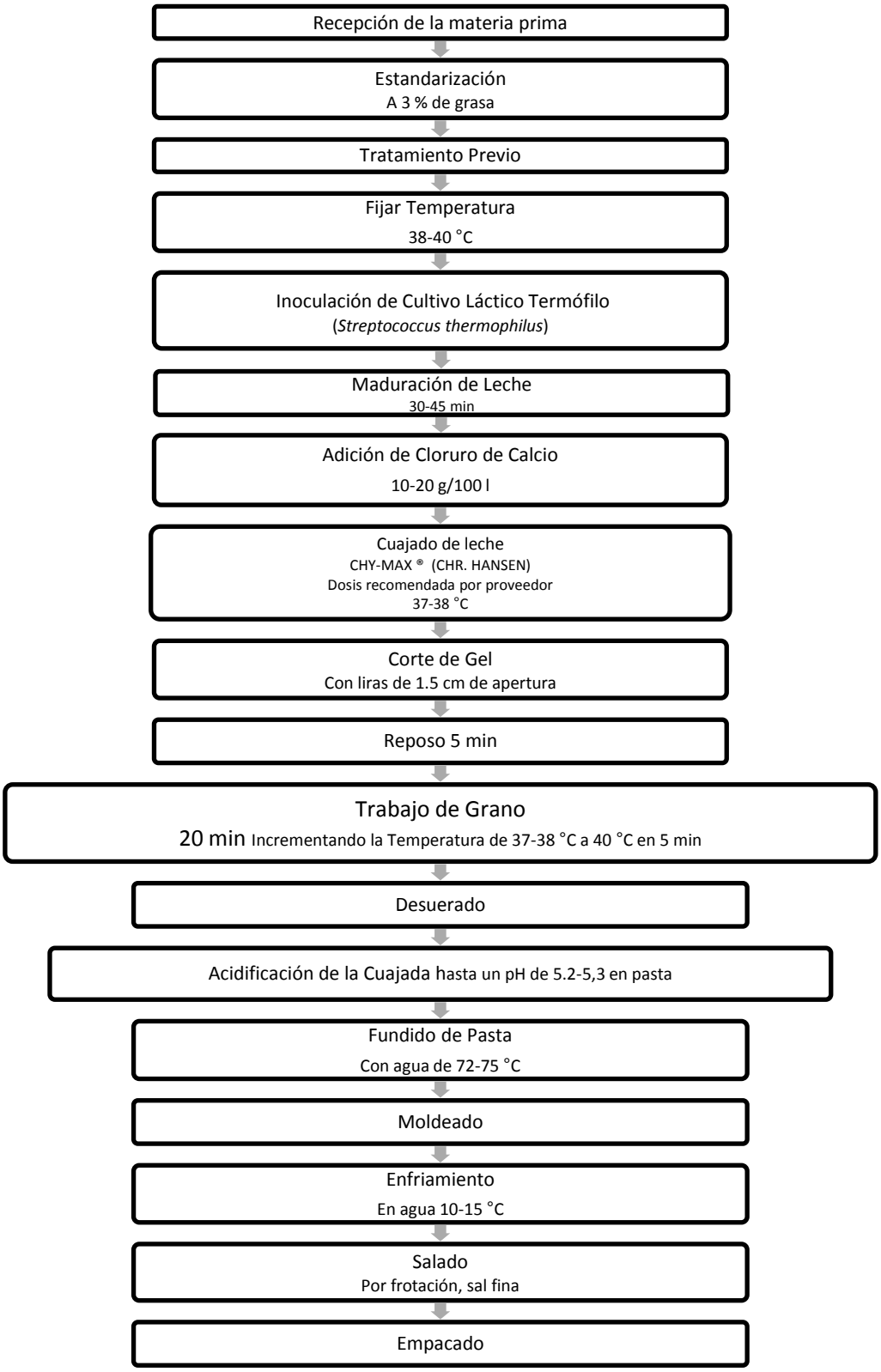



**Figura 1.2**. Procedimiento de elaboración de queso Mozzarella (Walstra *et al.*, 2006).

### 1.2.5. Tratamientos de conservación

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

#### 1.2.5.1. Tratamientos térmicos

Tradicionalmente han sido empleados tratamientos térmicos para garantizar la inocuidad de leche; sin embargo, en diversos estudios se ha demostrado que la temperatura empleada provoca también acciones sobre los demás componentes del producto llegando a afectar a propiedades físicas, fisicoquímicas, funcionales y nutrimentales (Agrimundo, 2013).

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

En lo que concierne al valor nutricional el proceso térmico puede afectar la estabilidad de algunas vitaminas e inclusive generar su pérdida dependiendo de la intensidad del calor aplicado, las vitaminas que sufren mayores daños son: vitamina C con pérdidas entre 10-20%, ácido fólico con pérdidas que van del al 5-10%, vitamina $B_{12}$ con pérdidas del 5-10% y vitamina $B_6$ con pérdidas inferiores al 10%; los minerales en general son poco afectados, aunque en algunos casos se puede modificar su absorción por formación de complejos insolubles; en cuanto a la superficie del GG, cuando este es destruido las enzimas (lipasas) encuentran un sustrato, degradando los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos, la cual es una reacción lenta, que influye rápidamente sobre el sabor de la leche, además de reacciones de oxidación de ácidos grasos insaturados que generan un sabor amargo.

En años recientes se han estudiado tecnologías alternativas a los tratamientos térmicos convencionales, para conseguir alimentos seguros y que conserven la calidad nutritiva de los alimentos frescos (Leitsner y Gould, 2002).

#### 1.2.5.2. Tratamientos emergentes

Actualmente están siendo explorados métodos alternativos a la pasteurización y la esterilización térmica de alimentos, dado que los tratamientos térmicos convencionales a menudo resultan en la formación de sabores no deseables así como a la pérdida de nutrientes valiosos (Marsili, 2003). Tales métodos de conservación de alimentos incluyen la aplicación de campos eléctricos pulsados, la microfiltración, el envasado en atmósferas modificadas, la alta presión hidrostática y ultrasonicación (Fox *et al.,* 2011).

Estas nuevas tecnologías emergentes para la conservación de alimentos son de gran importancia para la industria alimenticia y por lo tanto son objeto de una amplia investigación, su objetivo de estos nuevos tratamientos es eliminar o minimizar el daño físico y nutricional que puede ocasionar el someter un alimento a un proceso térmico.

Una de estas tecnologías son los campos eléctricos pulsados los cuales se aplican con una intensidad de 20 – 80 kV/cm que se generan cuando un par de electrodos de alto voltaje se cargan y descargan en fracciones de segundo sobre los alimentos. Su aplicación ha mostrado resultados contradictorios; algunos investigadores reportan un efecto mínimo sobre las características del alimento después del proceso, mientras que otros documentan que hay una degradación en sus componentes (Tiwari *et al*., 2009), además existen limitados sistemas comerciales y un alto costo de implementación y debe ser combinado con otros métodos para incrementar la inactivación de esporas (Aragao *et al.*, 2007).

Otra tecnología emergente es la microfiltración cuyo principio es la separación física; es el tamaño de poro de la membrana lo que determina hasta qué punto son eliminados los sólidos disueltos, la turbidez y los microorganismos. Se ha demostrado que las tecnologías de membranas se pueden utilizar en la industria de alimentos para la clarificación, como coadyuvante de pasteurización y esterificación (Chiampo y Conti, 1999). Muchas de sus aplicaciones industriales se han desarrollado en la industria láctea, siendo utilizadas en el tratamiento de la leche por ultrafiltración (UF), en la producción de queso, en el tratamiento

del suero de la leche por UF y en la elaboración de leche fresca microfiltrada (Chacón-Villalobos, 2006). Sin embargo a pesar de sus beneficios aún existen limitaciones que impiden adoptar su proceso, puesto que no solo ocurre la reducción continua del flujo de permeado, sino también la pérdida de la permeabilidad y de la selectividad, requiriendo de una serie de lavados con químicos fuertes a altas temperaturas (60 - 80 °C) que en algunos casos modifican la estructura y la composición química de las membranas (Recitela, 2011).

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

La alta presión hidrostática (APH), también denominada pascalización, presurización o simplemente alta presión, provoca la inactivación de las células microbianas sin alterar la calidad sensorial ni los nutrientes de los alimentos (Cheftel, 1995). Sin embargo el que hasta ahora en el mercado no se puedan diseñar procesos continuos, el costo y la desconfianza del consumidor a decidirse a comprar un producto “presurizado” por ser algo novedoso y desconocido, se han convertido en un obstáculo para el desarrollo de esta tecnología (Ramírez *et al.,*2001).

Los US se han utilizado también en la pasteurización de la leche con resultados importantes (Barbosa y Bermúdez, 2010), pero debido a que el tema de investigación versa sobre este tópico, se menciona a detalle en una sección independiente.

### 1.2.6. Ultrasonicación

#### 1.2.6.1. Fundamentos del ultrasonido

Los US se definen como una forma de energía que viaja en forma de ondas de sonido iguales o mayores a 20,000 vibraciones por segundo (Hoover, 2000). En fechas recientes se ha dado un incremento importante en la aplicación de US aplicados al control de calidad de los alimentos (Robles y Ochoa, 2012) y se vislumbran nuevas aplicaciones en el procesamiento de productos. Su uso en el procesamiento de alimentos resulta ser una tecnología relativamente nueva comparada con otras, sin embargo existe una gran lista de

aplicaciones potenciales en esta industria con efectos prometedores en el procesamiento y preservación de los alimentos (Patist y Bates, 2008). Esta tecnología emergente se aplica con la finalidad de impartir efectos positivos en el procesamiento de alimentos, tales como la mejora en la transferencia de masa, conservación de alimentos, la asistencia de los tratamientos térmicos y de manipulación de alimentos, así como análisis de la textura (Knorr *et al*., 2011).

#### 1.2.6.2. Tipos de ultrasonido

Las aplicaciones del US pueden clasificarse de acuerdo a su intensidad y al rango de frecuencia utilizado. El US de baja intensidad utiliza frecuencias más altas que 100 kHz e intensidades por debajo de 1 $W/cm^2$, no causan alteraciones físicas ni químicas en el material sobre el cual actúan, por lo cual son conocidas como no destructivas, su aplicación más común es en el campo médico, pero han sido empleado en el campo de la ingeniería de alimentos como método analítico para obtener información importante acerca de las propiedades fisicoquímicas y el estado físico de los alimentos en el área de control de calidad (Kuldiloke *et al.,* 2002).

El US de alta intensidad se aplica con frecuencias entre 20 y 100 KHz e intensidades mayores a 1 $W/cm^2$ y produce cambios fisicoquímicos en el producto evaluado, sus aplicaciones se basan en el efecto físico, mecánico y químico que las ondas transmitidas causan al alimento. Ha sido aplicado a diferentes campos como la preservación de alimentos, por sus efectos en la inactivación microbiana y enzimática (Bermúdez *et al.,* 2011).

Cuando es aplicado a un medio líquido las microburbujas del líquido sufren el fenómeno de cavitación (Figura 1.3), en el cual se generan miles de burbujas con ciclos de expansión y compresión de forma alterna, originando microcorrientes con aumentos focalizados de temperatura y presión, responsables de su acción antimicrobiana. Estas burbujas incrementan su tamaño mediante la difusión rectificada y la coalescencia; en la difusión rectificada el transporte de masa a través de la pared de la burbuja ocurre mediante ciclos de rarefacción y compresión. En la rarefacción los gases se difunden hacia el interior de la burbuja y en la fase de compresión los gases se dirigen al exterior de la burbuja. Debido a que el proceso de rarefacción es lento y el área superficial disponible para el transporte de

masa es grande, la cantidad de gas que se transfiere hacia la burbuja durante la fase de expansión es mayor que aquella transferida hacia afuera durante la compresión, por lo que la burbuja comienza a crecer hasta alcanzar un tamaño crítico después del cual implota en uno de los ciclos de compresión; la implosión de estas burbujas genera nuevos núcleos iniciando de nuevo el ciclo, aquellas formadas por coalescencia forman burbujas más grandes al tamaño de la resonancia, acumulándose en nodos y conduciendo a un cambio en el volumen del líquido (Ashokkumar *et al*., 2007); además las burbujas generadas por la cavitación pueden ser clasificadas como estables y transitorias (Cullen *et al.,* 2012). En la cavitación estable el crecimiento de las burbujas se mantiene en equilibrio durante los ciclos de compresión y rarefacción, originando nubes de burbujas; en la cavitación transitoria las burbujas tienen un periodo de existencia muy corto, en ocasiones menor a un ciclo y se caracterizan por un colapso violento. Generalmente el colapso de las burbujas es un proceso adiabático que genera altas temperaturas al interior de la burbuja conocidas como puntos calientes; este calor es transitorio y localizado lo cual conlleva a un aumento de temperatura global de alrededor de 5 °C (Hurtado, 2013).

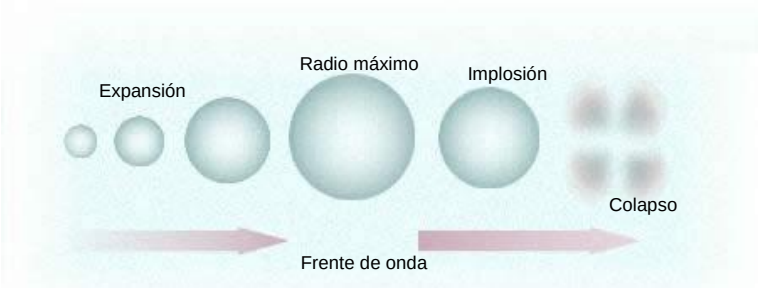



**Figura 1.3.** Fenómeno de cavitación, expansión, implosión y colapso de la burbuja (Alvarado-Maldonado, 2013)

La cavitación ultrasónica depende de parámetros como el tipo de equipo, temperatura de proceso, presión externa, solvente empleado, frecuencia e intensidad de la onda. La amplitud y la frecuencia de la onda son parámetros de diseño que pueden ser elegidos por el usuario, sin embargo su longitud de onda, la velocidad de propagación y su coeficiente de atenuación (cociente entre energía absorbida y la energía que incide en una sustancia) son parámetros dependientes de las propiedades del material en el que se propaga (Salazar *et al.*, 2012); el fenómeno de cavitación también ocurre en el US de baja intensidad, sin embargo los ciclos de compresión ocurren tan rápido que las microburbujas no colapsan, por lo tanto sus efectos no son tan severos (Salazar *et al.,* 2012). A bajas frecuencias la cavitación transitoria es menor, sin embargo las burbujas tienen grandes dimensiones por lo

que los efectos físicos ocasionados por las mismas son mayores que los químicos (Pingret *et al.,* 2013). Una burbuja a 20 kHz existe por sólo pocas oscilaciones sin embargo si es expuesta a 515 kHz tiene un límite de 5000 oscilaciones (Rae *et al.,* 2005).

La cavitación puede producir formación de radicales OH·y H en la superficie de las burbujas que cavitan, lo cual puede repercutir en la degradación de los productos a través de reacciones en cadena (Ashokkumar *et al.,* 2008); dependiendo del proceso, los efectos químicos de la cavitación pueden ser considerados una ventaja o desventaja, pues afectan la calidad de algunas sustancias en los alimentos pero también promueven la funcionalidad de algunos ingredientes.

La energía acústica irradiada puede variar de la energía absorbida dependiendo de varios factores: es diferente para cada medio, la existencia de solutos puede afectar de diferentes formas la cavitación, la presencia en el vapor de solutos volátiles, solventes y otras moléculas de gas genera una gran variedad de radicales y compuestos intermedios que pueden iniciar reacciones secundarias en el líquido (Ashokkumar *et al.,* 2007); consecuentemente, el resultado obtenido en un proceso depende no solo de la energía que se aplica, también de la que se absorbe en el volumen de líquido, por lo que, la configuración de parámetros debe ser ajustado a cada aplicación, esta propuesta corresponde a la ley Grotthus-Draper la cual explica que los procesos de cavitación deben estar relacionados con la potencia acústica absorbida en el volumen y no al poder irradiado (Margulis *et al.,* 2003).

La energía otorgada es obtenida al multiplicar la intensidad por el área efectiva de la sonda del equipo, la cantidad de energía transferida al proceso es entonces calculada como el producto de la energía de salida por el tiempo de exposición, es decir, cuando el tiempo de exposición aumenta, la cantidad de energía administrada al proceso se incrementa; mientras que la energía disipada en el medio es calculada mediante un método calorimétrico que permite identificar la potencia de US que se pierde en parte en forma de calor cuando el US pasa a través del medio.

La aplicación del US en la industria de alimentos crea nuevas metodologías que a menudo son complementarias a las técnicas clásicas (Awad *et al.,* 2012). Se ha demostrado que puede ser utilizado en la evaluación de la textura, composición y viscosidad de alimentos (Lee *et al.,* 2003), además se han observado mejoras significativas en la calidad del

producto, la mejora de procesos y la reducción de costos son alcanzables a escala comercial. Es considerada una tecnología limpia y de gran potencial de aplicación en procesos como secado, congelado, descongelado, extracción, entre otros (Chemat *et al.*, 2011). En la industria láctea ha sido utilizado para la limpieza de equipos y la homogeneización de la leche empleada para la elaboración de diversos productos (Villamiel *et al.,* 2000); en leche pasteurizada homogeneizada y descremada tratada con US (20 kHz, 450 W) a temperaturas entre 22 y 37 °C durante tiempos de 15 a 60 min se observó una pequeña pero significativa reducción en los GG, la desnaturalización de las PS seguida de una agregación entre estas mismas y las micelas de CN en los primeros 30 min de sonicación y ruptura de algunos de estos agregados para tiempos mayores (Shanmugam *et al.,* 2012). En leche descremada y reconstituida a la que se aplicaron tratamientos de US (22.5 kHz, 50 W) por tiempos de 0 a 30 min con y sin control de temperatura para después ser acidificada, se reportó desnaturalización proteica, agregación debido a la interacción de las micelas de CN y las PS, además de una reducción en los tiempos de coagulación ácida y mayor firmeza en los geles (Anema *et al.,* 2010). Sin embargo, dado que estas tecnologías emergentes se encuentran en etapa de pruebas de laboratorio se ha implementado el uso de tecnologías mixtas que permitan mediante una combinación inteligente de procesos asegurar la estabilidad y seguridad microbiana, así como brindar propiedades fisicoquímicas y sensoriales satisfactorias, pues cuando el US de alta intensidad es usado en combinación con un calentamiento convencional, el efecto del tratamiento de US se incrementa (Salazar *et al.*, 2012).

Piyasena *et al.* (2003) sugirieron que el futuro de los US en la industria alimentaria, con propósitos de la destrucción bacteriana, es más prometedor para procesos combinados que implican US y presión o US y calor (termosonicación). La TS ha encontrado un uso cada vez mayor en la conservación de alimentos y elaboración de productos lácteos en aplicaciones como la reducción de viscosidad, homogeneización de GG en leche, cristalización del hielo y la lactosa, mejoramiento la ultrafiltración del suero, la extracción de alimentos funcionales, entre otros (Ashokkumar *et al*., 2010). Bermúdez *et al.* (2009), mostraron que la TS es una opción viable para la pasteurización de la leche y la inactivación de microorganismos deteriorativos y de otras bacterias como *Listeria innocua, Escherichia coli* y *Salmonella sp.* Sin embargo, existe poca información científica acerca de los cambios nutrimentales y características fisicoquímicas de la leche después de la TS. Bermúdez *et al*. (2011), han

reportado la disminución en la viscosidad de leche tratada por TS; otros cambios incluyen modificaciones en el color y pH.

Recientemente han aparecido trabajos con diversos productos lácteos derivados, como el procesamiento del yogurt a partir de leche TS, que ofrece muchas ventajas, como la reducción de sinéresis y mejoras en las propiedades reológicas (Riener *et al*., 2009). En un estudio realizado por Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas (2010), se mostraron mejores características en queso fresco con leche TS como: mejor textura, color más blanco, mayor capacidad de retener el agua, mayor rendimiento y en general mejor aceptación por los consumidores. Ashokkumar *et al.* (2011), mencionan que los principales beneficios de la sonicación residen en su carácter benigno, no tóxico y respetuoso del medio ambiente en comparación con otras técnicas de procesamiento, como microondas, irradiación y campos eléctricos pulsados, que pueden generar desconfianza en la población general. Bermúdez *et al.* (2012), también evaluaron la absorción de omega 3 en tres variedades de queso mostrando que la TS parece ser de las mejores opciones disponibles para procesar queso, ofreciendo muchas ventajas no sólo para el consumidor, sino también para el procesamiento de alimentos.

La TS se ha sugerido por aportar beneficios como la capacidad de reducir el tiempo y temperatura en procesos para lograr la inactivación microbiana equivalente a la obtenida por procesos térmicos convencionales (Piyasena *et al.,* 2003). Entre sus ventajas se encuentran las pérdidas mínimas de sabor, una mayor homogeneidad y ahorros sustanciales de energía (Crosby, 1982). El efecto combinado de US de alta intensidad (24 kHz, 200 W) con y sin tratamientos térmicos (55 °C, 15 s y 75 °C, 15 s) ha sido estudiado en leche entera (Chouliara *et al.,* 2010) y se han evaluado sus propiedades microbiológicas, químicas y sensoriales, concluyendo que las muestras pasteurizadas asistidas con sonicación presentaron una menor carga microbiana en comparación con las demás después de 8 días de almacenamiento, sin embargo los resultados obtenidos en las pruebas sensoriales no fueron satisfactorios en comparación con la leche no tratada. Este tratamiento es aplicable para pasteurizar la leche en periodos muy largos (30 min) y es capaz de inactivar patógenos y reducir sensiblemente las cuentas de microorganismos deteriorativos, así como proporcionar a la leche nuevas características fisicoquímicas (Bermúdez *et al*., 2010). Czank *et al*. (2010), encontraron que la TS fue más efectiva para la inactivación de *E. coli y S.*

*epidermidis* que el tratamiento de US empleado individualmente, para la conservación de leche humana.

Se ha demostrado que la TS puede reducir el tamaño de los GG de leche (Wu *et al.,* 2000), al reducirse el tamaño de los GG, el área específica aumenta y la membrana original es insuficiente para cubrir la nueva superficie, por lo que la parte hidrofóbica de las micelas de CN se adhiere al glóbulo al igual que algunas PS, lo cual evita la coalescencia entre los GG y genera más sitios de enlace en la membrana favoreciendo la unión de los GG en la red de CN y a su vez reduciendo tiempos de coagulación y permitiendo la obtención de cuajadas más firmes en la elaboración de quesos (Bermúdez *et al.,* 2008). Los efectos de la reducción de los GG y su influencia en las propiedades macroscópicas, tales como la viscosidad, sin inducir cambios en las micelas de CN o equilibrio mineral fueron observados por Chandrapala *et al*. (2012). La US mejora las propiedades de gelificación de los sistemas de PS de leche (Zisu *et al.,* 2011); éste efecto también ha sido descrito por Vercet *et al.* (2002).

Por otra parte, en algunos trabajos se ha estudidado la formación de radicales libres y de otras especies reactivas que puede propiciarse durante el tratamiento con US; estos compuestos inducen reacciones de oxido reducción en el medio y producen compuestos volátiles que disminuyen la calidad de la leche. Generalmente las reacciones químicas ocurren en las regiones de alta temperatura que rodean a la burbuja en colapso, en las soluciones con solutos de elevado peso molecular, como proteínas, la cavitación puede dar lugar a reacciones químicas provocando la rutpura de enlaces y formando macromoléculas de inferior peso molecular (Rae *et al.,* 2005).

La leche se caracteriza por tener un sabor agradable ligeramente dulce (Bassette *et al.,* 1986); sin embargo, su sabor suave la hace susceptible a una variedad de defectos de sabor. La oxidación lipídica es una reacción química que se producen en los alimentos, es esencialmente una reacción en cadena de los radicales libres que implica las etapas de iniciación, propagación y terminación. Los ácidos grasos insaturados se oxidan para formar hidroperóxidos, insípidos e inodoros, estos son inestables y se degradan para producir otros compuestos, inhibir su progreso es un factor clave en el mantenimiento de la calidad y la ampliación de la vida útil.

En la leche los lípidos que son sometidos a cambios químicos y físicos durante el procesamiento y almacenamiento pueden generar la autooxidación y la formación de ácidos grasos *trans*; la autooxidación de los ácidos grasos insaturados da lugar a hidroperóxidos inestables, que se descomponen a una amplia gama de productos de carbonilo, muchos de los cuales pueden contribuir a la generación de sabores extraños en los productos lácteos. Los principales productos de descomposición de hidroperóxidos son aldehídos insaturados y saturados con menores cantidades de cetonas, semialdehidos y alcoholes saturados e insaturados (Stark y Forss, 1962, Frankel *et al.,* 1961, Stark y Forss, 1966). Las etapas en la autooxidación de las grasas son:

- Iniciación $RH \rightarrow R\cdot + H\cdot$
- Propagación $R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$

  $ROO\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot$
- Terminación $ROO\cdot + R\cdot \rightarrow ROOR$

  $R\cdot + R\cdot \rightarrow RR$

Durante la etapa de iniciación llevada a cabo en presencia de iniciadores, un átomo de hidrógeno es removido de los ácidos grasos para formar radicales alquilo de lípidos. El calor, luz visible y ultravioleta funcionan como catalizadores en la formación de radicales libres de lípidos. La energía requerida para remover el átomo de hidrógeno de los ácidos grasos es dependiente de la posición en la que la molécula de hidrógeno se encuentre, un átomo de hidrógeno adyacente a un doble enlace es removido fácilmente. El radical alquilo reacciona con oxígeno para formar radicales peróxido. Esta reacción a presión normal ocurre rápidamente, por lo que, la concentración de radicales alquilo es menor a la de radicales peróxido. Los radicales peróxido toman un átomo de hidrógeno de otras moléculas de lípidos para formar hidroperóxidos y nuevos radicales alquilo, los cuales catalizan la reacción de oxidación, convirtiéndose en una reacción autocatalítica. La descomposición de los hidroperóxidos es de los principales catalizadores para la oxidación lipídica. Durante la fase de propagación, la velocidad de formación de hidroperóxidos es mayor que la velocidad de descomposición y esta situación se revierte en la etapa de descomposición. Los hidroperóxidos son transformados a una mezcla de compuestos volátiles, no volátiles,

polímeros y otros productos secundarios de oxidación. Los hidroperóxidos, productos primarios de oxidación, son relativamente estables a temperatura ambiente y en la ausencia de metales; sin embargo, en presencia de estos factores se descomponen a radicales alcoxi y después forman aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres, alcoholes, e hidrocarburos de cadena corta. El camino más común para la descomposición de los hidroperóxidos es la ruptura homolítica entre el oxígeno y el enlace oxígeno, en el cual los radicales alcoxi e hidroxi son producidos.

El tiempo para la formación de productos secundarios de oxidación varía de acuerdo al tipo de grasa, las grasas insaturadas son más fácilmente oxidadas que las saturadas (Choe y Min, 2006). En este sentido, se ha reportado que la aplicación de US (24 kHz, 400 W) a 45 °C en leche descremada durante tiempos entre 2.5 y 20 min, genera la apareción de malos olores debido a la generación de compuestos orgánicos volátiles como acetona, 2-butanona, cloroformo, sulfuro de dimetilo, 1-hexeno, 1-octeno, benceno, tolueno, entre otros (Riener *et al.,* 2009). Para reducir los procesos pirolíticos y la formación de productos de oxidación se han realizado estudios adicionando bióxido de carbono a la leche antes del tratamiento, los resultados demostraron una pequeña reducción de estas reacciones sin embargo esta técnica aún continua en investigación (Marchesini *et al.,* 2012).

A pesar de las investigaciones llevadas a cabo en este tópico, la aplicación de US en la industria láctea está en sus etapas iniciales, por lo que hacen falta investigaciones que permitan aportar nuevos conocimientos en el tema de US de alta intensidad, así como para adquirir una mejor comprensión de la naturaleza de los fenómenos que se producen y utilizarlos s a nivel industrial. (Salazar *et al.,* 2012).

# CAPITULO II.
# METODOLOGÍA

En este capítulo se presenta la metodología que permitió desarrollar este trabajo de tesis. Se muestran las técnicas y procedimientos que fueron utilizados para llevar a cabo dicha investigación.

## E2. 1. Plan de investigación

De acuerdo a los objetivos descritos, se planteó el siguiente plan de investigación, dividido en tres etapas.

### Etapa 1. Evaluación preliminar de parámetros de operación

Durante esta etapa se exploraron diversos parámetros de proceso para ubicar condiciones adecuadas para los tratamientos de TS de leche que permitieran obtener una materia prima con capacidad tecnológica apropiada para elaborar quesos, en particular el tipo pasta filata.

Se realizaron diferentes experimentos de carácter exploratorio; inicialmente se procesó leche bovina (3% de grasa) a diferentes amplitudes y tiempos de sonicación y se evaluó mediante un análisis sensorial informal las características de la leche; una vez identificado el tiempo adecuado de sonicación se procesó leche a diferentes amplitudes (50%, 75% y 100%) y tiempos de sonicación (2, 4 y 6 min); estos valores se seleccionaron debido a que no presentaban variaciones en la calidad sensorial. También se determinó la energía irradiada y potencia absorbida por el medio para los diferentes tratamientos de sonicación.

Posteriormente, con la finalidad de corroborar los efectos de la oxidación producto del uso de US se evaluó la formación de peróxidos mediante una cinética basada en la cantidad de hidroperóxidos. Se realizaron experimentos por triplicado para el primer grupo de experimentos, por duplicado para el procesamiento, triplicado para la determinación de enegías y la formación de peróxidos.

### Etapa 2. Evaluación de las características tecnológicas de la leche para elaborar queso tipo Mozzarella.

Una vez delimitado el rango de amplitud y tiempo de tratamiento se comparó la eficiencia de la TS y un control (pasteurización a 63 °C, 30 min) sobre la capacidad tecnológica de leche bovina para elaborar queso. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por duplicado y se evaluó la capacidad tecnológica de la leche para elaborar queso tipo Mozzarella fresco a través de las siguientes pruebas: capacidad de retención de agua, pH, % de ácido láctico, firmeza de gel, tiempo de coagulación; además con la finalidad de identificar los cambios presentes durante el proceso de sonicación se determinó el tamaño de partícula, micrografía de GG o de diferentes tratamientos, las pruebas se realizaron por duplicado.

**Etapa 3. Comparación de cambios fisicoquímicos en leches TS y pasteurizada térmicamente**

Se tomaron los dos mejores tratamientos de termosonicación (Tratamiento 2 y Tratamiento 3) elaborados con 50% de amplitud, 1080 s y 100% de amplitud con 720 s respectivamente) y el control (Tratamiento 1) procesado con un tratamiento térmico convencional (63°C 30 min) y se elaboró queso tipo Mozzarella, los quesos procesados se empacaron al vacío en bolsas de polipropileno y se sellaron con una empacadora comercial (EV-4 ECO, Torrey, Nuevo León, México) y refrigeraron a 4ºC, durante la elaboración del queso se evaluaron los parámetros de control (acidez titulable, pH, pérdida de sólidos finos, volumen y composición del suero), por triplicado. De manera análoga a cada queso se les realizaron pruebas bromatológicas (% de cenizas, % de cloruros, % grasas, % humedad y % proteínas), así como el rendimiento y liberación de grasa al día 1 de su elaboración, también se evaluaron las características funcionales (color, pH, % ácido láctico, análisis de perfil de textura y capacidad de fundido) al día 1 y durante el almacenamiento refrigerado (8, 15 y 22 días) ambas por triplicado. Las diferencias probables ente las variables (G’, G’’) de los tratamientos de parámetros reológicos al día 1 y al día 10 se analizaron gráficamente por duplicado. Finalmente el análisis sensorial de textura se llevo a cabo por medio de un panel con conocimientos básicos en lácteos al día 1 y 15 de elaboración.

## 2.2 Materiales y métodos

### 2.2.1. Materiales

La leche que se usó en el desarrollo de esta tesis fue adquirida con un distribuidor local específico (Chipilo, Puebla) y mantenida en refrigeración (4 °C) hasta su uso y procesamiento el mismo día; para la elaboración de queso se utilizó cultivo termófilo ácido láctico *Streptococcus thermophilus* (FD-DVS STI-14, CHR HANSEN, D.F., México), cuajo microbiano de doble intensidad (CHYMAX PLUS, CHR HANSEN, D.F., México) y cloruro de calcio grado alimenticio (Fabpsa S.A., Puebla, México).

### 2.2.2. Procesamiento de leche

La composición de la leche cruda se determinó por triplicado mediante un analizador rápido ultrasónico (Lactoscan LA, Nova Zagora, Bulgaria) (ver Figura 2.1); posteriormente se descremó y estandarizó, con el objetivo de homogeneizar la concentración proteína/grasa, la cual es un factor fundamental que influye en las propiedades de coagulación. Para el proceso de descremado, la leche se calentó a una temperatura de 40˚C, con la finalidad de asegurar que la mayor parte de la grasa estuviera en estado líquido; posteriormente se procesó en la descremadora eléctrica (SCM, LKL, Bulgaria, Europa) (Figura 2.2) operando a 10,000 rpm obteniendo crema y leche descremada, ambas fracciones se enfriaron a temperatura ambiente y se analizó por duplicado su composición química con los resultados obtenidos del porcentaje de grasa del analizador, por medio del cuadrado de Pearson se obtuvo un litro de leche estandarizada con una concentración final de 3% grasa, la cual se verificó mediante un análisis composicional.

**Figura 2.1.** Analizador rápido ultrasónico

**Figura 2.2.** Descremadora LKL

La leche estandarizada se sometió a diferentes tratamientos de US empleando un equipo de ultrasonidos de sonda (UP 400S, Hielscher, Teltow, Alemania) a una frecuencia fija de 24 KHz y una potencia teórica de salida de 400 W (Figura 2.4B); la sonda de titanio de 22 mm

de diámetro se sumergió 3.5 cm en un inserto de acero inoxidable de 3.2 L y se recirculo agua por medio de un baño termostatado (AD07R-20, PolyScience, llinois, USA) de 7 L de capacidad (Figura 2.4A); el esquema del montaje de los equipos se muestra en la Figura 2.3; posteriormente, la leche se pasteurizó a bajas temperaturas durante tiempos largos (LTLT) por medio de un pasteurizador por lotes para procesamiento de leche en pequeña escala (Minipasteurizador FJ15, Mr. Milky, Austria) (Figura 2.4C). Se aplicó el tratamiento de pasteurización después del US para evitar la posibilidad de recontaminación durante su manipulación.

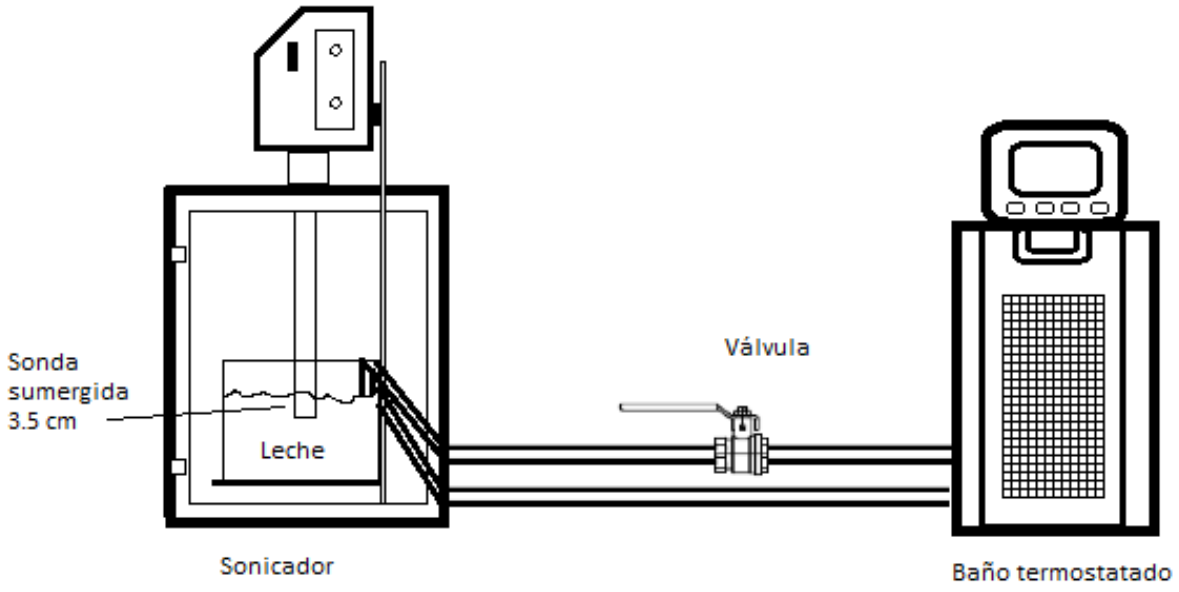



**Figura 2.3.** Esquema sistema de sonicación

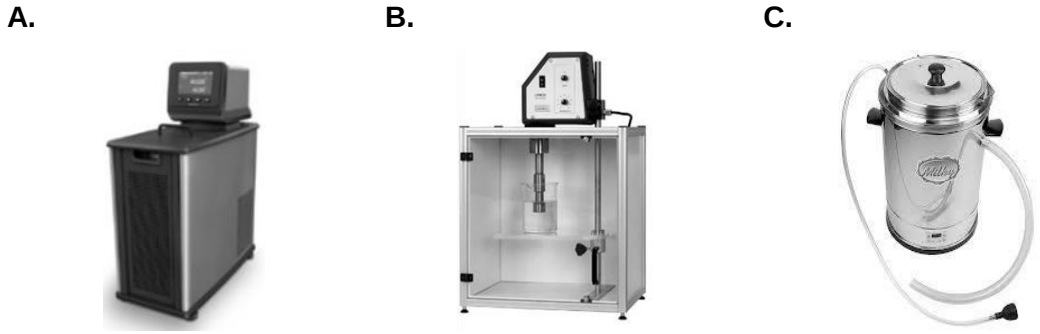



**Figura 2.4.** Equipos empleados durante el proceso de termosonicación
**A.** Baño termostado **B.** Ultrasonicador de sonda **C.** Pasteurizador por lotes

### 2.2.3. Determinación de la energía entregada y potencia disipada

Por medio de análisis sensoriales simples se determinó el umbral dentro del cual la leche poseía características de sabor y olor aceptables, una vez identificado el tiempo al cual se desarrollaban características desagradables se calculó la energía que era entregada a cada muestra de leche, además se determinó la potencia acústica disipada en el líquido de acuerdo a Raso *et al.,* (1999), ambos análisis se muestran a detalle en el Anexo 1; al identificar bajo que rango de energía se percibían cambios en la leche se ajustó la ecuación para conocer el tiempo al que debía de ser sonicada cada muestra de leche, identificando que para 1 litro de leche se debía trabajar con los tratamientos mostrados en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1** Tratamientos de termosonicación aplicados a leche entera.

| Tratamiento | Amplitud (%) | Tiempo de Sonicación (min) |
|---|---|---|
| Control | 0 | 0 |
| 1 | 50 | 2 |
| 2 | 50 | 4 |
| 3 | 50 | 6 |
| 4 | 75 | 2 |
| 5 | 75 | 4 |
| 6 | 75 | 6 |
| 8 | 100 | 2 |
| 9 | 100 | 4 |
| 10 | 100 | 6 |

### 2.2.4. Determinación de hidroperóxidos

A las muestras de leche termosonicada y a las de leche pasteurizada térmicamente se les realizó una cinética para comprobar la formación de hidroperóxidos usando el método descrito por OstDal *et al.* (2010), en donde 3 mL de muestras de leche se mezclaron con 3 mL de metanol, después se añadieron 6 mL de cloroformo y se agitó en un vórtex durante 30 s; posteriormente las muestras se centrifugaron durante 30 min a 4000 rpm, 2 ml de la fase de cloroformo se transfirieron a un tubo de ensayo, se mezclaron con 2 mL de una solución de Fe (II) /Tiocianato / metanol/ cloroformo y se mantuvo a temperatura ambiente

durante 5 min para permitir que se llevara a cabo la reacción (Figura 2.5B), la cual consiste en la oxidación del ion ferroso a férrico por hidroperóxidos en presencia de tiocianato de amonio para producir tiocianato férrico cuya absorbancia se midió a 500 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6405 UV/VIS, Nederland, Europa) (Figura 2.5A). Los análisis se realizaron con tres diferentes lotes de leche y los datos se expresaron como unidades de absorbancia.

**A.** **B.**

**Figura 2.5.** Determinación del índice de peróxidos
**A.** Espectrofotómetro Jenway **B.** Celda de reacción con muestra

### 2.2.5. Análisis a las características tecnológicas de leche para elaborar queso

Los siguientes métodos analíticos se llevaron a cabo para analizar las características fisicoquímicas y funcionales de leche bovina termosonicada y pasteurizada; las pruebas se realizaron por duplicado, excepto las pruebas para analizar los parámetros de control durante la elaboración de queso.

#### a) Tamaño de partícula

Se determinó utilizando difractometría láser; el fundamento de esta técnica consiste en medir el tamaño de las partículas por difracción de un haz de luz láser, el cual es usado como analizador; las partículas sedimentarias que lo atraviesan difractan la luz. La cámara fue calentada a 40 °C y el tamaño promedio de las partículas de grasa y sus distribuciones de tamaño fueron determinadas depositando 1.5 mL durante 60 s en la celda del Analizador de Tamaño de Partícula (Microtrac Nanotrac Wave Nanotechnology, Toronto, Ontario) ilustrado en la Figura 2.6 mediante el método modificado de Jambrak *et al.* (2014), entre cada medición se realizó limpieza a la celda para evitar la detección de impurezas.

**Figura 2.6.** Analizador de Tamaño de Partícula.

Después de obtener la distribución de tamaños de partícula se calculo el diámetro de Brouckere o díametro medio ($d_{4,3}$) mediente Ecuación 1, este parámetro representa el diámetro medio calculado con respecto a la fracción másica:

$$d_{4,3} = \frac{\sum d_i^4}{\sum d_i^3}$$

(Ec. 1)

Donde

$d_i$ es el diámetro de la i-ésima partícula.

**b) Micrografía de glóbulo graso**

La estructura de los GG en la leche se estudió después de TT y TS para observar lo que sucede durante estos procesos a nivel microscópico mediante un microscopio (Axiolab A1, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Alemania) visible en la Figura 2.7 y una cámara fotográfica digital (DSC-H90, SONY, China) con un zoom óptico de 16x. Las muestras fueron depositadas en un portaobjeto y se añadió Sudán III para teñir el medio y permitir una mejor observación, posteriormente fue sellado con un cubreobjetos y barniz de uñas transparente y observadas al microscopio.

**Figura 2.7.** Microscopio ZEISS Axiolab A

**c) Acidez**

La acidez se determinó de acuerdo a métodos estándares (Wehr y Frank, 2004); para ello, 10 mL de muestra de cada tipo de leche fueron transferidas a un matraz Erlenmeyer, posteriormente se agregaron 20 mL de agua destilada y 0.5 mL de indicador de fenolftaleína al 1%, acto seguido se tituló con una solución 0.1 N de NaOH hasta el vire del indicador incoloro a rosa. El resultado fue expresado en porcentaje de ácido láctico y se calculó por medio de la Ecuación 2.

$$\%\ \text{ácido láctico} = \frac{(\text{mL NaOH})(\text{N NaOH})}{\text{p. muestra}} \cdot \text{meq ácido láctico} \qquad \text{(Ec. 2)}$$

Dónde:

mL de NaOH= mL de Hidróxido de Sodio empleados en la titulación.

N NaOH= Normalidad del hidróxido de sodio empelado en la titulación.

p.muestra=peso de la muestra (g).

meq de acido láctico=9

**d) Capacidad de retención de agua**

La evaluación de la CRA se realizó por el método de Pandey *et al.* (2000), basado en la centrifugación de una muestra de leche coagulada para observar la capacidad de la misma para retener humedad. Se tomaron 30 g de muestra de leche y se calentaron a una temperatura de 32 °C, posteriormente se les añadió cuajo (CHYMAX PLUS, CHR HANSEN, D.F., México) de acuerdo a las especificaciones del fabricante, acto seguido las muestras fueron centrifugadas a 4000 rpm por 40 min a 10 °C en una centrífuga refrigerada (Universal 320R, Hettich, Massachussets, USA), (Figura 2.8A).

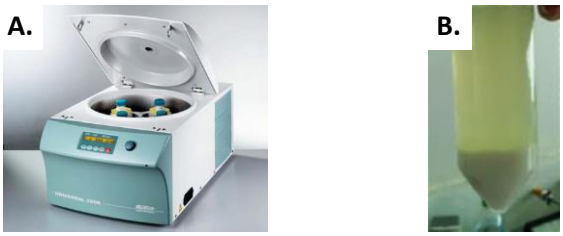



**Figura 2.8.** Determinación de la CRA de agua

**A.** Centrífuga refrigerada **B.** Muestras centrifugadas

Una vez transcurrido el tiempo de centrifugación, fueron medidos los mL~~l~~ de suero expelido y el peso de la cuajada al fondo del tubo centrifugado (Figura 2.8B). El análisis se realizó por duplicado y la CRA fue determinada mediante la Ecuación 3.

$$CRA=\left(\frac{M\cdot m_0}{100}-E\right)\left(\frac{100}{M-E}\right)$$

(Ec. 3)

Dónde:

CRA= Capacidad de retención de agua

M = Peso de la muestra antes de centrifugar

E = Masa de exudado

$m_0$ = Porcentaje inicial de contenido de humedad de la cuajada (base húmeda)

**e) Firmeza de gel**

La FG fue determinada por el método modificado de Mizuno y Lucey (2007). Muestras de leche de 70 g fueron colocadas en frascos de Gerber y calentadas en el baño a 32 °C, una vez alcanzada la temperatura se agregó el cuajo (CHYMAX PLUS, CHR HANSEN, D.F., México) en la proporción indicada de acuerdo a las especificaciones del fabricante, transcurridos 45 min las muestras gelificadas fueron enfriadas a 4 ºC durante 16 h antes del análisis de la textura. La determinación de la fuerza de rotura fue realizada empleando un Texturómetro (TAXT-Plus, Texture Technologies, Surrey, Reino Unido) que se muestra en la Figura 2.9, mediante la inserción de una sonda cilíndrica de plástico de 0.5 cm de diámetro a una profundidad de 10 mm en la muestra de gel a una velocidad de 1 mm/s.

**Figura 2.9.** Determinación de fuerza intrumental en Texturómetro TA XT-Plus

**f) pH**

La determinación del pH se llevó a cabo mediante el empleo de un potenciómetro calibrado (UB-10, Denver Instruments, Colorado, E.U.A.) que mide la diferencia del voltaje del electrodo sumergido en la muestra de leche; de acuerdo a la metodología del libro métodos estándares de Wehr y Frank (2004). Las mediciones se realizaron a una temperatura de 25 °C con una tolerancia de ±3 °C para obtener resultados más confiables.

**g) Tiempo de coagulación**

El tiempo de coagulación (TC) fué determinado mediante el método modificado de Zobrist *et al.* (2005). Muestras de 18 g de leche fueron colocadas en tubos de ensayo y calentadas a 37 °C en un baño de agua con sistema de agitación de agua con agitación de 28 l (WDS28, PolyScience, llinois, USA), una vez alcanzada la temperatura se agregó cuajo (CHYMAX PLUS, CHR HANSEN, D.F., México) de acuerdo a las especificaciones del proveedor. El TC fue considerado como el tiempo desde la adición del cuajo hasta la formación de la estructura de la cuajada tradicional (Figura 2.10B).

**A.** **B.**

**Figura 2.10.** Determinación del TC

**A.** Baño de calentamiento con agitación **B.** Determinación de TC

**2.2.6. Elaboración de queso tipo Mozzarella**

El queso se produjo mediante un procedimiento estándares, que se describe en el Anexo 3, se elaboraron tres quesos para cada tratamiento, analizándose las características mostradas en la sección 2.2.7.

### 2.2.7. Análisis a los parámetros de control durante la elaboración de queso tipo Mozzarella

**a) Acidez**

Fue determinada de acuerdo a métodos estándares (Wehr y Frank, 2004), durante los siguientes periodos: recepción, postratamiento, inoculación, 15, 30, 45 y 60 min después de inocular, también se analizó al suero y a la cuajada durante el desuerado. Se tomaron 9 g de muestra y transfirieron a un matraz Erlenmeyer, posteriormente se agregaron 18 mL de agua destilada y 0.5 mL de indicador de fenolftaleína al 1%. Acto seguido se tituló con una solución 0.1 N de NaOH hasta el vire del indicador incoloro a rosa. El resultado fue expresado en porcentaje de ácido láctico y calculado de acuerdo a la Ec. 1.

**b) pH**

El pH fue determinado de acuerdo a métodos estándares (Wehr y Frank, 2004) utilizando un medidor de pH calibrado (UB-10, Denver Instruments, Colorado, E.U.A.); se tomaron 40 mL de leche por medio de una pipeta graduada durante los siguientes periodos: recepción, postratamiento, inoculación, 15, 30, 45 y 60 min después de inocular, también se analizó al suero y a la cuajada durante el desuerado verificando su descenso en la cuajada mediante el contacto directo con el electrodo hasta un valor de 5.3-5.2.

**c) Pérdida de sólidos finos**

Se realizó mediante el método modificado de Lemay *et al.* (1994); para su determinación el suero de quesería se hizo pasar por un tamiz malla 80 y después se enjuagó con agua recolectando en un papel filtro (Whatman No. 1) los sólidos finos; se dejó secar a temperatura ambiente durante un periodo de 16 h y se pesó con ayuda de la balanza analítica (SAR TE214S, Sartorius, Madrid, España).

**d) Recolección y composición del volumen de suero**

El volumen del suero fue recolectado en la etapa del desuerado de cada queso y se midió utilizando una probeta de plástico de 1 L, mientras que la composición del suero obtenido se determinó con un analizador rápido ultrasónico (Lactoscan LA, Nova Zagora, Bulgaria) mostrado en la Figura 2.2, el cual expresa los porcentajes de grasa, proteína, lactosa, densidad, sólidos, sólidos no grasos y porcentaje de agua añadida contenida en el suero.

### 2.2.8. Análisis a las características del queso tipo Mozzarella

#### 2.2.8.1. Análisis bromatológicos

Se realizaron las siguientes pruebas con queso tipo Mozzarella al día 1, las pruebas se realizaron por triplicado, los muestreos se realizaron con un sacabocados de 1.7 cm de diámetro.

**a) Determinación de cenizas**

La cantidad de cenizas representa el contenido de minerales en el queso, el método utilizado para su determinación estuvo basado en los métodos estándares (Wehr y Frank, 2004). A un crisol de porcelana a peso constante se agregó 1 g de muestra homogeneizada, la cual fue colocada en un horno de secado (ED 115, Binder, Tuttlingen, Alemania) a 100 °C por 1 h, posteriormente fueron carbonizadas con un mechero Bunsen (Figura 2.11a); después de calcinar cada muestra se colocó el crisol dentro del desecador 30 min y se trasladaron a la mufla (48000, Barnstead Thermolyne,USA) a 550 °C durante 5 h; transcurrido este tiempo, se descendió la temperatura de la mufla gradualmente y los crisoles se pasaron nuevamente al desecador por 30 min y se pesaron en una balanza analítica.

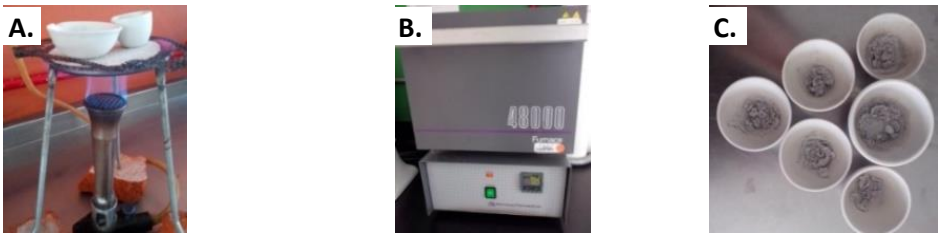



**Figura 2.11.** Determinación de cenizas

**A.** carbonización de cenizas **B.** mufla **C.** cenizas finales

La cantidad de cenizas se calculó por medio de la Ecuación 4:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{P_1}{P_2} \times 100$$

(Ec. 4)

Dónde:

$P_1$= Peso del residuo (g)

$P_2$=Peso de la muestra (g)

**b) Determinación de cloruros**

Se realizó por triplicado cada muestra de queso de acuerdo al método descrito por Casados (1987). Se pesaron 2 g de queso previamente triturado en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, adicionando 25 mL de nitrato de plata 0.1 N y 25 mL de ácido nítrico a una pureza del 70%; se llevó el matraz a ebullición en una parrilla de calentamiento (Figura 2.12A) y se agregaron 10 mL de permanganato de potasio al 5% dejando ebullir suavemente hasta que el color café desapareció (Figura 2.12B); posteriormente se retiró de la parrilla y se adicionaron 100 mL de agua destilada y 5 mL de sulfato férrico amónico en solución saturada; a continuación se tituló con tiocianato de potasio 0.1 N hasta el vire a café claro (Figura 2.12C), en cada determinación se realizó un ensayo en blanco empleando 2 mL de agua en lugar de la muestra de queso.

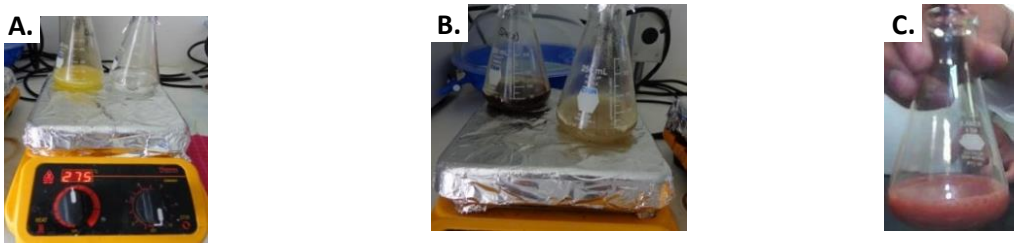



**Figura 2.12.** Determinación de cloruros

**A.** muestras en ebullición **B.** desaparición de color café en las muestras **C.** vire

El % de cloruros de determinó mediante las Ecuaciones 5 y 6:

$$\% \text{ Cl} = \frac{(A-B) \times N \times \text{meq Cl}}{M}$$

(Ec. 5)

$$\% \text{ NaCl} = \frac{(A-B) \times N \times \text{meq NaCl}}{M}$$

(Ec. 6)

Dónde:

A=mL de solución de nitrato de plata 0.1 N agregada en exceso.

B= mL de solución de tiocianato de potasio o de amonio 0.1 N, empleados en titular el exceso de nitrato de plata.

N= Normalidad del tiocianato de potasio o de amonio.

M= Peso de la muestra en g.

meq Cl=miliequivalente del Cloro (3.55)

meq NaCl= miliequivalente del Cloruro de sodio(5.85)

### c) Determinación de grasas

Se determinó de acuerdo al método estándares (Wehr y Frank, 2004), el cual se fundamenta en la destrucción de los componentes que forman la MGG mediante ácido sulfúrico concentrado (g.e. 1.84 g/l) produciendo un alto calor de reacción, además del calor de disolución; los productos de oxidación tiñen la solución resultante de color marrón; la grasa liberada de esta formase aísla por centrifugación, facilitando el alcohol isoamílico la separación de fases. Para realizar este análisis se pesaron 3 g de queso directamente en la copa fijada en el tapón del butirómetro, la copa con la muestra de queso se introdujo dentro del butirómetro y se agregaron por la abertura superior 10 mL de ácido sulfúrico y 10 mL de agua destilada (30-40 °C), se agitó cuidadosamente 2 o 3 veces para disolver todas las partículas de queso; se agregaron 1 mL de alcohol isoamílico y se agitó nuevamente, se tapó la abertura superior y se colocó el butirómetro en la centrífuga (Nova Safety Centrifuge, Funke Gerber, Berlín, Alemania) durante 5 minutos a 1200 rpm, después se colocó en un baño a 60 °C por 5 min y se llevó la base de la columna de grasa a la marca de 0; la lectura observada en la escala indicó directamente la cantidad porcentual de grasa contenida en la muestra de queso (Figura 2.13B).

**Figura 2.13.** Determinación de grasas
**A.** centrífuga Gerber **B.** Butirómetro con muestra centrifugada

Además con la finalidad de evaluar la materia grasa en el rendimiento y comportamiento del queso se determino el contenido de grasa en extracto seco mediante la Ecuación 7.

$$G' = \frac{G}{100-H} \times 100$$

(Ec. 7)

Dónde:

G'= contenido de grasa en el extracto seco, en porcentaje de masa.

G= contenido de grasa, en porcentaje de masa.

H= contenido de humedad, en porcentaje de masa.

**d) Determinación de humedad**

La determinación de humedad se fundamenta en someter la muestra a un proceso de secado mediante calentamiento a una temperatura suficiente como para que se pierda el agua por evaporación hasta peso constante; la diferencia de masas antes y después del secado permite la estimación del contenido de agua en la muestra. Se determinó de acuerdo a métodos estándares (Wehr y Frank, 2004), se pesaron 2 g de muestra en una charola de aluminio previamente tarada, la cual se colocó en el horno de vacío (VO-400, Memmert, Alemania) a 131 mb por 4.5 h, una vez transcurrido el tiempo las muestras fueron transferirlas al desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente (Figura 2.14B) y se pesaron.

**Figura 2.14.** Determinación de humedad
**A.** Horno a vacio **B.** muestras después del secado

El porcentaje de humedad fue estará expresado mediante la Ecuación 8:

$$\%\ \text{humedad} = \frac{P-P_1}{P_2} \times 100$$

(Ec. 8)

En la cual:

P=peso del recipiente con la muestra húmeda en g.

$P_1$= Peso del recipiente con la muestra seca en g.

$P_2$=Peso de la muestra en g.

**e) Determinación de proteínas**

Se determinó de acuerdo a la Norma FIL.20:1962 Federación Internacional de Lechería, en donde 0.5 g de muestra fueron transferidos a un tubo Kjeldahl y se añadió 1 tableta de catalizador (Kjeltabs S/3.5, FOSS) y 20 mL de $H_2SO_4$ concentrado, la mezcla anterior se calentó cuidadosamente en un digestor (DIK-06,Prendo, Puebla, México) mediante una rampa de temperatura de 150 °C por 30 minutos, 270 °C por 30 minutos y 400 °C hasta que la solución estaba completamente clara y se siguió calentando por 30 min más, el digestor estaba conectado al lavador de gases (LG-20, Prendo, Puebla, México), posteriormente se enfrió y se añadieron 20 mL de agua para diluir, y 50 mL de NaOH al 30% resbalando por las paredes, inmediatamente se conectó el aparato de destilación (Micro-Kjeldahl DEK-01, Prendo, Puebla, México) para recibir el destilado en un matraz Erlenmeyer de 250 mL que contenía 50 mL de ácido bórico al 2% y 4 gotas de indicador; se destiló hasta que pasó todo el $NH_3$ y se tituló el destilado con $H_2SO_4$ 0.1 N. El contenido de Nitrógeno se determinó mediante la Ecuación 9.

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{V \times N \times 0.014 \times 100}{P} \qquad \text{(Ec. 9)}$$

Dónde:

V=Volumen de $H_2SO_4$ empleado en la titulación (mL)

N= Normalidad del $H_2SO_4$

P= Peso de la muestra de queso (g)

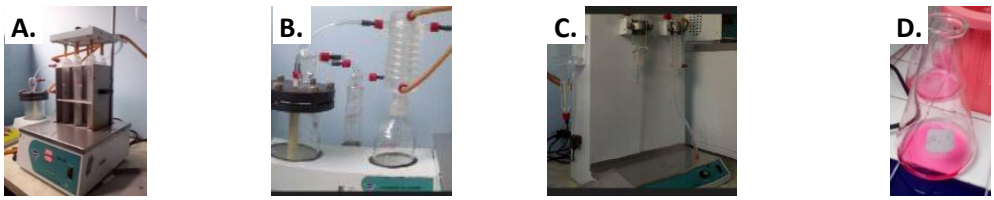



**Figura 2.15.** Determinación de proteínas.

**A.** Digestor **B.** lavador de gases **C.** destilador **D.** muestras destiladas

De forma análoga a la determinación de grasas; se analizó el contenido de proteína en extracto seco mediante la Ecuación 10.

$$P' = \frac{G}{100-H} \times 100$$

(Ec. 10)

Dónde:

P’ = contenido de proteína en el extracto seco, en porcentaje de masa.

P = contenido de proteína, en porcentaje de masa.

H = contenido de humedad, en porcentaje de masa.

### 2.2.8.2. Liberación de grasa

La liberación de grasa se define como la capacidad del queso para liberar una pequeña cantidad de grasa libre cuando es calentado (Rodríguez, 2013).El contenido de grasa libre de las muestras de queso se determinó utilizando el método modificado de Kindstedt y Rippe (1990), 10 g de muestra de queso homogeneizado se pesaron en un tubo Falcón y fueron sumergidos en agua hirviendo durante 10 min para fundir el queso, posteriormente se agregaron 10 mL de agua destilada y 10 mL de metanol y se centrifugó en la centrífuga refrigerada (Universal 320R, Hettich, Massachussets, USA) a 40 °C a 2000 rpm por 10 min, una vez separadas las fases (Figura 2.16A), se extrajo el fase de acuosa y se midió la cantidad de grasa en de una probeta graduada de 25 mL (Figura 2.16B).

**Figura 2.16.** Determinación de la liberación de grasa

**A.** Muestra centrifugada **B.** Medición de grasa liberado

### 2.2.8.3. Rendimiento

El rendimiento de cada queso al día 1 fué expresado como kg de queso obtenidos por kg de leche empleada (San Martín-González *et al.,* 2007) mediante una balanza de carga superior (EP2102C, Ohaus Explorer Pro, Maryland, USA); además se evaluó la recuperación de grasa y proteína en el queso de acuerdo a la Ecuación 11.

$$\text{Recuperación de componente (\%)} = \frac{\text{\% Componente en Producto * cantidad en Producto}}{\text{\% Componente en Leche * cantidad de Leche}} \times 100$$

(Ec. 11)

### 2.2.8.4. Determinaciones reológicas dinámicas

Las determinaciones reológicas dinámicas fueron utilizadas para determinar la viscosidad del queso tipo Mozzarella por medio del esfuerzo necesario para producir una velocidad angular, siguiendo el método modificado de Muliawan y Hatzikiriakos (2007). Se realizaron mediciones oscilatorias dinámicas a muestras cilíndricas de 80 mm de diámetro y de 2 a 4 mm de alto; los discos de queso se comprimieron a una frecuencia de 1 Hz por medio del reómetro (AR 2000ex, TA Instruments, Delaware, USA) mostrado en la Figura 2.18a y equipado con una geometría de placas peltier de 60 mm de diámetro (519600.901, TA Instruments, Delaware, USA) pertenecientes al Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Hidalgo. Se determinaron las siguientes propiedades: módulo de almacenamiento (G'), de pérdida (G"), módulo complejo (G*), viscosidad compleja (η) y ángulo de fase (tan δ). El barrido de frecuencia se realizó entre 1 y 100 Hz, con un porcentaje de deformación de 0.30 (Figura 2.17Bb) a temperaturas de 25, 40, 50 y 60 °C.

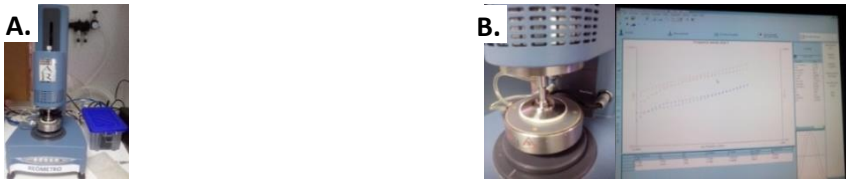



**Figura 2.17.** Determinaciones reológicas

**A.** Reómetro AR 2000 ex **B.** Realización de la prueba

### 2.2.8.5. Evaluación de características funcionales

**a) Acidez**

Fue determinada de acuerdo a métodos estándares (Wehr y Frank, 2004). Se tomaron 10 g de muestra y se agregaron a 105 mL de agua a 40 °C, se agitó y se filtró mediante un tamiz de malla 80; una vez enfriado el filtrado se tomaron 25 mL y se depositaron en un matraz Erlenmeyer al cual se agregaron 3 gotas de indicador de fenolftaleína al 1%. Inmediatamente se tituló con una solución 0.1 N de NaOH hasta el vire del indicador incoloro a rosa. El resultado fue expresado de acuerdo a la Ecuación 1.

**b) Análisis de perfil de textura**

El análisis de perfil de textura se realizó con el Texturómetro TAXT-Plus (Texture Technologies, TAXT-Plus, Surrey, Reino Unido) mostrado en la Figura 2.9 y utilizando cilindros de queso de 17 mm de diámetro y 20 mm de alto. Las muestras fueron colocadas en el equipo y comprimidas dos veces a temperatura ambiente con una sonda a 1 mm/s hasta un 50 % de su altura original. Se calcularon a partir de los gráficos de fuerza en función del tiempo las propiedades mecánicas de dureza, cohesión y elasticidad (Caro *et al.,* 2011).

**c) Capacidad de fundido**

La capacidad de fundido se determinó utilizando el método de Schreiber modificado (Muthukumarappan *et al.,* 1999); para cada prueba fueron cortados cilindros de queso de 17 mm de diámetro y 5 mm de alto y se colocaron en una caja de Petri de vidrio sin tapa dentro del horno eléctrico (E2, Binder, Dhaka, Bangladesh) a 100 °C por 5 min. Las muestras se dejaron enfriar por 5 min a temperatura ambiente (Figura 2.18A) y la propagación del queso fundido fué expresado mediante el incremento de área superficial del queso el cual fué calculado mediante un sistema de imagen con contraste de color (Figura 2.18B) utilizando fotografías de las muestras mediante una cámara (DSC-H90, Sony, China) y un análisis de incremento de área realizado mediante el software matemático Matlab de acuerdo al método de Ortiz *et al.* (2015).

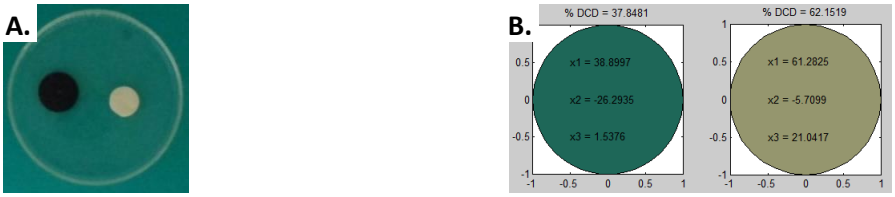



**Figura 2.18.** Determinación de capacidad de fundido
**A.** Cajas Petri con muestra **B.** Sistema de contraste de color

### d) Color

Se realizó el análisis superficial de color empleando el método modificado descrito por Bermúdez *et al.* (2008), en donde el color se determinó mediante el colorímetro triestímulo (Colorflex EZ, Hunterlab, Virginia, EEU), utilizando parámetros en el espacio de color L*, a* y b* de cada queso para los diferentes muestreos (Figura 2.19). Los parámetros empleados fueron: L* luminosidad - oscuridad (100 a 0), a* (rojo (+) a verde (-)) y b* (amarillo (+) a azul (-)).

**Figura 2.19.** Determinación de color en colorímetro Triestímulo

### e) pH

El pH en el queso fue determinado de acuerdo a métodos estándares (Wehr y Frank, 2004) utilizando el medidor de potenciómetro calibrado (UB-10, Denver Instruments, Colorado, E.U.A.), se rallaron 10 g de queso y el pH fue determinado mediante el contacto directo con el electrodo hasta su estabilización durante 30 segundos (Figura 2.20).

**Figura 2.20.** Determinación de pH en queso

### 2.2.8.6. Análisis sensorial descriptivo de textura de quesos tipo Mozzarella

Se llevó a cabo un análisis sensorial desccriptivo para evaluar los cambios de textura de quesos TS y control durante el almacenamietno refrigerado (1 y 15 días). Los quesos empleados para este análisis fueron elaborados un día antes del análisis sensorial y se almacenaron a T=12 °C durante 15 días, se presentaron a los evaluadores muestras de queso de cada tratamiento para llevar a cabo el análisis sensorial de acuerdo al método descrito por Meilgaard *et al.* (1999) que establece 30 atributos que permiten evaluar la textura de quesos.

Las muestras de queso fueron cortadas a tamaños iguales, presentando una medida de 1.5 cm x 1.5 cm x 1.5 cm y un peso aproximado de 5.0 g, con la ayuda de un cuchillo de acero inoxidable y una tabla de plástico limpia, cinco bloques de muestra de cada queso se colocaron en un plato con divisiones y fueron codificadas con números aleatorios. A cada juez se le proporcionó un vaso de agua y un plato con galletas para enjuagar la boca adecuadamente entre muestras. La evaluación sensorial se llevó a cabo en un ambiente apropiado con un panel de 8 jueces constituido por alumnos de la Universidad. El rango de edad de los jueces oscilaba entre 22 y 28 años. Se trabajó en una sola sesión con intervalos de 3 jueces en cada una, a los cuales se les dieron las mismas indicaciones a seguir, a través de una sesión explicativa previa donde se defienieron claramente cada uno de los atributos texturales a evaluarse, para que cada consumidor entendiera claramente su significado y diferencias en conceptos no interfirieran con las respeustas, a cada uno se les proporcionó un formato con las indicaciones escritas (Ver Anexo 5) y un lapicero para contestar. Finalmente se recabaron las hojas de respuesta, se contabilizaron las preferencias de los jueces y se analizaron mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA) empleando el software XLSTAT 7.5.2 (Addinsoft, 2004, EUA), el cual que permitió reducir el número de variables dependientes o atributos y visualizar que atributos describían a cada muestra. El mismo procedimiento se realizó a los 15 días para la segunda etapa del análisis sensorial.

### 2.2.9 Diseño experimental

Los diseños experimentales empleados se describen a continuación:

**Etapa 1. Evaluación preliminar de parámetros de operación**

Durante la etapa preliminar se realizaron pruebas sensoriales informales que permitieron identificar el rango en que no se detectaban modificaciones de sabor y olor a la leche, además se realizó una cinética de formación de peróxidos para comprobar el rango experimental de trabajo, los análisis se desarrollaron por medio de un diseño completamente aleatorizado por triplicado y las cinéticas se analizaron gráficamente.

**Etapa 2. Evaluación de las características tecnológicas de la leche para elaborar queso tipo Mozzarella.**

Las micrografías de GG se llevaron a cabo mediante un diseño aleatorizado cuyas variables fueron amplitud (0%, 50%, y 100%) y tiempo (0 min, 2 min, 4 min, 6 min) y analizándose mediante un sistema de comparación de imágenes, por su parte, la determinación de tamaño de partícula y el análisis a las características funcionales, se llevó a cabo mediante un completamente aleatorizado en el cual se desarrolló un análisis de una vía y prueba de Dunnett ($p<0.05$) para determinar si existían diferencias de medias entre el grupo control y los grupos experimentales, además se utilizó un modelo lineal general y la prueba de Tukey para comparar la diferencia de medias entre los grupos experimentales ($p<0.05$), las variables a manipular fueron amplitud (50%, 75% y 100%) y tiempo (2 min, 4 min, 6 min); todas las pruebas se analizaron mediante el software estadístico Minitab 17.0 (Minitab Inc, State College, PA, EUA),

**Etapa 3. Comparación de cambios fisicoquímicos en leches TS y pasteurizada térmicamente**

Durante esta etapa los análisis se realizaron mediante un diseño aleatorizado; los parámetros de control durante la elaboración del queso, la composición bromatológica, la liberación de grasa y el rendimiento se analizaron mediante un ANOVA de una sola vía y comparación de medias de Tukey ($\alpha= 0.05$), los parámetros reológicos al día 1 y al día 12 se

analizaron gráficamente y las características funcionales al día 1 y durante el almacenamiento refrigerado (8, 15 y 22 días) se analizaron mediante un ANOVA lineal general y comparación de medias de Tukey ($\alpha$= 0.05), Todas las pruebas se analizaron mediante el software estadístico Minitab 17.0 (Minitab Inc, State College, PA, EUA), finalmente las pruebas sensoriales se realizaron al día 1 y posteriormente al día 15, con la información recopilada se generó una base de datos, la cual fue analizada por el software XLSTAT 7.5.2. (Addinsoft, 2004, EUA). El análisis de los datos requirió del cálculo de dos factores para describir las muestras en su totalidad (Ver Anexo 7).

# CAPITULO III
# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 3.1. Etapa I. Evaluación preliminar de parámetros de operación

En esta etapa se llevaron a cabo las pruebas preliminares que permitieron identificar los parámetros adecuados del procesamiento, para ello se realizó una serie de experimentos procesando leche bovina a diferentes condiciones de tiempo (t) y amplitud (a) de sonicación y se evaluaron las características sensoriales mediante una evaluación sensorial informal, las variables de proceso se eligieron de acuerdo a reportes previos de la aplicación de US en lácteos; los límites de amplitud y tiempo se eligieron por ser el umbral de trabajo experimental en que nuestro análisis sensorial no presentaba fluctuaciones en las características de la calidad de la leche. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Las leches empleadas fueron obtenidas de un productor local y tuvieron una composición de 8.155±0.295% de solidos no grasos, 2.63±0.53% de proteína y 3.74±0.2% de grasa. La temperatura de la leche durante cada tratamiento se registró mediante un sensor de temperatura y controlador acoplado al equipo (UPCCTRL V3.2 WIN, Hielscher, Teltow, Alemania). En la Tabla 3.1.1 se muestran los promedios de las temperaturas (°C), la energía específica (Ws/mL~~l~~) y potencia neta (W), registradas en cada tratamiento por el procesador ultrasónico, así como la energía entregada (Ws/mL~~ml~~), potencia disipada (W) y potencia efectiva (W). La temperatura promedio se mantuvo entre los 39 y 42 °C permitiendo que existiera una mayor movilidad de los GG durante el tratamiento por encontrarse en un punto cercano al punto de fusión de la grasa (Fox *et al.,* 2011). Es posible identificar que las estimaciones de potencia efectiva aumentaron al incrementarse tanto la amplitud como el tiempo de sonicación; los valores potencia entregada a la solución fueron mayores a los reportados por Chandrapala *et al.* (2012) quienes trabajando con 60 mL de leche sometida a 20 KHz, en un equipo de 450 W con una sonda de 19 mm de diámetro (Sonifier 450; Branson, Danbury, CT) en amplitudes de 50% para 1, 5, 10, 20, 30, o 60 min determinaron que la potencia real entregada a la solución era 31 W, estas variaciones pueden atribuirse a diversos factores, entre los que destacan: el tipo de sonda, recipiente contenedores y de medición, composición de la leche empleada, enchaquetado del sistema, entre otros.

**Tabla 3.1.1.** Promedios de temperatura, energías y potencias en los diferentes tratamientos[1].

| Amplitud (%) | Tiempo (min) | Temperatura (°C) | Energía específica (J/mL) | Energía entregada (J/mL) | Potencia neta (W) | Potencia disipada (W) | Potencia efectiva $P_{neta}$-$P_{disipada}$ (W) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | 2 | 39.40±0.50 | 27.90±1.20 | 27.35±0.85 | 227.94±7.07 | 92.07±1.36 | 135.87±7.07 |
| 50 | 4 | 40.10±0.90 | 55.65±1.06 | 55.18±0.74 | 229.92±3.09 | 75.30±1.19 | 154.62±3.09 |
| 50 | 6 | 40.85±0.85 | 80.96±0.12 | 84.56±0.24 | 234.90±0.66 | 72.01±1.25 | 162.89±0.66 |
| 75 | 2 | 41.00±1.00 | 33.71±0.41 | 33.00±0.01 | 274.98±0.10 | 120.16±3.25 | 154.82±0.10 |
| 75 | 4 | 39.85±1.45 | 64.88±0.35 | 64.94±0.49 | 270.60±2.05 | 104.55±0.37 | 166.05±2.05 |
| 75 | 6 | 40.90±1.20 | 100.69±0.63 | 99.32±2.04 | 275.88±5.66 | 101.79±0.46 | 174.09±5.66 |
| 100 | 2 | 40.75±0.75 | 39.18±0.11 | 41.38±4.34 | 344.83±3.60 | 152.31±2.69 | 192.52±6.04 |
| 100 | 4 | 40.14±0.25 | 76.29±0.78 | 77.38±0.32 | 352.40±1.32 | 142.84±0.49 | 209.56±1.32 |
| 100 | 6 | 41.30±0.35 | 118.34±0.90 | 117.99±0.61 | 357.76±1.69 | 141.01±0.63 | 216.75±1.69 |

[1] Valores promedio de 3 mediciones.

### 3.1.1 Preparación de muestras de leche

Previamente a la realización de los tratamientos tecnológicos correspondientes, las leches fueron estandarizadas a 3.0±0.05% de grasa con la finalidad de elaborar productos lácteos homogéneos. Después de realizar el análisis del contenido de grasa de los tratamientos de TS (Tabla 3.1.2) se encontraron valores más altos que las leches antes del tratamiento, lo cual es debido a que la extracción de grasa es más eficiente después de la sonicación, lo cual concuerda con estudios realizados por Bermúdez *et al*. (2008). Posteriormente al tratamiento se llevaron a cabo las diferentes pruebas cuyos resultados se describen en las secciones subsecuentes.

**Tabla 3.1.2.** Medias del incremnto en el contenido de grasa en leche después del tratamiento de TS[1].

| Condiciones de sonicación | | %Incremento de grasa |
|---|---|---|
| **Amplitud** | **Tiempo** | |
| 0% | 0 | 0.02±0.04 |
| 50% | 2 | 0.07±0.02 |
| 50% | 4 | 0.07±0.01 |
| 50% | 6 | 0.08±0.06 |
| 75% | 2 | 0.04±0.04 |
| 75% | 4 | 0.07±0.05 |
| 75% | 6 | 0.10±0.01 |
| 100% | 2 | 0.04±0.01 |
| 100% | 4 | 0.08±0.02 |
| 100% | 6 | 0.13±0.05 |

[1] Valores promedio de 3 mediciones.

### 3.1.2. Índice de Peróxidos

El comportamiento de la cooxidación de Fe (II) a Fe (III) por hidroperóxidos de la muestra y la formación rojiza de tiocianato de Fe (III) se leyó a 500 nm y permitió determinar la oxidación lipídica, la cual se muestra en las Figuras 3.1.1 y 3.1.2.

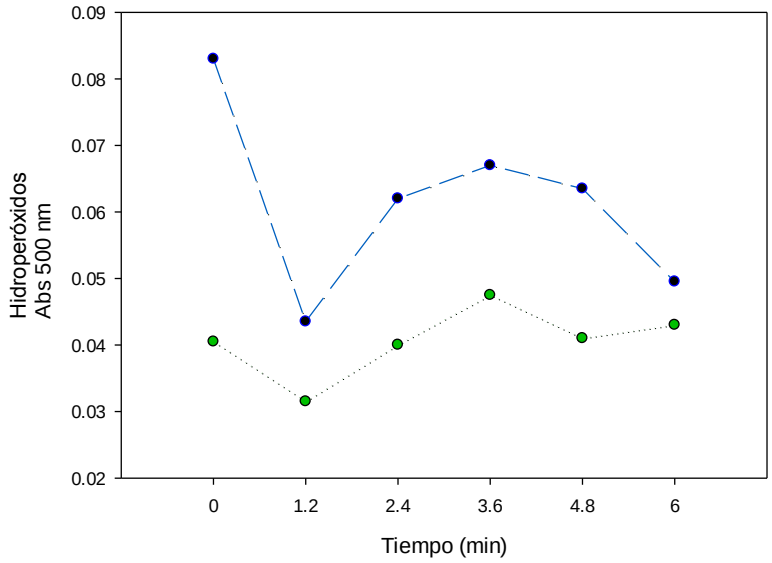



**Figura 3.1.1.** Cinéticas de formación de hidroperóxidos a 50% de amplitud. Los puntos representan dos experimentos independientes.

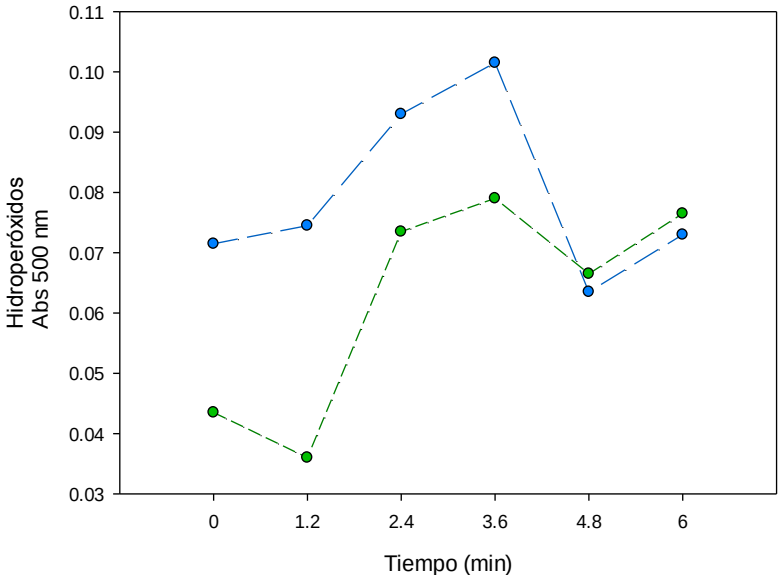



**Figura 3.1.2.** Cinéticas de formación de hidroperóxidos a 100% de amplitud. Los puntos representan dos experimentos independientes.

La leche es un sistema biológico complejo que contiene muchos factores, que pueden actuar como antioxidantes o pro-oxidantes, las cantidades relativas de estos factores en la leche son influenciadas por parámetros tales como la raza, la salud, el estado nutricional, y la etapa de lactancia de la vaca, por lo tanto las variaciones encontradas en la leche cruda pueden ser atribuidos a estos factores.

Al observar los datos es posible verificar que la absorbancia registrada es proporcional a la oxidación de la leche; no existe un límite para la oxidación de lípidos en la literatura (Chouliara *et al.,* 2012), sin embargo, nuestros valores son consistentes a lo encontrado por Ostdal *et al. (*2000) quienes al analizar los hidroperóxidos lípidicos a una absorbancia de 500 nm reporta valores para muestras control menores a 0.05 y para muestras sometidas a exposición de luz por 12 horas de 0.025; después de analizar gráficamente las cinéticas fué posible identificar que la absorbancia se ve afectada por la interacción entre la duración y la amplitud del tratamiento de TS, estos efectos están relacionados con la formación de radicales libres y reacciones de oxido-reducción que se producen al sonicar leche como consecuencia de la ruptura de GG que protege a los lípidos según lo informado por Marchesini *et al. (*2012). La MGG actúa como emulsificante previniendo la floculación y coalescencia de los GG, además protege la grasa de la actividad enzimática y la oxidación (Cano y Richter, 1997), el daño a la membrana promueve las reacciones de oxidación en la leche (Pingret *et al.,* 2013).

Las Figuras 3.1.1 y 3.1.2 muestran gráficas típicas que reflejan el comportamiento general de la oxidación, las cuales permiten identificar que durante el tratamiento de TS existe un punto de formación de peróxidos que posteriormente disminuye por la degradación a productos secundarios; este comportamiento es debido a que se trata de un proceso continuo en el que la formación de peróxidos se mantiene durante el tratamiento. Las muestras de leche termosonicadas a una amplitud del 50% no presentan un valor superior al de la leche cruda durante los 6 min, mientras que las muestras a amplitudes de 100% muestran un valor superior al de la leche cruda a los 3.6 min, ambos resultados fueron comparados con los análisis sensoriales informales que reportron valores de 6 mi npara amplitudes de 50% y 4 min para amplitud de 100%.

Tras hacer una revisión bibliográfica exhaustiva, no existen estudios similares que permitan comparar los resultados obtenidos. Sin embargo Ashokkumar *et al.* (2011) reportan que el US es responsable de la formación de radicales libres, en particular de radicales oxhidrilo que inician las reacciones de autoxidación en la grasa, de igual forma Chouliara *et al.* (2010) reportaron un incremento en el grado de oxidación de las muestras durante el periodo de almacenamiento al analizar la oxidación mediante la prueba de ácido tiobarbitúrico (TBARS) que determina productos de oxidación secudaria en muestras de 200 mL de leche al 3.5% de grasa a una potencia máxima de 200 W, tiempos de 0 a 16 min y temperaturas de 15 a 25 °C; de forma análoga Marchesini *et al.* (2012) evaluaron la formación de productos primarios de oxidación generados por el US mediante el método de TBARS en experimentos realizados de 100 mL de leche homogeneizada al 3.9% de grasa con un equipo a una frecuencia de 24 kHz, amplitudes de 70% y 100% y tiempos de 50, 100, 200 y 300 s, encontrando que la absorbancia es proporcional a la amplitud del tratamiento.

## 3.2. Etapa II. Evaluación de las características tecnológicas de la leche para elaborar queso tipo Mozzarella.

En esta sección se realiza una breve discusión de los principales efectos producidos por la TS sobre los componentes de la leche en comparación con los efectos producidos por un TT convencional; los análisis de la varianza (ANOVA) correspondientes se encuentran en el Anexo 6.

### 3.2.1. Determinación del tamaño de partícula

La determinación del tamaño de partículas es de gran importancia ya que posee un efecto considerable sobre la estabilidad de la leche y por lo tanto, en sus características funcionales y sensoriales. Como se puede observar en la Figura 3.2.1 la curva de distribución de tamaño de partícula de la leche cruda mostró un pico principal a 4.62 µm que corresponde a los GG y un pequeño pico a 0.364 µm que corresponde a micelas de CN; estos valores corresponden a los reportados por Briard *et al. (*2003) quienes expresa que el tamaño promedio de las micelas de CN está comprendido entre 50 y 300 nm y el de los GG poseen un diámetro promedio de 4 µm y a lo encontrado por Bermúdez *et al.* (2008) que establecen que los GG presentes en la leche tienen un tamaño entre 1 y 8 µm con un tamaño promedio de 4 µm.

Al comparar la distribución de tamaño de leche cruda con leches termosonicadas es posible identificar una disminución en el diámetro medio del tamaño de GG, generado por las fuerzas relacionadas con la aplicación de US (cavitación, turbulencia, tensión de cizallamiento, fricción y calor), análogas a las generadas en procesos de homogeneización; en este proceso la membrana de glóbulo de graso (MGG) se rompe y debido al incremento del área superficial el material de membrana no es suficiente; por tanto, las zonas hidrofóbicas de las CN y algunas PS se adhieren a la superficie para estabilizar la membrana (Hayes y Kelly, 2003); es posible concluir que el tamaño promedio de los GG disminuye en función del tiempo y amplitud de sonicación; de la Figura 3.2.1 se observa el desplazamiento de los picos de GG en función de los tratamientos de sonicación, en los tratamientos realizados a 50% el pico se desplaza a 2.74±0.59 µm y en los tratamientos al 100% se recorre a 1.54±0.79 µm, observando por lo tanto disminuciones de hasta 2.9 µm (100% 6

min) comparado con la leche cruda; estos valores pueden ser comparados a una homogeneización convencional en la cual un glóbulo de 5 µm se subdivide en aproximadamente 125 glóbulos de 1 µm (Alais, 1985).

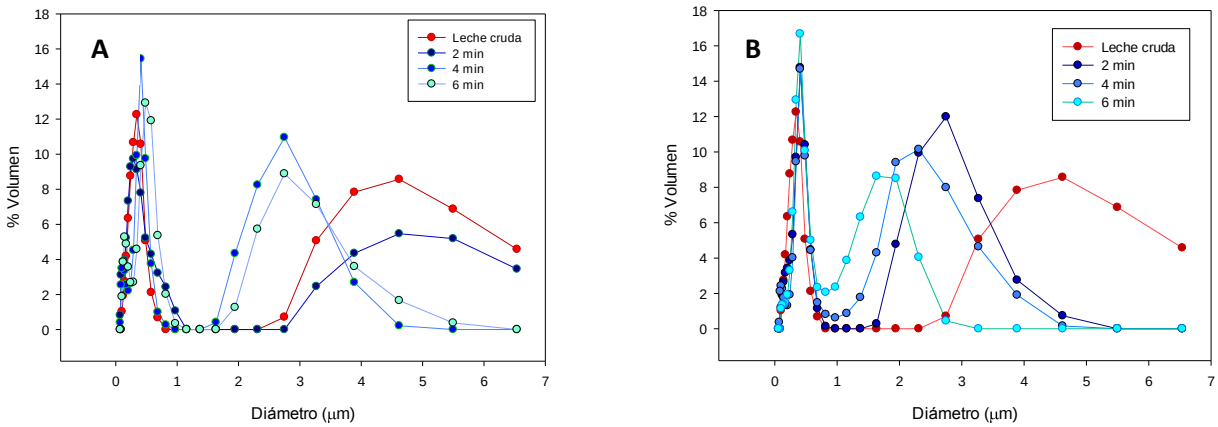



**Figura 3.2.1.**
**A.** Distribución del tamaño de partícula para una amplitud del 50%.
**B.** Distribuciones de tamaño de partícula para una amplitud del 100%.

Resultados similares fueron reportados por Vijayakumar (2012) quien utilizando tratamientos de TS en leche descremada en un equipo con potencia máxima de 400 W y tiempos de sonicación de 0 a 180 s encontró una reducción significativa del tamaño de GG (2.65 µm a 0.2-0.48 µm); de forma analoga Chandrapala *et al.* (2012) trabajaron con un equipo que entregó una potencia de 450 W a una amplitud de 50% y diferentes tiempos de sonicación (1, 5, 10, 20, 30 y 60 s) observando una disminución en el tamaño de partícula en función del tiempo de US; de forma análoga Bermúdez *et al.* (2008) termosonicaron muestras de 500 mL de leche cruda entera a 24 kHz y 120 µm a temperatura de 63 °C y diferentes tiempos (10 y 30 min) observando disminuciones del tamaño de GG (4.3 µm a ≤1 µm) producto de las fuerzas de corte de la cavitación que rompen la MGG y provocando que proteínas hidrofóbicas como las CN comiencen a adherirse a la superficie; Riener *et al.* (2009) utilizaron 200 mL de leche pasteurizada y homogeneizada a 72 °C por 15 s con y sin TS (400 W, T=45.72 °C y 10 min) reportando una disminución importante para los GG (1.4 µm a 0.6 µm).

De manera semejante a los estudios sobre los GG se han analizado los efectos del US sobre el tamaño de las micelas de CN tal es el caso de Gao *et al.* (2014) quienes reportan una dismincuión del tamaño de la micela generado por la ruptura del enlace k-CN; en otro estudio

realizado por Shanmugam *et al.* (2012), con leche pasteurizada, homogeneizada y descremada y 65 mL de muestra en tiempos de 15 a 60 min en un equipo de US a 20 KHz y con potencias efectivas de 20 y 41 W y temperaturas de 22 y 37 °C se observó una pequeña disminución en el tamaño de la micela de CN.

En la Tabla 3.2.1 se muestra el cambio de valores del diamétro promedio de Brouckere (4,3) para los GG de leche bovina sometida a tratamientos selectos de TS el cual permite establecer la formación de agregados de gran tamaño; se observó un cambio significativo ($p<0.05$) en los valores de d(4,3) por efecto de la amplitud de sonicación.

**Tabla 3.2.1.** Cambio en valores promedio de diámetro volumétrico de GG[1].
d(4,3)

| **Tiempo (min)** | **Amplitud (%)** | |
|---|---|---|
| | **50** | **100** |
| **2** | $5.09\pm0.01^{A.a}$ | $4.37\pm1.31^{B,a}$ |
| **4** | $5.09\pm0.19^{A,ab}$ | $3.40\pm0.13^{B,ab}$ |
| **6** | $4.18\pm0.62^{A,b}$ | $2.78\pm0.36^{*\,B,b}$ |
| ****LTLT** | 5.29±0.06 | |

[1] Promedio de 2 mediciones.
* Diferencia estadísticamente significativa comparada al control (prueba de Dunnet, $p<0.05$).
** LTLT= Pasteurización a 63 °C, 30 min.
[A,B,C] Superíndices diferentes en mayúscula en la misma fila indican diferencia significativa (prueba de Tukey, $p<0.05$); superíndices diferentes en minúscula en la misma columna indican diferencia significativa (prueba de Tukey, $p<0.05$).

Al analizar los datos es posible identificar una disminución significativa del valor d(4,3) proporcional al incremento de la amplitud y tiempo de sonicación, lo cual permite comprobar que durante el tratamiento de US no existió formación de complejos; otras tecnologías como la alta presión hidrostática ha reportado resultados similares, tal como el caso de Huppertz *et al.* (2003) quienes examinaron el tamaño de GG en leche cruda y homogeneizada en tratamientos de alta presión de 10 a 25 KPa observando una disminución de tamaño promedio (<5 µm) resultado de la presión de trabajo; Zamora *et al.* (2007) trabajando con presiones de 100 a 300 MPa encontraron una reducción de d(4,3) de 2.19 hasta 0.1 µm en función de la presión aplicada; por su parte Rudan *et al.* (1998) realizaron mediciones de tamaño de GG en leche homogeneizada y leche estandarizada de 3.45 a 13.8 MPa, encontrando valores promedios de d(4.3) de 2.73 µm; de forma análoga Halles y Kelly (2003)

realizó tratamientos de alta presión de 50 a 200 MPa en leche entera bovina observando una reducción de d(4.3) de 3.19 a 0.47 µm.

Además con la finalidad de identificar la distribución del tamaño de partículas correspondiente se analizaron los percentiles, los cuales se encuentra en la Tabla 3.2.2.

**Tabla 3.2.2.** Medias de muestras analizadas para la distribución del tamaño de partícula[1].

| Amplitud | Tiempo | Percentil | | |
|---|---|---|---|---|
| | | $D_{10}$** | $D_{50}$** | $D_{90}$** |
| 50% | 2 min | 0.13±0.01$^{A,a}$ | 0.34±0.03$^{A,a}$ | 3.59±0.13$^{A,a}$ |
| | 4 min | 0.15±0.01$^{A,ab}$ | 0.40±0.04$^{A,b}$ | 3.05±0.59*$^{A,a}$ |
| | 6 min | 0.16±0.01$^{A,b}$ | 0.46±0.01*$^{A,b}$ | 3.05±0.02*$^{A,a}$ |
| 100% | 2 min | 0.15±0.01$^{B,a}$ | 0.41±0.02$^{B,a}$ | 2.76±0.16*$^{B,a}$ |
| | 4 min | 0.18±0.00*$^{B,ab}$ | 0.52±0.06*$^{B,b}$ | 2.86±0.21*$^{B,a}$ |
| | 6 min | 0.21±0.00*$^{B,b}$ | 0.46±0.01*$^{B,b}$ | 1.84±0.54*$^{B,a}$ |
| LTLT | | 0.13±0.01 | 0.32±0.01 | 4.33±0.28 |

[1] Promedio de 2 mediciones.

* Diferencia estadísticamente significativa comparada al control (prueba de Dunnet, $p<0.05$).

** LTLT= Pasteurización a 63°C, 30 min

$^{A,B,C}$ Superíndices diferentes en mayúscula en la misma fila indican diferencia significativa (prueba de Tukey, $p<0.05$); superíndices diferentes en minúscula en la misma columna indican diferencia significativa (Tukey $p<0.050$).

Los valores de $D_{50}$, $D_{90}$, $D_{10}$ indican el diámetro por debajo del cual se encuentran el 50, 90 y 10% de las partículas, esta distribución acumulada de la cantidad total de particulas permiten identificar que hubo una reducción en el tamaño de partículas en función de la amplitud y el tiempo de TS del tratamiento y que no existe la formación de complejos; el 90% de las partículas en leche cruda se encuentran por debajo de los 4.33±0.28 µm valor que disminuyó hasta 1.84±0.54 µm para el tratamiento de 100% de amplitud con 6 min; mientras que por ejemplo, para el tratamiento más intenso (100%, 6 min) tanto el 10% (0.21±0.00 µm) y 50% (0.46±0.01 µm) registran valores superiores a los de leche cruda (0.13±0.01 µm y 0.32±0.01 µm respectivamente) lo cual permite comprobar que las partículas fueron homogeneizadas y presentan una distribución más uniforme.

Resultados similares ha demostrado la alta presión hidrostática; por ejemplo, leches tratadas a 300 MPa mostraron un valor $D_{50}$ significativamente menor en comparación con la leche pasteurizada (Pereda *et al.*, 2008); de manera semejante Zamora *et al.* (2007) reportaron una disminución significativa en los valores de $D_{50}$ (1.10±0.03) y $D_{90}$ (3.11±0.04) de leche homogeneizada a 100 MPa comparados con la leche cruda ($D_{90}$ = 0.80±0.03 y $D_{50}$ = 0.34±0.00).

Es posible concluir que los cambios estructurales inducidos en los componentes de la leche están asociados a las fuerzas de tensión de cizallamiento, y el consecuente aumento en la colisión de las partículas, por lo tanto el tratamiento de US promueve la reducción del tamaño de partícula (Jambrak *et al.,*2014), esta homogeneización producto de los US altera la MGG y aumenta el área superficial, por lo cual hay una mejor distribución de la grasa y una mayor posibilidad de lipólisis, de igual forma se reduce también el nitrógeno caseínico y aumenta la fracción proteosas-peptonas lo que provoca mayor hidratación de la CN y formación de un complejo CN-GG, por lo cual, un mayor nivel de la grasa contenida en la leche queda retenida en la cuajada (Cano-Ruiz y Richter, 1997; Jana y Updhay, 1992).

Para quesos tipo Mozzarella un estudio realizado por Poduval y Mistry (1999) reveló que la homogeneización de la leche utilizada en la producción de queso reduce el contenido de grasa libres y permite obtener quesos más blandos con mayor rendimiento; sin embargo muestra efectos negativos en la capacidad de fusión y flujo (Lelievre *et al.,* 1990) y una reducción en la liberación de grasa (Tunick, 1994).

### 3.2.2. Microscopía

La microestructura de los alimentos es un factor determinante del a textura y las características sensoriales que condicionan la calidad final del producto (Stanley, 1987), así por ejemplo, en el caso de derivados lácteos las interacciones entre sus componentes determinan la textura, fragilidad, cohesividad y elasticidad percibida por el consumidor. La microestructura viene determinada no sólo por las características naturales del producto sino también por su procesado; por tanto, en este estudio las micrografías son consideradas como una herramienta útil para obtener información relacionada con las propiedades funcionales y sensoriales del queso. Al observar las muestras de leche cruda entera y aquellas con los diferentes tratamientos aplicados fue posible distinguir su naturaleza

heterogénea constituida por la dispersión de partículas de materia grasa en un medio líquido y cómo existían diferencias atribuibles a los procesos realizados. La comparación del tamaño de los GG y su concentración en la leche es ilustrada en la Figura 3.2.2; las imágenes muestran la homogeneización producto del tratamiento de TS, la cual rompe y divide los GG obteniendo una incremento en su estabilidad coloidal; nuestros resultados permiten observar la evolución de la reducción en el tamaño promedio del GG por el US; así por ejemplo es posible distinguir que el tratamiento de amplitud a 100% y 6 min presentan un mayor número de GG de tamaño pequeño comparadas con las muestras procesadas con el TT convencional.

Es posible establecer que el tratamiento de TS permite obtener beneficios en cuanto a la reducción y homogeneización del GG, como consecuencia de los efectos de las fuerzas de cizallameinto y cavitación, similar a lo reportado en el análisis de tamaño de partícula. Sin embargo es necesario utilizar microscopia electrónica de barrido (SEM) para identificar los cambios que se desarrollan en la superficie y la conformación de partículas de manera precisa después de los tratamientos de TS, de manera que permitan comprender claramente la posibilidad de investigación y desarrollo de nuevos productos basados en esta tecnología, de manera similar a lo reportado por Bermúdez *et al.* (2008) quienes mostraron que la aplicación de US producía cambios importantes en la MFGM con la posterior adhesión de las micelas de CN al someter una muestra de leche a TS (24 kHz, 120 µm; 63 °C, 30 min); de manera semejante Dalgleish *et al.* (2004) observaron imágenes de SEM en leche sin tratar homogeneizada a alta presión encontrando la adhesión de micelas de CN a la superficie del GG.

**Figura 3.2.2.** Micrografías de leche sonicada sometida a tratamientos de TS.

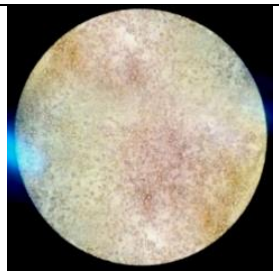
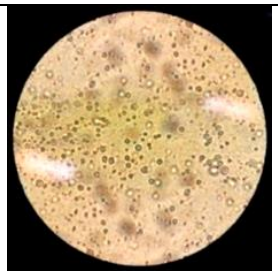
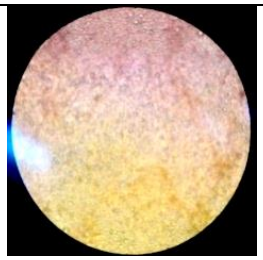
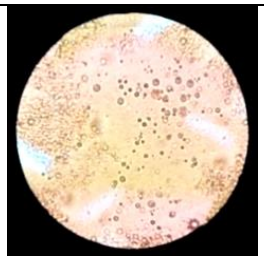
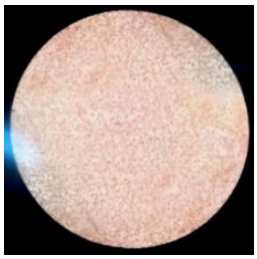
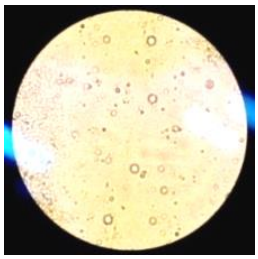
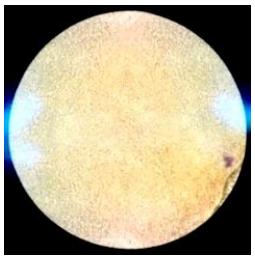
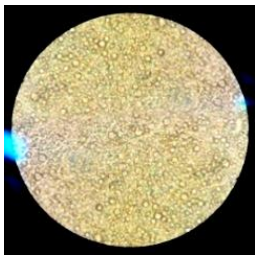
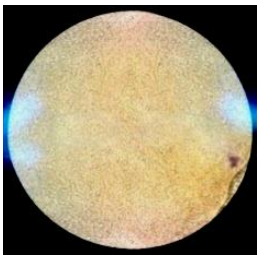
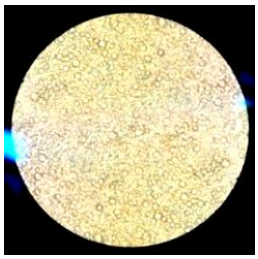
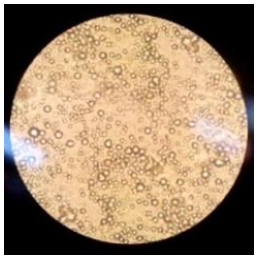
| Amplitud (%) / Tiempo (min) | 50 | 100 |
|---|---|---|
| 1.2 |  |  |

**Figura 3.2.2 *(Continuación)*.** Micrografías de leche sonicada sometida a tratamientos de TS.

| Tiempo (min) \ Amplitud (%) | 50 | 100 |
|---|---|---|
| **2.4** |  |  |
| **3.6** |  |  |
| **4.8** |  |  |
| **6.0** |  |  |
| **LTLT (63 °C, 30 min)** |  | |

### 3.2.3. Acidez y pH

Los resultados del porcentaje de acidez expresado como porcentaje de ácido láctico, y el pH se muestran en la Tabla 3.2.3, los resultados de los experimentos desarrollados en esta investigación muestran un incremento en la acidez en comparación con la leche pasteurizada (0.16±0.00) producto la TS (100%, 6 min=0.18±0.00), el cual puede estar justificada debido al a actividad de la lipasa la cual es una enzima presente en la leche que en condiciones normales se mantiene inactiva, sin embargo al modificarse la integridad de la MGG la protección de los triglicéridos es menos eficiente, haciéndose más accesible a la acción de las enzimas (Bello, 2000) y generando por lo tanto un mayor deterioro hidrolítico de las grasas.

**Tabla 3.2.3.** Medias de acidez y pH de leche entera sometida a tratamientos selectos de TS[1].

| Tiempo (min) | Acidez** | | | pH** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Amplitud (%) | | | Amplitud (%) | | |
| | 50 | 75 | 100 | 50 | 75 | 100 |
| 2 | 0.19±0.00$^{A,a}$ | 0.19±0.00$^{A,a}$ | 0.19±0.02$^{A,a}$ | 6.53±0.01*$^{A,a}$ | 6.56±0.05*$^{A,a}$ | 6.54±0.01$^{A,a}$ |
| 4 | 0.18±0.02$^{A.a}$ | 0.18±0.01$^{A.a}$ | 0.19±0.01$^{A,a}$ | 6.56±0.04*$^{A,a}$ | 6.50±0.02$^{A,a}$ | 6.56±0.01*$^{A,a}$ |
| 6 | 0.17±0.01$^{A.a}$ | 0.17±0.00$^{A.a}$ | 0.18±0.00$^{A,b}$ | 6.55±0.05$^{A,a}$ | 6.52±0.01$^{A,a}$ | 6.61±0.00*$^{A,a}$ |
| **LTLT | 0.16±0.00 | | | 6.65±0.00 | | |

[1] Promedio de 2 mediciones.
* Diferencia estadísticamente significativa comparada al control (prueba de Dunnet, p<0.05)
** LTLT= Pasteurización a 63°C, 30 min
$^{A,B,C}$ Superíndices diferentes en mayúscula en la misma fila indican diferencia significativa (prueba de Tukey, p<0.05); superíndices diferentes en minúscula en la misma columna indican diferencia significativa (prueba de Tukey, p<0.05).

Por su parte, el pH presentó un ligero aumento respecto a leches LTLT; tal disminución del pH podría atribuirse a la hidrólisis de ésteres de ácido fosfórico a causa de acción enzimática residual ya que el US es responsable de promover la actividad de algunas enzimas, y la cavitación puede acelerar algunas reacciones químicas que conllevarían a la disminución del pH. Sin embargo debido a que estos cambios de pH fueron reversibles es necesario realizar determinaciones en la concentración de calcio soluble que permitan identificar la estabilidad de las micelas de CN durante la exposición a los US; resultados similares han sido mencionados por Bermúdez-Aguirre *et al.* (2009) quienes trabajando con leche cruda en US (500 mL, 24 kHz, 0.86-2.85 W/cm$^2$, 63°C, 30 min) observaron una disminución de pH (6.8 a 6.74); Marchesini *et a*l. (2012) hallaron una disminución de pH al incrementar la amplitud y el

tiempo del US en tratamientos con leche entera (3.9% grasa) y US a condiciones selectas (24 kHz, 1.99 W/cm$^2$ y 2.85 W/cm$^2$, 50-300 s y 46 °C); por su parte Chandrapala *et al.* (2012) reportan variaciones en el pH producto de la actividad enzimática y lo justifican en función de una probable formación de nitritos. En contraparte Roach y Harte (2008) evaluaron los cambios en la concentración de calcio soluble en leche sometida a alta presión (tratamiento que también presenta fenómenos de cavitación, de manera análoga a el US y que por tanto, puede generar modificaciones similares en matrices alimenticias) encontrando un aumento resultado de la presión utilizada (300 MPa), sin embargo no fueron detectados cambios en la proporción de calcio iónico libre. Hasta el momento, no hay datos disponibles para determinar la razón exacta de los cambios del pH en la leche después de la sonicación (Jambrak *et al.,* 2008).

### 3.2.4 Capacidad de retención de agua

La CRA se define como la capacidad que tiene un alimento para retener el agua libre durante la aplicación de fuerzas externas, como puede observarse en la Tabla 3.2.4 los tratamientos de TS produjeron un aumento significativo en el contenido de humedad de las masas de cuajada. Al analizar el efecto de las variables de proceso, se estableció que la CRA aumentaba en función de la amplitud y tiempo de sonicación; así por ejemplo, para el tratamiento de 100% de amplitud y 6 min se observaron resultados de 60.75±0.47 aproximadamente un 16.07% mayor comparado con la leche pasteurizada (52.34±0.28).

**Tabla 3.2.4.** Medias de CRA de agua en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS[1].

| **Tiempo (min)** | **Amplitud (%)** | | |
|---|---|---|---|
| | **50** | **75** | **100** |
| **2** | 54.61±0.54$^{A.a}$ | 57.35±0.7*$^{AB.a}$ | 57.46±0.88*$^{B.a}$ |
| **4** | 58.41±1.17*$^{A.a}$ | 58.57±0.5*$^{AB.a}$ | 59.07±0.04*$^{B.a}$ |
| **6** | 58.86±0.13*$^{A.b}$ | 59.71±0.27*$^{AB.b}$ | 60.75±0.47*$^{B.b}$ |
| ****LTLT** | | 52.34±0.28 | |

[1] Promedio de 2 mediciones.
* Diferencia estadísticamente significativa comparada al control (prueba de Dunnet, p<0.05).
** LTLT= Pasteurización a 63°C, 30 min
[A,B,C] Superíndices diferentes en mayúscula en la misma fila indican diferencia significativa (prueba de Tukey, p<0.05); superíndices diferentes en minúscula en la misma columna indican diferencia significativa (prueba de Tukey, p<0.05).

Este incremento puede atribuirse a que el tratamiento de TS promueve una mayor unión de agua dentro de la red tridimensional generando un beneficioso efecto sobre la CRA, el cual puede explicarse como el resultado de la cavitación y sus efectos mecánicos que rompen la MGG y permiten que las CN y otras proteínas formen parte de la nueva membrana en los sitios expuestos mejorando la interacción entre los GG y la red de CN; por lo tanto, es posible concluir que la TS posee la ventaja de mejorar la homogeneización de la leche y mejorar la textura y estabilidad de los productos derivados lácteos (Salazar *et al.*, 2012).

Como puede observarse en la Tabla 3.2.4 los tratamientos de TS produjeron un aumento significativo en el contenido de humedad de la cuajada. Al analizar el efecto de las variables de proceso, se estableció que la CRA aumentaba por efecto de la amplitud y tiempo de sonicación; así por ejemplo, para el tratamiento de 100% de amplitud y 6 min se observó un incremento de aproximadamente 16.07% en CRA (60.75%±0.47) en comparación con el control (52.34±0.28); el tratamiento de TS promueve una mayor unión de agua dentro de la red tridimensional generando un beneficioso efecto sobre la CRA, el cual puede explicarse como el resultado de la cavitación y sus efectos mecánicos, los cuales rompen la MGG y permiten que las CN y otras proteínas formen parte de la nueva membrana en los sitios expuestos, mejorando la interacción entre los GG y la red de CN (Bermúdez *et al.*, 2008), por lo tanto, se establece que la TS permite modificar la interacción entre los componentes de la leche permitiendo la capatación de una mayor proporción de humedad, lo cual puede ser beneficioso para la elaboración de quesos, desde el punto de vista de rendimiento. Los resultados observados pueden ser comparados con lo reportado por Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas (2010), quienes relacionan un aumento en la CRA en quesos frescos con una mayor cantidad de PS y grasas incorporadas a la red proteica formada; Riener *et al*. (2010), demostraron incrementos en de hasta 46% en la CRA de yogurt utilizando leche descremada y un tratamiento de TS (200 mL, 45-72°C ,10 min). Este aumento en la CRA también se asemeja a los resultados obtenidos con tratamientos de alta presión en leche, como los reportados por Zamora *et al.* (2007) quienes estudiando los efectos de P (100-300 MPa) encontraron que la asociación de las PS a la superficie de las micelas de CN impide la fusión estérica de las mismas y generando una red de proteínas con mayor capacidad de contener más agua; de foma análoga Fernández (2005) elaboró quesos de cabra a altas presiones (50 y 400 MPa) encontrando un aumento en la CRA resultado de la formación de una nueva estructura resultado de las alteraciones microestructurales.

Estos incrementos en la CRA conllevan a un aumento en el rendimiento en la producción de quesos, que se pueden traducir en un aumento de las ganancias, asi como en la generación de un producto con nuevas características que pueden ser percibidas como atractivas a los consumidores.

### 3.2.5 Firmeza de gel

La FG es un indicador de su resistencia; su determinación puede emplearse como predictor de el comportamiento que presentará la cuajada durante procesos específicos de la elaboración de quesos, incluyendo corte y manejo post corte, los cuales determinan factores de textura y composición de la cuajada, así como factores de calidad como pérdida de finos. Como puede observarse en la Tabla 3.2.5, los tratamientos de TS produjeron una disminución significativa en la FG al compararse con el control; al analizar el efecto de las variables del proceso, se estableció que la FG disminuía significativamente ($p<0.05$) con el tiempo y amplitud de sonicación.

**Tabla 3.2.5.** Promedios de FG (g) en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS[1].

| **Tiempo (min)** | **Amplitud (%)** | | |
|---|---|---|---|
| | **50** | **75** | **100** |
| **2** | 12.84±0.57$^{A.a}$ | 12.26±0.55$^{A.a}$ | 9.79±0.61*$^{A.a}$ |
| **4** | 11.98±0.52$^{A.b}$ | 9.68±0.52*$^{B.b}$ | 6.87±0.01*$^{B,b}$ |
| **6** | 9.60±0.43*$^{A.b}$ | 8.59±0.31*$^{B.b}$ | 6.57±0.16*$^{B.b}$ |
| ****LTLT** | | | 13.52±0.37 |

[1] Promedio de 2 mediciones.
* Diferencia estadísticamente significativa comparada al control (prueba de Dunnet, $p<0.05$).
** LTLT= Pasteurización a 63°C, 30 min
$^{A,B,C}$ Superíndices diferentes en mayúscula en la misma fila indican diferencia significativa (prueba de Tukey, $p<0.05$); superíndices diferentes en minúscula en la misma columna indican diferencia significativa (prueba de Tukey, $p<0.05$).

Esta disminución en la resistencia del gel se puede atribuir a la disminución en la interacción entre CN dispersas y al aumento de agua en la red tridimensional produciendo una cuajada más blanda (Ashokkumar *et al.,* 2010). Este comportamiento es semejante al estudio con

alta presión en leche realizado por Pandey *et al.* (2000), los cuales reportaron que a mayores intensidades del tratamiento se producía una disminución de la firmeza de los geles lácteos debido al aumento en la capacidad de hidratación de la red tridimensional; los tratamientos a altas presiones se asemejan a los de TS debido a que producen efectos físicos parecidos en las matrices sobre las que actúan (cizalla, cavitación) y producen efectos similares en leche, incluyendo incorporación de PS y agua a la cuajada, y cambios en las interacciones entre GG y CN, los cuales en conjunto generan una estructura proteica menos micelas de CN disponibles generando una estructura del gel más abierta y porosa y por lo tanto una estructura proteica débil (Zamora *et al.,* 2007). Por otra parte Riener *et al.* (2009), encontraron un incrementó en la FG en leche TS (200 mL, 400 W, 24 KHz, 45- 72 °C, 10 min) empleada para elaborar yogurt, el cual puede ser atribuido a la homogeneización y a las interacciones entre las proteínas y los lípidos, sin embargo estas variaciones con nuestros resultados pueden ser atribuidos a la combinación de los cambios generados por la TS y la desnaturalización proteica generada por altas temperaturas de pasteurización (superiores a 72 °C), mientras que en nuestra investigación el comportamiento de la FG es producto de la nueva estructura capaz de capturar más agua.

### 3.2.6 Tiempo de coagulación

Como puede observarse en la Tabla 3.2.6, los tratamientos de TS produjeron una una disminución significativa en el TC por renina. Al analizar el efecto de las variables de proceso, se estableció que el TC disminuía con el tiempo de sonicación; por su parte, los cambios en amplitud influyeron de forma semejante reduciendo el TC. Esto podría ser un resultado de la interacción entre las PS de leche y las micelas de CN, que no permiten la unión de las micelas de CN y muestran un gel débil debido a los frágiles lazos entre las moléculas. Este resultado también puede atribuirse a la interacción entre los GG y las proteínas debido a la presencia de PS en la MGG y la reducción de las partículas presentes en leche. Además, la cuajada formada bajo tratamiento con US mostró una textura más suave que la cuajada no termosonicada a la misma temperatura. Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas (2010), reportaron una disminución el TC durante la elaboración de queso fresco, encontrando reducciones significativas en función de los tiempos de sonicación; de forma similar Marchesini *et al.* (2012) observaron reducciones generadas por el tratamiento de US de hasta 40% del valor del control. En un estudio realizado por Liu *et al.* (2014), con leche descremada tratada con US (100 mL, 20 kHz, 286 kJ/kg, <30°C) se observó una

reducción de 40 a 35.3 min en el TC. Resultados similares fueron reportados por Fernández (2005), quien observó que tratamientos de ultra-alta presión por homogeneización (UHPH) en leche modificaban las propiedades de coagulación, disminuyendo el tiempo total de coagulación probablemente debido a una mejor interacción entre los GG y las PS, este efecto también puede ser asociado a una menor cantidad de *k*-CN diluida disminuyendo el grado de hidrólisis requerido para iniciar la coagulación.

**Tabla 3.2.6.** Promedios de TC (min) en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS[1].

| **Tiempo (min)** | **Amplitud (%)** | | |
|---|---|---|---|
| | **50** | **75** | **100** |
| **2** | 13.62±0.24$^{A.a}$ | 13.27±0.45$^{AB.a}$ | 12.18±0.40$^{B.a}$ |
| **4** | 11.82±0.67$^{A.ab}$ | 13.09±0.24$^{AB,ab}$ | 11.80±0.46$^{B.ab}$ |
| **6** | 10.77± 0.58$^{A.b}$ | 12.76± 0.54$^{AB.b}$ | 11.64±0.51$^{B.b}$ |
| ****LTLT** | | | 13.97±0.73 |

[1] Promedio de 2 mediciones.

* Diferencia estadísticamente significativa comparada al control (prueba de Dunnet, p =0.05)

** LTLT= Pasteurización a 63°C, 30 min

[A.B.C] Superíndices diferentes en mayúscula en la misma fila indican diferencia significativa (prueba de Tukey, p<0.05); superíndices diferentes en minúscula en la misma columna indican diferencia significativa (prueba de Tukey, p<0.05).

### 3.3. Etapa 3. Comparación de cambios fisicoquímicos en leches TS y pasteurizada térmicamente

En esta sección se evaluaron las características de los quesos tipo Mozzarella elaborados de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado con tipo de tratamiento como variable independiente, los cuales se codificaron como Tratamiento térmico (TT) = Tratamiento 1, Termosonicado (TS) a 1080 s y 50% de amplitud = Tratamiento 2 y Termosonicado a 720 s y 100% amplitud = Tratamiento 3.

Los tratamientos fueron seleccionados con base en las pruebas sensoriales informales descritas en el diseño experimental; estas demostraron que con las condiciones implementadas no existían modificaciones en la calidad sensorial de la leche y que los cambios funcionales eran promisorios, estos cambios promisorios son resultado de las pruebas desarrolladas en la etapa II, los tratamientos TS obtuvieron valores de CRA (T2=58.86±0.13, T3=59.07±0.04) significativamente mayores al T1 (52.34±0.28), mientras que parámetros como la FG (T2= 9.60±0.43 g, T3=6.87±0.01 g) y TC (T2=10.77±0.58 min, T3=11.80±0.46 min) tuvieron disminuciones significativas comparadas con el T1 (13.52±0.37 g y 13.97±0.73 min).

La energía entregada y potencia disipada fueron calculadas (Ver Anexo 2), y se muestran en la Tabla 3.3.1; así como los datos de energía específica, potencia neta y potencia efectiva. Los análisis realizados se describen en las siguientes páginas. Los valores de potencia entregada a la solución fueron similares a los encontrados en la etapa I; de forma análoga, las variaciones encontradas respecto a los valores reportados en la literatura pueden atribuirse a diversos factores (tipo de sonda, recipiente contenedores y de medición, composición de la leche empleada, enchaquetado del sistema, entre otros).

**Tabla 3.3.1.** Promedios de energías y potencias en los diferentes tratamientos[1].

| Tratamiento | Energía específica (J/mL) | Energía entregada (J/mL) | Potencia neta (W) | Potencia disipada (W) | Potencia efectiva $P_{neta}$-$P_{disipada}$ (W) |
|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 85.77±0.42 | 85.90±0.63 | 238.60±1.76 | 68.19±0.67 | 170.41±2.34 |
| 3 | 84.70±0.30 | 84.94±1.73 | 353.91±7.23 | 138.69±0.65 | 215.22±7.26 |

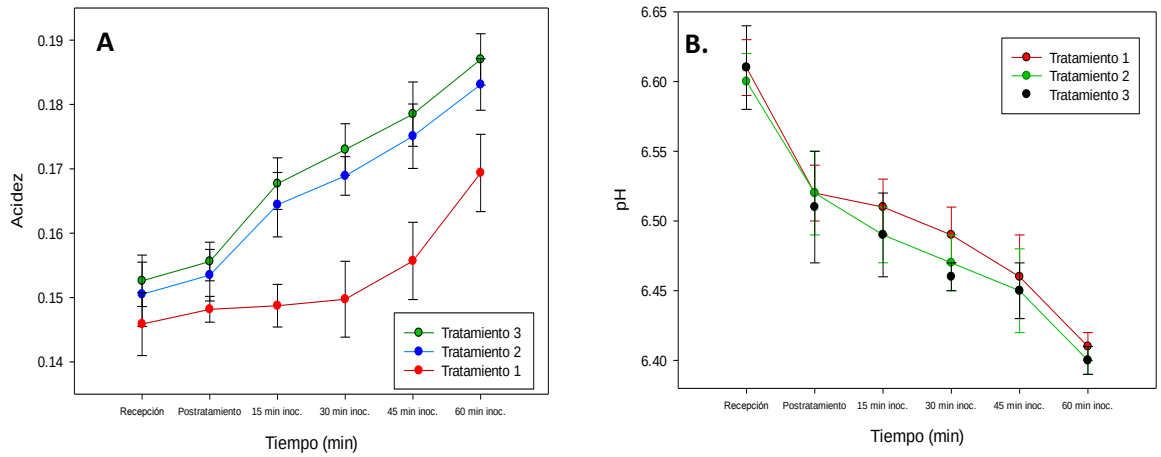
[1] Valores promedio de 3 mediciones. Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.

### 3.3.1. Caracterízación a los parámetros de control durante la elaboración del queso

#### 3.3.1.1. Porcentaje de ácido láctico y pH

Con la finalidad de realizar un seguimiento de los cambios en el pH y acidez durante todo el proceso de elaboración de queso, se realizó un registro de los cambios desde el momento de la inoculación hasta la adición del cuajo; como puede observarse en la Figura 3.3.1 los tratamientos no presentan diferencias significativas de acidez y pH registrados durante el proceso de elaboración de quesos tipo Mozzarella.

**Figura 3.3.1.** Evolución de acidez y pH en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS




[1] Promedio de 3 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.

Al observar los datos es posible identificar que la leche empleada para la elaboración de quesos se encuentra dentro del rango normal con un pH comprendido entre 6.5 y 6.8 como consecuencia de la presencia de CN, aniones fosfórico y cítrico (Alais, 1985; Fox y McSweeney, 1998), los resultados desde el postratamiento hasta la inoculación a los 60 min muestran una ligera disminución del pH en la leche probablemente como consecuencia de las operaciones de procesamiento debido a la pérdida de $CO_2$ y la degradación de lactosa en ácido orgánicos (Fox y McSweeney, 1998), además la desfosforilación de las CN condicionan la modificación del fosfato cálcico micelar que pasa a tener una naturaleza más inorgánica; dicha desfosforilación es la principal causante de la disociación de las CN de las

micelas. Según disminuye el pH, el fosfato cálcico micelar se disuelve mejor y la medida en que se da el descenso depende de la intensidad del TT (Sweetsur y Muir, 1980).

El calcio tiene un rol importante durante la elaboración y también en las propiedades funcionales del queso (Joshi *et al.,* 2003; McMahon *et al*., 2005); así, Metzger *et al.* (2001) informaron que la dureza y la viscosidad aparente de queso Mozzarella de bajo contenido de grasa, disminuyeron debido a la modificación del estado del calcio en el queso por la preacidificación de la leche, la cual reduce tanto el calcio total como el calcio insoluble en agua. Las funciones principales de la etapa de cocción, drenaje y chedarización en la elaboración del queso Mozzarella son el control de la humedad y el control del contenido de calcio en la cuajada durante el hilado y en el producto final.

De forma semejante durante el proceso de acidificación de la cuajada se notaron ciertas variaciones en el tiempo de acidificación (Tabla 3.3.2),que dado las condiciones semejantes de pH y AT son atribuidas a la TS y no al protocolo de elaboración de los quesos; como fue posible observar en los análisis de contenido de humedad los quesos TS poseen un mayor contenido de agua que el queso elaborado por el TT, por consecuencia era de suponer que al existir un mayor contenido de agua existiera un incremento en la actividad microbiana y por lo tanto la producción de ácido en la cuajada aumentara, sin embargo ocurrió el efecto contrario, asumiendo que la TS genera cambios en la tipología de agua dentro del queso, un efecto similar fue descrito por Zamora et al. (2011), quienes trabajando con quesos fresco elaborados con leche homogeneizada a alta presión (300 MPa, 30 °C) observaron mayores contenidos de humedad en quesos HAP (~68.61%) en comparación a quesos elaborados por pasteurización (~67.39%), sin embargo al examinar la cantidad de agua se determinó que quesos elaborados con un TT convencional tenían un contenido de agua libre aproximadamente 10% superior que quesos elaborados con HAP, por lo que se concluye que al existir menos agua libre las bacterias ácido lácticas tienen un ambiente menos favorable para su crecimiento.

**Tabla 3.3.2.** Evolución del tiempo de acidificación en leche entera sometida a tratamientos selectos de TS[1].

| Tratamiento | Tiempo de acidificación (min) |
|---|---|
| 1 | 88.67±1.53[A] |
| 2 | 119.33±1.15[B] |
| 3 | 134.67±0.58[C] |

[1] Promedio de 3 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.
[A,B,C]Superíndices diferentes indican diferencia significativa (prueba de Tukey, $p<0.05$).

### 3.3.1.2. Pérdida de sólidos finos y volumen de suero expulsado en el desuerado

Durante el desuerado se separa parte del suero dejándolo escurrir a través de una superficie porosa (manta de cielo), las partículas pequeñas de sólidos de la cuajada que no pueden ser retenidas en la superficie, conocidas como finos de quesería (Cross *et al.*, 1977) junto con el volumen de suero son de gran importancia en el rendimiento quesero; en condiciones ideales estas pérdidas no deberían ser mayores del 0.5% de la cantidad de queso, ya que porcentajes mayores de pequeñas cantidades que se depositan en el fondo de la tina de quesería se van con el lacto suero, en lugar de contribuir al rendimiento de queso; la Tabla 3.3.3 muestra reducciones significativas tanto en sólidos finos como en volumen de suero expelido atribuido al tratamiento de TS; esta disminución en la pérdida de finos explica parcialmente también la mejora de rendimiento quesero, en particular la observada en el Tratamiento 3.

**Tabla 3.3.3.** Pérdida de sólidos finos y volumen de suero en tratamientos selectos de TS[1].

| Tratamiento | Sólidos finos (g) | Volumen de suero expelido (mL) |
|---|---|---|
| Tratamiento 1 | 0.207±0.014[A] | 2334.33±10.69[A] |
| Tratamiento 2 | 0.125±0.004[B] | 2252.00±31.19[B] |
| Tratamiento 3 | 0.039±0.012[C] | 2111.27±12.76[C] |

[1] Promedio de 3 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.
[A,B,C]Superíndices diferentes indican diferencia significativa (prueba de Tukey, $p<0.05$).

Kaytanli et al. (1994) describen los factores que inciden sobre la cantidad de suero expelido durante la elaboración de queso; dentro de ellos destacan la relación CN-grasa, temperatura de coagulación, dosis de cloruro de calcio y de cuajo agregados a la leche, TT y homogeneización previa de la leche; en esta investigación se observó que volumen de suero expulsado los tratamientos de TS (Tratamiento 2 y 3) produjeron una disminución significativa en la cantidad de suero expelido estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos en la Etapa I; de forma análoga Zamora *et al.* (2011), reportaron que el uso de altas presiones produce cuajadas más blandas que durante el corte se rompen fácilmente y ocasiona finos; estas pérdidas se hacían mayores durante el prensado dado que la estructura presentaba baja cohesividad; las variaciones con nuestros valores puede ser atribuida al tipo de corte y condiciones del proceso. Sin embargo es necesario contar con más información sobre la composición de la nueva membrana mediante estudios de microscopía electrónica o análisis de electroforesis.

### 3.3.1.3. Composición del suero

En el compendio de resultados de composición de suero obtenidos, los principales factores son similares a los reportados por Hargrove *et al.* (1976), y se presentan en la Tabla 3.3.4; como puede observarse el pH, acidez, no presentan diferencias significativas, mientras que grasa, lactosa, cenizas y proteínas presentan cambios significativos ($p<0.05$).

**Tabla 3.3.4.** Composición de suero para los tratamientos de TS[1].

| Componente | Tratamiento | | |
|---|---|---|---|
| | **1** | **2** | **3** |
| pH | 6.22±0.00[A] | 6.21±0.03[A] | 6.22±0.01[A] |
| Acidez | 0.13±0.01 [A] | 0.13±0.00 [A] | 0.12±0.01 [A] |
| Grasa (%) | 0.24±0.03[A] | 0.130±0.02[B] | 0.069±0.01[C] |
| Lactosa (%) | 3.19±0.02[A] | 3.031±0.01[B] | 2.957±0.04[C] |
| Cenizas (%) | 0.52±0.00 [A] | 0.513±0.00 [B] | 0.502±0.00 [C] |
| Proteínas (%) | 3.42±0.02[A] | 3.357±0.01[B] | 3.328±0.03[B] |

[1] Promedio de 3 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.
[A,B,C] Superíndices diferentes indican diferencia significativa (prueba deTukey, $p<0.05$).

La composición del suero proporciona información indirecta sobre las propiedades queseras de las leches. Los valores de % de ácido láctico y pH mostraron valores similares demostrando que el desuerado se produjo a condiciones semejantes de elaboración, para el queso elaborado a través del Tratamiento 1 se encontró mayor pérdida del % de grasa (0.238±0.028%) y de contenido proteico (3.421±0.023) que para los quesos elaborados con el Tratamiento 2 y 3, por consiguiente los quesos control arrojaron un valor más elevado de densidad, sólidos y agua añadida que los quesos fabricados con los tratamientos de TS; como se ha mencionado en secciónes anteriores estas diferencias de los Tratamientos 2 y 3 pueden indicar la producción de una estructura que retiene mejor estos componentes en comparación con sueros de quesos pasteurizados térmicamente, influenciando la composición y el aumento del rendimiento del queso; algunos investigadores han encontrado similares resultados en queso Mozzarella, esto podría explicarse sobre la idea que la homogeneización de la leche disminuye las pérdidas de grasa en el suero debido probablemente a la formación de un complejo grasa - CN en quesos elaborados con leche homogeneizada (Brito *et al*., 2003).

### 3.3.2. Análisis bromatológicos

Se realizó un análisis bromatológico del queso tipo Mozzarella procesado con leche pasteurizada o TS con la finalidad de identificar si el producto terminado alcanzaba los estándares de composición establecidos por las normas correspondientes; los resultados se presentan en la Tabla 3.3.5.

**Tabla 3.3.5.** Análisis bromatológicos para los diferentes tratamientos de TS[1].

| Composición | Tratamiento 1 | Tratamiento 2 | Tratamiento 3 |
|---|---|---|---|
| Cenizas (g ceniza / g queso) | 2.39±0.06$^{A}$ | 2.54±0.04$^{B}$ | 2.80±0.04$^{C}$ |
| Cloruros (g Cl / g queso) | 0.06±0.04$^{A}$ | 0.07±0.02$^{A}$ | 0.07±0.02$^{A}$ |
| NaCl (g NaC l/ g queso) | 1.05±0.07$^{A}$ | 1.14±0.25$^{A}$ | 1.21±0.32$^{A}$ |
| Grasa (g grasa / g queso) | 21.76±0.20$^{A}$ | 20.00±0.00$^{B}$ | 18.98±0.16$^{C}$ |
| Grasa en extracto seco | 39.09±0.14$^{A}$ | 39.69±0.16$^{B}$ | 39.46±0.31$^{B}$ |
| Humedad (g agua / g queso) | 44.66±0.54$^{A}$ | 49.62±0.02$^{B}$ | 51.59±0.23$^{C}$ |
| Proteínas (g proteína / g queso) | 20.80±0.18$^{A}$ | 21.30±0.26$^{AB}$ | 21.78±0.21$^{B}$ |
| Proteína en extracto seco | 37.35±0.19$^{A}$ | 42.28±0.35$^{B}$ | 44.99±0.58$^{C}$ |

[1] Promedio de 3 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.
[A,B,C] Superíndices diferentes indican diferencia significativa (prueba de Tukey, $p<0.05$).

Los tratamientos de TS propiciaron cambios significativos en los contenidos de todos los componentes del queso excepto el de cloruros, NaCl y grasa en extracto seco. Los quesos elaborados mostraron composiciones dentro de un rango normal, independientemente del tratamiento empleado, los cuales pueden ser comparados con resultados reportados en otras investigaciones, las cuales se indican en la Tabla 3.3.6. Asimismo, se incluyen los datos de la NMX F733 COFOCALEC-2012 y de la Norma Codex 2006 para queso Oaxaca (un queso tipo pasta filata de alto consumo en nuestro país y equivalente local del Mozzarella) y Mozzarella, respectivamente

**Tabla 3.3.6.** Parámetros químicos de diferentes quesos

| Parámetro | Valor de referencia | Investigación |
|---|---|---|
| **Cenizas** | 2.50-2.80% | - Ghosh y Singh (1996).<br>*Queso Mozzarella elaborado con leche de vaca.* |
| | 2.70±0.10%. | - Mijan *et al*. (2010).<br>*Queso Mozzarella elaborado con leche de vaca.* |
| **Cloruros** | 2.00-2.50% | - Veysseyre (1988).<br>*Niveles generales de cloruros en los quesos.* |
| | 1.00–1.50%. | - Servicio Nacional de Aprendizaje (1987).<br>*Sal en Queso Mozzarella.* |
| **Grasa** | ≤18.00% | Norma Codex para queso Mozzarella (2006). |
| | 20% min | NMX-F733.COFOCALEC 2012 |
| **Humedad** | 40.00–60.00% | Hine (1994).<br>*Queso de Mozzarella elaborado con leche descremada.* |
| | 46.80% | Islam (2006). *Queso de Mozzarella de leche bovina* |
| | 51% máx | NMX-F733.COFOCALEC 2012 |
| **Proteinas** | 22.00% | Ahmed (2000). *Queso de Mozzarella de leche de búfala.* |
| | 21.5% min | NMX-F733.COFOCALEC 2012 |
| | 21.90% | Islam (2006).<br>*Queso de Mozzarella elaborado con leche de vaca.* |

El contenido de humedad en los quesos es multifactorial; aunque la homogeneización de la materia grasa de la leche producto de la sonicación, que permite obtener GG más pequeños que se dispersan mejor en la matriz proteica (Tunick *et al.,* 1993; Metzger y Mistry,1994), tiene un rol importante, el principal factor de influencia es el incremento en el contenido de PS (ligadas a las CN por formación de complejo BÑG-KCN) cuya destacable capacidad hidrofílica facilita la incorporación de agua (Anderson *et al .,*1993), este incremento de humedad en los quesos incide directamente en el resto de los parámetros evaluados, dado que un mayor contenido de suero en el queso no solo incrementa el rendimiento, sino también la actividad enzimática del mismo. La mayor humedad no influyó en el pH final dado que fueron moldeados a idéntica acidez, sin embargo desde el punto de vista tecnológico ocasionó que los quesos elaborados con leche tratada por TS fueron más fáciles de moldear y tuvieran una textura más blanda, similar a lo reportado por Meinardi *et al.* (2004); otras tecnologías que inducen cambios similares en leche han presentado cambios análogos, tal como lo reportado por Fernández (2005) quien elaboró quesos con altas presiones (400 MPa durante 5 minutos a 14ºC.) encontrando que en los quesos tratados con altas presiones la humedad era superior al de la muestra control, por razones similares a las expuestas. En cuanto al contenido de grasa de los quesos elaborados por los tratamientos de TS en comparación al queso control,  teniendo la TS un efecto significativo sobre este, durante la sonicación ocurren fenómenos que conllevan a una reducción del tamaño de GG y por consiguiente un aumento en el área superficial de la materia grasa, lo que altera a la membrana original puesto que la concentración de este complejo es ahora insuficiente para cubrir toda la superficie, las micelas de CN se adsorben rápidamente para cubrir los GG recién formados; y debido a la naturaleza hidrofóbica de las CN los quesos tienen un mayor contenido de humedad permitiendo que la grasa disminuya por efecto de dilución, lo es comprobable al observar nuestros resultados de contenido de grasa tanto en base húmeda como en extracto seco; resultados similares fueron encontrados por Zamora *et al.* (2011), quienes trabajando a homogeneización a alta presión (300 MPa, 30 °C), encontraron una disminución en el contenido de grasa proporcional al incremento de humedad en comparación al queso pasteurizado térmicamente, nuestros quesos tuvieron valores entre 39.09-39.69% por lo que pueden considerarse como quesos semigrasos (25-45%) de acuerdo al CODEX STAN A6-1978.

En relación con el contenido de proteínas en los quesos TS (21.30% y 21.78% para los Tratamientos 2 y 3, respectivamente se incrementó en comparación a los quesos elaborados

con el TT (~20.80%); de igual manera, los resultados de proteínas sobre extracto seco indican una mayor proporción de la misma para los tratamientos de TS (42.28 y 44.99% para los Tratamientos 2 y 3, respectivamente) en comparación con el LTLT (~37.35%), este aumento en el contenido proteico puede ser consecuencia de la nueva red estructural de la cuajada producto de los fenómenos que se llevan a cabo con el US, lo cual permite una mayor retención de las proteínas séricas en la masa de queso, explicación que se demostró al evaluar los rendimientos, composición del suero y contenido de proteína en los diferentes quesos; tecnologías como la alta presión han encontrado incrementos en el contenido de proteínas tal como lo reportado por Van Hekken *et al.* (2007), que observaron que las PS se incorporaron a la matriz de proteína del queso en tratamientos a 34 MPa y 43 °C.

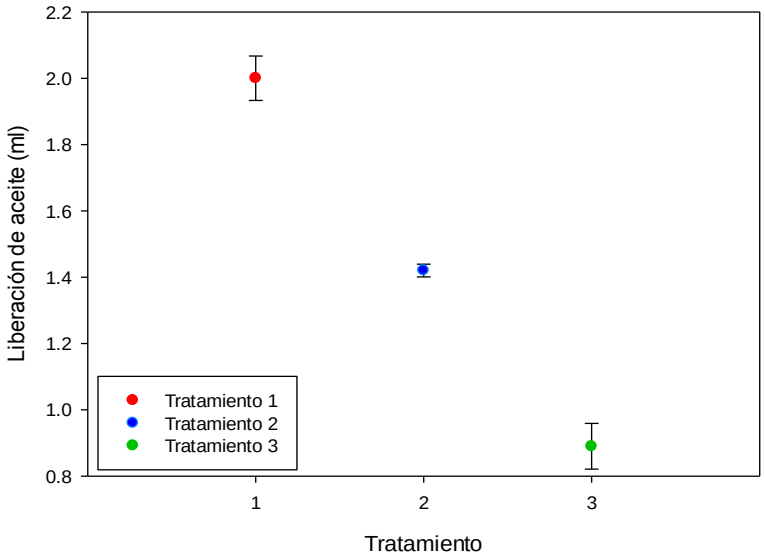
Los resultados de cenizas permiten identificar los residuos inorgánicos después de calcinar la materia orgánica (Contreras, 2012); al analizar los datos fue posible identificar que las cenizas obtenidas de quesos elaborados con el tratamiento de TS más intenso presentan diferencias significativas frente al queso control, estas variaciones pueden ser atribuidos al calor generado por la TS que produce una diminución en el contenido de minerales solubles, es decir permite una mejor integración de los minerales al FCC, aunado al proceso de TS durante el hilado se utilizaron temperaturas altas, que contribuyeron a que en los quesos elaborados con el TT convencional los minerales en estado soluble se disolvieran, resultados similares fueron obtenidos por Baldwin *et al.* (1986), quienes adicionando PS a quesos encontraron un mayor contenido de cenizas; sin embargo, como se mencionó en la introducción de la tesis hasta el momento no existe en la literatura un estudio que permita comparar nuestros resultados; por su parte el contenido de cloruros desempeña funciones clave, contribuyendo al sabor, textura y seguridad microbiana, los valores de cloruro de sodio de los quesos tuvieron valores normales, variando entre 1.05% y 1.21%, es posible concluir que la diferencia en el contenido de NaCl pueda ser atribuido a las variaciones en la fabricación de carácter artesanal, ya que se trata de un producto de adición manual y no a los diferentes tratamientos.

### 3.3.3. Liberación de grasa

La liberación de grasa es la capacidad del queso para liberar una pequeña cantidad de grasa libre cuando es calentado (Guinee *et al.,* 2002). Los valores medios de liberación de grasa para quesos tipo Mozzarella elaborados con leche TS o pasteurizada se presentan en la Figura 3.3.2; en esta gráfica es posible observar una disminución significativa en la

magnitud de este valor con los tratamientos de TS; esta disminución fue más pronunciada al incrementarse el tratamiento.

**Figura 3.3.2.** Liberación de grasa para los diferentes tratamientos de TS




[1] Promedio de 3 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.

Los quesos elaborados con leche del control (Tratamiento 1) mostraron una liberación de grasa mayor (2.00±0.067) mientras que los quesos elaborados a base del Tratamiento 2 liberaron 1.42±0.02 mL y los tratados con el Tratamiento 3 sólo expulsaron 0.89±0.07 mL; en general, la liberación de grasa de los quesos de pasta hilada muestra un incremento con: un aumento del contenido de grasa, disminución del contenido de sal, aumento del tiempo de almacenamiento y niveles de proteólisis, y una reducción substancial cuando: la leche o la fracción de crema de la leche ha sido homogenizada antes de la elaboración del queso (Kindstest *et al.,* 2004). Por tanto, la reducción observada puede atribuirse a que los quesos elaborados por TS tienen menores contenidos de grasa probablemente debido a que la CN rodean a los GG dificultando su salida de la matriz de formada, tal como se comprobó en los resultados del contenido de grasa; sin embargo una moderada liberación de grasa contribuye a las características deseables de fusión mediante la creación de una película hidrofóbica en la superficie del queso durante el horneo, dando a la superficie un brillo deseable y, más importante, frenando la pérdida de humedad por evaporación.

Finalmente para comprobar la aceptación de los quesos además del análisis sensorial se analizó la cantidad de grasa liberado de un queso comercial (queso Mozzarella Esmeralda)

obteniendo 1.2±0.13 mL, demostrando que nuestros quesos pueden tener un buen nivel de aceptación en el mercado.

La liberación de grasa junto con capacidad de fundido y elasticidad son determinantes esenciales en la calidad y aceptabilidad de los quesos pasta filata (Ramírez, 2010), una excesiva liberación de grasa resulta en un queso de aspecto graso y una sensación en la boca que generalmente son considerados como indeseables, mientras que una moderada liberación de grasa contribuye a las características deseables de fusión, mediante la creación de una película hidrofóbica en la superficie del queso durante el horneado, dando a la superficie un brillo atractivo y frenando la pérdida de humedad por evaporación.

### 3.3.4. Rendimiento

Los valores de rendimientos los quesos TS y del control, así como la recuperación de grasa y proteína se muestran en la Tabla 3.3.7; como puede observarse los tratamientos de TS produjeron un aumento significativo ($p<0.05$) sobre el rendimiento; éste aumento fue mayor para el tratamiento TS de mayor intensidad; a su vez, es posible identificar que quesos TS recuperan mayor contenido que proteínas y grasa, los cuales presentan diferencias significativas auque no possen un gran impacto sobre las propiedades tecnológicas del queso. De acuerdo a San Martín-González *et al*. (2007), Incrementos de rendimiento quesero ≥0.5% son considerados suficientes para generar ganancias significativas al fabricante; por tanto, los aumentos reportados para los tratamientos de TS son relevantes desde el punto de vista económico.

Al analizar los datos es posible identificar que los quesos termosonicados presentaron un mayor rendimiento (T2=+1.7%; T3=+2.7%) comparados con aquellos elaborados con el Tratamiento 1 (10.10%±0.34). Como ha sido expuesto con anterioridad, las razones de este aumento pueden atribuirse a la desnaturalización de las PS de leche y su incorporación a las micelas de CN vía puentes disulfuro con KCN (Kelly *et al.,* 2008; Zamora *et al.,* 2007) y en segundo término, a la reorganización y cambio en los componentes de leche US, destacando la reducción del tamaño de los GG y la formación de complejos entre las micelas de CN y los GG, proporcionando una emulsión con una mejor estabilidad y una CRA (Bermúdez-Aguirre *et al.,* 2008); estos resultados concuerdan con aquellos obtenidos para el rendimiento teórico

en la Etapa 1, los análisis bromatológicos y con los porcentajes de recuperación de proteínas.

**Tabla 3.3.7.** Rendimiento verde y rendimiento húmedo para los diferentes tratamientos[1].

| Tratamiento | Rendimiento verde (%) | Rendimiento húmedo (%) | % Recuperación de grasa | % Recuperación de proteína |
|---|---|---|---|---|
| **1** | 12.73±0.06[A] | 10.10±0.34[A] | 12.99±0.04[A] | 16.09±0.08[A] |
| **2** | 13.54±0.15[B] | 11.82±0.13[B] | 12.62±0.11[B] | 18.05±0.19[B] |
| **3** | 14.21±0.13[C] | 12.89±0.05[c] | 12.23±0.14[C] | 18.90±0.33[C] |

[1] Promedio de 3 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.
[A,B,C] Superíndices diferentes indican diferencia significativa (Tukey $p<0.05$).

Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas (2010), obtuvieron incrementos en rendimiento de queso fresco elaborado por TS (500 mL, 24 KHz, 129 mW/mL, 0-30 min, 63 y 72 °C) de hasta 20.6%. Resultados similares se han encontrado empleando leche homogeneizada para elaborar quesos (Rudan *et al.,* 1998), donde el incremento de rendimiento proviene de una reducción en las pérdidas de grasa y finos en el suero de leche; otras alternativas exploradas incluyen la aplicación de tratamientos térmicos más severos que la pasteurización HTST, los cuales inducen la desnaturalización de PS de leche y promueven su incorporación resultante en la cuajada de queso (Kelly *et al.,* 2008); de igual forma San Martín-González *et al.* (2007) y Hayes *et al*. (2005) reportan incrementos de rendimientos asociados a factores similares empleando leche tratada bajo condiciones selectas de alta presión, mientras que Guinee e*t al.* (2007) proponen incrementar la razón proteína: grasa para incrementar el rendimiento del queso. Sin embargo, la TS constituye una alternativa más interesante que todos los tratamientos anteriores; no se generan sabores a cocido como en la sobrepasteurización; el incremento de rendimiento es mayor que el obtenido empleando homogeneización convencional (la cual se lleva a cabo a P< 50 MPa); no se requiere añadir proteína adicional para estandarizar y el equipo de US es sensiblemente más barato que el de alta presión.

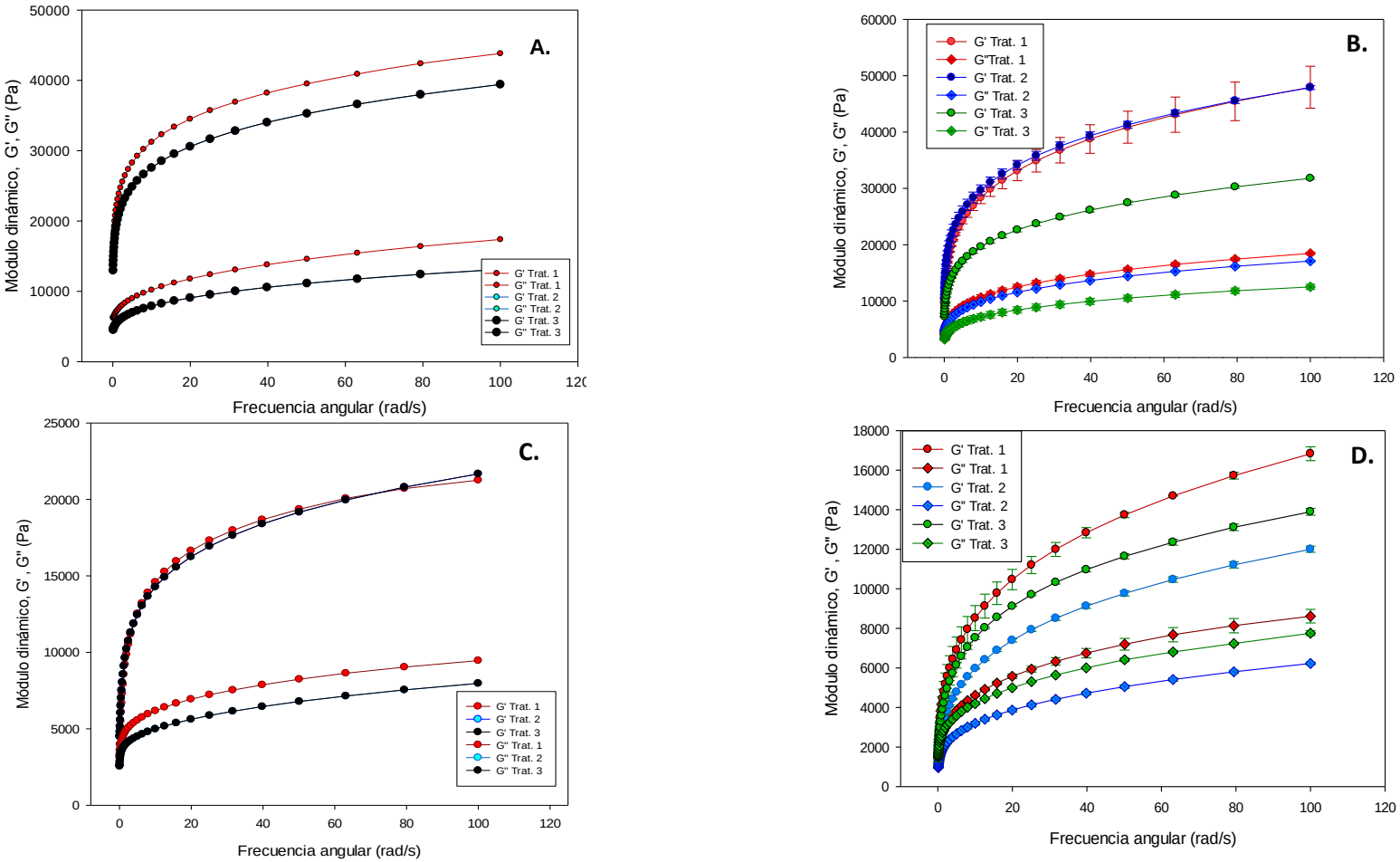
### 3.3.5. Determinaciones reológicas dinámicas

La reología es el estudio del flujo y la deformación de la materia; los alimentos pueden exhibir características tanto de sólidos como líquidos, y la reología puede identificar las propiedades de dichos alimentos (Giese, 1995); los estudios reológicos se realizan como un método de control de calidad en plantas de productos lácteos y como una técnica científica para estudiar la estructura del producto (Tunick, 2000). La textura de una muestra de queso puede ser tan importante como su sabor; dado que el queso no es un alimento homogéneo, algunos de sus atributos dependen de factores tales como el tiempo y la velocidad de deformación, del tipo de deformación utilizada (tensión o de cizallamiento), de su composición, temperatura, y repetibilidad de la geometría de la muestra (Olson *et al.,* 1996).

La región de viscoelasticidad lineal depende de la temperatura (Tunick*.,* 2000), por lo que se decidió realizar un barrido a diferentes temperaturas (25 °C, 40 °C, 50 °C y 60°C) que permitiera observar el comportamiento de nuestras muestras a diferentes condiciones. Los gráficos obtenidos del análisis de determinación de los parámetros G' y G'' muestran el comportamiento viscoso y elástico respectivamente y se muestran en la Figura 3.3.8. Al día 1 las pruebas realizadas a 25 °C muestran que los reogramas de quesos TS se enciman y difieren notablemente del comportamiento reológico del control. Sin embargo, al día 12, los quesos T2 tienen un comportamiento reológico similar al del queso pasteurizado; en ambos días de análisis predomina el comportamiento semisólido pues G' es mayor a G'' (Ramos e Ibartz, 2006).

Al aumentar la temperatura a 40 °C, los análisis realizados al día 1 tienen un comportamiento similar entre sí, sin embargo los reogramas al día 12 quesos presentan diferentes comportamientos, en ambos días de análisis el comportamiento es semisólido (G' >G''); además es posible distinguir que al incrementar la temperatura los parámetros viscoelásticos son inferiores a los encontrados a temperaturas de 25 °C, como consecuencia de que la muestra comenzó a exhibir un comportamiento de tipo líquido debido al aumento en la movilización de proteínas y a la fusión de la grasa, ya que a temperatura iguales o mayores a 40 °C la grasa butírica se encuentra fundamentalmente en estado líquido, dado que los TAG que tienen puntos de fusión más altos se encuentran disueltos en la grasa líquida.

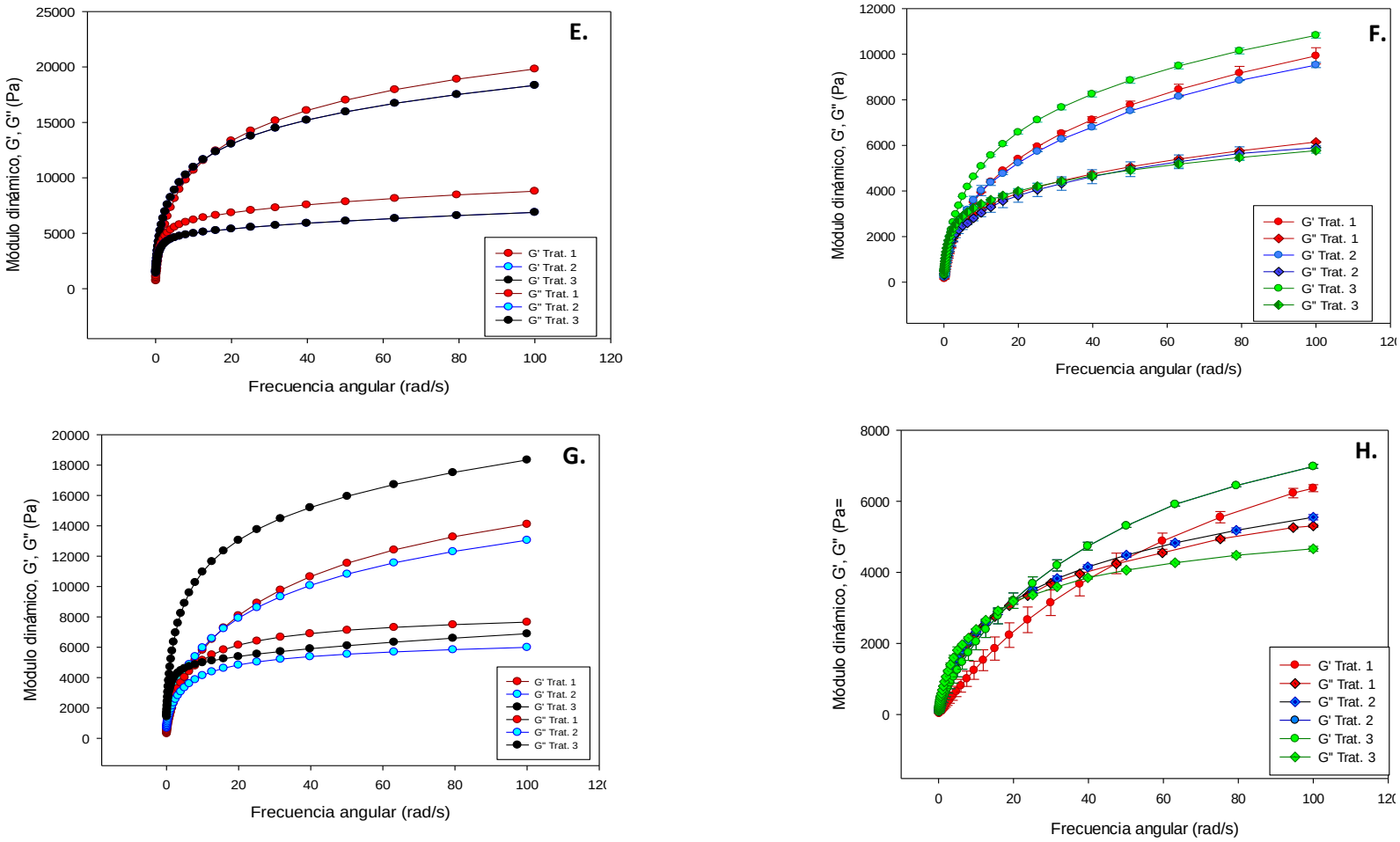
**Figura 3.3.3.** Gráficos de reología dinámica vs frecuencia angular




[1] A) Determinaciones a 25 °C día 1, B) Determinaciones a 25 °C día 12, C) Determinaciones a 40 °C día 1, D) Determinaciones a 40°C día 12.

[2]Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.

**Figura 3.3.3. *(Continuación)*.** Gráficos de reología dinámica vs frecuencia angular




[1] E) Determinaciones a 50 °C día 1, F) Determinaciones a 50 °C día 12, G) Determinaciones a 60 °C día 1, H) Determinaciones a 60°C día 12.
[2] Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.

A temperatura de 50 °C, los reogramas de los quesos termosonicados al día 1 son similares entre sí y difieren del queso pasteurizado, y tienen valores similares de los parámetros viscoelásticos de temperaturas de 40 °C, sin embargo al día 12 quesos presentan comportamientos diferentes semisólidos, pero similares comportamientos semifluidos; en ambos días predomina el comportamiento semisólido (G' >G'').

Al aumentar la temperatura a 60 °C, al día 1 los reogramas de los quesos elaborados con el Tratamiento 3 presenta un comportamiento semisólido superior (Figura 3.3.4) al de los Tratamientos 1 y 2, mostrando que al inicio predomina el comportamiento semifluido al existir valores mayores de G'' que G'; al día 12 los reogramas de los quesos termosonicados presentan comportamientos similares y predomina el comportamientos semifluido, con valores menores a los del día 1 a la misma temperatura. Nuestros resultados muestran disminuciones de G' en función de la cantidad de humedad presente en la muestra y aumentos de G" con el contenido de grasa, por lo que quesos termosonicados muestran valores mayores de G' y menores de G'', lo cual concuerda con nuestros valores de capacidad de fundido.

**Figura 3.3.4**. Imagen de análsisi de reométria al queso del T3

A medida que la temperatura supera los 40 °C, el queso comenzó a derretirse, pasando por cambios estructurales, los cuales incluyen la separación de la grasa (Guinee y Fox, 2001), aumento de la relación de líquido a grasa sólida (Prentice, 1987), aumento de la movilidad de la fase de proteína (Wettton y Marsh, 1990), y la pérdida de humedad; esto significa que esencialmente, los datos obtenidos a temperaturas más altas (40 °C) corresponde a un material físicamente diferente; esto es apoyado a partir de los trabajos realizados por Mavridis y Shroff (1992) y Van Gurp y Palmen (1998) que atribuyen el fracaso de la superposición de tiempo-temperatura como una indicación de la presencia de tiempo de relajación (o módulos) que tienen dependencia de temperatura, el queso se puede clasificar como un sistema multifase que exhibe un comportamiento de tipo sólido, que cambia

gradualmente a un comportamiento de tipo líquido a medida que aumenta la temperatura (Muliawan y Hatzikiriakos, 2007).

Estos resultados compruban la existencia de modificaciones a la matriz del queso producto de TS que impiden tenga un comportamiento similar a quesos pasteurizados durante las primeras semanas de vida.

### 3.3.6. Evaluación de características funcionales

#### 3.3.6.1. Acidez y pH

El pH y la acidez del queso se consideran parámetros en la calidad del queso, debido a que repercuten en su sabor, textura y apariencia final. Con la finalidad de evaluar los cambios en estos parámetros como consecuencia de los tratamientos aplicados en leche, se realizó su seguimiento durante el almacenamiento refrigerado del queso (1,8, 15 y 22 días). Los valores de acidez titulable (AT) y pH de cada queso se muestran en la Tabla 3.3.8.

**Tabla 3.3.8.** Medias de acidez en los diferentes días de análisis[1].

| Día de análisis | Acidez tituble (AT) | | | Ph | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Tratamiento 1 | Tratamiento 2 | Tratamiento 3 | Tratamiento 1 | Tratamiento 2 | Tratamiento 3 |
| 1 | 0.09±0.03$^{A,a}$ | 0.14±0.02$^{A,a}$ | 0.13±0.01$^{A,a}$ | 5.17±0.04$^{A,a}$ | 5.15±0.02$^{A,a}$ | 5.11±0.04$^{A,a}$ |
| 8 | 0.06±0.03$^{A,ab}$ | 0.13±0.04$^{A,ab}$ | 0.10±0.02$^{A,ab}$ | 5.11±0.09$^{A,a}$ | 5.09±0.03$^{A,a}$ | 5.08±0.01$^{A,a}$ |
| 15 | 0.07±0.05$^{A,b}$ | 0.08±0.03$^{A,b}$ | 0.09±0.04$^{A,b}$ | 5.13±0.04$^{A,a}$ | 5.07±0.01$^{A,a}$ | 5.13±0.05$^{A,a}$ |
| 22 | 0.08±0.03$^{A,b}$ | 0.07±0.03$^{A,b}$ | 0.08±0.02$^{A,b}$ | 5.12±0.06$^{A,a}$ | 5.10±0.06$^{A,a}$ | 5.13±0.09$^{A,a}$ |

[1] Promedio de 3 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.
$^{A,B,C}$ Valores con diferente superíndice en la misma fila indican diferencia significativa en el tratamiento.
* Valores con diferente superíndice en la misma columna indican diferencia significativa en el día de análisis (prueba de Tukey, $p < 0.05$).

Al comparar estadísticamente los tratamientos aplicados, se estableció que el tipo de tratamiento no influyó significativamente sobre los valores de AT; sin embargo, el tiempo de muestreo si exhibió un efecto significativo sobre los mismos ($p<0.05$) En cuanto al pH tanto los tratamientos como el día de muestreo no tuvieron un efecto significativo ($p<0.05$); quesos elaborados con Tratamiento 1 y aquellos elaborados con el Tratamiento 3 tuvieron valores

promedio similares en los días 15 y 22, sin embargo el queso elaborado con el Tratamiento 2 tuvo valores inferiores al pasteurizado durante todo el periodo de análisis y mostró un ligero incremento al día 22; estos cambios pueden ser atribuibles a la temperatura de análisis más que al tratamiento de TS, ya que se ha demostrado que tratamientos térmicos son capaces de disminuir el pH debido a cambios en el equilibrio mineral del calcio (Walstra *et al*., 2006).

Por su parte, los quesos elaborados por TS tuvieron valores de acidez superiores a los quesos elaborados con leche pasteurizada. Los quesos control (Tratamiento 1) disminuyeron su valor hasta el día 8, sin embargo al día 15 los quesos reportaron un aumento en el nivel de acidez probablemente debido a cambios proteolíticos generados en ese lapso de tiempo; por su parte el queso elaborados con los Tratamientos 2 y 3 mostraron un comportamiento decreciente hasta el día 22. Este comportamiento puede atribuirse a la alta humedad que provoca quesos muy ácidos, de cuerpo pegajoso, blandos y con textura abierta (Marsilli, 2003). Los resultados del presente proyecto para los quesos control son similares a los de Ahmed (2000), quien informó que la acidez del quesof Mozzarella preparado a partir de leche de vaca al día 1 de elaboración es de 0.8%, Putla *et al. (*2010), reportaron que la acidez de las muestras de queso almacenados puede aumentar dependiendo del tiempo de almacenamiento como consecuencia de la continua degradación de proteínas y la disminución en el contenido de agua en las muestras, resultados similares encontraron Maldonado *et al.* (2011) quienes durante el almacenameiento refrigerado de queso hilado tipo telita hallaron un aumento significativo (día 0=0.54%, día 21=1.15%) generado por la alta humedad (~59%).

.

Los valores de pH observados concuerdan con lo reportado por Mijan *et al.* (2010), quienes reportaron valores de pH en queso Mozzarella de 5.0±0.1. Por su parte, Islam (2006) obtuvo valores de pH de 5.4 en el queso mozzarella de leche de vaca al día 1 de elaboración, valores compatibles con el presente estudio; otras tecnologías como la alta presión han reportado incrementos de pH en quesos tras ser tratados por altas presiones, explicando que estos incrementos instantáneos de pH dependen del tipo de queso y del tipo de tratamiento de alta presión aplicado, y se encuentra entre 0.1 y 0.5 unidades de pH, posiblemente debido a la reducción de la actividad de acidificar de la bacteria del ácido láctico tras el tratamiento de alta presión (Fernandez, 2005).

Es posible concluir que no existen cambios signficicativos en la acidez (pH y AT) debido a la actividad residual del cuajo, tal como lo encontrado por Saldo (2002), quien en tratamientos a alta presión (400 MPa) reporta que la actividad de cuajo residual interfiere en la proteólisis primaria.

### 3.3.6.2. Análisis de perfil de textura

Los valores de los diferentes parámetros del análisis de perfil de textura se muestran en la Tabla 3.3.9. El perfil de textura de un alimento está definido por varios parámetros (Pinho *et al.,* 2004); en términos generales el estudio de los datos muestra lo siguiente:

**Dureza.** La dureza es la fuerza necesaria para provocar una cierta deformación en el queso, constituyendo el pico máximo de fuerza durante la primera compresión; los quesos tipo Mozzarella disminuyeron su dureza a medida que aumento el tiempo de almacenamiento, lo cual puede ser atribuido a las diferentes enzimas proteolíticas sobre la matriz proteica, principalmente sobre la $\alpha s_1$-CN (Lawrence *et al.,* 1987). Mediante el análisis estadístico correspondiente fue posible establecer que tanto los tratamientos como el tiempo de almacenamiento tuvieron un efecto significativo ($p<0.05$) sobre la dureza del queso; de igual forma es posible identificar que la TS disminuye la firmeza del queso probablemente debido a que la nueva estructura produce una matriz con mayor contenido de humedad, que es un factor determinante en la textura final, donde bajos contenidos de humedad se asocian con quesos duros y poco elásticos (Adda *et al.,* 1982); en concordancia con nuestros resultados, Yun *et al.* (1995), e Imm *et al.* (2003), también encontraron un descenso en la dureza del queso Mozzarella con el tiempo de almacenamiento, Jiménez *et al*. (2010), reportaron valores de 3000 g de fuerza, que permaneció constante hasta el día 16, cuando descendió hasta 1000 – 2000 g en el día 24.

**Adhesividad.** Se define como la fuerza necesaria para superar la atracción entre la superficie del alimento y aquellos materiales con los que entra en contacto, en este caso la sonda del texturómetro (Chacón-Villalobosy Pineda-Castro, 2009); los quesos tipo Mozzarella aumentaron su adhesividad a medida que aumento el tiempo de almacenamiento, lo cual concuerda con lo reportado por Osorio *et al.* (2004), quienes establecieron que la adhesividad del queso es influenciada por el tiempo de almacenamiento, el análisis estadístico permitió establecer que tanto los tratamientos como

el tiempo de almacenamiento tuvieron un efecto significativo ($p<0.05$) sobre la adhesividad del queso; de igual forma es posible identificar que al incrementar la TS la disminuye la adhesividad del queso. Álvarez *et al.* (2007) establecen que la adhesividad disminuye resultado de altos contenidos de humedad, lo cual explicaría la reducción de adhesividad en los quesos TS.

**Elasticidad.** Corresponde a cómo se comporta el producto al tratar de regresar a su forma original con el tiempo; el análisis estadístico permitió establecer que tanto los tratamientos no tuvieron un efecto significativo ($p<0.05$) sobre la adhesividad del queso, sin embargo el día de análisis si lo tuvo, ya que los quesos van perdiendo elasticidad hasta el día 15, pero en el día 22 sufren un aumento lo cual permite identificar que en este periodo ocurren cambios a nivel proteico. El tratamiento de TS de mayor intensidad presenta un ligero incremento de este parámetro textural; debido a que la elasticidad es adimensional puede transformarse en un valor relativo y junto con la cohesividad son los únicos dos parámetros de textura medidos que pueden ser comparables a los obtenidos de otros estudios con condiciones experimentales diferentes. Bourne (1982) afirma que, aunque la elasticidad solo se puede comparar entre productos con idéntica forma y tamaño, al expresar la elasticidad como una razón de la altura original de la muestra, pueden hacerse comparaciones entre una más variedades de muestras y productos; así nuestros datos pueden ser comparados con los reportados por Rudan *et al.* (1999), quienes reportaron valores de 0.757 en quesos Mozzarella al día 0 y a lo reportado por Imm *et al.* (2003), quienes al día 3 encontraron valores de 0.89.

**Cohesividad.** La cohesividad del queso se determina con base en el comportamiento durante la segunda compresión en comparación a cómo se comportó durante la primera (relación $A_2/A_1$) y representa el punto límite hasta el cual puede deformarse el material antes de romperse (Osorio *et al.*, 2004). Al realizar el análisis estadístico correspondiente se identificó que los tratamientos no tuvieron un efecto significativo pero sí lo tuvo el tiempo de almacenamiento, es posible apreciar que la cohesión va disminuyendo a medida que el tiempo de madurez avanza, de forma semejante a la elasticidad, pues se observaron cambios proteolíticos a partir del día 22, el tratamiento de TS influyó en las respuestas al día 1 y al día 22, mientras que en los días 8 y 15, los valores fueron prácticamente iguales; nuestros valores concuerdan con lo reportado por Rudan *et al.* (1999), quienes reportaron valores de 0.71 en queso Mozzarella a los tres días.

**Tabla 3.3.9.** Medias de parámetros del análisis de perfil de textura[1].

| . Día de análisis | Tratamiento | Dureza (g) | Adhesividad (g*s) | Elasticidad | Cohesividad |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 5249.45±249.52$^{A,a}$ | -17.30±1.68$^{A,a}$ | 0.79±0.01$^{A,a}$ | 0.73±0.02$^{A,a}$ |
| | 2 | 2896.88±33.59$^{B,a}$ | -10.41±0.50$^{A,a}$ | 0.80±0.00$^{A,a}$ | 0.72±0.01$^{A,a}$ |
| | 3 | 2582.74±57.04$^{C,a}$ | -10.39±0.47$^{B,a}$ | 0.81±0.05$^{A,a}$ | 0.71±0.03$^{A,a}$ |
| 8 | 1 | 2682.36±97.11$^{A,b}$ | -20.08±1.01$^{A,b}$ | 0.79±0.02$^{A,a}$ | 0.70±0.02$^{A,b}$ |
| | 2 | 2434.80±235.97$^{B,b}$ | -16.72±0.59$^{A,b}$ | 0.79±0.01$^{A,a}$ | 0.70±0.02$^{A,b}$ |
| | 3 | 1302.63±23.17$^{C,b}$ | -15.94±0.42$^{B,b}$ | 0.80±0.01$^{A,a}$ | 0.70±0.01$^{A,b}$ |
| 15 | 1 | 2718.86±54.76$^{A,b}$ | -28.00±1.14$^{A,c}$ | 0.72±0.00$^{A,ab}$ | 0.66±0.03$^{A,bc}$ |
| | 2 | 1782.79±44.24$^{B,b}$ | -22.95±0.84$^{A,c}$ | 0.73±0.01$^{A,ab}$ | 0.66±0.02$^{A,bc}$ |
| | 3 | 1248.23±58.34$^{C,b}$ | -21.98±0.85$^{B,c}$ | 0.74±0.02$^{A,ab}$ | 0.65±0.02$^{A,bc}$ |
| 22 | 1 | 1780.00±102.74$^{A,c}$ | -32.22±1.42$^{A,d}$ | 0.78±0.01$^{A,b}$ | 0.67±0.04$^{A,c}$ |
| | 2 | 1151.39±20.99$^{B,c}$ | -29.34±0.96$^{A,d}$ | 0.77±0.01$^{A,b}$ | 0.68±0.02$^{A,c}$ |
| | 3 | 746.63±20.53$^{C,c}$ | -27.86±1.41$^{B,d}$ | 0.76±0.012$^{A,b}$ | 0.66±0.03$^{A,c}$ |

[1] Promedio de 9 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.

[A,B,C] Valores con diferente superíndice en la misma fila indican diferencia significativa en el tratamiento (prueba de Tukey, $p < 0.05$).

[a,b,c] Valores con diferente superíndice en la misma columna indican diferencia significativa en el día de análisis (prueba de Tukey, $p < 0.05$).

### 3.3.6.3 Capacidad de fundido

Una de las características funcionales más importantes de los quesos Mozzarella es la capacidad de fundido, la cual se define como la tendencia del queso a formar una masa continua y uniforme sin que se observen trozos individuales al ser calentados. Gunasekaran y Ak. (2003), explica que los cambios que se generan al calentar el queso son relacionados con su composición (P/G) y a la proteólisis que contribuyen a modificar las propiedades de transferencia de calor y reológicas. Durante este trabajo de tesis se determinó el incremento de área de fundido y se obtuvo el porcentaje de incremento entre el área del queso antes y después de ser fundido. Los valores de capacidad de fundido de quesos TS y control al día 1 y durante el almacenamiento refrigerado se presentan en la Tabla 3.3.10. La fundibilidad de

los quesos se redujo significativamente ($p<0.05$) en los tratamientos TS en comparación con el control y, como era de esperarse, se incrementó durante el almacenamiento refrigerado. (Figura 3.3.5).

De acuerdo a lo reportado por Kim *et al* (2011), durante el calentamiento la matriz del queso absorbe energía e influye sobre las interacciones de la estructura de proteínas, desnaturalizándolas y promoviendo la agregación de las mismas mediante el aumento en el número de interacciones hidrofóbicas; esto disminuye la solubilidad de las proteínas y facilita que otros componentes (grasa, suero) se separen de la red proteica.

**Tabla 3.3.10.** Medias de % de incremento en capacidad de fundido para los diferentes días de análisis[1].

| Tratamiento | Día de Análisis | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **1** | **8** | **15** | **22** |
| 1 | 12.00±0.78$^{A,a}$ | 67.10±3.44$^{A,b}$ | 102.1±5.04$^{A,c}$ | 189.50±1.89$^{A,d}$ |
| 2 | -11.29±1.74$^{B,a}$ | -7.07±1.38$^{B,b}$ | 69.51±0.71$^{B,c}$ | 142.37±2.94$^{B,d}$ |
| 3 | -9.23±0.32$^{B,a}$ | -7.85±0.16$^{B,b}$ | 65.52±1.67$^{B,c}$ | 134.41±3.92$^{B,d}$ |

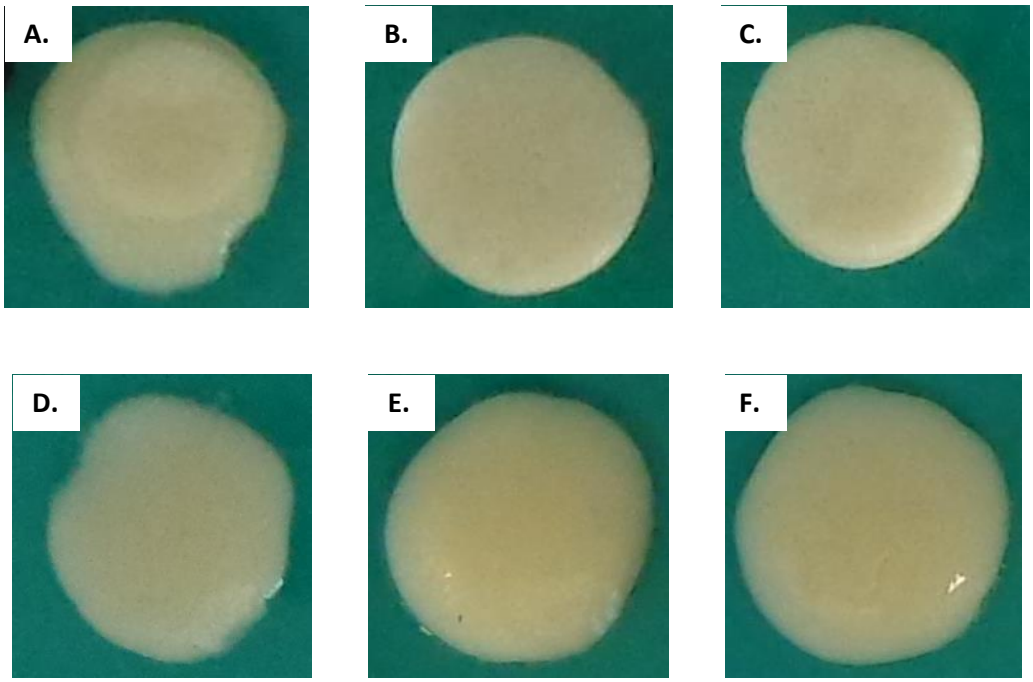
[1] Promedio de 9 mediciones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.

[A,B,C] Valores con diferente superíndice en la misma fila indican diferencia significativa en el tratamiento (prueba de Tukey, $p<0.05$).

[a,b,c] Valores con diferente superíndice en la misma columna indican diferencia significativa en el día de análisis (prueba de Tukey, $p<0.05$).

Los quesos elaborados por medio de pasteurización mostraron una capacidad de fundido mayor que los quesos tratados por TS desde el día 1, quesos tratados por TS mostraron un incremento en la capacidad de fundido aceptable hasta el día 15; este fenómeno es similar a la liberación de grasa y puede atribuirse a que los quesos elaborados por TS presentan un contenido menor de grasa por efecto de dilución en la cual las CN rodean a los GG dificultando su salida de la matriz de formada; sin embargo, los cambios pueden ser mejor explicados debido a la proteólisis, ya que la homogeneización de la leche entera rompe las MGG provocando que la grasa se libere y descomponga en péptidos.

**Figura 3.3.5.** Muestras fundidas en quesos TS durante el almacenamiento refrigerado




**A.** Tratamiento 1 día 1, **B.** Tratamiento 2 día 1, **C.** Tratamiento 3 día 1,
**D.** Tratamiento 1 día 15, **E.** Tratamiento 2 día 15, **F.** Tratamiento 3 día 15

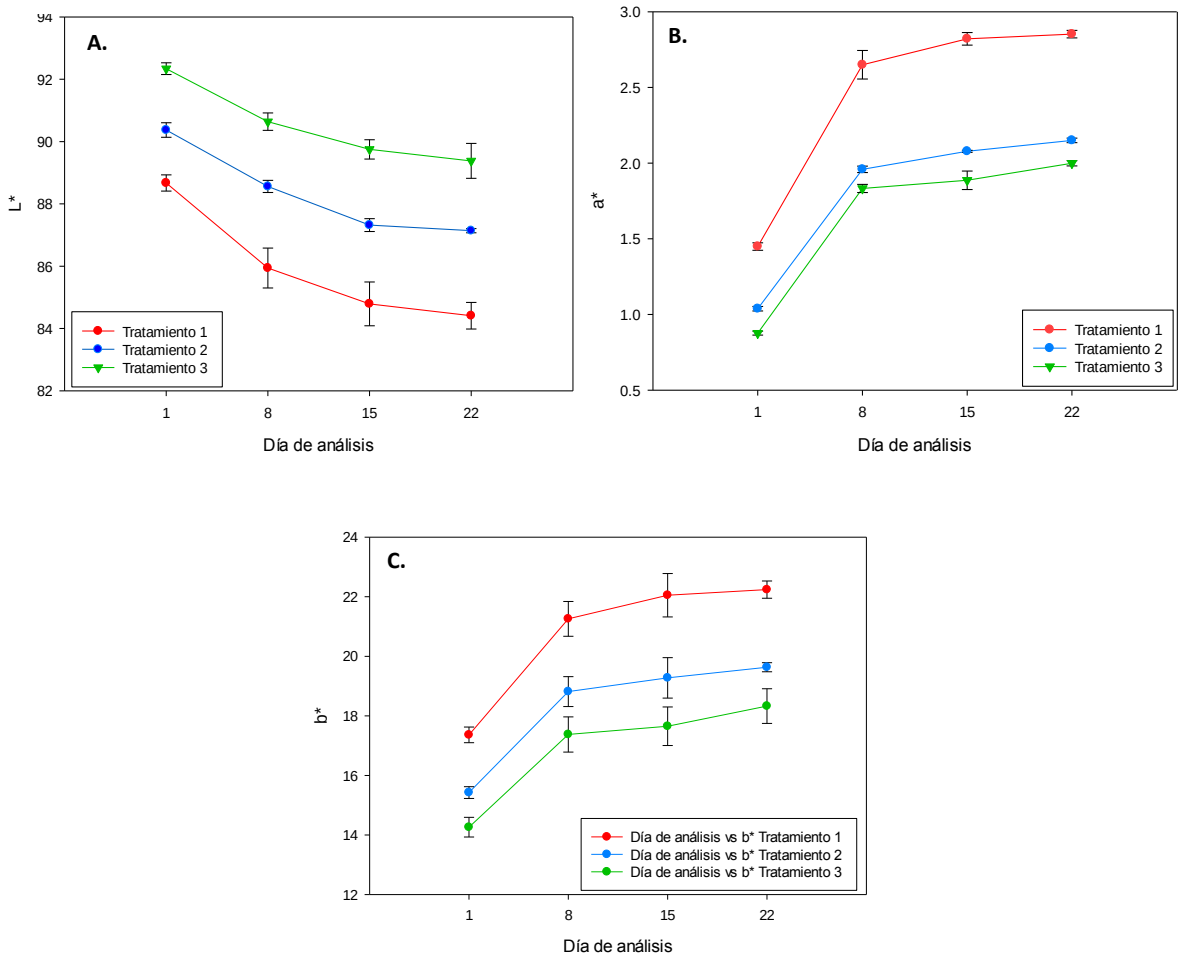
Nuestros valores corresponden a los estudios disponibles que indican que los GG son encapsulados por fibras proteicas hinchadas y que los cambios microestructurales durante el almacenamiento refrigerado se caracterizan por un aparente incremento de la interacción entre los GG y las fibras proteicas (Kiely *et al.,* 1992; Tunick *et al.,* 1993; Tunick *et al.,* 1997); por lo tanto, se asume que la microestructura es transformada durante las primeras semanas de almacenamiento refrigerado; así, el queso Mozzarella fresco es firme, tiene poca capacidad de fusión y limitada capacidad de estiramiento, a medida que el queso madura durante un período de una a tres semanas, la textura gradualmente se ablanda y el queso mejora en capacidad de fusión y flujo, y capacidad de estiramiento (Ramirez Navas, 2010). Tunick *et al.* (1993a), estudiaron quesos Mozzarella elaborados con leche con y sin homogeneización, observando que la capacidad de fundido disminuyen al aumentar la presión de homogenización, lo cual comprueba que la homogeneización producto del US contribuye a la disminución de la capacidad de fundido.

Paralelamente, para contar con un valor de referencia, se analizó la capacidad de fundido de un queso Mozzarella comercial, elaborado con leche entera (Esmeralda) (Ver Anexo 5), obteniendo valores de 63.33±1.10% de incremento lo cual es muy similar a nuestros quesos al día 15, por lo que se considera que nuestros pueden ser comparados con los quesos comerciales y puestos en el mercado a partir del día 15 para poseer características de los propios quesos Mozzarella; sin, embargo al analizar los reogramas los quesos elaborados con leche TS, estos tuvieron valores superiores a quesos elaborados con un TT convencional desde el día 12 por lo que se recomienda en futuras investigaciones realizar un seguimiento de las características reologícas y de fundido más detallado.

**3.3.6.4. Color**

El color del producto es un parámetro importante que puede modificar la percepción del sabor de un consumidor (Wadhwani y McMahon, 2012); los quesos Mozzarella se caracterizan por un color blanco brillante uniforme que puede variar a amarillo brillante durante el almacenamiento. Los valores de color (L*, a* y b*) de los quesos TS y el control a diferentes tiempos de muestreo (1, 8, 15 y 22 d) se pueden visualizar en la Figura 3.3.6. Los quesos elaborados con leche tratada por TS presentan valores significativamente mayores (Anexo 6.43) de luminosidad ($p<0.05$), respecto a los quesos tratados con pasteurización. Valores altos de luminosidad se ven reflejados en el color más blanco de los productos lácteos; este efecto podría estar relacionado con a la homogeneización de GG observada en las muestras después de la sonicación que aparentemente crean una muestra más uniforme, los resultados de esta investigación corroboran la disminución del tamaño de partícula (Seccción 3.2.1) en leche sometida a TS, ya que al existir una mayor reducción en el tamaño de GG se produce un queso con mayor luminosidad (Figura 3.3.7); por su parte el color amarillo del queso está determinado según el tipo de leche utilizada, los aditivos o colorantes aplicados, el tiempo de almacenamiento y sobretodo de la cantidad de grasa que contenga como producto final (Rudan, 1998).

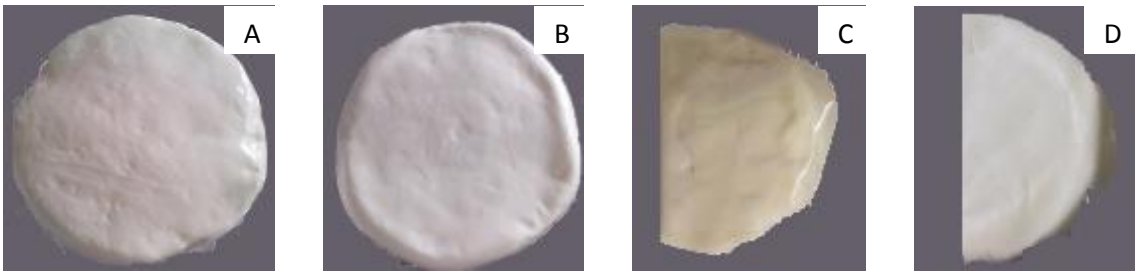
**Figura 3.3.6.** Cambios en parámetros de color de queso Mozzarella durante almacenamiento refrigerado (A. Luminosidad; B. a*; C. b*)




[1] Promedio de 9 medicones. Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2 = Proceso con TS a condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3 = Proceso con TS a condiciones de 100% de amplitud y 720 s.

La tendencia a disminución del valor L* durante el almacenamiento, es causada por cambios dependientes del tiempo en la fase de suero del queso (Rudan, 1998). La matriz de CN insoluble del queso mozzarella empieza a solubilizar con la fase acuosa del queso, la proteólisis de CN en el queso y el aumento de las CN intactas en la concentración en la fase acuosa con el tiempo de almacenamiento, mientras que la concentración de PS no. Los componentes de la fase de agua aparecen alcanzar progresivamente las concentraciones que les permitan para formar un gel que se oponga a su expulsión de agua (Guo y Kindstedt, 1995).

**Figura 3.3.7.** Evolución del color de los quesos TS




**A.** Tratamiento 1 día 1**, B.** Tratamiento 3 día 1**,**
**C.** Tratamiento 1 día 15**, D.** Tratamiento 3 día 15

De igual forma es posible distinguir valores inferiores de los parámetros a* y b* en los quesos TS en comparación con los quesos control, reflejando una disminución significativa ($p<0.05$) del color amarillo – naranja (Ver Anexos 6.44 y 6.45), con tendencia a incrementarse con el tiempo de almacenamiento para todos los quesos elaborados. Generalmente, el color amarillo se asocia con alimentos que tienen un alto contenido de grasa; sin embargo, el color final de los quesos procesados no sólo depende del contenido de grasa, sino también en el tamaño de las partículas de grasa dispersas en la matriz proteica; según McClements (2005), al haber partículas de grasa con diámetro más pequeño se obtiene un producto más blanco.

Los resultados obtenidos pueden compararse con lo reportado por Bermúdez- Aguirre *et al* (2008, 2009) quienes reportaron un color más blanco de la leche después de la sonicación (mayor valor L*) y en los quesos elaborados con leche US debido a la presencia de GG mas pequeños que disminuyen la profundidad de penetración de la luz incidente, comparado con quesos en los cuales la grasa no ha sido sonicada. Aunado a esto, los cambios proteolíticos y fisicoquímicos durante el almacenamiento contribuyen a la disminución de la luminosidad ya que la acumulación de péptidos solubles en la fase sérica cambia las características de absorción de la luz (Rudan *et al.,* 1998).

### 3.3.7. Análisis sensorial

Los jueces emplearon catorce atributos de los 30 atributos recomendados por Meilgaard *et al.* (1999), para describir los siguientes términos de la textura de los quesos elaborados a partir de tratamientos selectos de TS:

- Textura superficial (geometría de superficie y humedad)
- Compresión parcial (elasticidad)
- Primera mordida (dureza, cohesividad y geometría de superficie)
- Primer mastique (dureza, cohesividad y adhesividad)
- Durante masticación (absorción de humedad, cohesividad en masa y adhesividad en boca)
- Residual (geometría y recuperación de grasa en la boca)

Las muestras fueron descritas mediante el cálculo de dos factores, en la Tabla 3.3.11, se muestran los porcentajes de la varianza para cada uno de ellos, así como el porcentaje acumulado.

**Tabla 3.3.11.** Valores propios de los factores para los análisis de textura descriptivos sensoriales*

| | Día 1 | | Día 15 | |
|---|---|---|---|---|
| | F1 | F2 | F1 | F2 |
| Valor propio | 9.25 | 4.76 | 8.69 | 5.30 |
| % varianza | 66.04 | 33.97 | 62.11 | 37.88 |
| % acumulado | 66.04 | 100.00 | 62.11 | 100.00 |

* Número de valores propios triviales suprimidos: 12

Como se observa en la Tabla 3.3.8, por si solo el factor 1 aporta el mayor porcentaje de la información al día 1 (66.04%) y al día 15 (62.11%), al realizar la sumatoria del factor 1 y 2 en

los respectivos días se obtiene un valor del 100% que expresa que los datos siguen una buena tendencia y poseen poca varianza entre sí. En la Tabla 3.3.13 se muestran los componentes principales para cada muestra para ambos días de análisis, además en las Figuras 3.3.8 y 3.3.9 se presentan los análisis de los componentes principales en dos dimensiones en los diferentes días de análisis.

**Tabla 3.3.12.** Atributos principales para los análisis de textura descriptivos sensoriales[1].

| | Día 1 | Día 15 |
|---|---|---|
| Tratamiento 1 | ○ Adhesividad<br>○ Cohesividad<br>○ Cohesividad durante masticación<br>○ Dureza<br>○ Elasticidad | ○ Dureza al masticar, cohesividad<br>○ Geometría de superficie |
| Tratamiento 2 | - - - - - - - - - - | ○ Dureza a la mordida<br>○ Elasticidad |
| Tratamiento 3 | ○ Humedad<br>○ Cohesividad en mordida<br>○ Absorción de humedad | ○ Recubrimiento de grasa en boca<br>○ Adhesividad |

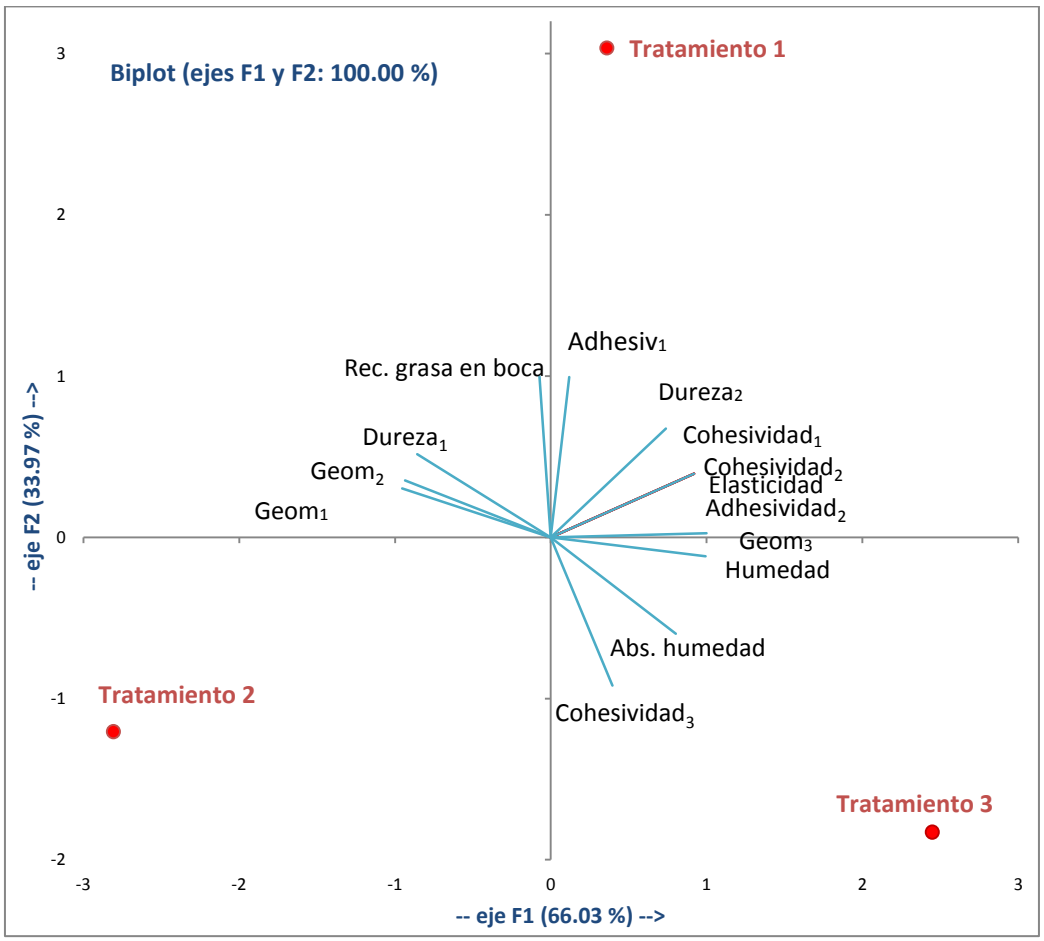
[1] Tratamiento 1= Proceso con TT convencional, Tratamiento 2= Proceso con TS, condiciones de 50% de amplitud y 1080 s, Tratamiento 3= Proceso con TS, condiciones de 100% de amplitud y 720 s.

Después de encontrar las varianzas del sistema, se ordenaron de acuerdo a su importancia generando una proyección de sistemas coordenadas en el cual la varinza del primer conjunto de datos se graficó en el primer eje (componente 1) y la segunda varianza en el segundo eje (componente 2). Esta transformación lineal proviene de una matriz de correlaciones de los datos, y una base de vectores de la misma.

Al observar la Figura 3.3.8 es posible distinguir que el control (Tratamiento 1) se distingue por características que denota un queso con dureza elevada, que se pega al paladar y con una elasticidad considerable, resultado de un queso con mayor contenido de grasa y menor humedad, características que coinciden con el análisis de perfil de textura que mostró que quesos elaborados con tratamientos de TS mostraron mayor dureza, cohesividad,

adhesividad y elasticidad; con respecto al Tratamiento 2 (50% amplitud, 6 min) se observa que no presenta un atributo que lo distinga y se encuentra dentro de las características de los Tratamientos 1 y 3; sin embargo no posee las siguientes características: dureza, elasticidad, cohesividad y adhesividad en boca durante masticación, es decir es un producto con elevada humedad y poco contenido de grasa, lo cual también fue corroborado en los análisis de perfil de textura, contenido de grasa y humedad, finalmente el Tratamiento 3 se distingue por características de un queso con elavada humead, coherente con las pruebas realizadas a los quesos y comprueba que los quesos TS son quesos blandos que debido a la formación de la nueva estructura tienen un contenido de grasa encapsulado.

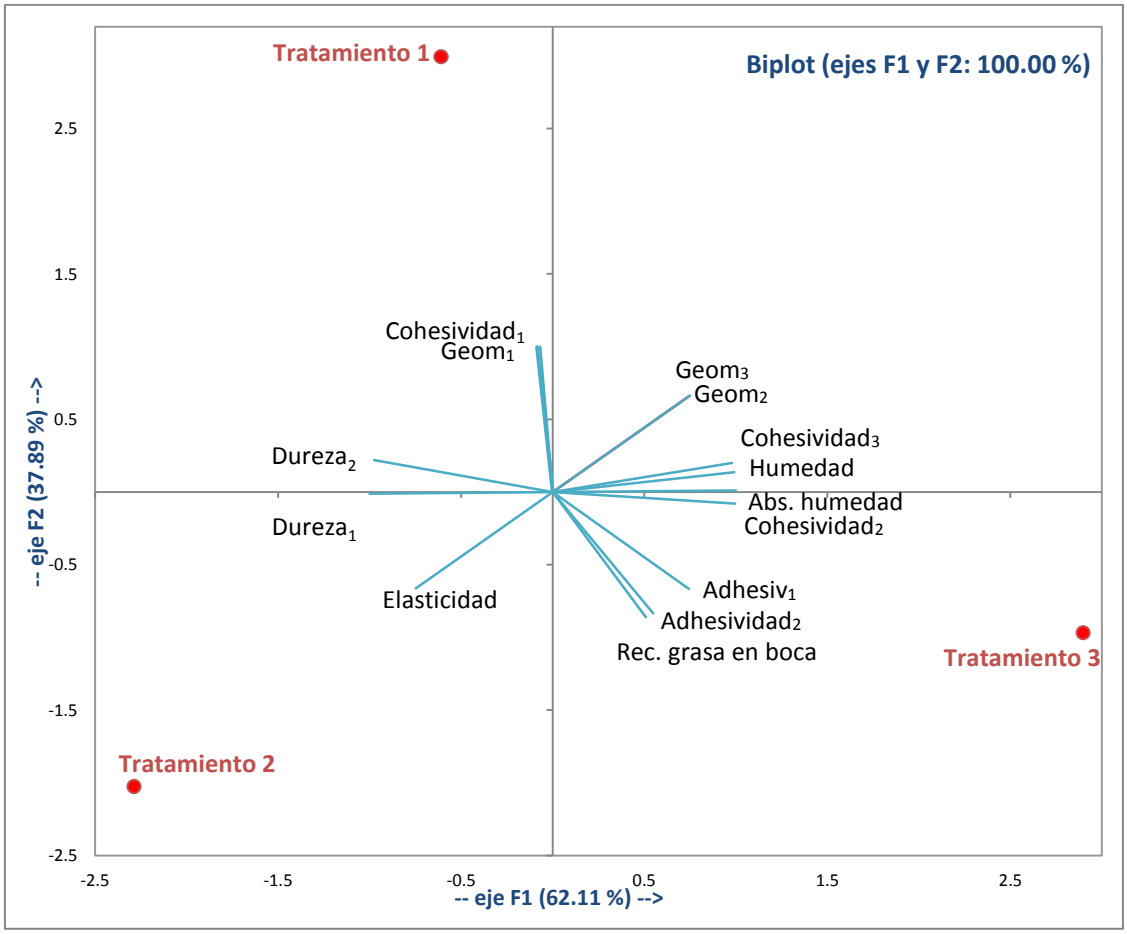
**Figura 3.3.8.** Análisis de Componentes principales al día 1[1].




[1]Geom 1= Geometría de superficie en masticado, Geom2= geometria residual, Geom3=geometria superficie en textura, Dureza 1= Dureza en mordida, Dureza 2= Dureza en masticado, Cohesividad 1= cohesividad en masa durante masticado, Cohesividad 2= Cohesividad en masticado, Cohesividad 3= Cohesividad en mordida, Adhesiv1= adhesividad en boca durante masticado, Adhesiv2=Adhesividad en masticado

La Figura 3.3.9 muestra los atributos al día 15, es posible identificar que los quesos elaborados con el Tratamiento 1 (LTLT) siguieron mostrando características similares a los del día 15 con una elevada dureza al masticar, cohesividad en masa durante mastique y geometría de superficie en mordida; por su parte los quesos elaborados con leche TS 2 mostró como atributos principales una elevada dureza a la mordida y elasticidad considerable, lo que nuevamente lo sitúa en un punto intermedio entre los Tratamientos 1 y 3. A su vez, el Tratamiento 3 presenta alta intensidad en los siguientes parámetros: recubrimiento de grasa en boca, adhesividad en boca durante masticación y en menor intensidad absorción de humedad y cohesividad durante mastique, indicando que se durante el almacenamiento se generó mayor proteólisis que conllevó a una liberación de la grasa de la matriz y cambios en la distribución del agua en la matriz del queso.

**Figura 3.3.9.** Análisis de Componentes principales al día 15[1].




[1]Geom 1= Geometría de superficie en masticado, Geom2= geometria residual, Geom3=geometria superficie en textura, Dureza 1= Dureza en mordida, Dureza 2= Dureza en masticado, Cohesividad 1= cohesividad en masa durante masticado, Cohesividad 2= Cohesividad en masticado, Cohesividad 3= Cohesividad en mordida, Adhesiv1= adhesividad en boca durante masticado, Adhesiv2=Adhesividad en masticado

Tras analizar los resultados es posible comprobar que los atributos al día 1 y a los 15 días de almacenamiento refrigerado son congruentes con los parámetros de calidad evaluados anteriormente (TPA y análisis composicionales) mostrados en las Tablas 3.3.5 y 3.3.9 respectivamente.

Hasta el momento no existe un la literatura un análisis sensorial descriptivo de textura que permita observar los cambios generados por la TS en la calidad sensoria de quesos tipo Mozzarella elaborados con leche TS tras su aplicación y durante el almacenamiento refrigerado, sin embargo otras tecnológicas como la aplicación de tratamientos de alta presión (300 MPa, 10 min) en la elaboración de quesos frescos de oveja modificó las propiedades reológicas y sensoriales de los quesos al día 1 formando quesos más blandos y elásticos; mientras que al día 15 las características de los quesos presurizados fueron muy similares a queso control pero con una red proteica más homogénea y una textura menos firme (Juan *et al.*,2008)

## CONCLUSIONES

- La TS genera cambios en la concentración de hidroperóxidos determinados como productos primarios de oxidación; dicha concentración se vio afectada por las condiciones del tratamiento de TS (amplitud y tiempo); los hidroperóxidos lipídicos, al ser precursores de reacciones de oxidación primaria pueden generar sabores desagradables en leche y en productos lácteos derivados. Sin embargo, el uso del índice de peróxidos como medida del grado de avance de la oxidación en leche bovina tuvo una utlidad limitada, dado que no permitió establecer un rango preciso de condiciones de trabajo, dado que la variabilidad entre lotes de leche fue considerable; por lo tanto, los parámetros utilizados se definieron en base a pruebas sensoriales informales.

- Los tratamientos termosonicados a 50% de amplitud por 6 min y 100% amplitud con 4min fueron considerados promisorios como pretratamiento de leche para elaborar queso tipo pasta filata debido a que permitían observar variaciones significativas en parámetros tecnológicos de leche (CRA, firmeza de gel y tiempo de coagulación) que fungen como predictores de su capacidad para elaborar queso tipo Mozzarella con características funcionales apropiadas.

- Los tratamientos de termosonicación seleccionados generan cambios significativos en las características fisicoquímicas de quesos tipo Mozzarella al día 1 y durante el almacenamiento refrigerado al compararse con los quesos elaborados con leche pasteurizada. La TS produjo variaciones en la estructura de los componentes de la leche permitiendo obtener quesos más húmedos y con mayor contenido de proteína, que redundaron en un aumento significativo en el rendimiento quesero. Desde el punto de vista de características de calidad, los quesos elaborados con leche TS fueron más blandos, menos elásticos y más luminosos. Funcionalmente, sufrieron afectaciones en su capacidad de fundido y liberación de grasa que se mantuvieron durante los primeros días de almacenamiento refrigerado, lográndose comparar con quesos de leche pasteurizada hasta después del día 15 de almacenamiento.

- Los resultados de la evaluación sensorial descriptiva de textura fueron consistentes con los análisis de perfil de textura instrumental y con los análisis composicionales, y

demostraron que los quesos TS tienen el potencial de desarrollar atributos diferentes a los quesos tipo Mozzarella elaborados con leche pasteurizada, brindando la posibilidad de desarrollar productos con funcionalidad única

- La TS produjo una modificación de los componentes de la leche, y en consecuencia, en su forma de interactuar entre sí y en su funcionalidad, constituyendo una alternativa innovadora para el desarrollo de productos lácteos derivados.

## RECOMENDACIONES

- En futuros proyectos se recomienda realizar un análisis sensorial descriptivo empleando un panel sensorial entrenado que permita definir con precisión umbrales de trabajo de TS en leche que no generen sabores desagradables. Alteranativamente, se sugiere realizar un seguimiento de formación de productos secundarios de oxidación por el método tribarbitúrico (TBARS) similar al reportado por Marchesini *et al.* (2012).

- Se recomienda realizar un estudio reológico más detallado que permita establecer con mayor precisión el tiempo necesario para liberar un queso TS al mercado una vez que desarrolle sus características funcionales deseables

- Para complementar estre trabajo se recomienda realizar pruebas específicas para evaluar los cambios proteicos (haciendo énfasis en la evaluación de la magnitud de desnaturalización proteica), así como micrografías que permitan visualizar la estructura formada por la aplicación de TS en leche para comprender mejor las modificaciones observadas y su potencial de aplicación en productos lácteos derivados.

## BIBLIOGRAFÍA


Agrimundo. (2013). Uso de irradiación como elemento de mejoramiento de la inocuidad alimentaria. Santiago de Chile: Ministerio de Agricultura.

Aguilera C. A. (2013). Elaboración de queso. Ecuador: Escuela Politécnica del Ejercito.

Ahmed, Z. (2000). A comparative study on cheese prepared from cow's milk and buffalo's milk. MS Thesis. Department of Dairy Science, Faculty of Animal Husbandry, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh.

Ak, M.M., y S, Gunasekaran. (1997).Anisotropy in tensile properties of Mozzarella cheese. *J. Food Sci.* 62(5):1031-1033.

Alais Ch. (1985). Ciencia de la leche. Reverté, Barcelona, 873 pp.

Almajano, M., y Trujillo, P. (2008). Concepción y desarrollo de un nuevo producto. Kambio, S.A.

Alvarado Maldonado J.R (2013). Etapa de potencia de 50 W para aplicaciones de ultrasonido. Tesis de grado. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

Álvarez, S., Rodríguez, V., Ruiz, M.E., Fresno, M. (2007). Correlaciones de textura y color instrumental con la composición química de quesos de cabra canarios. Archivos de Zootecnia, 56(1):663-666.

Amiot, J. (1995). Ciencia y Tecnología de la leche. Editorial Acribia, Zaragoza España.

Anderson, D., Mistry V, V. Brandsma R. L., Baldwin K.A. (1993). Reduced-fat Cheedar cheese from condensed milk. 1. Manufacture, composition and ripening. *J. Dairy Sci*, 76, 2832-2844.

Anema, H. S. G. (2010). Effect of ultrasonication on the properties of skim milk used in the formation of acid gels. *Innov Food Sci Emerg Tech*, 616-622. University, Mymensingh.

Aragao, G.M.F., Corradini, M.G., Normand, M.D., Peleg, M. (2007). Evaluation of the Weibull and log-normal distribution functions as survival models of Escherichia coli under isothermal and non-isothermal conditions. *Int J Food Microbiol*, 119: 243-257.

Ashokkumar, M., Bhaskaracharya R., Kentish, S., Judy L. Palmer, and M., Bogdan, Z. (2010). The ultrasonic processing of dairy products - An overview, *Dairy Sci Technol*. 90, 147-168.

Ashokkumar, M., R., Rink, and S. Shestakov. (2009). Hydrodynamic cavitation – an alternative to ultrasonic food processing*. Electronic J Tech Acoust*, 2011, 9.

Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilkhu, K., and Versteeg, C. (2008). Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. *Innov Food Sci Emerg,Tech* 9(2), 155-160.

Ashokkumar, Muthupandian, Lee, J., Kentish, S., and Grieser, F. (2007). Bubbles in an acoustic field : An overview, *Ultrason sonochem, 14*, 470–475. doi:10.1016/j.ultsonch.2006.09.016

Ashokkumar,M., and Muthupandian. (2011). The characterization of acoustic cavitation bubbles - an overview. *Ultrason sonochem*, 18(4), 864–72. doi:10.1016/j.ultsonch.2010.11.016

Awad , T.S., Moharram, H.A., Shaltout, O.E., Asker, D., and Youssef, M.M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Res Int,* 48, 410-427.

Barioglio, C. F. (2001). Diccionario de Producción Animal. Argentina: Brujas.

Bermúdez-Aguirre, D. Mawson R. and Barbosa-Canovas G.V. (2008). Microstruture of fat globules in whole milk after thermosonication treatment. *J Food Sci*. 73-7.

Bermúdez-Aguirre, D., and Barbosa-Cánovas G. V., (2010). Processing of Soft Hispanic Cheese ("*Queso Fresco*") Using Thermo-Sonicated Milk: A Study of Physicochemical characteristics and Storage Life, *J Food Sci*. 75, 548-558.

Bermúdez-Aguirre, D., and Barbosa-Cánovas G. V., (2011). Power ultrasound to process dairy products. Ultrasound technologies for food and bioprocessing. New York: Springer.

Bermúdez-Aguirre, D., and Barbosa-Cánovas G. V., (2012). Fortification of queso fresco, cheddar and mozzarella cheese using selected sources of omega-3 and some nonthermal approaches. *J Food Chem.* 133, 787-789.

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

Briard, V., Leconte, N., Michel, F., and Michalski, M.C.The fatty acid composition of small and large naturally occurring milk fat globules.*Eur. J. Lipid Sci. Technol.*2003;105:677–682

Brito C Carmen, Manríquez A Ximena, Molina C Luz Haydée, Pinto C Manuel. Estudio de maduración de queso chanco bajo en grasa elaborado con leche homogeneizada. Obtenido Septiembre 28, 2014. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext pid=S0004-06222003000300013&lng=es.

Bourne, M. C. (1982). Food texture and viscosity. 1st ed. Academic Press, New York, NY.

262-2006, C. S. NORMA DEL CODEX PARA LA MOZZARELLA. 1978, Rev. 2-2001.

Cabrera, A., Lamazares, J., Peraza, J., Ramírez, J., and López, M.(1987). Manualde Higiene de los Alimentos: leche y derivados. Primera edición. La Habana: MES.

Calderón, Alfonso, Arteaga, Margarita Rosa, Rodríguez, Virginia Consuelo, Arrieta, Germán Javier, Bermudez, Diana Carolina, and Villareal, Viviana Patrícia. (2011). Efecto de la

mastitis subclínica sobre el rendimiento en la fabricación del queso costeño.Biosalud,10(2), 16-27.

Cameron, M., McMaster L., and Britz, T. J., (2009). Impact of ultrasound on dairy spoilage microbes and milk components, *Dairy Sci Tech*. 89, 83-98.

Cano-Ruiz, M.E. y R. L. Richter. (1997)."Effect of Homogenization Pressure on the Milk Fat Globule Membrane Proteins. *J. Dairy Sci.* 80(11):2732-2739.

Caro, I., Soto, S., Franco, M.J., Meza-Nieto, M., Alfaro-Rodríguez, R.H., and Mateo, J. (2011). Composition, yield, and functionality of reduced-fat Oaxaca cheese: effects of using skim milk or a dry milk protein concentrate. *J. Dairy Sci.* 94(2), 580-8. (DOI: 10.3168/jds.2010-3102).

Casado P. (1987). Métodos de análisis de la leche y productos lácteos. Ed. Industrias Lácteas Españolas (ILE), Madrid.

Cátedras de Lechería. Obtenido Agosto 13, 2013 http://www.hipotesis.com.ar/hipotesis/Agosto2001/ Catedras/Lecheria.htm

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

Chacón-Villalobos, A.; Pineda-Castro, M.L. (2009). Características químicas, físicas y sensoriales de un queso de cabra adaptado del tipo “Crottin de Chavignol”. Agronomía Mesoamericana, 20(2):297-309.

Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., and Ashokkumar, M., (2012). Ultrasonics in food processing - Food quality assurance and food safety. *Food Sci. Tech*. 1-11.

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

Chemat, F., Zill-e-Huma and Khan, M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction*. Ultrason sonochem* 18,813-835.

Chemat, S., Lagha, A., AitAmar, H., Bartels, P. V., and Chemat, F. (2004). Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour Frag J.*, 19, 188–195.

Chiampo, F. and Conti, R. (1999). Hydrodynamics of fruit pulp ultrafiltration. *J. Food Eng.* Vol 40, no. 3, p 173-180.

Choe, E., and Min, D. B. (2006). Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. Comprehensive *Food Sci. Food Saf.* 5, 169–186.

Chouliara, E., Georgogianni, K.G., Kanellopoulou, N. y Kontominas, M.G. (2010). Effect of ultrasonication on microbiological, chemical and sensory properties of raw, thermized and pasteurizad milk. *Int. Dairy J.* in press: 1-7.

Ciencia de la Leche. Principios de Tecnica Lechera (1985). Editorial Reverté, S.A.

Common Defects in cheese. Obtenido 19 Julio, 2012 http://www.flashcardmachine.com/common-defectsincheese.html.

Contreras, N. E. (2012). Determinacion del analisis bromatologico proximal y fitoquimico preliminar de los extractos acuosos y etanolicos de inflorescencia de *Calathea allouia* (Aubl.) Lindl. (chufle), frutos de Bromelia karatas (Piñuela) y flor de *Cucurbita pepo L.* (flor de ayote). Tesis de grado. San Salvador: El Salvador.

Crosby, L., (1982). Juices Pasteurizad ultrasonically. *Food Production/ Management*. 9:6.

Cullen, P. (2011). Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods (Food Sci Technol Int (Hardcover Academic)). USA: Academic Press Inc.

Cullen, P., Tiwari, B. K., and Valdramidis, V. (2012). Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods. Academic Press, USA.

Czank, C., Simmer, K., and Hartmann, P. (2010). Simultaneous pasteurization and homogenization of human milk by combining heat and ultrasound: effect on milk quality. *J Dairy Res.* 77:183-189.

De Wit, J. N. (1984). Functional properties of whey proteins in food systems. *Neth. Milk Dairy J*. 38, 71-89

Domínguez-Anton, F. (2013). Obtenido 15 Marzo, 2013. http://www.camaracaceres.es/ actividades/ publicaciones/libros/completos/21/contenidos/etapas.htm

El origen del queso. Obtenido 17 Febrero, 2013. http://poliagro3mari.blogspot.mx/2009/07/ el-origen-del-queso.html

Enciclopedia del Queso. Obtenido 10 Abril, 2010. http://www.poncelet.es/enciclopedia-del-queso/elaboracion.html

Feng, H., Barbosa-Cánovas, G.V. and Weiss, J. (2011). Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing. New York: Spring.

Juan José Fernández-Molina, Gustavo V. Barbosa- Canóvas y Barry G. Swanson. (2001). Arbor CLXVIII, 661. 155-170.

Fernandez. P. C. (2005). Fabricación de quesos mediante pasterización por Altas Presiones. Master thesis. Cataluya, España: Universidad Politecnica de Cataluya.

FIL-IDF (1997). Standard 99C. Sensory evaluation of dairy products by scoring-Reference method.

Fox EM, Leonard N, Jordan K. (2011). Molecular diversity of Listeria monocytogenes isolated from Irish dairy farms. *Foodborne Pa thog Dis*.8:635–641.

Fox P.F., McSweeney, P.L.H (1998). Dairy Chemistry and Biochemistry. Kluwer Academic/Plenum, New York.

Fox, F.P., Guinee, T.P., Cogan, T.M., and Mc Sweeney, P.L.H. (2000). Fundamentals of Cheese Science. AspecPublishers. Inc. Caithersburg Maryland.

García, M., Ramos, M., and López, R. (2002). Modifications in milk proteins induced by heat treatment and homogenization and their influence on susceptibility to proteolysis. *Int. Dairy J.* 12(2002)679-688.

Ghosh BC, Singh S. (1996). Influence of starter culture on the quality of Mozzarella cheese from buffalo milk. *Indian J Dairy Sci.* 49 599-606.

Giese, J. (1995). Measuring physical properties of food. *Food Technol*.19:54–63.

González Villareal, M. (2002). Tecnología para la Elaboración de. Panamá

Gould GW. (1995). New Methods of Food Preservation. Glasgow, U.K.: Blackie Academic and Professional. 159-172.

Guinee, T. P., and Fox, P. F. (2001). Biochemical and functional relationships in cheese. Dairy products research centre: Teagasc end of Project report 2000 DPRC no. 30, Armis no. 4537.

Guinee, T. P., B. T. O'Kennedy, and P. M. Kelly. (2006). Effect of milk protein standardization using different methods on the composi tion and yields of Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* 89:468–482.

Guinee, T.P., E.P. Feeney, M.A.E. Auty, and P.F. Fox. (2002). Effect of ph and calcium concentration on some textural and functional properties of Mozzarella cheese. *J Dairy Sci.* 85:1655-1669.

Guo, M. R., and P. S. Kindstedt. (1995). Age related changes in the water phase of Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* 78:2099–2107.

Guzmán, J. J. (1996). Efecto del tratamiento termico de la . México: tesis.

Hargrove R.E., F.E. McDonough, D.E. LaCroix y T.A. Alford (1976). Production and properties ofdeproteinized whey powders. *Ji Dairy Sci.*, 59: 25-33.

Hernández, A. and Harte, F. (2008). Manufacture of acid gels from skim milk using high pressure homogenization. *J. Dairy Sci.* 91(10):3761-3767

Hielscher Ultrasonics gmbh (2014). Ultrasonication and its manifold applications in Food Processing. Hielscher-Ultrasound Technology. Obtenido 29 Noviembre, 2014 http://www.hielscher.com/ultrasonication-and-its-manifold-applications-in-food.processing.htm

Hine WS. (1994). Methods of making high moisture non fat cheese sauce. United States Patent, USA, US Patent # 5304387 pp. 1-5.

Hoover, D.G. (2000). Ultrasound- Supplement: Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies. *J. Food Sci.* P.93

Huppertz, T., Zobrist, M.R., Uniacke, T., Fox, and P.F., Kelly. (2005). High-pressure-induced changes in the rennet coagulation properties of bovine milk. *Int. Dairy J.* 15, 6–9.

Hurtado Díaz, S. (2013). Efecto de la aplicación de ultrasonidos en vegetales: Impacto sobre la. Barcelona: Universitad Politécnica de Catalunya.

IDF 20-1:2014. Milk and milk products. Determination of nitrogen content. Part 1: Kjeldahl method. *International Dairy Federation.* Bruselas , Bélgica

Imm, J.Y.; Oh, E.J.; Han, K.S.; Oh, S.; Park, Y.W.; Kim, S.H. (2003). Functionality and physicoche-mical characteristics of bovine and caprine mozzarella cheeses during refrigerated storage. *J of Dairy Sci.* 86(9):2790-2798.

Industria Láctea: Tecnología y derivados. (2014). Industria Láctea: Tecnología y derivados. México: Alfa Editores.

Infolactea Obtenido 24 Mayo 2013.http://www.infolactea.com/descargas/biblioteca/325.pdf

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, INEGI (2010), Boletín el sector alimentario en México. Obtenido 11 Enero, 2013 http://www.inegi.org.mx/prod_serv/ contenidos/espanol/ bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/SAM/2010/sam2010.pdf

Islam M.W. (2006). Shelf-life of cheese as affected by salt content with particular reference to mozzarella cheese. MS Thesis. Department of Food Technology and Rural Industries.

Jambrak, A. R., Mason, T. J., Lelas, V., Paniwnyk, L., and Herceg, Z. (2014). Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins. *J Food Eng.* 121(0), 15–23. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.08.012

Jambrak, A.R., Mason, T.J., Lelas, V., Herceg, Z., Herceg, Lj. (2008): Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspesions, *J Food Eng.* 86 (2), 281-287.

Jara C. W. (2013). Producción de queso andino con diferentes niveles de mermelada de Eugenia stipitata sororia (ARAZÁ). Tesis de grado. Riobamba. Ecuador

Jimenéz, L. F., Oyagüe, J. M., Caro, I. C., Soto, S. S., Pérez S. R. Y Chavarría Y. M. (2010). Evolución de diversas características de calidad del queso Oaxaca durante su conservación. Tesis de grado. Instituto tecnológico superior del oriente del estado de Hidalgo.

Kelly, A.L., Huppertz, T. and Sheehan, J.J. (2008). Pre-treatment of cheese milk: principles and developments. *Dairy Sci. Technol.* 88, 549–572.

Kiely. L.J., Kindstedt, P.S., Hendricks, G.M., Levis, J.E., Yun. J.J. and Barbano, D.M. (1992) Effect of draw pH on the development of curd structure during the manufacture of Mozzarella cheese. *Food Struct.,* 11, 217-224.

Kindstedt, P.S., J.K. Rippe. (1990). Rapid quantitative test for free oil (oiling-off) in melted Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* 73:867-873.

Kindstest, P.S.,; Caric, M. Y Milanovic, L. (2004). Pasta filata Cheese. N Cheese: Chemestrey, Physics and Microbiology, Vol.2, 3rd edn., ed. P.L.H. McSweeney. *Elsevier Science-Academic Press*, London. Pp. 251-277.

Kinsella, J. E. (1984). Milk proteins: Physicochemical and functional properties. Crit. Rev. *Food Sci. Nutr.* 21:197–262.

Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., and Schoessler, K. (2011). Emerging technologies in food processing. *Annual Rev Food Sci Technol.* 2, 203–235.

Kuldiloke, J. (2002). Effect of Ultrasound, Temperatura and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Jueces. PhD Thesis. Technical University of Berlin. 118.

Lee, D.U., Heinz, V., and Knorr, D. (2003). Effects of combination treatments of nisin add high-intensity ultrasound with pressure on the microbial inactivation in liquid whole egg. *Innov Food Sci Emerg Tech*, 4: 387-393.

Leitsner, L., and Gould, W. (2002). Hurdle technologies. Combination treatments for food stability, safety and quality. Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Lemay, A., Paquin, P., and Lacroix, C. (1994). Influence of microfluidization of milk on Cheddar cheese composition, color, texture, and yield. *J. Dairy Sci.* 77(10), 2870–2879.

Luquet, F.M.(1991). En Leche y productos y lácteos. Vaca, oveja y cabra. Editorial Acribia, Zaragoza.

Maldonado R., y Llanca L. (2008). Estudio de la calidad del queso de mano comercializado en el municipio de Girardot, estado Aragua. Venezuela. Revista Científica 18 N.4. Maracaibo.

Malone, A. S., Wick, C., Shellhammer T. H., and Courtney P. D. (2003). High Pressure Effects on Proteolytic and Glycolytic Enzymes Involved in Cheese Manufacturing. *J. Dairy Sci.* 86:1139–1146.

Marchesini, G., Balzan, S., Montemurro, F., Fasolato, L., Andrighetto, I., Segato, S., and Novelli, E. (2012). Effect of ultrasound alone or ultrasound coupled with CO2 on the chemical composition, cheese-making properties and sensory traits of raw milk. *Innov Food Sci Emerg Tech*, 16, 391–397. doi:10.1016/j.ifset.2012.09.003

Margulis M.A., M. I. (2003). Calorimetric method for measurement of acoustic power. *Ultrason sonochem*. 343-345.

Marsili, R. (2003). Flavours and off-flavours in dairy foods. En J. F. H. Roginski, Encyclopedia of Dairy Science. (págs. 1069-1081). New Yok: Academic Press.

Mavridis, H., and Shroff, R. N. (1992). Temperature dependence of polyolefin melt rheology. *Polym Eng Sci.* 32,1778–1791.

McClements D.J. (2005). Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques, 2ndEdition, 609 pages. CRC Press. Boca Raton. Florida

McClements, J. (1994). Advances in the application of ultrasound in food análisis and processing. Trenes *Food Sci. Technol.* 6:293-299.

McMahon, D. J., R.L. Fife, and C. J. Oberg. (1999). Water partitioning in mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability. *J. Dairy Sci.* 82:1361-1369.

Meinardi, C.; Perotti, M.C.; Santini, Z.; Bernal, S. And Zalazar. 2004. Production of sheep and goat cheeses in Argentina. International Symposium: "The future of the sheep and goat dairy sectors". Zaragoza, Spain. October: 28-30 .

Meneses, S. M. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. Revista Lasallista de Investigación, 112-123.

Meshref, A. (2008). Effect of Heating Treatments, Processing Methods and Refrigerated Storage of Milk and Some Dairy Products on Lipids Oxidation. *Pakistan J. Nutrit*, 7, 118–125.

Metzger LE, Mistry VV. (1994). A new approach using homogenization of cream in the manufacture of reduced fat cheddar cheese. 1. Manufacture, Composition and Yield. *J. Dairy Sci.* 77, 3506-3515.

Mijan, M. A. (2010). Evaluation of quality of mozzarella cheese . The Bangladesh Veterinarian, 27(1) : 36 – 42 .

Mizuno, R., and J. A. Lucey.(2007).Properties of milk protein gels formed by phosphates. *J. Dairy Sci*. 90:4524-4531.

Molina Barbosa C.G. and Swanson B.G. (2001). Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos sin calor. Arbor, 155-170.

Montenegro, H.M. (2006). Aplicación de Antibut (Bactericida) para eliminar bacterias del grupo Coli Aerogenes en la elaboración de queso andino. Tesis de grado. Ecuador

Morales Lozano, R. A. (2011). Elaboración de una bebida de tipo funcional para la alimentación a partir de lactosuero. Tesis. Orizaba, Veracruz, México: Universidad Veracruzana.

Moreira, O. (2003). Tablas de composición de alimentos. Pirámides.

Morr, C. V. (1975). Chemistry of milk proteins in food processing. *J. Dairy Sci.* 58:977.

Muliawan, E.B. and S. G. Hatzikiriakos. (2007). Rheology of Mozarella Cheese. *Intern. Dairy J.*, 17, 1063-1072.

Muthukumarappan, K., Wang, and Y.C., Gunasekaran. (1999). Short communication: Modified Schreiber test for evaluation of Mozzarella cheese meltability. *J Dairy Sci.* 82 (6), 1068–1071.

Nadal E.S. (1995).Congelación de cuajadas de leche de oveja. Tesis Doctoral. Barcelona España.

National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods, NACMCF. (2006). Requisite scientific parameters for establishing the equivalence of alternative methods of pasteurization. *J. Food Protect*. 69, 1190-1216.

NOM-121-SSA1-1994. Norma oficial mexicana, bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

Oberg, C.J., McManus, R. and McMahon, D.J. (1993). Microstructure of Mozzarella cheese during manufacture. *Food Struct*. 12:251-258.

Olson, N. F., S.Gunasekaran, and D. D. Bogenrief. (1996). Chemical and physical properties of cheese and their interactions. Neth. *Milk Dairy J.* 50:279–294.

Ortiz-Garcia Carrasco, B., Yañez-Mota E., Pacheco-Aguirre F.M., Ruiz-Espinosa H., Garcia-Alvarado M.A., Cortés-Zavaleta O., Ruiz-López I.I. (2015). Drying of shrinkable food products: Appraisal of deformation behavior and moisture diffusivity estimation under isotropic shrinkage. *J. Food Eng.* 144: 138-147.

Osorio, J.P.; Ciro, H.J.; Mejía, L.G. (2004). Caracterización textural y fisicoquímica del queso EDAM. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín, 57(1):2275-2286.

Ostdal, H., Andersen J., and Nielsen J. H. (2000). Antioxidative Activity of Urate in Bovine Milk. Department of Animal Product Quality, Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Foulum, P.O. Box 50, DK-8830 Tjele, Denmark.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura, FAO. (2009). Productos Lácteos: El Queso. Obtenido 16 Febrero, 2013 http://66.147.240.184/~ganader1// articulos/ ?seccion= ver& categoria= manejo &nda =man028Verificado: 16/02/2013.

Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V. T., Singh, D. and Mohan, R. (2000). Advances in microbial amylases. *Biotechnol. Appl. Biochem*., 31: 135–152

Park Y, J. M. (2007). Physico chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Ruminant Research, 88-113.

Patist A. and Bates D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innov Food Sci Emerg Tech*. 9: 147- 154.

Pereda, J. F. (2008). Proteolysis of ultra-high pressure homogenized treated milk during refrigerated storage. *Food Chemistry*. 111(3), 696-702.

Pilamunga M, A. (2013). Análisis de la producción y comercialización del queso fresco en cuatro queseras de la comunidad Llinllín, cantón Colta provincia de Chimborazo. Tesis de grado. Universidad nacional de la loja. Ecuador.

Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.-S., and Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing. *Rev*. *Food Cont*, 31(2), 593–606. doi:10.1016/j.foodcont.2012.11.039

Piyasena, P., Mohareb, E. and McKellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 87,207-216.

Poduval V.S., Mistry V.V. (1999). Manufacture of reduced fat Mozzarella cheese using ultrafiltered sweet buttermilk and homogenized cream. *J. Dairy Sci.* Vol. 82, 1-9.

Pluta, A., Ziarno M. And Kruk M. (2005). Impact of modified atmosphere packing on the quality of grated mozzarella cheese. *Polish J. Food Nutr Sci.* Vol. 14/55, No 2, pp. 117–122

Prentice, J. H. (1987). Cheese rheology. In P. F. Fox (Ed.), Cheese: chemistry, physics, and microbiology (pp. 299–314). New York, NY, USA: Elsevier.

Preparación de Queso Mozzarella. (1987). Servicio Nacional de Aprendizaje.SENA. Volumen 3. Bogota.

Rae, J., Ashokkumar, M., Eulaerts, O., von Sonntag, C., Reisse, J., and Grieser, F. (2005). Estimation of ultrasound induced cavitation bubble temperatures in aqueous solutions. *Ultrason sonochem,* 12(5), 325–9. doi:10.1016/j.ultsonch.2004.06.007

Ramírez C. M. (2005). Actividad inhibitoria de cepas de bacterias ácido lácticas frente a bacterias patógenas y deterioradoras de alimentos (2005).tesis. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Ramírez Navas J.S. (2010). Propiedades funcionales de los quesos. Tecnología Láctea Latinoamericana Nº 64. Colombia

Ramirez, J.A., Tellez, S.J., Perez L.C., Vázquez, M., and Simal J.G. (2001). Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos. Ciencia y Tecnología Alimentria, Vol 3 núm 2, pp 66-80.

Raso, J., Mañas, P., Pagán, R., Sala, F.J. (1999). Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultra-sound. *Ultrason sonochem.* 5, 157–162.

Recitela (2011). Revisiones de la Ciencia, Tecnología e Ingeniería de los Alimentos. Volumen 11. Colombia.

Riener, J., Noci, F., Denis A., Desmond J., James G., (2009). The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural. *Food Chemistry, 114,* 905-911.

RoblesOzuna, L.E; Ochoa-Martínez, L.A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 13, núm. 2, pp. 109-122. Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México.

Rodriguez, I.P. (2013). Diseño y desarrollo de un análogo de queso para pizza a partir de almidones modificados. Tesis de maestría. Palencia. España

Romero del Castillo S. y Mestres-Larriga, J. (2004). *Productos lácteos. Tecnología.* Ediciones UPC. Cataluya. España.

Rudan, M. A., Barbano, D. M., Guo, M. R., and Kindstedt, P. S. (1998). Effect of the modification of fat particle size by homogenization on composition, proteolysis,

functionality, and appearance of reduced fat Mozzarella cheese. *J Dairy Sci.* 81(8),2065–2076.

Rudan, M.A. Barbano, D.M., Yun, J.J., Kindstedt, P.S. (1999) Effect of fat reduction on chemical composition, proteolysis, functionality, and yield of Mozzarella cheese*. J. Dairy Sci.* 82, 661-672.

Rynne NM, Beresford TP, Guinee TP, Sheehan E, Delahunty CM, Kelly AL (2008). Effect of high-pressure treatment of 1 day-old full-fat Cheedar cheese on subsequent quality and ripening. *Innov Food Sci Emerg Tech*. 9: 429-440.

Sabena, G. (2009). Leche. Producción Láctea. Obtenido 28 Noviembre 2013. http://www.mailxmail.com/curso-leche-produccion-lactea

Salazar, J., Antoni, T., Chávez, J., and García - Hernández, M. (2012). Process Design Involving Ultrasound. *Food Proc. Desig.* pp. 1107–1155. Blackwell Publishing.

San Martín-González, M.F.; Rodríguez, J.J.; Gurram, S.; Clark, S.; Swanson, B.G.; Barbosa Cánovas, G.V. (2007). Yield, composition and rheological characteristics of cheddar cheese made with high pressure processed milk. *Food Sci. Technol.* 40(4): 697 705.

Sandine W. E., and Elliker P. R. (1970).Microbially induced flavors and fermented foods – flavor in fermented dairy products. *J. Agric. Food Chem*. 18, 557.

Schaller, A. (2009). Quesos argentinos, producción. Obtenido de Quesos argentinos, producción,: http://www.publitecbrasil.com.br/TLLPDF/TLL-4.pdf

Scott, R. (1991). Fabricación de Queso. Segunda Edición. Zaragoza, España.

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN, SAGARPA. (2013). Boletín de leche. Obtenido de Boletín de leche: 29 Mayo, 2014 http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/jalisco/boletines/

Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, SAGARPA. (2012). Boletín de leche. Obtenido 13 Abril, 2014 http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/jalisco/ boletines/2012/marzo/Documents/B02020 2.pdf.

Seminario A. L., Acuña J.F y Williams S. (2011). El ozono y su aplicación en la conservación de alimentos. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Unidad Académica Los Ángeles, Universidad de Concepción.

Shanmugan, A., Chandrapala, J., and Ashokkuumar, M. (2012). The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. *Innov Food Sci Emerg Tech.* 251-258.

Sutherland, B.J.( 2003). Salting of cheese. Encyclopaedia of Dairy Sciences, pp.56 71.Eds RoginskI, H., Fuquay, J.W. Y Fox, P.F.,.Academic Press, Londres (Reino Unido) y California (Estados Unidos).3000 pp.

Sweetsur, a.w.m., muir, d.d. (1980). *J. Soc. Diarly Technol.* 33,101.

Tecnología de la leche, (1982). Revilla, A. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica.

Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Cullen, P.J., (2009). Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *J. Food Eng.* 93 (2), 166–171.

Tunick, M.H., Rheology of Dairy Foods that Gel, Stretch, and Fracture. (2000). Symposium: dairy products rheology. U.S. Department of Agriculture, Wyndmoor, PA

Tunick. M.H.. Malin, E.L., Smith, P.W., Shieh, J.J., Sullivan, B.C.. Mackey, K.L. and Holsinger, V.H. (1993b) Proteolysis and rheology of low fat and full fat Mozzarella cheeses prepared from homogenized milk. *J. Dairy Sci.*, 76, 3621- 3628.

Unión Ganadera Regional de Jalisco. (2014). Unión Ganadera Regional de Jalisco. Obtenido de Unión Ganadera Regional de Jalisco, Junio 2014.http://www.ugrj.org.mx/ index.php? option=com/content&task=view&id=276&Itemid=138

Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM. (2005).Revista Universitaria Proceso Básico de la Leche y el Queso. Obtenido 18 Mayo, 2013 http://www.revista.unam.mx/vol.6/num9/art87/ sep_art87.pdf.

Urtasun, B. P. (2012). Efecto del tratamiento de altas presiones sobre la calidad de cocción del arroz (oryza sativa l., cultivar maratelli). España: Universidad Pública de Navarra .

Van Gurp, M., and Palmen, J. (1998). Time temperature superposition for polymeric blends. Rheology Bulletin, 67, 5–8.

Van Hekken, D.L., Tunick, M.H., Tomasula, P.M., Molina-Corral, F.J., and Gardea, A.A. (2007). Mexican Queso Chihuahua: Rheology of fresh cheese. *Int. J. Dairy Technol.* 60: 5–12.

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

Veysseyre, R. (1988). Lactología Técnica. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Vijayakumar, S. (2012). Effects of thermosonication on proteases and characteristics of milk and cream. Iowa State University.

Villa U.N. (2010). Utilizacion de la lisozima comoconservante natural en la elaboración de quesos semi-maduros en la planta de lácteos molastina. Tesis de grado. Riobamba. Ecuador.

Villamiel, M. and de Jong, P. (2000). Influence of high-intensity ultrasound and heat treatment in continuous flow on fat, proteins, and native enzymes of milk. Department of Process Inovation, NIZO Food Reseca. The Netherlands. *J. Agric Food Chem.,* 48:472-478.

Visser, S. (1981). Proteolytic enzimes and their action on milk proteins: A review. *Neth Milk Dairy J.* 35 65-88.

Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A. and van Boekel, M.A. (2006). *Dairy Sci. Technol.* Second Edition.

Wattiaux, A. Michael. (1994). Composición de la leche y valor Nutricional. Instituto Babcock. Universidad de Wisconsin-Madison.

Wattiaux, M. (2000). Mastitis: prevención y detección. Instituto Babcock. Obtenido 19 Octubre, 2013 http://www.ordemex. com.mx/ mastitis.html.

Wehr, M. and Frank, J.F. (2004). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. American Puclic Health Association; 17th edition.

Wetton, R. and Marsh, R. (1990). Dynamic mechanical thermal analysis (DMTA) of food materials. In R. Carter (Ed.), Rheology of food, pharmaceutical and biological materials with general rheology (pp. 231-247). Londond, UK:Elsevier *Applied Science*.

Wu, H. Hulbert, G.J. and Mount, J.R. (2000). Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innov Food Sci Emerg Tech*, 1:211-218.

Yanza, E. P. (2010). Utilización del Látex de las hojas, tallos y fruto de la papaya (Tipo hawaiana) como coagulante natural en la elaboración de queso fresco. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chomborazo.

Yoon, W. B., McCarthy, K. L. (2002). Rheology of yogurt during pipe flow as characterized by magnetic resonance imaging. *J. Texture Stud.* 33, 431-444 .

Yun J.J. Barbano D.M., Kiely L.J., Kindstedt P.S., (1995). Mozzarella cheese: impact of rod to coccus ratio on chemical composition, proteolysis, and functional characteristics. *J. Dairy Sci.* 78:751-760.

Zamora A, Ferragut V, Jaramillo PD, Guamis B and Trujillo A J. (2007). Effects of ultra-high pressure homogenization on the cheese-making properties of milk*. J of Dairy Sci*, 90: 13-23.

Zisu, B., y J. Lee. (2011). "Effect of ultrasound on the physical and functional properties of reconstituted whey protein powders." *J. Dairy Res.* 1-7.

Zobrist M. R., Huppertz T, Uniacke T, Fox P F and Kelly A. L., (2005). High pressure-induced changes in rennet-coagulation properties of bovine milk. *Int. Dairy J*. 15, 655-662.

Zoon, P., Van Vliet, T. y Walstra, P. (1988c). Rheological properties of rennet-induced skim milk gels. The effect of calcium and phosphate. *Neth Milk Dairy J.* 42 295-312.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Determinación de la energía entregada etapa I

Inicialmente se realizaron diferentes corridas con leche entera y con un volumen de 500 mL y una amplitud de 100% y 180 s identificando que a potencias mayores a 243.2 KW se percibían olores y sabores desagradables, posteriormente se calculó la Energía entregada (J) y se determinó el tiempo necesario para sonicar los para los diferentes volúmenes de leche a utilizar.

$$Ev=\frac{P\cdot t}{V}$$

Dónde:

$E_v$= energía entregada expresada en J por mL

P= Potencia (W)

t= tiempo (s)

V= volumen (mL)

**Cálculo de Ev:**

Datos:

P=243.26 W

t= 180 s

V= 500 mL

Ecuación:

$$Ev=\frac{P\cdot t}{V}$$

Sustituyendo:

$$Ev=\frac{(243.26\ W)\cdot 180\ s}{500\ mL}$$

$$Ev=\frac{43786.13\ J}{500\ ml}$$

Ev=87.5723 J /mL

De tal forma que para las pruebas de leche se utilizó un litro de leche con un tiempo de 6 min, como se muestra a continuación:

P=243.256281 W

Ev=87.5723 J/mL

V= 1000 mL

Ecuación:

$$Ev=\frac{P\cdot t}{V}$$

Despejando:

$$t=\frac{Ev\cdot V}{P}$$

Sustituyendo:

$$t=\frac{(87.5723\frac{J}{ml})(1000\ mL)}{243.256281\ J/s}=\frac{87572.3\ J}{243.256281\ J/s}$$

t=360 s

**Anexo 2.** Determinación de la energía entregada y disipada etapa II

Posteriormente a las pruebas realizadas con leche se eligieron como mejores tratamientos los de 50% 6 min y 100% 4 min escalando el tiempo de sonicación a un volumen de 3000 mL para la elaboración de quesos.

Datos de tratamientos de 50% y 100%:

Amplitud:50% Potencia: 234.90 W

Ev:84.56 J/mL

Amplitud: 100% Potencia: 322.4 W

Ev: 77.38 J/mL

Entonces se procedió a calcular los tiempos de sonicación para cada tratamiento:

Para amplitud de 50%

P=234.90 W

Ev=84.56 Ws/mL

V= 3000 mL

Ecuación:

$$Ev=\frac{P\cdot t}{V}$$

Despejando:

$$t=\frac{Ev\cdot V}{P}$$

Sustituyendo:

$$t=\frac{(84.56\frac{J}{ml})(3000\ mL)}{234.9\ J/s}=\frac{253680\ J}{234.9\ J/s}$$

t=1080 s

Para amplitud 100%

P=322.4 W

Ev=77.38 Ws/mL

V= 3000 mL

Ecuación:

$$Ev=\frac{P\cdot t}{V}$$

Despejando:

$$t=\frac{Ev\cdot V}{P}$$

Sustituyendo:

$$t=\frac{(77.38\frac{J}{ml})(3000\ mL)}{322.4\ J/s}=\frac{232128\ J}{332.4\ J/s}$$

$$t=720\ s$$

Además se realizó el cálculo de la energía disipada en los diferentes tratamientos para la etapa I y II, se graficó la temperatura versus tiempo reportados por el sensor de temperatura y controlador acoplado al equipo (UPCCTRL V3.2 WIN, Hielscher, Teltow, Alemania), una vez graficado se encontró pendiente de los gráficos y se sustituyó en la Ecuación A1.

$$P=m\cdot Cp\cdot\frac{dT}{dt}$$

(Ec. A1)

Dónde:

m =masa del disolvente utilizado (g)

Cp = calor específico del disolvente (J $g^{-1}$ °$C^{-1}$).

dT= diferencial de temperatura (en °C)

dt=diferencial de tiempo (s)

El Cp fué estimado en basado en la composición y la temperatura de los componentes de la leche mediante el método de Choi y Okos (1986) con la Ecuación A2.

$$Cp=\sum_{i=1}^{n} CpiXi$$

(Ec. A2)

Dónde:

$X_i$ es la fracción en peso del componente i

n= número total de componentes en la leche

$Cp_i$ = calor específico del componente i

Los valores encontrados se reportan en las siguientes Tablas.

**Promedios de energía disipada en tratamientos de sonicación (Volumen = 1 L)**

**Tabla A.3.** Composición de leche en la etapa I

| Amplitud (%) | Grasa (%) | SNF (%) | Densidad ($g/cm^3$) | Lactosa (%) | Sólidos (%) | Proteína (%) | Agua añadida (%) | Temperatura (°C) | Punto de congelación (°C) | Humedad (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **50** | 3.0±0.00 | 8.35±0.10 | 1.029±0.66 | 4.59±0.05 | 0.69±0.01 | 2.32±0.02 | 0±0 | 22.13±1.47 | -0.531±0.00 | 88.65±0.10 |
| **75** | 3.0±0.00 | 8.37±0.03 | 1.029±0.11 | 4.60±0.01 | 0.69±0.00 | 2.32±0.01 | 0±0 | 21.71±0.49 | -0.529±0.00 | 88.63±0.02 |
| **100** | 3.01±0.01 | 8.48±0.04 | 1.029±0.07 | 4.66±0.02 | 0.69±0.01 | 2.33±0.01 | 0±0 | 21.48±0.66 | -0.536±0.00 | 88.51±0.04 |

**Tabla A.4.** Potencia dispada en la etapa I

| Amplitud (%) | Tiempo (s) | Masa (kg) | Cp ($J\ kg^{-1}{}^{o}C^{-1}$) | dT/dt (°C/s) | Energía disipada (W) |
|---|---|---|---|---|---|
| **50** | **120** | 1.0289±0.00 | 3707.91±4.02 | 0.0241±0.00 | 92.07±1.36 |
| | **240** | 1.0289±0.00 | 3708.67±4.02 | 0.0197±0.00 | 75.30±1.19 |
| | **360** | 1.0289±0.0 | 3709.46±4.03 | 0.0410±0.04 | 72.01±1.25 |
| **75** | **120** | 1.0289±0.00 | 3707.37±1.07 | 0.0315±0.00 | 120.16±3.25 |
| | **240** | 1.0289±0.00 | 3708.50±1.09 | 0.0274±0.00 | 104.55±0.37 |
| | **360** | 1.0289±0.00 | 3709.71±1.10 | 0.0267±0.00 | 101.79±0.46 |
| **100** | **120** | 1.0293±0.00 | 3702.39±1.55 | 0.0400±0.00 | 152.31±2.69 |
| | **240** | 1.0293±0.00 | 3704.09±1.57 | 0.0375±0.00 | 142.84±0.49 |
| | **360** | 1.0293±0.00 | 3705.89±1.58 | 0.0370±0.00 | 141.01±0.63 |

**Promedios de energía disipada en tratamientos de sonicación (Volumen = 3 L)**

**Tabla A.5.** Composición promedio de leche en Etapa II

| Amplitud (%) | **Grasa (%)** | **SNF (%)** | **Densidad ($g/cm^3$)** | **Lactosa (%)** | **Sólidos (%)** | **Proteína (%)** | **Temperatura °C** | **Punto de congelación (°C)** | **Humedad (%)** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | 3.00±0.01 | 8.38±0.09 | 1.03±0.00 | 4.61±0.06 | 0.69±0.01 | 2.29±0.05 | 22.61±0.60 | -0.53±0.01 | 88.62±0.08 |
| 100 | 3.00±0.00 | 8.48±0.00 | 1.03±0.01 | 4.65±0.00 | 0.69±0.00 | 2.32±0.00 | 22.50±0.20 | -0.54±0.00 | 88.52±0.01 |

**Tabla A.6.** Potencia dispada en Etapa II

| **Amplitud (%)** | **Tiempo (s)** | **Masa (kg)** | **Cp ($J\ kg^{-1}°C^{-1}$)** | **dT/dt (°C/s)** | **Energía disipada (W)** | **Energía efectiva (W)** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **50** | **1080** | 3.09±0.00 | 3704.47±0.73 | 0.012±0.00 | 68.19±0.67 | 26461.76±1.23 |
| **100** | **720** | 3.08±0.00 | 3705.40±0.37 | 0.006±0.00 | 138.69±0.65 | 27957.28±0.98 |

## **Anexo 3.** Protocolo de elaboración de queso tipo Mozzarella

La leche fresca obtenida de un proveedor local fue sometida a un control de acidez y pH para comprobar se encontrará dentro de los parámetros de aceptación, posteriormente fue estandarizada al 3% de contenido inicial de grasa y sometida al tratamiento de US y posterior pasteurización a 63 °C por 30 min para evitar la contaminación del queso por microorganismos.

Después del TT se colocaron 3 L de leche en el inserto de acero inoxidable de 4 L dentro de un baño de agitación y al llegar a 37 °C se adicionó el cultivo liofilizado (S*treptococcus thermophilus* STI-14, CHR-HANSEN, México) en la proporción indicada por el proveedor; una vez adicionado la leche se agitó suavemente para mezclar bien el cultivo

Antes de agregar el cuajo se adicionó $CaCl_2$ para reponer el calcio perdido durante la pasteurización y para favorecer la precipitación de la CN (proteína); se agregaron 0.2 gramos de $CaCl_2$ grado alimenticio por cada litro de leche. A continuación se adicionó el cuajo (prediluido en 20 mL de agua potable) en la proporción especificada por CHR-HANSEN (1 mL/10,000 litros); se agito inmediatamente después de agregar el cuajo. Después de 30-40 min de haber adicionado el cuajo se obtuvo una cuajada elástica, suave, homogénea y que fue cortada con liras de acero inoxidable (Figura A.1A) con una apertura de 1.5 cm y se dejó reposar por 10 min para posteriormente realizar el trabajo de grano (Figura A.1B) que consiste en la agitación de la cuajada por 15 min incrementando la temperatura a 40 °C durante ese lapso de tiempo.

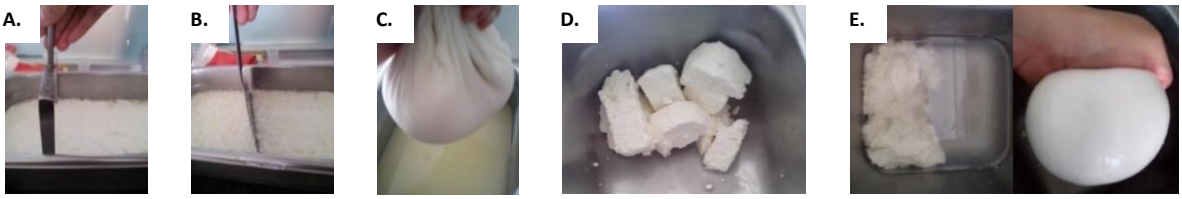



**Figura A1.** Descripción gráfica de operaciones críticas durante elaboración de queso Mozzarella a pequeña escala

**A.** Corte de cuajada**, B.** Trabajo de grano, **C.** Desuerado, **D.** Acidificación de la cuajada**, E.** Fundido en pasta y moldeado

Acto seguido se procedió al desuerado (Figura A.1C) empleando manta de cielo y recolectando los sólidos finos y el suero obtenido para calcular el rendimiento obtenido en cada queso; posteriormente se cortó la cuajada en cubos (Figura A.1D) y se dejó reposaran para continuar la extracción del suero, hasta que la masa adquirió un pH de 5.2-5.3.

.

Una vez alcanzado el pH se sumergió la cuajada en agua (72-80 °C), durante 2 minutos(Figura A.1E) dentro del agua para que se ablandara, al cabo de los cuales se retiró del agua, se amasó y se volvió a colocar en el agua para que se conserve caliente, cuando mostró brillo y plasticidad se moldeó manualmente (Figura A.1F).

Una vez que la cuajada adquirió la forma deseada, se sumergió en agua fría (10°C) con la finalidad de frenar acción de cuajo y del cultivo y para permitir que adoptara mejor la forma del molde y se agregó sal por frotación al 2% respecto al peso obtenido; posteriormente se dejó reposar durante diez min para que se oree.

Finalmente fue empaquetado en bolsas de polipropileno y conservado en refrigeración hasta los respectivos días de análisis.

**Anexo 4.** Composición del queso tipo Mozzarella *Esmeralda*

**Figura A.2.** Queso Mozzarella comercial Esmelda

**Ingredientes:**

Leche parcialmente descremada pasteurizada de vaca, sal yodada, cloruro de calcio, cuajo, cultivos lácticos.

**Composición:**

Energía (kcal): 90.4 kcal

Tamaño de la porción: 30 g

Porciones por envase: 13.33

| Composición | Porcentaje por porción (%) |
|---|---|
| Proteínas | 20 |
| Grasa total | 24 |
| Grasa saturada | 20 |
| Carbohidratos | 1.33 |
| Azucares totales | 0 |
| Sodio | 0.68 |
| Humedad | 48% |

**Anexo 5.** Formato de prueba para análisis sensorial de muestras representativas

**QUESO TIPO MOZZARELLA**

**Nombre:** _____ **Fecha:** _____

Frente a usted hay tres muestras de queso tipo Mozzarella, evalué cada muestra de acuerdo a los diferentes términos (cada término incluye el procedimiento para la manipulación de la muestra), indique con el número de referencia de la muestra sobre la escala, el nivel de intensidad que represente su evaluación.

**1. Textura de la superficie.** Perciba la superficie de la muestra con los labios y la lengua y valore:

**Geometría de superficie.** Cantidad de partículas pequeñas y grandes en la superficie.

Liso — Rugoso

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**Humedad.** Cantidad de aceitosidad en la superficie.

Seco — Aceitoso

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**2. Compresión parcial.** Comprime parcialmente con los labios una proporción de la muestra sin romper y libera, evalúa:

**Elasticidad.** Grado en la cual la muestra regresa a su forma original después de cierto periodo de tiempo.

Ninguna recuperación (Añejo) — Muy elástico (Manchego)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**3. Primera mordida.** Muerde el cubo de muestra con los incisivos y aprecie:

**Dureza.** Fuerza necesaria para morder la muestra.

Suave (Queso amarillo) — Duro (Queso Cheddar, Parmesano)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**Cohesividad.** Cantidad de muestra que no se deforma y se rompe.

Baja Cohesividad (Mantecada bimbo) — Alta Cohesividad (Chicle)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**Geometría.** Cantidad de las partículas resultantes de la mordedura, o detectada en el centro de la muestra.

Ninguno — Muy granular

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**4. Primer Mastique.** Muerde el cubo de muestra con los molares y estima

**Dureza.** Fuerza necesaria para morder la muestra.

Muy suave — Muy duro

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**Cohesividad.** Cantidad de muestra que no se deforma y se rompe.

Rompe — Deforma

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**Adhesividad.** Fuerza requerida para retirar la muestra de muelas.

Muy pegajoso (Pan bimbo) — No pegajoso

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**5. Durante la masticación.** Mastique muestra con molares lo suficiente para mezclar la muestra con la saliva y formar una masa y valore:

**Absorción de la humedad.** Cantidad de saliva absorbida por el producto.

Ninguna (Jugo) — Toda (Pan seco)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**Cohesividad en masa.** Grado en el que la muestra se mantiene unido en una masa.

Masa suelta (Mantecada bimbo) — Masa compacta (Chicle)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**Adhesividad en la boca.** Grado en el que se pega la masa al paladar o los dientes.

No pegajoso — Muy pegajosa

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**6. Residual.** Por favor, traga la muestra y evalúa:

**Geometría.** Cantidad de partículas queda en la boca.

Ninguno — Mucho

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**Recubrimiento de grasa en la boca.** Cantidad de aceite restante en las superficies bucales.

Ninguno — Mucho

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Comentarios:_____

_____

_____

_____

_____

_____

**Anexo 6.** ANALISIS DE LA VARIANZA (ANOVA)

**Anexo 6.1** ANOVA de tamaño de partícula vs tratamiento de TS de la leche entera

Method

| | |
|---|---|
| Null hypothesis | All means are equal |
| Alternative hypothesis | At least one mean is different |
| Significance level | α = 0.05 |

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 7 | Control, T1, T2, T3, T4, T5, T6 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 6 | 10.781 | 1.7969 | 5.50 | 0.021 |
| Error | 7 | 2.286 | 0.3266 | | |
| Total | 13 | 13.067 | | | |

Model Summary

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.571496 | 82.50% | 67.51% | 30.02% |

Means

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| Control | 2 | 5.2900 | 0.0566 | ( 4.3344, 6.2456) |
| T1 | 2 | 5.08500 | 0.00707 | (4.12944, 6.04056) |
| T2 | 2 | 5.095 | 0.191 | ( 4.139, 6.051) |
| T3 | 2 | 4.180 | 0.622 | ( 3.224, 5.136) |
| T4 | 2 | 4.365 | 1.308 | ( 3.409, 5.321) |
| T5 | 2 | 3.3950 | 0.1344 | ( 2.4394, 4.3506) |
| T6 | 2 | 2.775 | 0.361 | ( 1.819, 3.731) |

Pooled StDev = 0.571496

**Dunnett Multiple Comparisons with a Control**

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| Control (control) | 2 | 5.2900 | A |
| T2 | 2 | 5.095 | A |
| T1 | 2 | 5.08500 | A |
| T4 | 2 | 4.365 | A |
| T3 | 2 | 4.180 | A |
| T5 | 2 | 3.3950 | A |
| T6 | 2 | 2.775 | |

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

**Dunnett Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.2** ANOVA de tamaño de partícula vs amplitud y tiempo de TS de la leche entera

```
Method
Factor coding  (-1, 0, +1)

Factor Information
Factor  Type   Levels  Values
time    Fixed       3  2, 4, 6
amp     Fixed       2  50, 100

Analysis of Variance
Source         DF   Adj SS  Adj MS  F-Value  P-Value
  time          2   3.1676  1.5838     4.54    0.048
  amp           1   4.8769  4.8769    13.99    0.006
Error           8   2.7886  0.3486
  Lack-of-Fit   2   0.5055  0.2528     0.66    0.549
  Pure Error    6   2.2831  0.3805
Total          11  10.8331

Model Summary
       S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
0.590402  74.26%     64.61%      42.08%

Coefficients
Term       Coef  SE Coef  T-Value  P-Value   VIF
Constant  4.149    0.170    24.34    0.000
time
  2       0.576    0.241     2.39    0.044  1.33
  4       0.096    0.241     0.40    0.701  1.33
amp
  50      0.638    0.170     3.74    0.006  1.00

Regression Equation
    Tamaño de partícula = 4.149 + 0.576 time_2 + 0.096 time_4 - 0.672 time_6
                          + 0.638 amp_50 - 0.638 amp_100

Fits and Diagnostics for Unusual Observations
     Tamaño de                  Std
Obs  partícula    Fit  Resid  Resid
  7      5.290  4.088  1.202   2.49  R
R  Large residual
```

**Comparisons for Tamaño de partícula**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = Tamaño de partícula, Term = time**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
time  N    Mean  Grouping
2     4  4.7250  A
4     4  4.2450  A      B
6     4  3.4775         B
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = Tamaño de partícula, Term = amp**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
amp  N     Mean  Grouping
50   6  4.78667  A
100  6  3.51167         B
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.3** ANOVA del percentil 10 vs tratamiento de TS de la leche entera

```
Method
Null hypothesis         All means are equal
Alternative hypothesis  At least one mean is different
Significance level      α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.


Factor Information
Factor  Levels  Values
Trat         7  Control, T1, T2, T3, T4, T5, T6


Analysis of Variance
Source  DF    Adj SS    Adj MS  F-Value  P-Value
Trat     6  0.009986  0.001664    13.71    0.001
Error    7  0.000850  0.000121
Total   13  0.010836


Model Summary
        S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
0.0110195  92.16%     85.43%      68.62%


Means
Trat     N     Mean    StDev        95% CI
Control  2   0.1300   0.0141  ( 0.1116,  0.1484)
T1       2   0.1300   0.0141  ( 0.1116,  0.1484)
T2       2  0.14500  0.00707  (0.12657, 0.16343)
T3       2   0.1600   0.0141  ( 0.1416,  0.1784)
T4       2   0.1500   0.0141  ( 0.1316,  0.1684)
T5       2   0.1800   0.0000  ( 0.1616,  0.1984)
T6       2   0.2100   0.0000  ( 0.1916,  0.2284)
Pooled StDev = 0.0110195
```

**Dunnett Multiple Comparisons with a Control**

```
Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence
Trat               N     Mean  Grouping
Control (control)  2   0.1300  A
T6                 2   0.2100
T5                 2   0.1800
T3                 2   0.1600  A
T4                 2   0.1500  A
T2                 2  0.14500  A
T1                 2   0.1300  A

Means not labeled with the letter A are significantly different from the
control level mean.
```

**Dunnett Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.4** ANOVA del percentil 10 vs amplitud y tiempo de TS de la leche entera

Method
Factor coding (-1, 0, +1)

Factor Information

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| Amplitud | Fixed | 2 | 50, 100 |
| Tiempo | Fixed | 3 | 2, 4, 6 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Amplitud | 1 | 0.003675 | 0.003675 | 26.73 | 0.001 |
| Tiempo | 2 | 0.004050 | 0.002025 | 14.73 | 0.002 |
| Error | 8 | 0.001100 | 0.000137 | | |
| Lack-of-Fit | 2 | 0.000450 | 0.000225 | 2.08 | 0.206 |
| Pure Error | 6 | 0.000650 | 0.000108 | | |
| Total | 11 | 0.008825 | | | |

Model Summary

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0117260 | 87.54% | 82.86% | 71.95% |

Coefficients

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 0.16250 | 0.00339 | 48.01 | 0.000 | |
| amplitud | | | | | |
| 50 | -0.01750 | 0.00339 | -5.17 | 0.001 | 1.00 |
| tiempo | | | | | |
| 2 | -0.02250 | 0.00479 | -4.70 | 0.002 | 1.33 |
| 4 | -0.00000 | 0.00479 | -0.00 | 1.000 | 1.33 |

Regression Equation

d10 = 0.16250 - 0.01750 amplitud_50 + 0.01750 amplitud_100 - 0.02250 tiempo_2 - 0.00000 tiempo_4 + 0.02250 tiempo_6

**Comparisons for d10**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = d10, Term = amplitud_1**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Amplitud | N | Mean | Grouping | |
|---|---|---|---|---|
| 100 | 6 | 0.180 | A | |
| 50 | 6 | 0.145 | | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = d10, Term = tiempo_1**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tiempo | N | Mean | Grouping | |
|---|---|---|---|---|
| 6 | 4 | 0.1850 | A | |
| 4 | 4 | 0.1625 | A | B |
| 2 | 4 | 0.1400 | | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.5.** ANOVA del percentil 50 vs tratamiento de TS de la leche entera

```
Method
Null hypothesis         All means are equal
Alternative hypothesis  At least one mean is different
Significance level      α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.


Factor Information
Factor  Levels  Values
Trat         7  Control, T1, T2, T3, T4, T5, T6


Analysis of Variance
Source  DF    Adj SS    Adj MS  F-Value  P-Value
Trat     6  0.059086  0.009848     9.32    0.005
Error    7  0.007400  0.001057
Total   13  0.066486


Model Summary
        S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
0.0325137  88.87%     79.33%      55.48%

Means
Trat     N     Mean    StDev        95% CI
Control  2  0.31500  0.00707  (0.26064, 0.36936)
T1       2   0.3400   0.0283  ( 0.2856,  0.3944)
T2       2   0.4000   0.0424  ( 0.3456,  0.4544)
T3       2  0.45500  0.00707  (0.40064, 0.50936)
T4       2   0.4050   0.0212  ( 0.3506,  0.4594)
T5       2   0.5150   0.0636  ( 0.4606,  0.5694)
T6       2   0.4600   0.0141  ( 0.4056,  0.5144)
Pooled StDev = 0.0325137
```

**Dunnett Multiple Comparisons with a Control**

```
Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence
Trat               N     Mean  Grouping
Control (control)  2  0.31500  A
T5                 2   0.5150
T6                 2   0.4600
T3                 2  0.45500
T4                 2   0.4050  A
T2                 2   0.4000  A
T1                 2   0.3400  A

Means not labeled with the letter A are significantly different from the
control level mean.
```

**Dunnett Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.6** ANOVA del percentil 50 vs amplitud y tiempo de TS de la leche entera

```
Method
Factor coding  (-1, 0, +1)

Factor Information
Factor      Type   Levels  Values
Amplitud    Fixed       2  50, 100
Tiempo      Fixed       3  2, 4, 6

Analysis of Variance
Source         DF    Adj SS    Adj MS  F-Value  P-Value
  Amplitud      1  0.011408  0.011408     6.80    0.031
  Tiempo        2  0.019267  0.009633     5.74    0.028
Error           8  0.013417  0.001677
  Lack-of-Fit   2  0.006067  0.003033     2.48    0.164
  Pure Error    6  0.007350  0.001225
Total          11  0.044092

Model Summary
        S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
0.0409522  69.57%     58.16%      31.53%

Coefficients
Term           Coef  SE Coef  T-Value  P-Value   VIF
Constant     0.4292   0.0118    36.30    0.000
amplitud
  50        -0.0308   0.0118    -2.61    0.031  1.00
tiempo
  2         -0.0567   0.0167    -3.39    0.010  1.33
  4          0.0283   0.0167     1.69    0.129  1.33

Regression Equation
   d50 = 0.4292 - 0.0308 amplitud_1_50 + 0.0308 amplitud_100 - 0.0567 tiempo_2
                      + 0.0283 tiempo_4 + 0.0283 tiempo_6

Fits and Diagnostics for Unusual Observations
                                Std
Obs     d50     Fit   Resid  Resid
  9  0.5600  0.4883  0.0717   2.14  R
R  Large residual
```

**Comparisons for d50**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = d50, Term = amplitud_1**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
Amplitud    N      Mean  Grouping
100         6  0.460000  A
50          6  0.398333         B
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = d50, Term = tiempo_1**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
Tiempo    N    Mean  Grouping
6         4  0.4575  A
4         4  0.4575  A
2         4  0.3725         B
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.7.** ANOVA del percentil 90 vs tratamiento de TS de la leche entera

Method

| | |
|---|---|
| Null hypothesis | All means are equal |
| Alternative hypothesis | At least one mean is different |
| Significance level | α = 0.05 |

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Trat | 7 | Control, T1, T2, T3, T4, T5, T6 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Trat | 6 | 6.9992 | 1.1665 | 10.25 | 0.004 |
| Error | 7 | 0.7963 | 0.1138 | | |
| Total | 13 | 7.7955 | | | |

Model Summary

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.337279 | 89.79% | 81.03% | 59.14% |

Means

| Trat | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| Control | 2 | 4.325 | 0.276 | ( 3.761, 4.889) |
| T1 | 2 | 3.5850 | 0.1344 | (3.0211, 4.1489) |
| T2 | 2 | 3.045 | 0.587 | ( 2.481, 3.609) |
| T3 | 2 | 3.0450 | 0.0212 | (2.4811, 3.6089) |
| T4 | 2 | 2.755 | 0.163 | ( 2.191, 3.319) |
| T5 | 2 | 2.855 | 0.205 | ( 2.291, 3.419) |
| T6 | 2 | 1.840 | 0.537 | ( 1.276, 2.404) |

Pooled StDev = 0.337279

**Dunnett Multiple Comparisons with a Control**

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

| Trat | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| Control (control) | 2 | 4.325 | A |
| T1 | 2 | 3.5850 | A |
| T3 | 2 | 3.0450 | |
| T2 | 2 | 3.045 | |
| T5 | 2 | 2.855 | |
| T4 | 2 | 2.755 | |
| T6 | 2 | 1.840 | |

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

**Dunnett Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.8.** ANOVA del percentil 90 vs amplitud y tiempo de TS de la leche entera

```
Method
Factor coding  (-1, 0, +1)

Factor Information
Factor      Type   Levels  Values
Amplitud    Fixed       2  50, 100
Tiempo      Fixed       3  2, 4, 6

Analysis of Variance
Source         DF  Adj SS  Adj MS  F-Value  P-Value
  Amplitud      1  1.6502  1.6502    10.59    0.012
  Tiempo        2  1.1136  0.5568     3.57    0.078
Error           8  1.2471  0.1559
  Lack-of-Fit   2  0.5268  0.2634     2.19    0.193
  Pure Error    6  0.7203  0.1200
Total          11  4.0109

Model Summary
       S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
0.394821  68.91%     57.25%      30.04%

Coefficients
Term         Coef  SE Coef  T-Value  P-Value   VIF
Constant    2.854    0.114    25.04    0.000
amplitud
  50        0.371    0.114     3.25    0.012  1.00
tiempo
  2         0.316    0.161     1.96    0.086  1.33
  4         0.096    0.161     0.59    0.569  1.33

Regression Equation
 d90 = 2.854 + 0.371 amplitud_1_50 - 0.371 amplitud_1_100 + 0.316 tiempo_1_2
                   + 0.096 tiempo_1_4 - 0.412 tiempo_1_6

Fits and Diagnostics for Unusual Observations
Obs    d90    Fit   Resid  Std Resid
  3  2.630  3.321  -0.691      -2.14  R
R  Large residual
```

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = d90, Term = amplitud_1**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
Amplitud    N     Mean  Grouping
50          6  3.22500  A
100         6  2.48333         B
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = d90, Term = tiempo_1**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
Tiempo    N    Mean  Grouping
2         4  3.1700  A
4         4  2.9500  A
6         4  2.4425  A
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.9.** ANOVA de acidez vs tratamiento de TS de la leche entera

Method
Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 10 | Control, Trat 1, Trat 2, Trat 3, Trat 4, Trat 5, Trat 6, Trat 7, Trat 8,Trat 9 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 9 | 0.001164 | 0.000129 | 1.09 | 0.448 |
| Error | 9 | 0.001064 | 0.000118 | | |
| Total | 18 | 0.002228 | | | |

Model Summary

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0108748 | 52.23% | 4.46% | * |

Means

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| Control | 1 | 0.1580 | * | ( 0.1334, 0.1826) |
| Trat 1 | 2 | 0.185750 | 0.001061 | (0.168355, 0.203145) |
| Trat 2 | 2 | 0.1770 | 0.0170 | ( 0.1596, 0.1944) |
| Trat 3 | 2 | 0.1736 | 0.0183 | ( 0.1562, 0.1910) |
| Trat 4 | 2 | 0.18750 | 0.00354 | ( 0.17010, 0.20490) |
| Trat 5 | 2 | 0.18250 | 0.01061 | ( 0.16510, 0.19990) |
| Trat 6 | 2 | 0.173500 | 0.000707 | (0.156105, 0.190895) |
| Trat 7 | 2 | 0.1913 | 0.0159 | ( 0.1739, 0.2086) |
| Trat 8 | 2 | 0.18500 | 0.00707 | ( 0.16760, 0.20240) |
| Trat 9 | 2 | 0.18250 | 0.00354 | ( 0.16510, 0.19990) |

Pooled StDev = 0.0108748

**Dunnett Multiple Comparisons with a Control**

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| Control (control) | 1 | 0.1580 | A |
| Trat 7 | 2 | 0.1913 | A |
| Trat 4 | 2 | 0.18750 | A |
| Trat 1 | 2 | 0.185750 | A |
| Trat 8 | 2 | 0.18500 | A |
| Trat 9 | 2 | 0.18250 | A |
| Trat 5 | 2 | 0.18250 | A |
| Trat 2 | 2 | 0.1770 | A |
| Trat 3 | 2 | 0.1736 | A |
| Trat 6 | 2 | 0.173500 | A |

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

**Dunnett Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.10.** ANOVA de acidez vs amplitud y tiempo de TS de la leche entera

```
Method
Factor coding  (-1, 0, +1)

Factor Information
Factor    Type   Levels  Values
amplitud  Fixed       3  50.00%, 75.00%, 100.00%
tiempo    Fixed       3  2, 4, 6

Analysis of Variance
Source         DF    Adj SS    Adj MS  F-Value  P-Value
  amplitud      2  0.000175  0.000087     1.04    0.382
  tiempo        2  0.000409  0.000205     2.43    0.127
Error          13  0.001095  0.000084
  Lack-of-Fit   4  0.000031  0.000008     0.07    0.991
  Pure Error    9  0.001064  0.000118
Total          17  0.001679

Model Summary
        S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
0.0091785  34.79%     14.73%       0.00%

Coefficients
Term          Coef  SE Coef  T-Value  P-Value   VIF
Constant   0.18206  0.00216    84.16    0.000
amplitud
  50     -0.00329  0.00306    -1.07    0.302  1.33
  75     -0.00090  0.00306    -0.29    0.774  1.33
tiempo
  2        0.00610  0.00306     1.99    0.067  1.33
  4       -0.00056  0.00306    -0.18    0.857  1.33

Regression Equation
         % acidez = 0.18206-0.00329 amplitud_50-0.00090 amplitud_75
  +0.00419 amplitud_100+0.00610 tiempo_2-0.00056 tiempo_4-0.00554 tiempo_6
```

**Comparisons for % acidez**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = % acidez, Term = amplitud**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
amplitud  N      Mean  Grouping
100.00%   6  0.186250  A
75.00%    6  0.181167  A
50.00%    6  0.178775  A
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = % acidez, Term = tiempo**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
tiempo  N      Mean  Grouping
2       6  0.188167  A
4       6  0.181500  A
6       6  0.176525  A
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.11.** ANOVA de pH vs tratamiento de TS de la leche entera

```
Method
Null hypothesis         All means are equal
Alternative hypothesis  At least one mean is different
Significance level      α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information
Factor  Levels  Values
Trat        11  Control, T 1, T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9
Analysis of Variance
Source  DF    Adj SS    Adj MS  F-Value  P-Value
Trat    10  0.036161  0.003616     4.33    0.019
Error    9  0.007513  0.000835
Total   19  0.043674

Model Summary
        S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
0.0288916  82.80%     63.69%           *

Means
Trat     N     Mean    StDev        95% CI
Control  2  6.64500  0.00707  (6.59879, 6.69121)
T 1      1    6.530        *  (  6.465,   6.595)
T1       1    6.520        *  (  6.455,   6.585)
T2       2   6.5600   0.0424  ( 6.5138,  6.6062)
T3       2   6.5450   0.0495  ( 6.4988,  6.5912)
T4       2   6.5550   0.0495  ( 6.5088,  6.6012)
T5       2   6.4950   0.0212  ( 6.4488,  6.5412)
T6       2  6.51500  0.00707  (6.46879, 6.56121)
T7       2  6.53500  0.00707  (6.48879, 6.58121)
T8       2   6.5600   0.0141  ( 6.5138,  6.6062)
T9       2  6.61250  0.00354  (6.56629, 6.65871)
Pooled StDev = 0.0288916
```

**Dunnett Multiple Comparisons with a Control**

```
Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence
Trat               N     Mean  Grouping
Control (control)  2  6.64500  A
T9                 2  6.61250  A
T8                 2   6.5600  A
T2                 2   6.5600  A
T4                 2   6.5550  A
T3                 2   6.5450
T7                 2  6.53500
T 1                1    6.530  A
T1                 1    6.520
T6                 2  6.51500
T5                 2   6.4950
Means not labeled with the letter A are significantly different from the
control level mean.
```

**Dunnett Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.12.** ANOVA de pH vs amplitud y tiempo de TS de la leche entera

```
Method
Factor coding  (-1, 0, +1)

Factor Information
Factor  Type   Levels  Values
amp     Fixed       3  50, 75, 100
time    Fixed       3  2, 4, 6

Analysis of Variance
Source         DF    Adj SS    Adj MS  F-Value  P-Value
  amp           2  0.006786  0.003393     2.55    0.116
  time          2  0.001469  0.000735     0.55    0.588
Error          13  0.017268  0.001328
  Lack-of-Fit   4  0.009756  0.002439     2.92    0.084
  Pure Error    9  0.007513  0.000835
Total          17  0.025524

Model Summary
        S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
0.0364460  32.34%     11.53%       0.00%

Coefficients
Term         Coef  SE Coef  T-Value  P-Value   VIF
Constant  6.54472  0.00859   761.86    0.000
amp
   50    -0.0014   0.0121    -0.11    0.911  1.33
   75    -0.0231   0.0121    -1.90    0.080  1.33
time
  2       -0.0064   0.0121    -0.53    0.608  1.33
  4       -0.0064   0.0121    -0.53    0.608  1.33

Regression Equation
  ph = 6.54472 - 0.0014 amp_50 - 0.0231 amp_75 + 0.0244 amp_100 - 0.0064 time_2
                         - 0.0064 time_4 + 0.0128 time_6

Fits and Diagnostics for Unusual Observations
                                Std
Obs      ph     Fit   Resid  Resid
  8  6.5900  6.5153  0.0747   2.41  R
R  Large residual
```

**Comparisons for ph**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = ph, Term = amp**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
amp   N     Mean  Grouping
1.00  6  6.56917  A
0.50  6  6.54333  A
0.75  6  6.52167  A
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = ph, Term = time**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
time  N     Mean  Grouping
6     6  6.55750  A
2     6  6.53833  A
4     6  6.53833  A
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.13.** ANOVA de CRA vs tratamiento de TS de la leche entera

Method

| | |
|---|---|
| Null hypothesis | All means are equal |
| Alternative hypothesis | At least one mean is different |
| Significance level | α = 0.05 |

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 10 | Control, T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 9 | 110.907 | 12.3230 | 17.33 | 0.000 |
| Error | 10 | 7.110 | 0.7110 | | |
| Total | 19 | 118.017 | | | |

Model Summary

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.843185 | 93.98% | 88.55% | 75.90% |

Means

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| Control | 2 | 52.336 | 0.390 | ( 51.008, 53.665) |
| T1 | 2 | 54.612 | 0.757 | ( 53.283, 55.940) |
| T2 | 2 | 58.41 | 1.65 | ( 57.08, 59.74) |
| T3 | 2 | 58.865 | 0.177 | ( 57.537, 60.194) |
| T4 | 2 | 57.554 | 0.984 | ( 56.226, 58.883) |
| T5 | 2 | 57.569 | 0.707 | ( 56.240, 58.897) |
| T6 | 2 | 59.714 | 0.378 | ( 58.385, 61.042) |
| T7 | 2 | 57.462 | 1.252 | ( 56.133, 58.790) |
| T8 | 2 | 59.0725 | 0.0554 | (57.7440, 60.4009) |
| T9 | 2 | 60.748 | 0.658 | ( 59.420, 62.076) |

Pooled StDev = 0.843185

**Dunnett Multiple Comparisons with a Control**

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| Control (control) | 2 | 52.336 | A |
| T9 | 2 | 60.748 | |
| T6 | 2 | 59.714 | |
| T8 | 2 | 59.0725 | |
| T3 | 2 | 58.865 | |
| T2 | 2 | 58.41 | |
| T5 | 2 | 57.569 | |
| T4 | 2 | 57.554 | |
| T7 | 2 | 57.462 | |
| T1 | 2 | 54.612 | A |

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

**Dunnett Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.14.** ANOVA de CRA vs amplitud y tiempo de TS de la leche entera

```
Method
Factor coding  (-1, 0, +1)

Factor Information
Factor  Type   Levels  Values
time    Fixed       3  2, 4, 6
amp     Fixed       3  50, 75, 100

Analysis of Variance
Source         DF  Adj SS   Adj MS  F-Value  P-Value
  time          2  31.507  15.7536    14.37    0.001
  amp           2   9.725   4.8624     4.43    0.034
Error          13  14.256   1.0966
  Lack-of-Fit   4   7.298   1.8246     2.36    0.131
  Pure Error    9   6.957   0.7730
Total          17  55.488

Model Summary
      S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
1.04719  74.31%     66.40%      50.74%

coefficients
Term        Coef  SE Coef  T-Value  P-Value   VIF
Constant  58.223    0.247   235.89    0.000
time
  2       -1.681    0.349    -4.81    0.000  1.33
  4        0.128    0.349     0.37    0.720  1.33
amp
  50      -0.927    0.349    -2.66    0.020  1.33
  75       0.056    0.349     0.16    0.875  1.33

Regression Equation
    CRA = 58.223 - 1.681 time_2 + 0.128 time_4 + 1.553 time_6 - 0.927 amp_50
                         + 0.056 amp_75+ 0.871 amp_100

Fits and Diagnostics for Unusual Observations
                              Std
Obs     CRA     Fit  Resid  Resid
  3  59.582  57.424  2.158   2.42  R
R  Large residual
```

**Comparisons for CRA**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = CRA, Term = time**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
time  N     Mean  Grouping
6     6  59.7757  A
4     6  58.3509  A
2     6  56.5425         B
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = CRA, Term = amp**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
amp  N     Mean  Grouping
100  6  59.0940  A
75   6  58.2789  A      B
50   6  57.2962         B
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.15.** ANOVA de FG vs tratamiento de TS de la leche entera

Method
Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| amplitud | 10 | Control, T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| amplitud | 9 | 106.314 | 11.8126 | 29.61 | 0.000 |
| Error | 10 | 3.989 | 0.3989 | | |
| Total | 19 | 110.302 | | | |

Model Summary

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.631565 | 96.38% | 93.13% | 85.54% |

Means

| amplitud | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| Control | 2 | 13.523 | 0.522 | (12.528, 14.518) |
| T1 | 2 | 12.846 | 0.793 | (11.851, 13.841) |
| T2 | 2 | 11.983 | 0.741 | (10.988, 12.978) |
| T3 | 2 | 9.600 | 0.607 | ( 8.605, 10.595) |
| T4 | 2 | 9.794 | 0.873 | ( 8.799, 10.789) |
| T5 | 2 | 9.682 | 0.745 | ( 8.687, 10.678) |
| T6 | 2 | 8.587 | 0.433 | ( 7.592, 9.582) |
| T7 | 2 | 12.263 | 0.785 | (11.267, 13.258) |
| T8 | 2 | 6.8614 | 0.0219 | (5.8664, 7.8565) |
| T9 | 2 | 6.574 | 0.221 | ( 5.579, 7.569) |

Pooled StDev = 0.631565

**Dunnett Multiple Comparisons with a Control**

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

| amplitud | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| Control (control) | 2 | 13.523 | A |
| T1 | 2 | 12.846 | A |
| T7 | 2 | 12.263 | A |
| T2 | 2 | 11.983 | A |
| T4 | 2 | 9.794 | |
| T5 | 2 | 9.682 | |
| T3 | 2 | 9.600 | |
| T6 | 2 | 8.587 | |
| T8 | 2 | 6.8614 | |
| T9 | 2 | 6.574 | |

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

**Dunnett Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.16.** ANOVA de FG vs amplitud y tiempo de TS de la leche entera

```
Method
Factor coding  (-1, 0, +1)

Factor Information
Factor  Type   Levels  Values
time    Fixed       3  2, 4, 6
amp     Fixed       3  50, 75, 100

Analysis of Variance
Source         DF  Adj SS   Adj MS  F-Value  P-Value
  time          2  35.040  17.5198     9.97    0.002
  amp           2  27.191  13.5955     7.74    0.006
Error          13  22.838   1.7568
  Lack-of-Fit   4  19.122   4.7805    11.58    0.001
  Pure Error    9   3.716   0.4129
Total          17  85.069

Model Summary
      S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
1.32544  73.15%     64.89%      48.53%

Coefficients
Term        Coef  SE Coef  T-Value  P-Value   VIF
Constant   9.799    0.312    31.37    0.000
time
  2        1.835    0.442     4.15    0.001  1.33
  4       -0.290    0.442    -0.66    0.523  1.33
amp
  50   1.677    0.442     3.80    0.002  1.33
  75  -0.444    0.442    -1.01    0.333  1.33

Regression Equation
    FG = 9.799 + 1.835 time_2 - 0.290 time_4 - 1.545 time_6 + 1.677 amp_50-
                           0.444 amp_75 - 1.233 amp_100

Fits and Diagnostics for Unusual Observations
     firmeza                   Std
Obs   de gel     Fit  Resid  Resid
 13   12.818  10.401  2.417   2.15  R
R  Large residual
```

**Comparisons for FG**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = FG, Term = time**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
time  N     Mean  Grouping
2     6  11.6342  A
4     6   9.5090         B
6     6   8.2537         B
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = FG, Term = amp**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
amp      N     Mean  Grouping
50.00%   6  11.4764  A
75.00%   6   9.3546         B
100.00%  6   8.5658         B
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.17.** ANOVA de TC vs tratamiento de TS de la leche entera

Method

| | |
|---|---|
| Null hypothesis | All means are equal |
| Alternative hypothesis | At least one mean is different |
| Significance level | α = 0.05 |

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Trat | 10 | Control, T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Trat | 9 | 18.43 | 2.047 | 1.49 | 0.271 |
| Error | 10 | 13.74 | 1.374 | | |
| Total | 19 | 32.17 | | | |

Model Summary

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 1.17223 | 57.28% | 18.84% | 0.00% |

Means

| Trat | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| Control | 2 | 13.965 | 0.474 | ( 12.118, 15.812) |
| T1 | 2 | 13.6225 | 0.1379 | (11.7756, 15.4694) |
| T2 | 2 | 11.820 | 0.948 | ( 9.973, 13.667) |
| T3 | 2 | 10.77 | 3.48 | ( 8.92, 12.61) |
| T4 | 2 | 13.265 | 0.247 | ( 11.418, 15.112) |
| T5 | 2 | 13.0900 | 0.0849 | (11.2431, 14.9369) |
| T6 | 2 | 12.758 | 0.315 | ( 10.911, 14.604) |
| T7 | 2 | 12.1750 | 0.0566 | (10.3281, 14.0219) |
| T8 | 2 | 11.803 | 0.378 | ( 9.956, 13.649) |
| T9 | 2 | 11.638 | 0.428 | ( 9.791, 13.484) |

Pooled StDev = 1.17223

**Dunnett Multiple Comparisons with a Control**

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

| Trat | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| Control (control) | 2 | 13.965 | A |
| T1 | 2 | 13.6225 | A |
| T4 | 2 | 13.265 | A |
| T5 | 2 | 13.0900 | A |
| T6 | 2 | 12.758 | A |
| T7 | 2 | 12.1750 | A |
| T2 | 2 | 11.820 | A |
| T8 | 2 | 11.803 | A |
| T9 | 2 | 11.638 | A |
| T3 | 2 | 10.77 | A |

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

**Dunnett Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.18.** ANOVA de TC vs amplitud y tiempo de TS de la leche entera

```
Method
Factor coding  (-1, 0, +1)

Factor Information
Factor  Type   Levels  Values
time    Fixed       3  2, 4, 6
amp     Fixed       3  50, 75, 100

Analysis of Variance
Source         DF  Adj SS  Adj MS  F-Value  P-Value
  time          2   5.147  2.5736     1.93    0.184
  amp           2   4.672  2.3358     1.76    0.211
Error          13  17.290  1.3300
  Lack-of-Fit   4   3.773  0.9434     0.63    0.655
  Pure Error    9  13.517  1.5019
Total          17  27.109

Model Summary
      S    R-sq  R-sq(adj)  R-sq(pred)
1.15327  36.22%     16.60%       0.00%

Coefficients
Term        Coef  SE Coef  T-Value  P-Value   VIF
Constant  12.326    0.272    45.35    0.000
time
  2        0.695    0.384     1.81    0.094  1.33
  4       -0.089    0.384    -0.23    0.821  1.33
amp
  50.00%  -0.257    0.384    -0.67    0.516  1.33
  75.00%   0.711    0.384     1.85    0.087  1.33

Regression Equation
   tcoag = 12.326 + 0.695 time_2 - 0.089 time_4 - 0.606 time_6 - 0.257 amp_50
                        + 0.711 amp_75 - 0.454 amp_100

Fits and Diagnostics for Unusual Observations
Obs  tcoag     Fit   Resid  Std Resid
  6  8.305  11.463  -3.158      -3.22  R
R  Large residual
```

**Comparisons for tcoag**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = tcoag, Term = time**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
time  N     Mean  Grouping
2     6  13.0208  A
4     6  12.2375  A
6     6  11.7200  A
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = tcoag, Term = amp**

```
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence
amp      N     Mean  Grouping
75.00%   6  13.0375  A
50.00%   6  12.0692  A
100.00%  6  11.8717  A
Means that do not share a letter are significantly different.
```

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.19.** ANOVA de sólidos finos vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.042549 | 0.021275 | 175.58 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.000727 | 0.000121 | | |
| Total | 8 | 0.043276 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0110077 | 98.32% | 97.76% | 96.22% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 0.20693 | 0.01415 | (0.19138, 0.22248) |
| 2 | 3 | 0.12510 | 0.00430 | (0.10955, 0.14065) |
| 3 | 3 | 0.03853 | 0.01204 | (0.02298, 0.05408) |

Pooled StDev = 0.0110077

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 0.20693 | A | | |
| 2 | 3 | 0.12510 | | B | |
| 3 | 3 | 0.03853 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.20.** ANOVA de volumen de suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 76295 | 38147.4 | 91.65 | 0.000 |
| Error | 6 | 2497 | 416.2 | | |
| Total | 8 | 78792 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 20.4015 | 96.83% | 95.77% | 92.87% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 2334.33 | 10.69 | (2305.51, 2363.16) |
| 2 | 3 | 2252.0 | 31.2 | ( 2223.2, 2280.8) |
| 3 | 3 | 2111.33 | 12.70 | (2082.51, 2140.16) |

Pooled StDev = 20.4015

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 2334.33 | A | | |
| 2 | 3 | 2252.0 | | B | |
| 3 | 3 | 2111.33 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.21.** ANOVA de acidez del suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.000120 | 0.000060 | 0.81 | 0.489 |
| Error | 6 | 0.000446 | 0.000074 | | |
| Total | 8 | 0.000566 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0086182 | 21.22% | 0.00% | 0.00% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 0.12572 | 0.01219 | (0.11354, 0.13789) |
| 2 | 3 | 0.12710 | 0.00205 | (0.11492, 0.13927) |
| 3 | 3 | 0.11875 | 0.00836 | (0.10658, 0.13093) |

Pooled StDev = 0.00861822

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 2 | 3 | 0.12710 | A |
| 1 | 3 | 0.12572 | A |
| 3 | 3 | 0.11875 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.22.** ANOVA de pH del suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.000267 | 0.000133 | 0.52 | 0.618 |
| Error | 6 | 0.001533 | 0.000256 | | |
| Total | 8 | 0.001800 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0159861 | 14.81% | 0.00% | 0.00% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 6.22333 | 0.00577 | (6.20075, 6.24592) |
| 2 | 3 | 6.2100 | 0.0265 | ( 6.1874, 6.2326) |
| 3 | 3 | 6.21667 | 0.00577 | (6.19408, 6.23925) |

Pooled StDev = 0.0159861

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 6.22333 | A |
| 3 | 3 | 6.21667 | A |
| 2 | 3 | 6.2100 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.23.** ANOVA de contenido de grasa en el suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.043874 | 0.021937 | 54.01 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.002437 | 0.000406 | | |
| Total | 8 | 0.046311 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0201537 | 94.74% | 92.98% | 88.16% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 0.2378 | 0.0278 | ( 0.2093, 0.2662) |
| 2 | 3 | 0.1300 | 0.0200 | ( 0.1015, 0.1585) |
| 3 | 3 | 0.06889 | 0.00694 | (0.04042, 0.09736) |

Pooled StDev = 0.0201537

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 0.2378 | A | | |
| 2 | 3 | 0.1300 | | B | |
| 3 | 3 | 0.06889 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.24.** ANOVA de SNF en el suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.000121 | 0.000060 | 0.02 | 0.984 |
| Error | 6 | 0.022748 | 0.003791 | | |
| Total | 8 | 0.022869 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0615740 | 0.53% | 0.00% | 0.00% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 7.18000 | 0.00882 | (7.09301, 7.26699) |
| 2 | 3 | 7.1722 | 0.0635 | ( 7.0852, 7.2592) |
| 3 | 3 | 7.1722 | 0.0853 | ( 7.0852, 7.2592) |

Pooled StDev = 0.0615740

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 7.18000 | A |
| 3 | 3 | 7.1722 | A |
| 2 | 3 | 7.1722 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.25.** ANOVA de densidad en el suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 1.7393 | 0.86966 | 27.97 | 0.001 |
| Error | 6 | 0.1866 | 0.03109 | | |
| Total | 8 | 1.9259 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.176334 | 90.31% | 87.08% | 78.20% |

Means

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 1028.23 | 0.15 | (1027.98, 1028.48) |
| 2 | 3 | 1027.57 | 0.22 | (1027.32, 1027.81) |
| 3 | 3 | 1027.16 | 0.15 | (1026.91, 1027.41) |

Pooled StDev = 0.176334

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 1028.23 | A | |
| 2 | 3 | 1027.57 | | B |
| 3 | 3 | 1027.16 | | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.26.** ANOVA de lactosa en el suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.087869 | 0.043935 | 61.68 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.004274 | 0.000712 | | |
| Total | 8 | 0.092143 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0266898 | 95.36% | 93.82% | 89.56% |

Means

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 3.1933 | 0.0240 | ( 3.1556, 3.2310) |
| 2 | 3 | 3.03111 | 0.01347 | (2.99341, 3.06882) |
| 3 | 3 | 2.9567 | 0.0371 | ( 2.9190, 2.9944) |

Pooled StDev = 0.0266898

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 3.1933 | A | | |
| 2 | 3 | 3.03111 | | B | |
| 3 | 3 | 2.9567 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.27.** ANOVA de sólidos en el suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.000537 | 0.000268 | 161.03 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.000010 | 0.000002 | | |
| Total | 8 | 0.000547 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0012910 | 98.17% | 97.56% | 95.88% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 0.52111 | 0.00192 | ( 0.51929, 0.52293) |
| 2 | 3 | 0.512556 | 0.000509 | (0.510732, 0.514379) |
| 3 | 3 | 0.502222 | 0.001018 | (0.500398, 0.504046) |

Pooled StDev = 0.00129099

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 0.52111 | A | | |
| 2 | 3 | 0.512556 | | B | |
| 3 | 3 | 0.502222 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.28.** ANOVA de proteínas en el suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.013699 | 0.006849 | 14.05 | 0.005 |
| Error | 6 | 0.002926 | 0.000488 | | |
| Total | 8 | 0.016625 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0220829 | 82.40% | 76.53% | 60.40% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 3.4211 | 0.0234 | ( 3.3899, 3.4523) |
| 2 | 3 | 3.35667 | 0.01202 | (3.32547, 3.38786) |
| 3 | 3 | 3.3278 | 0.0278 | ( 3.2966, 3.3590) |

Pooled StDev = 0.0220829

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 3.4211 | A | |
| 2 | 3 | 3.35667 | | B |
| 3 | 3 | 3.3278 | | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.29.** ANOVA de agua añadida en el suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.7377 | 0.3688 | 0.69 | 0.539 |
| Error | 6 | 3.2237 | 0.5373 | | |
| Total | 8 | 3.9614 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.733002 | 18.62% | 0.00% | 0.00% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 28.206 | 0.476 | (27.170, 29.241) |
| 2 | 3 | 27.560 | 0.674 | (26.524, 28.596) |
| 3 | 3 | 27.646 | 0.965 | (26.610, 28.681) |

Pooled StDev = 0.733002

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 28.206 | A |
| 3 | 3 | 27.646 | A |
| 2 | 3 | 27.560 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.30.** ANOVA de agua añadida en el suero vs tratamiento de TS de la leche entera

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.000528 | 0.000264 | 29.19 | 0.001 |
| Error | 6 | 0.000054 | 0.000009 | | |
| Total | 8 | 0.000582 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0030062 | 90.68% | 87.57% | 79.03% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | -0.37389 | 0.00342 | (-0.37814, -0.36964) |
| 2 | 3 | -0.36611 | 0.00278 | (-0.37036, -0.36186) |
| 3 | 3 | -0.35522 | 0.00278 | (-0.35947, -0.35098) |

Pooled StDev = 0.00300617

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 3 | -0.35522 | A | | |
| 2 | 3 | -0.36611 | | B | |
| 1 | 3 | -0.37389 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.31.** ANOVA de cenizas vs tratamiento de TS en queso

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.25749 | 0.128744 | 53.40 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.01447 | 0.002411 | | |
| Total | 8 | 0.27196 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0491031 | 94.68% | 92.91% | 88.03% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 2.3900 | 0.0600 | (2.3206, 2.4594) |
| 2 | 3 | 2.5433 | 0.0416 | (2.4740, 2.6127) |
| 3 | 3 | 2.8000 | 0.0436 | (2.7306, 2.8694) |

Pooled StDev = 0.0491031

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 3 | 2.8000 | A | | |
| 2 | 3 | 2.5433 | | B | |
| 1 | 3 | 2.3900 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.32.** ANOVA de cloruros vs tratamiento de TS en queso

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.000122 | 0.000061 | 0.29 | 0.757 |
| Error | 6 | 0.001254 | 0.000209 | | |
| Total | 8 | 0.001376 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0144568 | 8.87% | 0.00% | 0.00% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 0.06433 | 0.00404 | (0.04391, 0.08476) |
| 2 | 3 | 0.06933 | 0.01537 | (0.04891, 0.08976) |
| 3 | 3 | 0.0733 | 0.0193 | ( 0.0529, 0.0938) |

Pooled StDev = 0.0144568

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 3 | 3 | 0.0733 | A |
| 2 | 3 | 0.06933 | A |
| 1 | 3 | 0.06433 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.33.** ANOVA de cloruro de sodio vs tratamiento de TS en queso

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.03541 | 0.01770 | 0.31 | 0.745 |
| Error | 6 | 0.34351 | 0.05725 | | |
| Total | 8 | 0.37892 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.239275 | 9.34% | 0.00% | 0.00% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 1.0530 | 0.0658 | (0.7150, 1.3910) |
| 2 | 3 | 1.142 | 0.250 | ( 0.804, 1.480) |
| 3 | 3 | 1.206 | 0.324 | ( 0.868, 1.544) |

Pooled StDev = 0.239275

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 3 | 3 | 1.206 | A |
| 2 | 3 | 1.142 | A |
| 1 | 3 | 1.0530 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.34.** ANOVA de grasas vs tratamiento de TS en queso

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 11.8996 | 5.94982 | 261.25 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.1366 | 0.02277 | | |
| Total | 8 | 12.0363 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.150912 | 98.86% | 98.49% | 97.45% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 21.763 | 0.203 | ( 21.549, 21.976) |
| 2 | 3 | 19.9957 | 0.0015 | (19.7825, 20.2089) |
| 3 | 3 | 18.9797 | 0.1651 | (18.7665, 19.1929) |

Pooled StDev = 0.150912

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 21.763 | A | | |
| 2 | 3 | 19.9957 | | B | |
| 3 | 3 | 18.9797 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.35.** ANOVA de humedad vs tratamiento de TS en queso

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 76.5591 | 38.2795 | 303.48 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.7568 | 0.1261 | | |
| Total | 8 | 77.3159 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.355155 | 99.02% | 98.69% | 97.80% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 44.658 | 0.535 | (44.157, 45.160) |
| 2 | 3 | 49.623 | 0.203 | (49.121, 50.125) |
| 3 | 3 | 51.590 | 0.227 | (51.088, 52.091) |

Pooled StDev = 0.355155

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 3 | 51.590 | A | | |
| 2 | 3 | 49.623 | | B | |
| 1 | 3 | 44.658 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.36.** ANOVA de proteínas vs tratamiento de TS en queso

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 1.4369 | 0.71846 | 15.02 | 0.005 |
| Error | 6 | 0.2869 | 0.04782 | | |
| Total | 8 | 1.7238 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.218683 | 83.35% | 77.81% | 62.55% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 20.800 | 0.179 | (20.491, 21.109) |
| 2 | 3 | 21.300 | 0.256 | (20.991, 21.609) |
| 3 | 3 | 21.778 | 0.214 | (21.469, 22.087) |

Pooled StDev = 0.218683

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | |
|---|---|---|---|---|
| 3 | 3 | 21.778 | A | |
| 2 | 3 | 21.300 | A | B |
| 1 | 3 | 20.800 | | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.37.** ANOVA de liberación de grasa vs tratamiento de TS en queso

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 1.84860 | 0.924300 | 274.54 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.02020 | 0.003367 | | |
| Total | 8 | 1.86880 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0580230 | 98.92% | 98.56% | 97.57% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 2.0000 | 0.0700 | (1.9180, 2.0820) |
| 2 | 3 | 1.430 | 0.000 | ( 1.348, 1.512) |
| 3 | 3 | 0.8900 | 0.0721 | (0.8080, 0.9720) |

Pooled StDev = 0.0580230

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 2.0000 | A | | |
| 2 | 3 | 1.430 | | B | |
| 3 | 3 | 0.8900 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.38.** ANOVA de rendimiento verde vs tratamiento de TS en queso

**Method**

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level α = 0.05
Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 3.31069 | 1.65534 | 112.44 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.08833 | 0.01472 | | |
| Total | 8 | 3.39902 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.121335 | 97.40% | 96.53% | 94.15% |

**Means**

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 12.7300 | 0.0608 | (12.5586, 12.9014) |
| 2 | 3 | 13.5433 | 0.1531 | (13.3719, 13.7147) |
| 3 | 3 | 14.2133 | 0.1305 | (14.0419, 14.3847) |

Pooled StDev = 0.121335

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 3 | 14.2133 | A | | |
| 2 | 3 | 13.5433 | | B | |
| 1 | 3 | 12.7300 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% Cis**

**Anexo 6.39.** ANOVA rendimiento vs tratamiento de TS en queso

**Method**

| | |
|---|---|
| Null hypothesis | All means are equal |
| Alternative hypothesis | At least one mean is different |
| Significance level | α = 0.05 |

Equal variances were assumed for the analysis.

**Factor Information**

| Factor | Levels | Values |
|---|---|---|
| Tratamiento | 3 | 1, 2, 3 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 11.9132 | 5.95658 | 136.44 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.2619 | 0.04366 | | |
| Total | 8 | 12.1751 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.208939 | 97.85% | 97.13% | 95.16% |

Means

| Tratamiento | N | Mean | StDev | 95% CI |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 10.097 | 0.336 | ( 9.801, 10.392) |
| 2 | 3 | 11.8167 | 0.1250 | (11.5215, 12.1118) |
| 3 | 3 | 12.8900 | 0.0520 | (12.5948, 13.1852) |

Pooled StDev = 0.208939

**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 3 | 12.8900 | A | | |
| 2 | 3 | 11.8167 | | B | |
| 1 | 3 | 10.097 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.40.** ANOVA de acidez vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**Method**

Factor coding (-1, 0, +1)

Factor Information

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| TRATAMIENTO | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| DIA DE ANALISIS | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| TRATAMIENTO | 2 | 0.005555 | 0.002777 | 3.26 | 0.052 |
| DIA DE ANALISIS | 3 | 0.010417 | 0.003472 | 4.08 | 0.015 |
| Error | 30 | 0.025548 | 0.000852 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 0.005182 | 0.000864 | 1.02 | 0.438 |
| Pure Error | 24 | 0.020367 | 0.000849 | | |
| Total | 35 | 0.041520 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0291824 | 38.47% | 28.21% | 11.39% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 0.09236 | 0.00486 | 18.99 | 0.000 | |
| TRATAMIENTO | | | | | |
| 1 | -0.01728 | 0.00688 | -2.51 | 0.018 | 1.33 |
| 2 | 0.01139 | 0.00688 | 1.66 | 0.108 | 1.33 |
| DIA DE ANALISIS | | | | | |
| 1 | 0.02586 | 0.00842 | 3.07 | 0.005 | 1.50 |
| 8 | 0.00464 | 0.00842 | 0.55 | 0.586 | 1.50 |
| 15 | -0.01425 | 0.00842 | -1.69 | 0.101 | 1.50 |

**Regression Equation**

Acidez = 0.09236-0.01728 tratamiento_1+0.01139 tratamiento_2+0.00589 tratamiento_3 + 0.02586 dia de analisis_1+0.00464 dia de analisis_8-0.01425 dia de analisis_15-0.01625 dia de analisis_22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | ACIDEZ | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 7 | 0.1180 | 0.0608 | 0.0572 | 2.15 | R |
| 16 | 0.1680 | 0.1084 | 0.0596 | 2.24 | R |

R Large residual

**Comparisons for ACIDEZ**

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = ACIDEZ, Term = TRATAMIENTO**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| TRATAMIENTO | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 2 | 12 | 0.103750 | A |
| 3 | 12 | 0.098250 | A |
| 1 | 12 | 0.075083 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = ACIDEZ, Term = DIA DE ANALISIS**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| DIA DE ANALISIS | N | Mean | Grouping | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 9 | 0.118222 | A | |
| 8 | 9 | 0.097000 | A | B |
| 15 | 9 | 0.078111 | | B |
| 22 | 9 | 0.076111 | | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.41.** ANOVA de capacidad de fundido vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**Method**

Factor coding (-1, 0, +1)
Factor Information

| **Factor** | **Type** | **Levels** | **Values** |
|---|---|---|---|
| TRATAMIENTO | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| DIA DE ANALISIS | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| TRATAMIENTO | 2 | 15971 | 7985.5 | 73.48 | 0.000 |
| DIA DE ANALISIS | 3 | 135433 | 45144.4 | 415.39 | 0.000 |
| Error | 30 | 3260 | 108.7 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 3126 | 520.9 | 92.78 | 0.000 |
| Pure Error | 24 | 135 | 5.6 | | |
| Total | 35 | 154665 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 10.4249 | 97.89% | 97.54% | 96.96% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 62.05 | 1.74 | 35.71 | 0.000 | |
| TRATAMIENTO | | | | | |
| 1 | 29.74 | 2.46 | 12.10 | 0.000 | 1.33 |
| 2 | -13.42 | 2.46 | -5.46 | 0.000 | 1.33 |
| DIA DE ANALISIS | | | | | |
| 1 | -64.83 | 3.01 | -21.54 | 0.000 | 1.50 |
| 8 | -44.76 | 3.01 | -14.87 | 0.000 | 1.50 |
| 15 | 17.12 | 3.01 | 5.69 | 0.000 | 1.50 |

**Regression Equation**

Fundido = 62.05 + 29.74 tratamiento_1 - 13.42 tratamiento_2 - 16.32 tratamiento_3
- 64.83 dia de analisis_1 - 44.76 dia de analisis_8 + 17.12 dia de analisis_15
+ 92.47 dia de analisis_22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | FUNDIDO | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 4 | 66.90 | 47.04 | 19.86 | 2.09 | R |
| 5 | 70.60 | 47.04 | 23.56 | 2.48 | R |

R Large residual

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = FUNDIDO, Term = TRATAMIENTO**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| TRATAMIENTO | N | Mean | Grouping | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 12 | 91.7917 | A | |
| 2 | 12 | 48.6342 | | B |
| 3 | 12 | 45.7292 | | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = FUNDIDO, Term = DIA DE ANALISIS**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| DIA DE ANALISIS | N | Mean | Grouping | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 22 | 9 | 154.517 | A | | | |
| 15 | 9 | 79.168 | | B | | |
| 8 | 9 | 17.296 | | | C | |
| 1 | 9 | -2.773 | | | | D |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.42.** ANOVA de pH vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**ethod**

Factor coding (-1, 0, +1)

**Factor Information**

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| TRATAMIENTO | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| DIA DE ANALISIS | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| TRATAMIENTO | 2 | 0.010872 | 0.005436 | 1.89 | 0.169 |
| DIA DE ANALISIS | 3 | 0.009889 | 0.003296 | 1.14 | 0.347 |
| Error | 30 | 0.086461 | 0.002882 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 0.012194 | 0.002032 | 0.66 | 0.685 |
| Pure Error | 24 | 0.074267 | 0.003094 | | |
| Total | 35 | 0.107222 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0536846 | 19.36% | 5.92% | 0.00% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 5.11778 | 0.00895 | 571.98 | 0.000 | |
| TRATAMIENTO | | | | | |
| 1 | 0.0239 | 0.0127 | 1.89 | 0.069 | 1.33 |
| 2 | -0.0169 | 0.0127 | -1.34 | 0.191 | 1.33 |
| DIA DE ANALISIS | | | | | |
| 1 | 0.0244 | 0.0155 | 1.58 | 0.125 | 1.50 |
| 8 | -0.0211 | 0.0155 | -1.36 | 0.183 | 1.50 |
| 15 | 0.0033 | 0.0155 | 0.22 | 0.831 | 1.50 |

**Regression Equation**

Ph = 5.11778 + 0.0239 tratamiento_1 - 0.0169 tratamiento_2 - 0.0069 tratamiento_3 + 0.0244 dia de analisis_1 - 0.0211 dia de analisis_8 + 0.0033 dia de analisis_15 - 0.0067 dia de analisis_22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | PH | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 5.0100 | 5.1206 | -0.1106 | -2.26 | R |
| 35 | 5.2100 | 5.1042 | 0.1058 | 2.16 | R |

R Large residual

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = PH, Term = TRATAMIENTO**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| TRATAMIENTO | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 1 | 12 | 5.14167 | A |
| 3 | 12 | 5.11083 | A |
| 2 | 12 | 5.10083 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = PH, Term = DIA DE ANALISIS**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| DIA DE ANALISIS | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 1 | 9 | 5.14222 | A |
| 15 | 9 | 5.12111 | A |
| 22 | 9 | 5.11111 | A |
| 8 | 9 | 5.09667 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.43.** ANOVA de luminosidad (L*) vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**Method**

Factor coding (-1, 0, +1)

**Factor Information**

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| Tratamiento | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| Día | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 125.706 | 62.8531 | 488.40 | 0.000 |
| Día | 3 | 67.105 | 22.3685 | 173.81 | 0.000 |
| Error | 30 | 3.861 | 0.1287 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 1.901 | 0.3169 | 3.88 | 0.008 |
| Pure Error | 24 | 1.960 | 0.0817 | | |
| Total | 35 | 196.672 | | | |

Model Summary

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.358738 | 98.04% | 97.71% | 97.17% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 88.2749 | 0.0598 | 1476.42 | 0.000 | |
| Tratamiento | | | | | |
| 1 | -2.3235 | 0.0846 | -27.48 | 0.000 | 1.33 |
| 2 | 0.0715 | 0.0846 | 0.85 | 0.405 | 1.33 |
| Día | | | | | |
| 1 | 2.186 | 0.104 | 21.11 | 0.000 | 1.50 |
| 8 | 0.103 | 0.104 | 1.00 | 0.327 | 1.50 |
| 15 | -0.990 | 0.104 | -9.56 | 0.000 | 1.50 |

**Regression Equation**

L* = 88.2749 - 2.3235 Tratamiento_1 + 0.0715 Tratamiento_2 + 2.2520 Tratamiento_3
+ 2.186 Día_1 + 0.103 Día_8 - 0.990 Día_15 - 1.299 Día_22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | L* | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 88.853 | 88.137 | 0.716 | 2.19 | R |
| 12 | 86.757 | 86.055 | 0.702 | 2.14 | R |

R Large residual

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = L*, Term = Tratamiento**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 12 | 90.5269 | A | | |
| 2 | 12 | 88.3464 | | B | |
| 1 | 12 | 85.9514 | | | 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 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 9 | 90.4607 | A | | |
| 8 | 9 | 88.3781 | | B | |
| 15 | 9 | 87.2848 | | | C |
| 22 | 9 | 86.9759 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% cis**

**Anexo 6.44.** ANOVA de Parámetro a* vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**Method**

Factor coding (-1, 0, +1)

**Factor Information**

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| Tratamiento | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| Día | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 4.2529 | 2.12647 | 407.27 | 0.000 |
| Día | 3 | 8.7410 | 2.91367 | 558.03 | 0.000 |
| Error | 30 | 0.1566 | 0.00522 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 0.1432 | 0.02387 | 42.63 | 0.000 |
| Pure Error | 24 | 0.0134 | 0.00056 | | |
| Total | 35 | 13.1506 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0722588 | 98.81% | 98.61% | 98.28% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 1.9656 | 0.0120 | 163.22 | 0.000 | |
| Tratamiento | | | | | |
| 1 | 0.4774 | 0.0170 | 28.03 | 0.000 | 1.33 |
| 2 | -0.1595 | 0.0170 | -9.37 | 0.000 | 1.33 |
| Día | | | | | |
| 1 | -0.8456 | 0.0209 | -40.54 | 0.000 | 1.50 |
| 8 | 0.1814 | 0.0209 | 8.70 | 0.000 | 1.50 |
| 15 | 0.2962 | 0.0209 | 14.20 | 0.000 | 1.50 |

**Regression Equation**

a* = 1.9656 + 0.4774 Tratamiento_1 - 0.1595 Tratamiento_2 - 0.3179 Tratamiento_3-
0.8456 Día_1 + 0.1814 Día_8 + 0.2962 Día_15 + 0.3681 Día_22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | a* | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.4500 | 1.5974 | -0.1474 | -2.23 | R |
| 2 | 1.4333 | 1.5974 | -0.1641 | -2.49 | R |
| 3 | 1.4633 | 1.5974 | -0.1341 | -2.03 | R |

R Large residual

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = a*, Term = Tratamiento**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 12 | 2.44306 | A | | |
| 2 | 12 | 1.80611 | | B | |
| 3 | 12 | 1.64778 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

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

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Día | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 22 | 9 | 2.33370 | A | | |
| 15 | 9 | 2.26185 | A | | |
| 8 | 9 | 2.14704 | | B | |
| 1 | 9 | 1.12000 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.45.** ANOVA de Parámetro b* vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**Method**

Factor coding (-1, 0, +1)

Factor Information

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| Tratamiento | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| Día | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 89.977 | 44.9887 | 211.50 | 0.000 |
| Día | 3 | 108.721 | 36.2403 | 170.37 | 0.000 |
| Error | 30 | 6.381 | 0.2127 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 1.393 | 0.2322 | 1.12 | 0.382 |
| Pure Error | 24 | 4.988 | 0.2078 | | |
| Total | 35 | 205.080 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.461209 | 96.89% | 96.37% | 95.52% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 18.6391 | 0.0769 | 242.48 | 0.000 | |
| Tratamiento | | | | | |
| 1 | 2.088 | 0.109 | 19.21 | 0.000 | 1.33 |
| 2 | -0.352 | 0.109 | -3.24 | 0.003 | 1.33 |
| Día | | | | | |
| 1 | -2.957 | 0.133 | -22.21 | 0.000 | 1.50 |
| 8 | 0.510 | 0.133 | 3.83 | 0.001 | 1.50 |
| 15 | 1.019 | 0.133 | 7.65 | 0.000 | 1.50 |

**Regression Equation**

b* = 18.6391 + 2.088 Tratamiento_1 - 0.352 Tratamiento_2 - 1.736 Tratamiento_3 - 2.957 Día_1 + 0.510 Día_8 + 1.019 Día_15 + 1.428 Día_22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | b* | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 19 | 22.870 | 21.746 | 1.124 | 2.67 | R |
| 27 | 16.810 | 17.922 | -1.112 | -2.64 | R |

R Large residual

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = b*, Term = Tratamiento**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 12 | 20.7272 | A | | |
| 2 | 12 | 18.2869 | | B | |
| 3 | 12 | 16.9031 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

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

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Día | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 22 | 9 | 20.0670 | A | | |
| 15 | 9 | 19.6578 | A | B | |
| 8 | 9 | 19.1493 | | B | |
| 1 | 9 | 15.6822 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.46.** ANOVA de Dureza (TPA) vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**Method**

Factor coding (-1, 0, +1)

**Factor Information**

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| Tratamiento | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| Día de análisis | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 16486237 | 8243119 | 51.94 | 0.000 |
| Día de análisis | 3 | 26334587 | 8778196 | 55.32 | 0.000 |
| Error | 30 | 4760781 | 158693 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 4456646 | 742774 | 58.61 | 0.000 |
| Pure Error | 24 | 304134 | 12672 | | |
| Total | 35 | 47581605 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 398.363 | 89.99% | 88.33% | 85.59% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 2214.7 | 66.4 | 33.36 | 0.000 | |
| Tratamiento | | | | | |
| 1 | 892.9 | 93.9 | 9.51 | 0.000 | 1.33 |
| 2 | -148.3 | 93.9 | -1.58 | 0.125 | 1.33 |
| Día de análisis | | | | | |
| 1 | 1362 | 115 | 11.84 | 0.000 | 1.50 |
| 8 | -75 | 115 | -0.65 | 0.520 | 1.50 |
| 15 | -298 | 115 | -2.59 | 0.015 | 1.50 |

**Regression Equation**

Dureza = 2214.7 + 892.9 Tratamiento_1 - 148.3 Tratamiento_2 - 744.7 Tratamiento_3 + 1362 Día de análisis_1 - 75 Día de análisis_8 - 298 Día de análisis_15- 989 Día de análisis_22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | Dureza | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5405 | 4469 | 936 | 2.57 | R |
| 2 | 5382 | 4469 | 912 | 2.51 | R |

R Large residual

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

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 12 | 3107.67 | A | | |
| 2 | 12 | 2066.46 | | B | |
| 3 | 12 | 1470.06 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = Dureza, Term = Día de análisis**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Día de análisis | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 9 | 3576.36 | A | | |
| 8 | 9 | 2139.93 | | B | |
| 15 | 9 | 1916.63 | | B | |
| 22 | 9 | 1226.01 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.47.** ANOVA de Adhesividad (TPA) vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**Method**

Factor coding (-1, 0, +1)

**Factor Information**

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| Tratamiento | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| Día de análisis | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 200.18 | 100.092 | 98.46 | 0.000 |
| Día de análisis | 3 | 1521.51 | 507.169 | 498.92 | 0.000 |
| Error | 30 | 30.50 | 1.017 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 16.37 | 2.729 | 4.64 | 0.003 |
| Pure Error | 24 | 14.12 | 0.589 | | |
| Total | 35 | 1752.19 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 1.00823 | 98.26% | 97.97% | 97.49% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | -21.100 | 0.168 | -125.57 | 0.000 | |
| Tratamiento | | | | | |
| 1 | -3.302 | 0.238 | -13.89 | 0.000 | 1.33 |
| 2 | 1.246 | 0.238 | 5.24 | 0.000 | 1.33 |
| Día de análisis | | | | | |
| 1 | 8.400 | 0.291 | 28.86 | 0.000 | 1.50 |
| 8 | 3.517 | 0.291 | 12.08 | 0.000 | 1.50 |
| 15 | -3.208 | 0.291 | -11.02 | 0.000 | 1.50 |

**Regression Equation**

Adhesividad = -21.100-3.302 Tratamiento_1+1.246 Tratamiento_2 + 2.056 Tratamiento_3 + 8.400 Día de análisis_1 + 3.517 Día de análisis_8 - 3.208 Día de análisis_15 - 8.708 Día de análisis_22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | Adhesividad | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 2 | -18.024 | -16.002 | -2.022 | -2.20 | R |
| 3 | -18.601 | -16.002 | -2.599 | -2.82 | R |

R Large residual

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = Adhesividad, Term = Tratamiento**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping | |
|---|---|---|---|---|
| 3 | 12 | -19.0441 | A | |
| 2 | 12 | -19.8542 | A | |
| 1 | 12 | -24.4020 | | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = Adhesividad, Term = Día de análisis**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Día de análisis | N | Mean | Grouping | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 9 | -12.7002 | A | | | |
| 8 | 9 | -17.5833 | | B | | |
| 15 | 9 | -24.3084 | | | C | |
| 22 | 9 | -29.8085 | | | | D |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.48.** ANOVA de Elasticidad (TPA) vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**Method**

Factor coding (-1, 0, +1)

**Factor Information**

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| Tratamiento | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| Día de análisis | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.000866 | 0.000433 | 0.81 | 0.453 |
| Día de análisis | 3 | 0.014929 | 0.004976 | 9.34 | 0.000 |
| Error | 30 | 0.015983 | 0.000533 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 0.008134 | 0.001356 | 4.15 | 0.005 |
| Pure Error | 24 | 0.007849 | 0.000327 | | |
| Total | 35 | 0.031778 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0230818 | 49.70% | 41.32% | 27.57% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 0.77861 | 0.00385 | 202.39 | 0.000 | |
| Tratamiento | | | | | |
| 1 | -0.00693 | 0.00544 | -1.27 | 0.213 | 1.33 |
| 2 | 0.00377 | 0.00544 | 0.69 | 0.494 | 1.33 |
| Día de análisis | | | | | |
| 1 | 0.01966 | 0.00666 | 2.95 | 0.006 | 1.50 |
| 8 | 0.01849 | 0.00666 | 2.77 | 0.009 | 1.50 |
| 15 | -0.02915 | 0.00666 | -4.37 | 0.000 | 1.50 |

**Regression Equation**

Elasticidad =0.77861-0.00693 Tratamiento1+0.00377 Tratamiento2 +0.00316 Tratamiento3 + 0.01966 Día de análisis1 + 0.01849 Día de análisis8- 0.02915 Día de análisis15 - 0.00900 Día de análisis22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | Elasticidad | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 8 | 0.72727 | 0.80143 | -0.07415 | -3.52 | R |

R Large residual

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

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 2 | 12 | 0.782373 | A |
| 3 | 12 | 0.781767 | A |
| 1 | 12 | 0.771679 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = Elasticidad, Term = Día de análisis**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Día de análisis | N | Mean | Grouping | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 9 | 0.798265 | A | |
| 8 | 9 | 0.797095 | A | |
| 22 | 9 | 0.769604 | A | B |
| 15 | 9 | 0.749461 | | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

**Anexo 6.49.** ANOVA de Cohesividad (TPA) vs día de análisis, tratamiento de TS en queso

**Method**

Factor coding (-1, 0, +1)

**Factor Information**

| Factor | Type | Levels | Values |
|---|---|---|---|
| Tratamiento | Fixed | 3 | 1, 2, 3 |
| Día de análisis | Fixed | 4 | 1, 8, 15, 22 |

**Analysis of Variance**

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | 2 | 0.001514 | 0.000757 | 2.00 | 0.153 |
| Día de análisis | 3 | 0.016985 | 0.005662 | 14.97 | 0.000 |
| Error | 30 | 0.011350 | 0.000378 | | |
| Lack-of-Fit | 6 | 0.001415 | 0.000236 | 0.57 | 0.750 |
| Pure Error | 24 | 0.009934 | 0.000414 | | |
| Total | 35 | 0.029849 | | | |

**Model Summary**

| S | R-sq | R-sq(adj) | R-sq(pred) |
|---|---|---|---|
| 0.0194505 | 61.98% | 55.64% | 45.25% |

**Coefficients**

| Term | Coef | SE Coef | T-Value | P-Value | VIF |
|---|---|---|---|---|---|
| Constant | 0.69275 | 0.00324 | 213.70 | 0.000 | |
| Tratamiento | | | | | |
| 1 | 0.00693 | 0.00458 | 1.51 | 0.141 | 1.33 |
| 2 | -0.00867 | 0.00458 | -1.89 | 0.068 | 1.33 |
| Día de análisis | | | | | |
| 1 | 0.03244 | 0.00561 | 5.78 | 0.000 | 1.50 |
| 8 | 0.00602 | 0.00561 | 1.07 | 0.292 | 1.50 |
| 15 | -0.02466 | 0.00561 | -4.39 | 0.000 | 1.50 |

**Regression Equation**

Cohesividad = 0.69275+0.00693 Tratamiento1-0.00867 Tratamiento2+0.00174 Tratamiento3 + 0.03244 Día de análisis_1 + 0.00602 Día de análisis_8 - 0.02466 Día de análisis_15 - 0.01380 Día de análisis_22

**Fits and Diagnostics for Unusual Observations**

| Obs | Cohesividad | Fit | Resid | Std Resid | |
|---|---|---|---|---|---|
| 15 | 0.73119 | 0.69010 | 0.04109 | 2.31 | R |
| 20 | 0.63619 | 0.67502 | -0.03883 | -2.19 | R |
| 29 | 0.63962 | 0.68588 | -0.04626 | -2.61 | R |

R Large residual

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

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Tratamiento | N | Mean | Grouping |
|---|---|---|---|
| 1 | 12 | 0.699681 | A |
| 3 | 12 | 0.694496 | A |
| 2 | 12 | 0.684084 | A |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Pairwise Comparisons: Response = Cohesividad, Term = Día de análisis**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| Día de análisis | N | Mean | Grouping | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 9 | 0.725196 | A | | |
| 8 | 9 | 0.698770 | | B | |
| 22 | 9 | 0.678956 | | B | C |
| 15 | 9 | 0.668092 | | | C |

Means that do not share a letter are significantly different.

**Tukey Simultaneous 95% CIs**

## **Anexo 7.** Analisis de componentes principales
Día 1

Ponderación uniforme (predeterminado)
Ningún dato omitido detectado
Coeficiente de correlación de Pearson (ACP normalizado, varianzas en 1/n)
Sin rotación de los ejes
Número de factores asociados a valores propios no triviales: 2

Prueba de esfericidad de Bartlett:
Nota: con estos datos, es imposible efectuar la prueba de esfericidad (el determinante de la matriz de correlación es nulo)

Media y desviación típica de las columnas:

| | Media | Desviación típica |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 3.125 | 0.102 |
| Humedad | 4.458 | 0.825 |
| Elasticidad | 4.958 | 0.059 |
| Dureza (1erMord.) | 5.458 | 0.503 |
| Cohes. (1erMord.) | 5.625 | 0.510 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | 3.500 | 0.368 |
| Dureza (1erMast.) | 4.917 | 0.118 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 4.083 | 0.236 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 3.292 | 0.412 |
| Abs. Humedad | 4.958 | 0.295 |
| Cohesiv. masa (dm.) | 4.375 | 0.177 |
| Adhesiv. boca (dm) | 2.917 | 0.312 |
| Geom. (res) | 3.708 | 0.156 |
| Rec. grasa en boca | 2.875 | 0.540 |

Matriz de correlación:

| ATRIBUTO | Geom. Sup. (Text) | Humedad | Elasticidad | Dureza (1er Mord.) | Cohes. (1er Mord.) | Geom. Sup. (1er Mord.) | Dureza (1er Mast.) | Cohes. (1er. Mast.) | Adhesiv. (1er. Mast) | Abs. humedad | Cohesiv. masa (dm.) | Adhesiv. boca (dm) | Geom. (res) | Rec. grasa en boca |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Geom. Sup. (Text)** | 1 | 0.000 | 0.866 | -0.912 | 0.500 | -0.971 | 0.866 | 0.866 | 0.990 | 0.866 | 0.866 | 0.655 | -0.982 | -0.189 |
| **Humedad** | 0.000 | 1 | 0.500 | 0.410 | -0.866 | 0.240 | 0.500 | 0.500 | 0.143 | -0.500 | 0.500 | 0.756 | 0.189 | 0.982 |
| **Elasticidad** | 0.866 | 0.500 | 1 | -0.585 | 0.000 | -0.721 | **1.000** | **1.000** | 0.929 | 0.500 | **1.000** | 0.945 | -0.756 | 0.327 |
| **Dureza (1erMord.)** | -0.912 | 0.410 | -0.585 | 1 | -0.811 | 0.984 | -0.585 | -0.585 | -0.844 | -0.995 | -0.585 | -0.288 | 0.973 | 0.575 |
| **Cohes. (1erMord.)** | 0.500 | -0.866 | 0.000 | -0.811 | 1 | -0.693 | 0.000 | 0.000 | 0.371 | 0.866 | 0.000 | -0.327 | -0.655 | -0.945 |
| **Geom.Sup. (1erMord.)** | -0.971 | 0.240 | -0.721 | 0.984 | -0.693 | 1 | -0.721 | -0.721 | -0.926 | -0.961 | -0.721 | -0.454 | **0.999** | 0.419 |
| **Dureza (1erMast.)** | 0.866 | 0.500 | **1.000** | -0.585 | 0.000 | -0.721 | 1 | **1.000** | 0.929 | 0.500 | **1.000** | 0.945 | -0.756 | 0.327 |
| **Cohes. (1er. Mast.)** | 0.866 | 0.500 | **1.000** | -0.585 | 0.000 | -0.721 | **1.000** | 1 | 0.929 | 0.500 | **1.000** | 0.945 | -0.756 | 0.327 |
| **Adhesiv. (1er. Mast)** | 0.990 | 0.143 | 0.929 | -0.844 | 0.371 | -0.926 | 0.929 | 0.929 | 1 | 0.786 | 0.929 | 0.756 | -0.945 | -0.047 |
| **Abs. humedad** | 0.866 | -0.500 | 0.500 | -0.995 | 0.866 | -0.961 | 0.500 | 0.500 | 0.786 | 1 | 0.500 | 0.189 | -0.945 | -0.655 |
| **Cohesiv. masa (dm.)** | 0.866 | 0.500 | **1.000** | -0.585 | 0.000 | -0.721 | **1.000** | **1.000** | 0.929 | 0.500 | 1 | 0.945 | -0.756 | 0.327 |
| **Adhesiv. boca (dm)** | 0.655 | 0.756 | 0.945 | -0.288 | -0.327 | -0.454 | 0.945 | 0.945 | 0.756 | 0.189 | 0.945 | 1 | -0.500 | 0.619 |
| **Geom. (res)** | -0.982 | 0.189 | -0.756 | 0.973 | -0.655 | **0.999** | -0.756 | -0.756 | -0.945 | -0.945 | -0.756 | -0.500 | 1 | 0.371 |
| **Rec. Grasa en boca** | -0.189 | 0.982 | 0.327 | 0.575 | -0.945 | 0.419 | 0.327 | 0.327 | -0.047 | -0.655 | 0.327 | 0.619 | 0.371 | 1 |

*En negrita, valores significativos (fuera diagonal) al umbral alfa=0.050 (prueba bilateral)*

Valores propios:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Valor propio | 9.245 | 4.755 |
| % varianza | 66.034 | 33.966 |
| % acumulado | 66.034 | 100.000 |

*Número de valores propios triviales suprimidos: 12*

Vectores propios:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 0.327 | -0.054 |
| Humedad | 0.039 | 0.455 |
| Elasticidad | 0.302 | 0.181 |
| Dureza (1erMord.) | -0.282 | 0.236 |
| Cohes. (1erMord.) | 0.130 | -0.421 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | -0.308 | 0.162 |
| Dureza (1erMast.) | 0.302 | 0.181 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 0.302 | 0.181 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 0.329 | 0.012 |
| Abs. Humedad | 0.264 | -0.274 |
| Cohesiv. masa (dm.) | 0.302 | 0.181 |
| Adhesiv. boca (dm) | 0.243 | 0.309 |
| Geom. (res) | -0.313 | 0.139 |
| Rec. grasa en boca | -0.024 | 0.457 |

Coordenadas de las variables:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 0.993 | -0.118 |
| Humedad | 0.118 | 0.993 |
| Elasticidad | 0.919 | 0.395 |
| Dureza (1erMord.) | -0.858 | 0.514 |
| Cohes. (1erMord.) | 0.395 | -0.919 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | -0.936 | 0.353 |
| Dureza (1erMast.) | 0.919 | 0.395 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 0.919 | 0.395 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 1.000 | 0.025 |
| Abs. Humedad | 0.801 | -0.598 |
| Cohesiv. masa (dm.) | 0.919 | 0.395 |
| Adhesiv. boca (dm) | 0.739 | 0.674 |
| Geom. (res) | -0.953 | 0.303 |
| Rec. grasa en boca | -0.072 | 0.997 |

Cosenos cuadrados de las variables:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 0.986 | 0.014 |
| Humedad | 0.014 | 0.986 |
| Elasticidad | 0.844 | 0.156 |
| Dureza (1erMord.) | 0.736 | 0.264 |
| Cohes. (1erMord.) | 0.156 | 0.844 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | 0.876 | 0.124 |
| Dureza (1erMast.) | 0.844 | 0.156 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 0.844 | 0.156 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 0.999 | 0.001 |
| Abs. Humedad | 0.642 | 0.358 |
| Cohesiv. masa (dm.) | 0.844 | 0.156 |
| Adhesiv. boca (dm) | 0.546 | 0.454 |
| Geom. (res) | 0.908 | 0.092 |
| Rec. grasa en boca | 0.005 | 0.995 |

Contribuciones de las variables (%):

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 10.667 | 0.291 |
| Humedad | 0.150 | 20.739 |
| Elasticidad | 9.132 | 3.276 |
| Dureza (1erMord.) | 7.958 | 5.558 |
| Cohes. (1erMord.) | 1.685 | 17.753 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | 9.472 | 2.616 |
| Dureza (1erMast.) | 9.132 | 3.276 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 9.132 | 3.276 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 10.810 | 0.014 |
| Abs. Humedad | 6.944 | 7.530 |
| Cohesiv. masa (dm.) | 9.132 | 3.276 |
| Adhesiv. boca (dm) | 5.907 | 9.545 |
| Geom. (res) | 9.823 | 1.933 |
| Rec. grasa en boca | 0.056 | 20.920 |

Coordenadas de las observaciones:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Tratamiento 1 | 3.445 | -1.845 |
| Tratamiento 2 | -3.951 | -1.217 |
| Tratamiento 3 | 0.506 | 3.063 |

Cosenos cuadrados de las observaciones:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Tratamiento 1 | 0.777 | 0.223 |
| Tratamiento 2 | 0.913 | 0.087 |
| Tratamiento 3 | 0.027 | 0.973 |

Contribuciones de las observaciones (%):

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Tratamiento 1 | 42.797 | 23.870 |
| Tratamiento 2 | 56.281 | 10.385 |
| Tratamiento 3 | 0.922 | 65.745 |

## Analisis de componentes principales al dia 15

Ponderación uniforme (predeterminado)
Ningún dato omitido detectado
Coeficiente de correlación de Pearson (ACP normalizado, varianzas en 1/n)
Sin rotación de los ejes
Número de factores asociados a valores propios no triviales: 2

Prueba de esfericidad de Bartlett:
Nota: con estos datos, es imposible efectuar la prueba de esfericidad (el determinante de la matriz de correlación es nulo)

Media y desviación típica de las columnas:

| | Media | Desviación típica |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 2.542 | 0.118 |
| Humedad | 5.042 | 0.460 |
| Elasticidad | 5.833 | 0.118 |
| Dureza (1erMord.) | 3.250 | 0.468 |
| Cohes. (1erMord.) | 5.625 | 0.204 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | 3.958 | 0.386 |
| Dureza (1erMast.) | 3.333 | 0.503 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 4.167 | 0.425 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 3.417 | 0.312 |
| Abs. humedad | 5.458 | 0.312 |
| Cohesiv. masa (dm.) | 4.375 | 0.445 |
| Adhesiv. boca (dm) | 3.708 | 0.514 |
| Geom. (res) | 4.167 | 0.118 |
| Rec. grasa en boca | 3.792 | 0.412 |

Matriz de correlación:

| ATRIBUTO | Geom. Sup. (Text) | Humedad | Elasticidad | Dureza (1er Mord.) | Cohes. (1er Mord.) | Geom. Sup. (1er Mord.) | Dureza (1er Mast.) | Cohes. (1er. Mast.) | Adhesiv. (1er. Mast) | Abs. humedad | Cohesiv. masa (dm.) | Adhesiv. boca (dm) | Geom. (res) | Rec. grasa en boca |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Geom. Sup. (Text)** | 1 | 0.832 | **-1.000** | -0.756 | 0.866 | 0.610 | -0.585 | 0.693 | -0.189 | 0.756 | 0.596 | 0.115 | **1.000** | -0.143 |
| **Humedad** | 0.832 | 1 | -0.832 | -0.992 | **0.998** | 0.068 | -0.937 | 0.977 | 0.387 | 0.992 | 0.051 | 0.646 | 0.832 | 0.430 |
| **Elasticidad** | **-1.000** | -0.832 | 1 | 0.756 | -0.866 | -0.610 | 0.585 | -0.693 | 0.189 | -0.756 | -0.596 | -0.115 | **-1.000** | 0.143 |
| **Dureza (1erMord.)** | -0.756 | -0.992 | 0.756 | 1 | -0.982 | 0.058 | 0.973 | -0.996 | -0.500 | **-1.000** | 0.075 | -0.737 | -0.756 | -0.540 |
| **Cohes. (1erMord.)** | 0.866 | **0.998** | -0.866 | -0.982 | 1 | 0.132 | -0.912 | 0.961 | 0.327 | 0.982 | 0.115 | 0.596 | 0.866 | 0.371 |
| **Geom.Sup. (1erMord.)** | 0.610 | 0.068 | -0.610 | 0.058 | 0.132 | 1 | 0.286 | -0.148 | -0.893 | -0.058 | **1.000** | -0.717 | 0.610 | -0.871 |
| **Dureza (1erMast.)** | -0.585 | -0.937 | 0.585 | 0.973 | -0.912 | 0.286 | 1 | -0.990 | -0.686 | -0.973 | 0.302 | -0.873 | -0.585 | -0.719 |
| **Cohes. (1er. Mast.)** | 0.693 | 0.977 | -0.693 | -0.996 | 0.961 | -0.148 | -0.990 | 1 | 0.577 | 0.996 | -0.165 | 0.795 | 0.693 | 0.614 |
| **Adhesiv. (1er. Mast)** | -0.189 | 0.387 | 0.189 | -0.500 | 0.327 | -0.893 | -0.686 | 0.577 | 1 | 0.500 | -0.901 | 0.954 | -0.189 | **0.999** |
| **Abs. Humedad** | 0.756 | 0.992 | -0.756 | **-1.000** | 0.982 | -0.058 | -0.973 | 0.996 | 0.500 | 1 | -0.075 | 0.737 | 0.756 | 0.540 |
| **Cohesiv. masa (dm.)** | 0.596 | 0.051 | -0.596 | 0.075 | 0.115 | **1.000** | 0.302 | -0.165 | -0.901 | -0.075 | 1 | -0.729 | 0.596 | -0.880 |
| **Adhesiv. boca (dm)** | 0.115 | 0.646 | -0.115 | -0.737 | 0.596 | -0.717 | -0.873 | 0.795 | 0.954 | 0.737 | -0.729 | 1 | 0.115 | 0.967 |
| **Geom. (res)** | **1.000** | 0.832 | **-1.000** | -0.756 | 0.866 | 0.610 | -0.585 | 0.693 | -0.189 | 0.756 | 0.596 | 0.115 | 1 | -0.143 |
| **Rec. Grasa en boca** | -0.143 | 0.430 | 0.143 | -0.540 | 0.371 | -0.871 | -0.719 | 0.614 | **0.999** | 0.540 | -0.880 | 0.967 | -0.143 | 1 |

*En negrita, valores significativos (fuera diagonal) al umbral alfa=0.050 (prueba bilateral)*

Valores propios:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Valor propio | 8.696 | 5.304 |
| % varianza | 62.113 | 37.887 |
| % acumulado | 62.113 | 100.000 |

*Número de valores propios triviales suprimidos: 12*

Vectores propios:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 0.254 | 0.288 |
| Humedad | 0.336 | 0.059 |
| Elasticidad | -0.254 | -0.288 |
| Dureza (1erMord.) | -0.339 | -0.005 |
| Cohes. (1erMord.) | 0.332 | 0.087 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | -0.023 | 0.433 |
| Dureza (1erMast.) | -0.331 | 0.095 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 0.338 | -0.035 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 0.173 | -0.374 |
| Abs. Humedad | 0.339 | 0.005 |
| Cohesiv. masa (dm.) | -0.029 | 0.433 |
| Adhesiv. boca (dm) | 0.252 | -0.290 |
| Geom. (res) | 0.254 | 0.288 |
| Rec. grasa en boca | 0.186 | -0.363 |

Coordenadas de las variables:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 0.749 | 0.663 |
| Humedad | 0.991 | 0.137 |
| Elasticidad | -0.749 | -0.663 |
| Dureza (1erMord.) | -1.000 | -0.011 |
| Cohes. (1erMord.) | 0.980 | 0.200 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | -0.069 | 0.998 |
| Dureza (1erMast.) | -0.976 | 0.219 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 0.997 | -0.080 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 0.509 | -0.860 |
| Abs. Humedad | 1.000 | 0.011 |
| Cohesiv. masa (dm.) | -0.086 | 0.996 |
| Adhesiv. boca (dm) | 0.744 | -0.668 |
| Geom. (res) | 0.749 | 0.663 |
| Rec. grasa en boca | 0.549 | -0.836 |

Cosenos cuadrados de las variables:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 0.561 | 0.439 |
| Humedad | 0.981 | 0.019 |
| Elasticidad | 0.561 | 0.439 |
| Dureza (1erMord.) | 1.000 | 0.000 |
| Cohes. (1erMord.) | 0.960 | 0.040 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | 0.005 | 0.995 |
| Dureza (1erMast.) | 0.952 | 0.048 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 0.994 | 0.006 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 0.260 | 0.740 |
| Abs. Humedad | 1.000 | 0.000 |
| Cohesiv. masa (dm.) | 0.007 | 0.993 |
| Adhesiv. boca (dm) | 0.554 | 0.446 |
| Geom. (res) | 0.561 | 0.439 |
| Rec. grasa en boca | 0.302 | 0.698 |

Contribuciones de las variables (%):

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Geom. Sup. (Text) | 6.446 | 8.285 |
| Humedad | 11.285 | 0.352 |
| Elasticidad | 6.446 | 8.285 |
| Dureza (1erMord.) | 11.498 | 0.002 |
| Cohes. (1erMord.) | 11.041 | 0.752 |
| Geom. Sup. (1erMord.) | 0.054 | 18.764 |
| Dureza (1erMast.) | 10.947 | 0.906 |
| Cohes. (1er. Mast.) | 11.426 | 0.120 |
| Adhesiv. (1er. Mast) | 2.985 | 13.959 |
| Abs. Humedad | 11.498 | 0.002 |
| Cohesiv. masa (dm.) | 0.085 | 18.714 |
| Adhesiv. boca (dm) | 6.373 | 8.405 |
| Geom. (res) | 6.446 | 8.285 |
| Rec. grasa en boca | 3.468 | 13.167 |

Coordenadas de las observaciones:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Tratamiento 1 | 3.955 | -1.032 |
| Tratamiento 2 | -3.122 | -2.159 |
| Tratamiento 3 | -0.833 | 3.191 |

Cosenos cuadrados de las observaciones:

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Tratamiento 1 | 0.936 | 0.064 |
| Tratamiento 2 | 0.676 | 0.324 |
| Tratamiento 3 | 0.064 | 0.936 |

Contribuciones de las observaciones (%):

| | F1 | F2 |
|---|---|---|
| Tratamiento 1 | 59.970 | 6.696 |
| Tratamiento 2 | 37.370 | 29.297 |
| Tratamiento 3 | 2.660 | 64.007 |