

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**CENTRO DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LA PRODUCCIÓN  
AGROINDUSTRIAL**

---

**TEMA:** *“Estudio del efecto de la incorporación de concentrados de proteínas del suero de quesería en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa, para promover un mayor aprovechamiento del suero generado en las queserías del cantón Pillaro, Provincia de Tungurahua”.*

---

Trabajo de Investigación

Previa a la obtención del Grado Académico de Magister en Gestión de la  
Producción Agroindustrial.

***Autor: Ing. Diego Manolo Salazar Garcés***

***Director: Ing. Mg. Alex Valencia Silva.***

*Ambato – Ecuador*

2012

## **Al Consejo de Posgrado de la UTA.**

El Tribunal receptor de la defensa del trabajo de investigación con el tema: ***“Estudio del efecto de la incorporación de concentrados de proteínas del suero de quesería en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa, para promover un mayor aprovechamiento del suero generado en las queserías del cantón Pillaro, Provincia de Tungurahua”***, presentado por: Ing. Diego Manolo Salazar Garcés y conformado por: Ing. Mg. Danilo Morales Carrasco, Ing. Mg. Víctor Guillermo Poveda Proaño, Ing. Mg. Juan Ramos Guevara, Miembros del Tribunal; Ing. Mg. Alex Valencia Silva, Director del trabajo de investigación y presidido por Ing. M.B.A. Romel Rivera Carvajal, Presidente del Tribunal; Ing. Mg. Juan Garcés Chávez, Director del CEPOS – UTA, una vez escuchada la defensa oral el Tribunal aprueba y remite el trabajo de investigación para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA.

---

**Ing. M.B.A. Romel Rivera Carvajal**  
**Presidente del Tribunal de Defensa.**

---

**Ing. Mg. Juan Garcés Chávez**  
**DIRECTOR CEPOS.**

---

**Ing. Mg. Alex Valencia Silva.**  
**Director de Trabajo de Investigación.**

---

**Ing. Mg. Danilo Morales Carrasco**  
**Miembro del Tribunal**

---

**Ing. Mg. Víctor Guillermo Poveda Proaño**  
**Miembro del Tribunal**

---

**Ing. Mg. Juan Ramos Guevara.**  
**Miembro del Tribunal**

## AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el trabajo de investigación con el tema: ***“Estudio del efecto de la incorporación de concentrados de proteínas del suero de quesería en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa, para promover un mayor aprovechamiento del suero generado en las queserías del cantón Pillaro, Provincia de Tungurahua”***, nos corresponde exclusivamente a: Ing. Diego Manolo Salazar Garcés Autor y de Ing. Mg. Alex Valencia Silva. Director del trabajo de investigación; y el patrimonio intelectual del mismo a la Universidad Técnica de Ambato.

---

**Ing. Diego Manolo Salazar Garcés.**

**Autor.**

---

**Ing. Mg. Alex Valencia Silva.**

**Director**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este trabajo de investigación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución. Cedo los Derechos de mi trabajo de investigación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de esta, dentro de las regulaciones de la Universidad.

---

**Ing. Diego Manolo Salazar Garcés.**

**Autor.**

## **AGRADECIMIENTO.**

### ***A Dios.***

*Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.*

### ***A mí amada esposa Lilian y mi querida hija Samy.***

*A ti Lilián por haberme apoyado siempre, por tu amor y comprensión.*

*A ti mi pequeña Samy que con tu sonrisa siempre alegras cada día de mi vida.*

### ***A mi madre María.***

*Por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.*

### ***A mi padre Sergio.***

*Por haberme apoyado en todo momento, por los ejemplos de superación académica y profesional que lo caracterizan y que me ha infundido siempre y por su amor.*

### ***A mis familiares.***

*A mis hermanos Alexander, Fernando y Cristina y a todos aquellos familiares que me apoyaron para continuar con mi formación académica.*

### ***A mis maestros y amigos.***

*Un agradecimiento especial a mi tutor Ing. Alex Valencia. por su apoyo, ánimo y valiosos consejos en el transcurso del desarrollo de esta fase de mi formación.*

*Un agradecimiento sincero a los directivos y maestros del programa de Maestría en Gestión de la producción Agroindustrial de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato por su ayuda y conocimientos impartidos.*

*Un sincero agradecimiento a mi querido amigo Jorge Vélez por su apoyo siempre incondicional Dios te lo pague querido amigo, finalmente un agradecimiento a todos mis grandes amigos del Programa de Maestría.*

*¡A todos. Gracias!*

## **INDICE GENERAL DE CONTENIDOS**

### **A.- PAGINAS PRELIMINARES**

Titulo.....	I
Aprobación del tribunal de grado.....	II
Autoría de la investigación.....	III
Derechos del autor.....	IV
Agradecimiento.....	V
Índice general de contenidos.....	VI
Resumen ejecutivo.....	IX

### **B.- TEXTO: INTRODUCCION**

<b>CAPÍTULO 1. EL PROBLEMA.....</b>	<b>1</b>
1.1 Tema.....	1
1.2 Planteamiento del problema. ....	1
1.2.1 Contextualización. ....	1
1.2.2 Análisis crítico.....	3
1.2.3 Prognosis.....	4
1.2.4 Formulación del problema. ....	4
1.2.5 Interrogantes.....	4
1.2.6 Delimitación del objeto de investigación. ....	5
1.3 Justificación.....	5
1.4 Objetivos.....	6
1.4.1 General.....	6
1.4.2 Específicos. ....	7
<b>CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>8</b>
2.1 Antecedentes investigativos.....	8
2.2 Fundamentación filosófica.....	8
2.3 Fundamentación legal.....	8
2.4 Categorías fundamentales.....	9
2.5 Hipótesis.....	38
2.6 Señalamiento de variables de la hipótesis.....	39

<b>CAPÍTULO 3.METODOLOGÍA.....</b>	<b>40</b>
3.1 Modalidad básica de la investigación .....	40
3.2 Nivel o tipo de investigación .....	40
3.3 Población y muestra .....	41
3.4 Operacionalización de variables .....	42
3.5 Plan de recolección de información .....	44
3.6 Plan de procesamiento de datos .....	44
3.7 Materiales y métodos:.....	44
3.7.1 Obtención y preparación de la leche. ....	44
3.7.2 Análisis fisicoquímicos de las leches, sueros y quesos.....	44
3.7.3 Preparación de los concentrados de proteína.....	44
3.7.4 Determinación del grado de desnaturalización de las proteínas del suero. ....	45
3.7.5 Rendimiento quesero. ....	45
3.7.6 Elaboración de queso fresco.....	46
3.7.7 Cinética de eliminación de suero.....	46
3.7.8 Propiedades de coagulación .....	47
3.7.9 Microestructura por microscopía laser confocal. ....	47
<b>CAPÍTULO 4. ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS .....</b>	<b>48</b>
4.1 Análisis fisicoquímico.....	48
4.2 Desnaturalización de los concentrados de proteína. ....	49
4.3 Rendimiento quesero.....	52
4.4 Cinética de eliminación de suero.....	54
4.5 Propiedades de coagulación .....	55
4.6 Micro estructura por microscopía laser confocal.....	56
<b>CAPITULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES. ....</b>	<b>58</b>
5.1 Conclusiones .....	58
<b>CAPITULO 6.PROPUUESTA .....</b>	<b>60</b>
6.1 Datos Informativos.....	60
6.2 Antecedentes de la Propuesta.....	60
6.3 Justificación .....	61
6.4 Objetivos.....	62
6.5 Análisis de factibilidad. ....	62
6.6 Fundamentación.....	64

6.7 Metodología. Modelo Operativo.....	65
6.8 Administración. ....	68
6.9. Previsión de la evaluación .....	69
<b>C.- MATERIALES DE REFERENCIA.....</b>	<b>70</b>
<b>1. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>70</b>
<b>2. ANEXOS.....</b>	<b>75</b>

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**CENTRO DE ESTUDIOS DE POSGRADO**  
**MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LA PRODUCCIÓN AGROINDUSTRIAL**

“Estudio del efecto de la incorporación de concentrados de proteínas del suero de quesería en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa, para promover un mayor aprovechamiento del suero generado en las queserías del cantón Pillaro, Provincia de Tungurahua”.

**Autor:** Ing. Diego Manolo Salazar Garcés

**Director:** Ing. Mg. Alex Valencia Silva.

**Fecha:** Diciembre del 2012

### **Resumen Ejecutivo**

En el trabajo de investigación se estudió el efecto de la incorporación de concentrados de proteínas del suero comerciales (1,5%, v/w) obtenidas por tratamientos térmicos sobre la leche de quesería, para la producción de quesos con reducido contenido de grasa. Se ensayaron diferentes concentrados obtenidos a diferentes temperaturas. Se evaluaron los efectos sobre las propiedades de coagulación, el rendimiento quesero, la eliminación de suero y la microestructura de la cuajada. Un análisis por HPLC permitió establecer la desnaturalización de las proteínas en los concentrados proteicos, en los que se observó una mayor desnaturalización de  $\beta$ -Lg mientras mayor es el tratamiento térmico aplicado para su obtención.

Los quesos elaborados a partir de leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A835 (QPS6) mostraron el mayor rendimiento obtenido por centrifugación y una menor cantidad de suero eliminado durante las 2 h posteriores al moldeado. Los resultados muestran que la inclusión de proteínas del suero no afecta el tiempo de floculación ni velocidad de agregación, viéndose ligeramente disminuida la dureza del gel a los 45 min.

La microestructura de los geles obtenida por microscopía laser confocal no mostró diferencias en la matriz proteica ni en la distribución de los glóbulos grasos entre las distintas cuajadas.

**Palabras clave:** quesos reducidos en grasa, tratamientos térmicos, concentrados de proteína del suero.

## INTRODUCCION

La obesidad se ha convertido en uno de los problemas sanitarios más importantes de los países industrializados por lo que los consumidores, tomando conciencia de los problemas de salud, están reclamando productos con un perfil nutricional más adecuado, provocando una creciente demanda de productos bajos en grasa. Desafortunadamente, la grasa aporta calorías a los productos e interviene en la textura, aroma y sabor de los alimentos.

Los quesos con reducido contenido de grasa elaborados por métodos convencionales presentan defectos organolépticos diferentes a los quesos elaborados con leche entera, estas limitaciones han hecho crecer el interés por investigar nuevas tecnologías de procesamiento para obtener productos nutricionalmente más sanos pero con las mismas características organolépticas que sus homólogos con grasa.

Así pues, la incorporación a la leche de fracciones proteicas obtenidas del suero ofrece el potencial de producir alimentos con propiedades funcionales mejoradas, las cuales dependerán en gran medida del grado de desnaturalización de las proteínas predominantes.

En la actualidad se pueden encontrar diversos concentrados proteicos que se comercializan como ingredientes para la elaboración de distintos alimentos. Estos concentrados se suelen obtener mediante tratamientos térmicos elevados, provocando modificaciones importantes sobre las propiedades funcionales de las proteínas.

Los tratamientos térmicos modifican la estructura proteica mediante cambios en los enlaces de hidrógeno, ruptura de interacciones hidrofóbicas y separación de pares de iones. Estos cambios dependen de la estructura proteica, concentración de proteína, presión, temperatura, pH y fuerza iónica (Lullien-Perrein et al., 2002).

La incorporación de proteínas del suero en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa, permitirá desarrollar productos con un mejor valor nutritivo y que beneficien la salud del consumidor.

## **CAPÍTULO I**

### **EL PROBLEMA**

#### **1.1 Tema.**

“Estudio del efecto de la incorporación de concentrados de proteínas del suero de quesería en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa, para promover un mayor aprovechamiento del suero generado en las queserías del cantón Pillaro, Provincia de Tungurahua”

#### **1.2 Planteamiento del problema.**

Los residuos líquidos (suero de quesería) generados en las queserías tradicionales y semindustriales han sido por mucho tiempo desaprovechados y mal utilizados, la falta de recursos económicos han incidido en su desaprovechamiento y desinterés por parte de los productores para el mejoramiento tecnológico.

##### **1.2.1 Contextualización.**

###### **Contextualización macro.**

El uso de concentrados de proteínas del suero en la elaboración de alimentos con altos valores nutritivos se han desarrollado en países industrializados de Europa así como de Norte América, principalmente debido a que las propiedades funcionales de las mismas pueden mejorar los atributos organolépticos en especial de alimentos en donde se ha eliminado total o parcialmente la grasa que los constituye. Durante la última década, las tasas de obesidad han aumentado en más del 60% entre los adultos,

aproximadamente 59 millones de adultos en América son obesos. Entre las edades jóvenes de 6 a 19 años, aproximadamente 9 millones se consideran con exceso de peso. Una reducción del 10% en la proporción de grasa en la dieta puede resultar en una reducción correspondiente de 238 kcal / día de la energía total requerida. Por lo tanto, la reducción de la grasa que contienen los alimentos mediante el uso de sustitutos de grasa, junto con la reducción de la cantidad de calorías, tiene un enorme potencial para alterar el efecto energético de ciertos alimentos y podría tener un impacto significativo sobre la salud de la población (American Dietetic Association 2005; Vikram V. 2001).

### **Contextualización meso.**

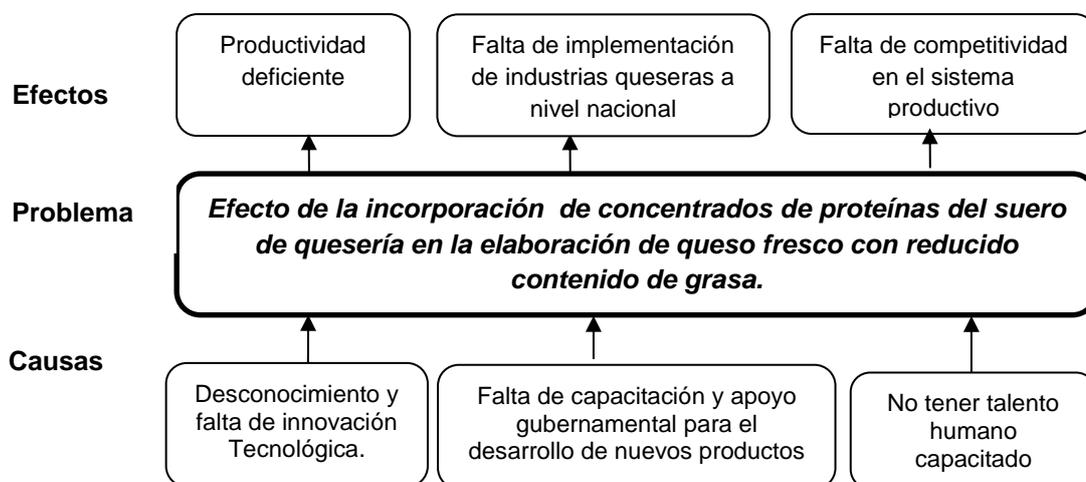
Los estudios muestran que en el Ecuador los subproductos del suero son casi o nada utilizados, debido al escaso desarrollo tecnológico en torno a la fabricación e innovación de productos alimenticios, sin embargo la problemática referente a la utilización de suero líquido como sustituto de la leche ha generado una problemática muy marcada entre los pequeños productores de leche y los productores de queso, los primeros debido a que sus ingresos se han reducido notablemente y los segundos porque han caído en una red de mal aprovechamiento de este recurso. Sin embargo el desarrollo tecnológico de otros países puede conducir a la aplicación de una tecnología que permita un mejor aprovechamiento de los recursos que se generan en las queserías.

### **Contextualización micro.**

En la provincia del Tungurahua sus indicadores demuestran que existe un gran potencial de producción de quesos, mas sin embargo los productos secundarios obtenidos no reportan en que lo utilizan. Las investigaciones demuestran que este tipo de subproductos (suero de quesería) no está siendo utilizado de la mejor manera, en la mayoría de casos se han destinado a empresas lácteas para que estas lo aprovechen de alguna manera y en el peor de los casos se arrojan a los efluentes y generan contaminación.

## 1.2.2 Análisis crítico.

Gráfico 1. Árbol de problemas.



Elaborado por: Diego Salazar.

Los productores de queso tradicionales no han contado con iniciativas que les proporcionen herramientas para mejorar e innovar tecnológicamente, esto les ha conducido a que su producción sea deficiente.

Las políticas en torno al desarrollo tecnológico han sido débiles y de bajo impacto en la población, esta deficiencia y falta de apoyo los ha llevado a verse envueltos en sistemas comerciales que podrían estar fuera de la legalidad.

Al no contar con alternativas de producción y más aún de mejoramiento de la producción, las personas involucradas no encuentran una salida viable de los recursos que generan y en lugar de aprovecharlos se han desperdiciado y mal aprovechado.

Por todo lo expuesto y aunque el sector quesero requiere primordialmente capacitación, infraestructura y servicios básicos, se deben emprender proyectos que fortalezcan la productividad e innovación desde las más pequeñas fuentes de generación de productos.

Hacen falta estudios encaminados a buscar nuevas maneras de aprovechar los recursos que se generan buscando la más alta rentabilidad.

### **1.2.3 Prognosis.**

Al no realizar este estudio y no tomar en consideración su propuesta, las queserías tradicionales no tendrían la oportunidad de mejorar e innovar en la producción de quesos con mejores rendimientos y con mejor valor nutricional. El impacto que generaría el no desarrollo de investigaciones sobre la utilización de concentrados de proteína del suero en la elaboración de quesos con reducido contenido de grasa inhibiría el desarrollo económico y social de las poblaciones que se involucran en el proceso productivo.

### **1.2.4 Formulación del problema.**

Estudio del efecto de la incorporación de concentrados de proteínas del suero de quesería en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa, para promover un mayor aprovechamiento del suero generado en las queserías del cantón Pillaro, Provincia del Tungurahua.

### **1.2.5 Interrogantes.**

- Cómo se organizará, motivará y capacitará a la gente de este sector para que participe de esta línea de innovación tecnológica y la adopten en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa?
- Qué utilidad pueden contribuir los estudios sobre las propiedades funcionales de las proteínas del suero en productos con reducido contenido de grasa?
- Qué estudios complementarios deberían aplicarse para aprovechar al máximo todos los productos derivados de este sistema de producción?
- Cuál podría ser el costo de implementación de un sistema de producción de concentrados de proteínas del suero?
- Con el proyecto piloto que se propone, se mejorarían las condiciones de producción de la queserías?
- Qué tipo de consumidor podría aceptar de este producto?

### **1.2.6 Delimitación del objeto de investigación.**

**Campo:** Agroindustrial.

**Área:** Alimentos.

**Aspecto Específico:** Elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa.

**Delimitación Temporal:** Noviembre de 2011 hasta octubre de 2012.

**Delimitación Espacial:** Queserías del Cantón Pillaro, Provincia de Tungurahua.

### **1.3 Justificación**

En Tungurahua la producción lechera que se desarrolla es de suma importancia, especialmente en las haciendas situadas al noreste de la provincia. De esta producción lechera se derivan una serie de productos lácteos transformados como leche pasteurizada, yogurt y queso, este último considerado un caso particular debido a que en este proceso se producen recursos secundarios que no han sido aprovechados como es el caso del suero de quesería. En la actualidad la temática en relación al suero se ha visto involucrada en una serie de situaciones incluso legales que no favorecen ni al sector productivo y mucho menos al consumidor. La mala utilización de este recurso (suero de quesería) por parte de algunas industrias ha desfavorecido su utilización como agente mejorador de la calidad proteica de los alimentos con su inclusión como ingrediente.

El suero contiene principalmente proteínas séricas como la  $\alpha$ -Lactalbumina y  $\beta$ -Lactoglobulina entre otros componentes beneficiosos, la  $\beta$ -Lactoglobulina es la más importante por las características que aporta en la producción de alimentos enriquecidos con proteína del suero e incluso en la actualidad por sus propiedades funcionales que permiten como en el caso de los productos con reducidos contenidos de grasa mejorar los atributos

organolépticos como la textura, la masticabilidad y el sabor del producto terminado

Lo anterior permite manifestar que existen trabajos realizados con la utilización de proteínas del suero en diferentes sistemas alimenticios como los reportados por Lucey y Gorry, (1994) entre otros. En quesos con reducido contenido de grasa, la inclusión de concentrados de proteínas del suero es de vital importancia ya que es precisamente la grasa de la leche la que le aporta el sabor y la textura características de un queso, sin embargo en la actualidad con los altos índices de obesidad y problemas cardiacos producidos por las grasa de origen animal ha hecho que la población se concientice de su salud y busque alimentos con diferentes perfiles nutricionales y con contenidos bajos de grasa y sal.

En este sentido el desarrollo de investigaciones permitirán mejorar los atributos de los productos obtenidos y por otro lado permitirán que las queserías puedan aprovecharse de un recurso considerado como un subproducto no utilizado.

En esta investigación se llevará a cabo un estudio respecto a los aspectos físico químicos y económicos relacionados con el aprovechamiento del suero de quesería en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa.

Los resultados que se obtengan del estudio permitirán justificar la propuesta de obtener concentrados de proteínas del suero para su posterior utilización en la elaboración de queso fresco con contenido reducido de grasa.

#### **1.4 Objetivos.**

##### **1.4.1 General.**

- Determinar el efecto de la incorporación de concentrados de proteínas del suero a la leche para la producción de quesos con reducido contenido de grasa.

#### **1.4.2 Específicos.**

- Determinar el grado de desnaturalización de las proteínas del suero por cromatografía líquida (HPLC) en fase inversa.
- Determinar las propiedades fisicoquímicas, el rendimiento quesero, cinética de desuerado, microestructura por microscopia laser confocal de las muestras elaboradas
- Describir el procedimiento más adecuado para la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa.
- Realizar un estudio económico aproximado de la producción de concentrados de proteínas del suero.
- Promover el desarrollo de un programa de innovación tecnológica que permita que los pequeños productores de queso mejoren sus alternativas de producción y mejoren sus ingresos.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 Antecedentes investigativos.**

Con relación a la incorporación de proteínas de suero en la elaboración de quesos con reducido contenido de grasa no se observan trabajos en la Biblioteca de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. Sin embargo el trabajo de investigación se fundamentó en la bibliografía reportada en el Journal of Dairy Science, Journal of Dairy Research, Journal of Food Technology entre otros.

#### **2.2 Fundamentación filosófica.**

El trabajo se fundamenta en el enfoque crítico propositivo ya que parte de la investigación experimental y del análisis de información bibliográfica como herramientas metodológicas básicas; las mismas que permitirán obtener resultados cuya interpretación a su vez servirá para validar una hipótesis encaminada a la proposición de una alternativa de solución eficaz a un problema real del entorno.

#### **2.3 Fundamentación legal.**

- Normas Técnicas Ecuatorianas:

INEN 10-2003 sobre leche pasteurizada de vaca.

NTE INEN 0062:74 Quesos. Clasificación y designaciones

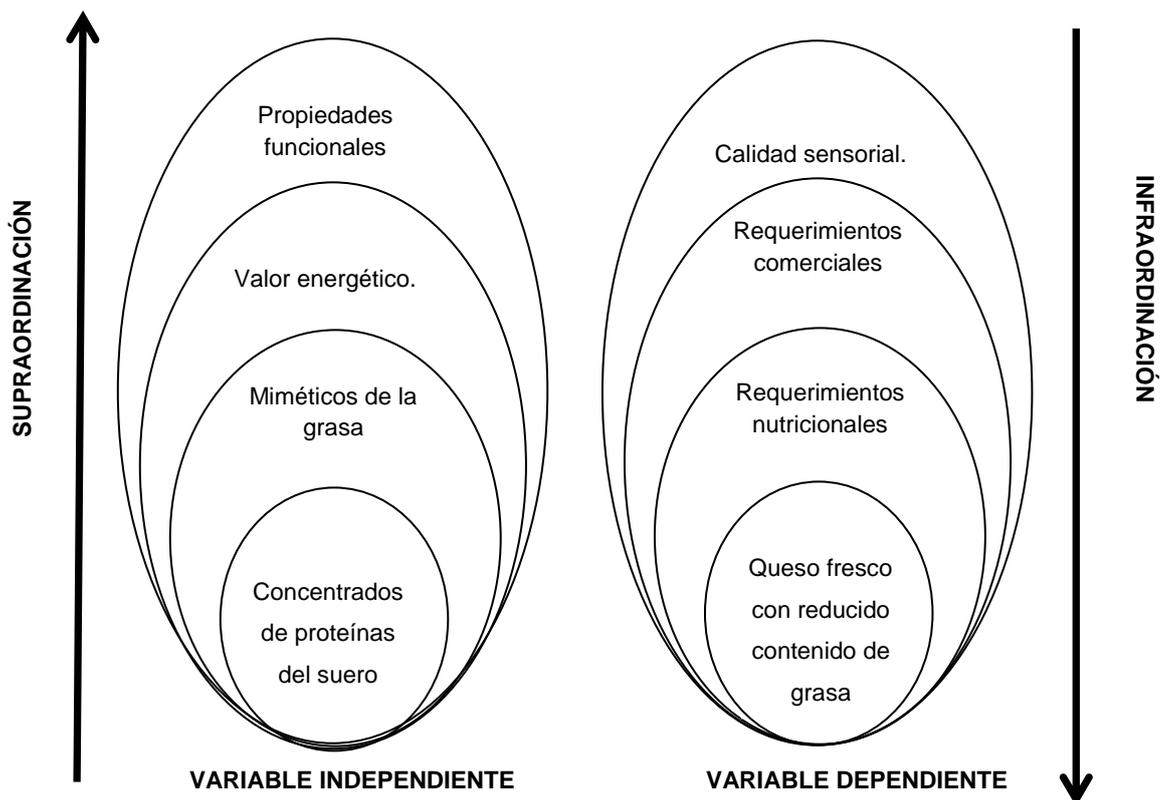
NTE INEN 0063:74 Quesos. Determinación del contenido de humedad.

NTE INEN 0064:74 Quesos. Determinación del contenido de grasas.

- CODEX STAN 283-1978.
- Reglamentación europea sobre declaraciones nutricionales (Reglamento 1924/2006).

## 2.4 Categorías fundamentales.

**Gráfico 2. Organizador lógico de variables.**



Elaborado: Diego Salazar.

## **Queso.**

El queso es un alimento sólido elaborado a partir de la leche cuajada de vaca, cabra, oveja, búfalo, camello u otros mamíferos rumiantes. La leche es inducida a cuajarse usando una combinación de cuajo (o algún sustituto) y acidificación. Las bacterias se encargan de acidificar la leche, jugando también un papel importante en la definición de la textura y el sabor de la mayoría de los quesos. Algunos también contienen mohos, tanto en la superficie exterior como en el interior. (Johnson, 2011)

Para los antiguos griegos "el queso era un regalo de los dioses". Hay centenares de variedades de queso. Sus diferentes estilos y sabores son el resultado del uso de distintas especies de bacterias y mohos, diferentes niveles de nata en la leche, variaciones en el tiempo de curación, diferentes tratamientos en su proceso y diferentes razas de vacas, cabras o el mamífero cuya leche se use. Otros factores incluyen la dieta del ganado y la adición de agentes saborizantes tales como hierbas, especias o ahumado, que la leche esté o no pasteurizada también puede afectar al sabor.

## **Clasificación de los quesos.**

Los quesos pueden clasificarse desde varios puntos de vista, por su contenido de agua, contenido de materia grasa, corteza, pasta y leche.

## **Contenido de agua.**

Es la proporción de agua de un queso desnatado (es decir sin tener en cuenta su contenido en grasa) Se trata de un dato importante para poder conocer su consistencia y en las etiquetas de los quesos viene precedida este dato por las siglas wff. En los quesos artesanos generalmente no aparece este dato para obtenerlo bastaría con hacer una simple operación que consiste en restar a 100 el porcentaje de extracto seco de un queso, multiplicarlo por cien y dividirlo por 75. El contenido en agua de un queso proporciona la siguiente clasificación:

- De pasta extradura: menos del 51%
- De pasta dura: 56% o menos

- De corte: entre el 54 y el 63 %
- De pasta semi-blanda: del 61 al 69%
- De pasta blanda (fresco): más del 67 %.

### **Materia grasa sobre extracto seco**

En las etiquetas de los quesos el contenido en materia grasa sobre el extracto seco viene precedido por las siglas M. G. sobre E. S. o M. G./E. S. y siempre se da en proporción a su extracto seco (es decir una vez eliminado su contenido de agua). El extracto seco de un queso se compone de grasa, proteínas, lactosa, ácido láctico, sales, vitaminas y enzimas.

Es un dato importante para poder conocer la cremosidad de un queso (sobre todo en lo de una misma familia), a mayor contenido en grasa más cremoso es el queso.

### **Proceso de elaboración de queso fresco.**

El queso fresco es un producto lácteo muy popular, en el Anexo 1 se muestran los pasos individuales que participan en el proceso de producción y las mejoras en la tecnología para la incorporación de proteínas de suero.

### **Pasteurización de la leche.**

La pasteurización consiste en calentar la leche a 63°C durante 30 minutos o 73°C durante 15 segundos (proceso continuo con pasteurizador de placas).

El tratamiento de pasteurización se aplica para destruir, al menos en parte, la flora indeseable de la leche que puede producir defectos en el queso. De esta forma las fermentaciones se desarrollan de manera menos regular y más fácil de controlar y se puede obtener un producto de calidad más uniforme (Amiot, 1991). La pasteurización de la leche permite reducir la carga microbiana para que cumpla con la normativa vigente respecto de los alimentos procesados por este sistema.

## **La coagulación.**

Para coagular la leche destinada a la elaboración de queso se utilizan dos métodos: la acidificación y la adición de cuajo, que dan lugar a dos tipos de cuajada, llamadas ácida y enzimática. Estas cuajadas tienen propiedades y comportamientos muy distintos y las diferencias entre los tipos son la base de la tecnología utilizada para fabricar las distintas variedades de queso y determinan las características individuales de cada una de ellas.

En la industria quesera el método que más se utiliza es la coagulación enzimática de la leche. Consiste en añadir a la leche una enzima que tiene la propiedad de hidrolizar el complejo caseína. En esta reacción el fosfocaseinato cálcico que se encuentra en forma soluble en la leche, se transforma por la acción de una enzima coagulante en fosfoparacaseinato de calcio insoluble (Amiot, 1991).

## **Corte de la cuajada.**

Es la división del coágulo de caseína, por medio de la lira. El corte tiene por objeto transformar la masa de cuajada en granos de un tamaño determinado, para dejar escapar el suero. El tamaño de los granos de cuajada depende del contenido de agua que se desea en el queso. Para fabricar quesos blandos, los cuales contienen bastante agua, es necesario cortar el bloque de cuajada en granos grandes.

Por el contrario para obtener quesos duros, con poca agua en el interior de la masa, los granos deben ser muy pequeños.

El corte de la cuajada debe ser hecho con mucha delicadeza, pues de otro modo habrán muchas pérdidas por pulverización de los granos y por la salida de grasa, la cual puede pasar al suero, cambiara su color verde amarillento casi transparente por una coloración blanquecina. Todo esto disminuirá el rendimiento en la transformación de leche a queso (Dubach, 1988).

### **Batido de la cuajada.**

Es la agitación de los granos de cuajada dentro del suero caliente, para que salga el suero que poseen en su interior. Conforme avanza el batido, el grano disminuye de volumen y aumenta su densidad, por la pérdida paulatina de suero. Debe tenerse en cuenta que la alta acidez y la alta temperatura facilitan o estimulan la contracción del grano y la salida del suero (Dubach, 1988).

### **Reposo y desuerado.**

Al finalizar el batido, se saca el agitador y los granos de cuajada se depositan rápidamente en el fondo de la tina en razón de su mayor peso. Después, se puede empezar a sacar parte del suero que ya no se lo necesita (Dubach, 1988).

### **Lavado y salado de la cuajada.**

El lavado es la mezcla de los granos de cuajada con agua caliente, con el propósito de sacar el suero, cargado de lactosa y de ácido láctico, del interior de aquellos y reemplazarlo con el agua. De esta manera diluyendo la lactosa se detiene la acidificación de la cuajada e ingresa agua para conservar una consistencia blanda o semidura en el futuro queso.

La temperatura del agua está más o menos según el tipo de queso a elaborarse. En la regla se usa agua de 35°C para queso fresco, 40-50°C para el Andino y 60- 70°C para el Tilsit y Dambo (Dubach, 1988).

### **Moldeado y prensado.**

El moldeado es la colocación de los granos de cuajada dentro de un molde, para dar la forma al queso. El prensado debe ser muy suave al comienzo y después puede aumentarse la presión paulatinamente. Si el queso es sometido a una fuerte presión desde el comienzo, cuando aún tiene mucho suero, se produce una fuerte deshidratación en la parte exterior de la masa.

Este desuerado desigual produce un queso con corteza muy dura, con una masa periférica reseca, que al cortarla se deshace como si fuera arena, y con una masa interior demasiado blanda y ácida (Dubach,1988).

### **Pesado del queso.**

Después del moldeo los quesos se retiran de los moldes y se los pesa para llevar así control técnico y calcular el rendimiento obtenido respecto al volumen de leche utilizado (Dubach, 1988).

### **Salado del queso.**

La sal no se utiliza solamente como condimento: desempeña un papel técnico fundamental en la fabricación de queso facilitando el desuerado, es decir, la eliminación del agua libre; también contribuye a la formación de una corteza que es, en algunas variedades de queso, más gruesas que en otras.

El principal efecto de la sal es controlar la maduración actuando como un agente de conservación selectivo. Inhibiendo el desarrollo de algunas bacterias indeseables impidiendo así la aparición de defectos del aroma (Dubach, 1988)

### **Producción de queso en el Ecuador.**

#### **Zonas de producción.**

El sector de queso fresco es altamente fragmentado por la presencia de un sin número de empresas caseras en el mercado. El sector quesero se encuentra localizado principalmente en las provincias de Pichincha, Cotopaxi, Imbabura, Carchi, Bolívar, Cañar, Azuay.

En las provincias de Pichincha y Cotopaxi se fabrican más de 100 marcas del producto. En otras zonas como Bolívar, Cañar o Azuay, si bien se desconoce la cantidad de productores es evidente la abundancia de queseros desperdigados a lo largo de las vías de acceso a las ciudades (SICA, 2003).

### **Volumen del mercado ecuatoriano.**

El volumen de producción nacional es similar al consumo aparente de quesos, de modo que el mercado interno puede categorizarse como "auto-abastecido". Las importaciones representan únicamente el 0.3% de la oferta total de quesos al mercado ecuatoriano. El consumo anual de queso por habitante se calcula en 5.2kg, repartidos entre 4.5kg de queso fresco y 0.7kg de queso maduro. Lo que significa que cada ecuatoriano consume alrededor de 14 gramos diarios de queso (SICA, 2003).

### **Necesidades nutricionales.**

La obesidad se ha convertido en uno de los principales problemas de salud más importantes de los países industrializados. La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) revela que más del 50% de la población de sus países miembros padece sobrepeso, y uno de cada seis es obeso. (Internacional Obesity Task Force, 2011).

La obesidad además, es un factor de riesgo para enfermedades como diabetes tipo 2 e hipertensión. Está demostrado que un alto consumo de grasas saturadas eleva el nivel de colesterol total en sangre, en particular, el nivel de colesterol LDL que es un factor clave de riesgo para enfermedades coronarias y accidente cerebrovascular isquémico (O'Connor y O'Brien., 2002).

La Organización Mundial de la Salud en su informe sobre políticas de alimentación y nutrición pone de manifiesto que los enfoques gubernamentales han incluido reglamentación obligatoria para las normas alimentarias, recomendaciones nutricionales, aumentar la sensibilización acerca de los efectos negativos del consumo de grasas saturadas a través de alegaciones nutricionales y de salud, el etiquetado por voluntad propia u obligatorio de los contenidos en los alimentos y una reformulación voluntaria por parte de la industria.

Una reducción del 10% en la proporción de grasa en la dieta puede resultar en una reducción correspondiente de 238 kcal / día de la energía total requerida. Por lo tanto, la reducción de la grasa que contienen los alimentos mediante el uso de sustitutos de grasa, junto con la reducción de la cantidad de calorías, tiene un enorme potencial para alterar el efecto energético de ciertos alimentos y podría tener un impacto significativo sobre la salud de la población (Vikram, 2001; American Dietetic Association 2005).

### **Aporte Nutricional de los productos lácteos.**

Los productos lácteos proporcionan generosas cantidades de proteína, calcio y fósforo, que son nutrientes esenciales en la dieta humana (Johnson, 2011).

Sin embargo, su grasa es principalmente saturada. Por esta razón, en los últimos años se ha incrementado la demanda por parte de los consumidores de productos lácteos bajos en grasa. En el caso de quesos, la eliminación o reducción de la grasa afecta adversamente el sabor y la textura del producto (Drake y Swanson, 1995; Vikram, 2001).

### **Quesos con reducido contenido de grasa.**

Los quesos con reducido contenido de grasa elaborados por métodos convencionales presentan defectos organolépticos como textura quebradiza y gomosa, falta de sabor o amargor pronunciado. A medida que disminuye el contenido de grasa, la proteína de la matriz se vuelve más compacta y la textura del queso es más gomosa (Zalazar *et al.*, 2002).

Muchos son los trabajos que se concentran en la optimización de la producción y mejora de las cualidades sensoriales de quesos con baja y reducida cantidad de grasa (O'Connor y O'Brien 2002). Los procedimientos para la fabricación de este tipo de queso incluyen modificaciones en las técnicas de elaboración (Johnson, 2011), selección de microorganismos del fermento (Merrill *et al.*, 1994) y/o el uso de aditivos tales como estabilizantes y miméticos de grasas (Vikram, 2001).

### **Miméticos de la grasa.**

Los sustitutos de la grasa se pueden dividir en dos categorías, es decir, sustitutos de las grasas y miméticos de grasa. Sustitutos de grasas son moléculas que poseen las características físicas y funcionales de las moléculas de grasa convencionales (por ejemplo, triglicéridos). Los sustitutos de la grasa pueden reemplazar directamente las moléculas de grasa convencionales en los alimentos, son típicamente moléculas sintéticas que no proporcionan energía o moléculas de lípidos estructurados que proporcionan un nivel reducido de energía. Generalmente son estables al calor y son adecuadas para cocinar a altas temperaturas y aplicaciones de fritura.

Los miméticos de grasa son sustancias que pueden imitar algunas de las propiedades organolépticas y físicas de las moléculas de grasa. Los miméticos de grasa son típicamente proteínas o hidratos de carbono basados en moléculas que pueden ser modificadas para imitar algunas de las propiedades de las grasas convencionales. Su contribución en energía a la dieta va de 0 a 4 kcal gr<sup>-1</sup>.

Los miméticos de grasa no son adecuados para aplicaciones a alta temperatura, tales como fritura, ya que son susceptibles a la desnaturalización o caramelización. Los miméticos de la grasa son generalmente polares, solubles en agua. Por lo tanto, no pueden sustituir algunos de las características no polares y funcionales de las grasas, tales como ser liposoluble, capacidad de transporte de sabor. Sin embargo, su naturaleza polar facilita la unión del agua que ayuda a generar una sensación de cremosidad y untuosidad en alimentos similares a la que se encuentra en su totalidad la grasa.

### **Producción de suero de quesería (lactosuero).**

Hoy en día el suero supone uno de los mayores subproductos de la industria quesera. De hecho, el volumen de suero está creciendo casi paralelamente al volumen de leche, puesto que el aumento en la producción de leche

conlleva una mayor producción de quesos, que implica directamente el incremento de la producción de suero (Smithers, 2008).

Según la Federación Nacional de Industrias Lácteas (FIAB, 2010), la producción de quesos en 2008 fue de 317.100 toneladas, Teniendo en cuenta que por término medio, 10 litros de leche generan, aproximadamente, 1 kg de queso y 9 litros de suero (Jelen, 2003), se puede estimar la producción de suero de quesería, tal como refleja la Tabla 1.

**Tabla 1:** Producción de quesos y estimación de la producción de lactosuero

	<b>Producción de Quesos (toneladas)</b>	<b>Producción estimada de lactosuero. (toneladas)</b>
Quesos de vaca	129000	1161000
Quesos de oveja	45300	407700
Quesos de cabra	20400	183600
Quesos de mezcla	122400	1101600
<b>Total de queso</b>	<b>317100</b>	<b>2853900</b>

Fuente: FIAB (2010)

### **Problemas medioambientales del lactosuero.**

La situación del suero ha cambiado bastante en los últimos años. Durante mucho tiempo se creyó que el suero era un producto de desecho, y se vertía sin control en la naturaleza (Scott, 1991), por lo que un volumen considerable de este producto iba a parar al sistema municipal de alcantarillado, ríos, lagos y océanos (Smithers, 2008).

El alto poder contaminante del lactosuero deriva principalmente de su elevado contenido en materia orgánica (lactosa, proteínas y materia grasa), siendo su riqueza en lactosa la principal responsable, por su capacidad para actuar como sustrato de fermentación bacteriana (Castillo et al., 1996).

Una quesería a gran escala podría originar unos 50.000 litros de suero/diario; suponiendo una demanda biológica de oxígeno (DBO) de 12 g O<sub>2</sub>/litro, En 5 días la DBO5 sería de 3.000.000 g O<sub>2</sub>.

Según los estándares europeos, estos valores implican una contaminación extrema, igual a la que produciría una ciudad de 50.000 habitantes (Ostojic et al., 2005). En los últimos 25 años se han introducido leyes para la protección del medio ambiente. Esta estricta política medioambiental ha obligado a la industria láctea a buscar soluciones para manejar los grandes volúmenes de suero que se producen, buscando alternativas al vertido. Actualmente, como la lucha contra la polución ambiental prohíbe esta práctica, el vertido del suero debe ir precedido necesariamente de una depuración costosa, que elimina los componentes más valiosos del lactosuero. Además en una época en que las necesidades de la alimentación humana y animal son cada vez más importantes es preferible el aprovechamiento del lactosuero mediante técnicas apropiadas a destruirlo (Veisseyre, 1988; Smithers, 2008).

La normativa medioambiental no permite el vertido del suero, y exige, por lo tanto, al quesero la gestión del suero que produce. Esta ley señala que el quesero puede encargarse bien de la reutilización o de la transformación en sus propias instalaciones, o bien entregarlo a otra empresa, que se encargaría de su empleo y/o transformación.

Para el quesero, una de los destinos más simples, principalmente en queserías con granjas, es la de la utilización del suero como fuente de alimentación animal, principalmente, vacuno, pero también porcino.

La segunda opción, que implica el tratamiento del suero *in situ*, supone un problema desde el punto de vista económico. El alto contenido de agua del suero (~95%) encarece el proceso de concentración, secado o fraccionamiento, y la mayoría de queserías, principalmente las pequeñas, carecen de los medios y tecnología necesaria para un adecuado aprovechamiento del lactosuero, por lo que para resolver el problema de los vertidos, es necesario realizar una inversión sustancial para llevar a cabo el tratamiento de este efluente.

Para ello, la alternativa para cumplir esta ley de residuos es la innovar y buscar tecnologías básicas que permitan un mejor aprovechamiento del suero y como paso final entregar el residuo a un posible gestor, que se encargue de su tratamiento final.

### **Composición del lactosuero.**

Los principales componentes del lactosuero, tanto dulce como ácido, son agua (93-94%), lactosa (70-75% de los sólidos totales), proteínas séricas (8-11% de los sólidos totales) y minerales (10-15% de los sólidos totales) (Jelen, 1992; 2003). También presenta grasa y vitaminas (Smithers, 2008).

En la Tabla 2 se puede observar la composición media del suero bovino. La composición del lactosuero depende del tipo de queso (enzimático o ácido), de las técnicas de elaboración queseras empleadas (como el método de coagulación), del tratamiento que experimenta el suero líquido (tratamientos térmicos, preconcentración, recuperación de los finos de caseína), del estado fisiológico del animal, del tipo de raza y especie, y además sigue la tendencia de la composición química de la leche de la que proviene (Quiles et al., 1994; Pintado et al., 2001; Jelen, 1992, 2003; Ji y Haque, 2003; Jaeggi et al., 2005; Moreno-Indias et al., 2009).

**Tabla 2:** Composición típica del suero ácido y dulce (g/l).

	<b>Suero Dulce</b>	<b>Suero Acido</b>
pH	5,9-6,4	4,6-4,8
Solidos totales	63-70	63-70
Lactosa	46-52,3	44-46
Proteina	6-10	5,8-8
Grasa	0,2-10	0,1-0,5
Cenizas	5,0	7,5

**Fuente:** Pintado et al., (2001)

## **Obtención de concentrados de proteínas del suero.**

Aunque el componente mayoritario después del agua es la lactosa, son las proteínas séricas los ingredientes de más valor (Jelen, 1992). Se pueden definir como las proteínas que permanecen solubles en la fase líquida después de la precipitación de las caseínas a pH 4,6 (Fox, 2001; Ng-Kwai-Hang, 2003). Constituyen aproximadamente el 0,7% del suero (~8-11% del extracto seco). Además el suero también contiene 0,2- 0,3% de nitrógeno no proteico (Jelen, 1992, 2003).

El contenido proteico del suero depende en su mayor parte del tipo de coágulo y de su tratamiento y la presencia en el mismo de partículas de la cuajada que puede aumentarlo considerablemente (Scott, 1991).

En la leche, el 80% de las proteínas son caseínas; sin embargo, éstas se agregan en la cuajada durante la formación del queso, mientras que las proteínas séricas no quedan retenidas en la cuajada permaneciendo disueltas en la porción acuosa (Walzem et al., 2002).

Las proteínas séricas son incluso un grupo más heterogéneo que las caseínas, y tienen pocas características en común (Robin et al., 1993; Ng-Kwai-Hang, 2003), exhibiendo una serie de propiedades únicas que dependen de su peso molecular, de su composición y su secuencia aminoacídica (Morr y Ha, 1993; Fox, 2001):

- Son solubles bajo condiciones que no lo son las caseínas (a pH 4,6-4,7).
- La mayoría son proteínas globulares.
- Se desnaturalizan fácilmente con el calor, mientras que las caseínas son más estables.
- Las caseínas presentan fuertes regiones hidrofóbicas mientras que las proteínas séricas poseen un mayor balance entre residuos hidrofílicos e hidrofóbicos.
- No se ven muy afectadas por el pH y las sales. No están fosforiladas y son insensibles al calcio.

- Presentan una estructura secundaria y terciaria más organizada que las caseínas debido a una distribución más uniforme de los tipos de aminoácidos a lo largo de la cadena polipeptídica y a la presencia de puentes disulfuro (lo que implica que poseen grandes cantidades de cisteína a diferencia de lo que ocurre en las caseínas).

Todas las proteínas séricas contienen puentes disulfuro intermoleculares que estabilizan su estructura. Una de las características más importantes de las proteínas séricas es la alta presencia de residuos de aminoácidos con grupos sulfhidrilos que les permite formar enlaces covalentes intermoleculares durante procesos a altas temperaturas (lo que provoca su desnaturalización y posterior agregación) (Morr y Ha, 1993). Las proteínas del suero son solubles en un amplio rango de pH y se desnaturalizan (individualmente y en solución) entre 64 y 85 °C, y a partir de esta temperatura empiezan a agregarse y a gelificar. La desnaturalización implica la pérdida de solubilidad proteica (Bonnaillie y Tomasula, 2008).

Las principales proteínas séricas son la  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG), la  $\alpha$ -lactalbúmina ( $\alpha$ -LA), inmunoglobulinas (Igs), la seroalbúmina (BSA) y las proteosomas peptonas. Junto a éstas, aparecen otras proteínas minoritarias como el glicomacropéptido, lactoferrina, y enzimas como la lactoperoxidasa. En la Tabla 3 se muestra la composición proteica de los sueros bovinos y algunas de sus características. Las diferencias encontradas en el perfil proteico pueden ser consecuencia de las variaciones estacionales, de la etapa de lactación, de la raza, de la alimentación y de las técnicas de elaboración queseras empleadas (Pintado y Malcata, 1996; Casper et al., 1998; Moreno-Indias et al., 2009). Los diferentes tratamientos térmicos aplicados, tanto a la leche como al suero, también pueden influir en las proteínas séricas, ya que su estabilidad al calor es distinto, y sigue este orden decreciente:  $\alpha$ -LA >  $\beta$ -LG > BSA > Ig (Morr y Ha, 1993).

**Tabla 3:** Principales proteínas séricas

Proteínas	Conc. en suero (g/l)	Suero (%)	Pm (kg/mol)	pl	T Desnat (C)
$\beta$ -lactoglobulina	2-4	48-58	18	5,4	82
$\alpha$ -lactoalbumina	0,6 - 1,7	13-19	14	4,4	61
Glicomacropeptido	1,5	12-20	8,6	<3,8	
Proteasa peptonas	0,2 -0,4	6	4-80	5,1 -6,0	
Seroalbumina	0,2-0,4	6	66 - 69	4,8 -5,1	66
Inmunoglobulina	0,5-1	8-12	150-1000	5 – 8	72
Lactoferrina	0,1	2	77	7,9	
Lactoperoxidasa	0,03	0,5	78	9,6	

**Fuente:** Jelen (1992); Etzel (2004); Kilara y Vaghela (2004); Bonnaillie y Tomasula (2008); Sullivan et al. (2008).

(Pm: Peso Molecular; pl: Punto Isoeléctrico; T Desnat.: Temperatura de desnaturalización).

El suero lácteo obtenido como producto en el proceso de elaboración del queso retiene cerca del 55% de los nutrientes de la leche, dentro de los cuales se encuentran proteínas séricas de un apropiado balance en aminoácidos, alta digestibilidad y excelentes características funcionales, lo que ha inducido al desarrollo de procesos de concentración de los constituyentes del mismo.

En algunos países la aplicación de procesos de fraccionamiento y concentración con membranas en el tratamiento del suero, ha permitido obtener concentrados con un contenido proteico entre un 30 a 80%, los cuales están siendo empleados para el enriquecimiento de alimentos como el pan, sopas, bebidas y productos como el queso con reducidos porcentajes de grasa, contribuyendo a aliviar las deficiencias proteicas provocadas por el desmedido crecimiento poblacional, y por la escasez y encarecimiento de los alimentos proteicos convencionales (carne, huevo, entre otros.).

A la vez que se ha logrado, mejorar el aprovechamiento de la lactosa como substrato en procesos de fermentación, y en la concentración y cristalización de la misma para su uso en la industria farmacéutica.

El aprovechamiento del suero representaría poner a disposición anualmente una gran cantidad de proteína que podrían ser utilizados en la formulación de alimentos calórico-proteicos de alto valor nutricional, contribuyendo además con el incremento del valor agregado de la leche de quesería.

El suero y los productos obtenidos del suero se han utilizado con éxito en la industria alimentaria por muchos años debido a su valor nutricional y costo razonable (Evans *et al.*, 2010). La popularidad de los concentrados de proteína de suero de leche (CPS) como ingrediente alimentario deriva de las propiedades funcionales del suero incluyendo mejor solubilidad, mejora de la viscosidad, formación de geles, capacidad emulsionante, estabilización de formación de espumas y aireación, retención de agua y mejora del color, sabor y textura (Liu *et al.*, 2005).

La adición de miméticos de grasa en base proteica ha sido estudiada en queso blando (Zalazar, 2002), Kashar (Koca y Metin, 2004) y Mozzarella (McMahon *et al.*, 1996), observándose una mejora de los atributos sensoriales.

En queso Cheddar (Ur Rehman *et al.*, 2003), Oaxaca (Caro *et al.*, 2011), Havarti (Lo y Bastian, 1998) y Domiati (Mehaia, 2002) se ha observado que la adición de proteínas lácteas mejoran el rendimiento y propiedades como la textura y elasticidad. Lobato-Calleros *et al.* (2007) observaron una mejora en la textura de queso fresco con la sustitución total o parcial de la grasa mediante la adición de concentrados de proteínas del suero.

Los concentrados de proteínas del suero que se encuentran comercialmente a la venta son obtenidos por tratamientos térmicos elevados, causando modificaciones en la estructura de las proteínas. Estos cambios no deseables afectan a su estabilidad, agregación y floculación que resultan en la separación de fases, desestabilización de las emulsiones o precipitación de la proteína (Dissanayake y Vasiljevic, 2009; Evans *et al.*, 2010). Una manera de mejorar las propiedades funcionales de las proteínas puede ser modificando su estructura mediante tratamientos no térmicos (Pittia *et al.*, 1996).

## **Tecnología de aprovechamiento.**

Para reducir el alto poder contaminante que posee el lactosuero y sobre todo por las propiedades funcionales y nutritivas que ofrece, se ha visto que la recuperación de los componentes sólidos del suero lácteo es muy importante, por lo que la solución más ventajosa, para resolver este problema ecológico y aprovechar esta funcionalidad, es procesar el suero para la obtención de productos alimenticios y farmacéuticos (Ostojic et al., 2005; Bonnaillie y Tomasula, 2008).

La mayoría del suero se procesa como lactosuero en polvo. En el año 2000 la Unión Europea y Estados Unidos produjeron 1,8 millones de toneladas de suero en polvo, 400.000 toneladas de suero en polvo desmineralizado, 109.000 toneladas de CPS con 35% de proteína, y 16.500 toneladas de aislados de proteínas séricas (APS o WPI) con 80% de proteína (Foegeding y Luck, 2003).

Diversos autores han reportado también la posibilidad de utilizar la alta presión hidrostática sobre las proteínas séricas para mejorar y aumentar su uso en la industria alimentaria (López-Fandiño, 2006). Es conocido que la alta presión causa modificaciones en la estructura de las proteínas séricas mejorando sus propiedades funcionales (Lopez-Fandiño *et al.*, 1996), tales como la formación de geles en leche concentrada y concentrados de suero (Famelart *et al.*, 1998), su capacidad emulsionante (Galazka *et al.*, 1996) y formación de espuma en concentrados de proteína de suero (Ibanoglu y Karataş, 2001; Liu *et al.*, 2005). Si las propiedades funcionales de las proteínas séricas mejoran, pueden ser utilizadas en una gran variedad de alimentos para mejorar la apariencia, cuerpo, textura y consistencia. Lim *et al.* (2008) observaron que condiciones de 300 MPa durante 15 min promovían la funcionalidad de las proteínas, incluyendo una gran capacidad de retención de aire y mayor estabilidad de la espuma.

### **Concentración de sólidos totales: Concentrados de proteínas del suero en polvo.**

La tecnología más simple para convertir el suero en un producto industrial valioso es la deshidratación o secado que permita eliminar la mayoría del contenido acuoso (93-94%) y obtener así lactosuero en polvo (Jelen, 1992; 2003), ya que se consigue, en un volumen reducido, un producto nutritivo de gran interés.

El procesado con mayor evolución consiste en la concentración en evaporadores de efectos múltiples a vacío hasta un contenido sólido total entre 40-70%, seguido de una cristalización de la lactosa con el fin de que este disacárido se transforme en su forma cristalina  $\alpha$  monohidratada, y de este modo, poder minimizar sus efectos de higroscopicidad (es decir reducir su absorción de agua), y finalmente una deshidratación mediante secado por atomización (Morr, 1992a; Jelen, 2003). Se puede realizar una pasterización previa a la concentración (U.S.D.E.C., 2004). También se puede aplicar ósmosis inversa para preconcentrar el suero previo a la evaporación. La concentración del suero por esta técnica está limitada por la viscosidad del retenido, por este motivo la ósmosis inversa no puede reemplazar por completo a la evaporación (Pearce, 1992a).

### **Obtención de concentrados de proteínas del suero.**

Los concentrados proteicos son mezclas de proteínas en las mismas proporciones que están en el lactosuero, pero en las que se ha aumentado su porcentaje sobre extracto seco (Riera et al., 1996b; Etzel, 2004).

Los principales derivados del suero que poseen un alto contenido en proteínas séricas son los concentrados de proteínas séricas (CPS o WPC) y los aislados de proteínas séricas (APS o WPI) (Foegeding y Luck, 2003).

Por cada kg de polvo de proteínas del suero producido, se necesita emplear 100 kg de suero y eliminar al menos 99 kg de agua y sólidos por diferentes procedimientos (Huffman y Harper, 1999; Foegeding y Luck, 2003; Kelly, 2003).

El porcentaje de proteína que se puede conseguir depende del contenido de lípidos residuales presentes en el suero de partida, ya que éstos se concentran junto con la proteína (Kelly, 2003).

Mientras que la lactoalbumina ya se producía en los años 40, los concentrados de proteínas son productos más recientes, que se desarrollaron tras la introducción de las técnicas de membrana y de intercambio iónico a finales de los años 60 y principios de los 70 (Huffman y Harper, 1999).

### **Incorporación de proteínas del suero en la elaboración de queso**

En la elaboración del queso tradicional la caseína forma la estructura de la cuajada, mientras que las proteínas de suero se pierden en el suero. Cuando las proteínas de suero de leche son integradas en el queso fresco, blando, semi-duro y duro, esto no sólo mejora el valor nutritivo y rendimiento, sino también causa cambios en las propiedades funcionales.

Existen varias tecnologías para la reintegración de las proteínas de suero de leche en los quesos. Las proteínas de suero pueden ser retenidos por la aplicación de tratamiento térmico alto con el fin de fijar las proteínas de suero a la caseína o mediante el uso de la tecnología de membranas para reducir la fase acuosa. Alternativamente, las proteínas de suero puede ser retirado de suero drenada y después añadidas a la leche para producir queso.

La incorporación de proteínas de suero en la matriz de queso con un alto contenido total de sólidos se puede aumentar la concentración parcial' de la leche, aunque la retención no llega a 100%. Bachmann, Schaub, y Rolle (1975) demostraron que las proteínas desnaturalizadas agregadas a la leche se retienen mecánicamente en la red del gel. Las consecuencias de la adición de suero como concentrados de proteínas en términos de rendimiento y las características de los diferentes quesos se ilustran en la Tabla 4.

Además la proteína de suero conduce a un mayor rendimiento pero puede resultar en un sabor, calidad del queso y textura ligeramente más pobre. La mejora del rendimiento se atribuye tanto a un aumento de la retención de suero en la matriz y a la incorporación de proteínas de suero.

En particular, las proteínas de suero desnaturalizadas y altamente hidratadas obstruyen la sinéresis, de modo que el agua drena menos durante el proceso de producción de queso (Lucey y Gorry, 1994).

**Tabla 4.** Influencia de la adición de proteína de suero de leche se concentra en el rendimiento y las propiedades de diversos tipos de queso.

Tipo de queso	Tipo de concentrado adicionado	Cantidad adicionada (%)	Rendimiento adicional (%)	Sabor	Textura	Referencia
Camembert	Suero ultrafiltrado (85C, 20 s)	5,-10	Si	amargo típico	Madurado suave	Birkkjaer (1976)
Queso semiduro	Suero ultrafiltrado (85C, 20 s)	5.56	12	agrio	Pocos agujeros	Birkkjaer (1976)
Gouda	Suero centrifugado (pH5)	n.d	si	menos	desmoro nadizo	Berg van den (1979)
Cheddar	Proteína de suero concentrada	5-10	Max 7	atípico	pegajoso	Baldwin et al. (1986)
Gouda	Proteína de suero concentrada	n.d	Si	aceptable	blando	Zoon and Hols (1994)
Queso semi duro	Proteína de suero concentrada	10	3	Normal	n.d	Santoro and Faccia (1996)
Queso blando	Proteína de suero concentrada	1	Max 30	Normal	Blando	Steffl (1999)

**Fuente:** Steffl, 1999

## **Propiedades funcionales de las proteínas del suero.**

Además de poseer buenas propiedades nutricionales, las proteínas séricas presentan unas propiedades funcionales o tecnológicas, que las hacen muy útiles como ingredientes en la industria alimentaria (Rosenberg, 1995). Morr y Ha (1993) definen las propiedades funcionales de las proteínas como aquellas características físicoquímicas que influyen en la estructura, apariencia, textura, viscosidad y sabor de los productos, mientras que Pour-El (1981) las define como aquellas características de los alimentos o de sus ingredientes que sin ser nutricionales afectan a su utilización.

La habilidad de las proteínas para llevar a cabo cada una de las propiedades funcionales depende no sólo de sus características intrínsecas, tanto físicoquímicas como estructurales (Damodaran, 1996), sino también de factores extrínsecos, como pH, fuerza iónica, temperatura, concentración de iones, proteínas, azúcares... (Morr y Ha, 1993), y de las condiciones utilizadas durante la obtención y utilización de las proteínas (tratamientos físicos, químicos, térmicos y biológicos) (Robin et al., 1993).

Las propiedades funcionales de las proteínas se pueden clasificar en las siguientes categorías (Morr y Ha, 1993; Ordóñez et al., 1998; Singh, 2003):

- ✓ Propiedades de hidratación que dependen de las interacciones de las proteínas con el agua: solubilidad, viscosidad, gelificación, dispersabilidad, absorción y retención de agua, adhesión, hinchamiento y precipitación.
- ✓ Propiedades ligadas a las características de superficie: capacidad emulsionante, capacidad espumante, y la adsorción en las interfaces aire-agua y aceite-agua.
- ✓ Propiedades que no encajan en las 2 categorías anteriores: difusión, desnaturalización y uniones proteína-proteína, proteína-ión y proteína-ligando.

Las propiedades hidrodinámicas están más influidas por la conformación y tamaño de la proteína, mientras que las propiedades ligadas a las características de superficie se ven más afectadas por la composición, distribución aminoacídica y el modelo de plegamiento (Morr y Ha, 1993; Damodaran, 1996).

No se conoce suficientemente la relación entre la estructura y funcionalidad de las proteínas en alimentos, debido a que, fundamentalmente, los conocimientos sobre las propiedades funcionales de las proteínas se basan en estudios del comportamiento de proteínas en agua, y a veces los resultados obtenidos fallan en su predicción del comportamiento de estas proteínas en alimentos preparados industrialmente. También influye la falta de métodos estándar para medir las propiedades funcionales (Damodaran, 1996). Por este motivo a la hora de valorar las propiedades funcionales es necesario tener en cuenta diversas variables en las condiciones de aplicación utilizadas

Predecir la funcionalidad de los CPS y APS obtenidos es difícil porque la complejidad, no sólo de la composición, sino también de las condiciones de elaboración y tecnologías utilizadas, impactan en la funcionalidad. Incluso pequeñas variaciones en las condiciones de elaboración pueden suponer grandes diferencias en las propiedades funcionales (Morr y Ha, 1993).

La mayoría de los alimentos procesados son emulsiones, espumas o geles, y la capacidad de las proteínas para desarrollar estas estructuras se relaciona con su solubilidad (Damodaran, 1996; Zayas, 1997). Seguidamente se describen las principales propiedades funcionales de las proteínas séricas que se relacionan con su uso y aplicación en la industria alimentaria.

### **Solubilidad.**

La solubilidad de una proteína se puede definir como el porcentaje de proteína que se mantiene en disolución o dispersión coloidal bajo condiciones específicas y que no sedimenta a fuerzas centrífugas moderadas.

Para que una proteína sea soluble debe interactuar con el disolvente, por ello, también se puede definir la solubilidad, como el equilibrio entre las interacciones proteína-proteína y proteína-disolvente (Ordóñez et al., 1998).

La solubilidad puede ser un buen indicador de otras propiedades funcionales (Zayas, 1997; Singh, 2003) pues destaca por su influencia en el resto de propiedades, ya que las proteínas empleadas por su funcionalidad deben poseer una alta solubilidad que permita obtener unas buenas propiedades gelificantes, emulsionantes y espumantes (Vojdani, 1996). Aunque la solubilidad total no es necesaria, pues se ha observado que en un amplio rango de solubilidad (35-95%) esta propiedad no es el factor principal que determina la funcionalidad proteica (Mangino, 1992).

La solubilidad proteica también refleja las condiciones utilizadas durante el procesado (tratamientos térmicos y mecánicos, secado, pH usado en la precipitación, extracción) o durante el almacenamiento, que pueden insolubilizar a las proteínas.

Una buena solubilidad presenta la ventaja de permitir una dispersión rápida y completa de las proteínas, lo que implica un sistema disperso con una estructura homogénea (Ordóñez et al., 1998). Desde el punto de vista alimentario, el uso de ingredientes solubles y fáciles de dispersar, mejora la consistencia de un producto y simplifica su elaboración. La solubilidad proteica es importante en alimentos tales como bebidas (sobre todo en las ácidas, como son las de frutas), sopas y salsas para así evitar que se formen precipitados o sedimentos proteicos. En contraste a las proteínas puras, la solubilidad de las proteínas en los alimentos permanece casi constante en un amplio rango de concentraciones proteicas (Morr y Ha, 1993).

Las proteínas del lactosuero son altamente solubles, especialmente si se las compara con los caseinatos o la proteína de soja, en un amplio intervalo de concentraciones, valores de pH, temperatura, actividad de agua y condiciones iónicas (Morr, 1989). Esta propiedad funcional depende no sólo de factores intrínsecos (Vojdani, 1996; Zayas, 1997), sino también del pH, temperatura, fuerza iónica, polaridad del solvente y de las condiciones de elaboración (Damodaran, 1996; Zayas, 1997).

La solubilidad de una proteína depende del pH de la disolución (Vojdani, 1996). A valores de pH por encima y por debajo del pI, las proteínas poseen cargas netas y se repelen entre sí, pudiendo establecer más puentes de hidrógeno con las moléculas de agua, y por lo tanto, ser más solubles. Sin embargo a medida que nos acercamos al pI, disminuye la diferencia de cargas entre ellas, las fuerzas electrostáticas son mínimas, y hay menos moléculas de agua que interaccionan con ellas. Cuando esta diferencia de carga llega a ser lo suficientemente pequeña, las proteínas pueden aproximarse entre sí, contactar, formar agregados y, posiblemente, precipitar (Vojdani, 1996; Ordóñez et al., 1998). Por tanto, la solubilidad mínima generalmente es cuando el pH se corresponde con el pI, por lo que a esos valores la mayoría de proteínas presentes en alimentos son insolubles.

En general la solubilidad de las proteínas es pH dependiente (Morr y Ha, 1993): decrece a medida que el pH disminuye de valores de 7 a 5 ó 4 (Zayas, 1997). Sin embargo, a diferencia de otras proteínas, estas proteínas permanecen solubles en su pI, y especialmente la  $\beta$ -LG, son muy solubles en un rango de pH de 3-9 y se pueden emplear en su pI (Mangino 1992b; Damodaran, 1996; Vojdani, 1996). Esto se debe a que la superficie de las proteínas séricas contienen un alto número de grupos hidrofílicos, que se hidratan creando una fuerza de repulsión suficiente para evitar la agregación vía interacciones hidrofóbicas (Damodaran, 1997a). La  $\alpha$ -LA y la  $\beta$ -LG son solubles, respectivamente, al 68% y al 90% a su pI que está alrededor de pH=5,0 (Vojdani, 1996). Aunque los CPS son menos solubles en su pI, la solubilidad siempre excede el 68% (Hung y Zayas, 1992). A valores extremos de pH también disminuye la solubilidad, porque las proteínas pueden desplegarse con lo que hay menos enlaces peptídicos y se exponen más grupos hidrófobos (Vojdani, 1996).

La solubilidad aumenta con la temperatura entre 0 y 40-50°C. Cuando se eleva por encima de estos valores durante un tiempo dado, la mayoría de las proteínas tienden a desnaturalizarse (reversiblemente o irreversiblemente), lo que provoca un incremento de los grupos hidrófobos en la superficie de la proteína (que en estado nativo están orientados hacia el interior de la molécula), y que interaccionan, reduciendo la unión con el agua.

En el caso de desnaturalización irreversible aumentan las interacciones entre proteínas pudiendo formar agregados y precipitar, lo que conlleva una pérdida de solubilidad (Robin et al., 1993; Vojdani, 1996; Zayas, 1997; Ordóñez et al. 1998). De todos modos la temperatura a la que una proteína se desnaturaliza varía con cada proteína, y depende del pH y de la fuerza iónica (Vojdani, 1996).

Si las proteínas séricas se encuentran desnaturalizadas (total o parcialmente) debido a un tratamiento térmico, disminuye su solubilidad a valores de pH entre 3 y 5 (Harper, 1992; Singh, 2003; Burrington, 2004a); pero por el contrario si se encuentran parcialmente desnaturalizadas, pueden ser muy solubles a pH > 6 (Harper, 1992).

Los lípidos interactúan con las proteínas en los sistemas biológicos, como es el caso de las membranas celulares, sin embargo las interacciones hidrofóbicas que se establecen entre lípidos y proteínas, reducen la solubilidad de las mismas en agua (Vojdani, 1996).

### **Propiedades de superficie.**

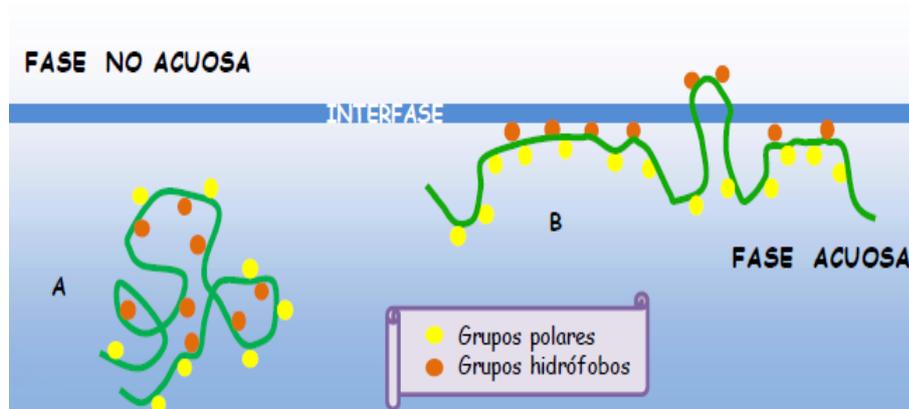
Las espumas y las emulsiones son dispersiones coloidales de dos fases (líquido-gas o líquido-líquido respectivamente) inmiscibles entre sí. La fase continua no posee ningún “deseo” termodinámico de mezclarse con la fase dispersa, porque existe una tensión entre ambas fases, de manera que al dispersar, por ejemplo el aceite en agua, aumenta no sólo la tensión interfacial sino también la energía libre del sistema.

De acuerdo con la leyes de la termodinámica, un sistema debería estar en su estado de mínima energía, con lo que estas dispersiones coloidales tras mezclarse por agitación, rápidamente se separan tal como dice el dicho “como agua y aceite” para minimizar el área de contacto y la energía libre (Robin et al. 1993; Ordóñez et al., 1998; Damodaran, 2005).

Esa dispersión es inestable a menos que se añadan sustancias anfífilas en la interfase que disminuyan la tensión interfacial y que eviten la coalescencia de las gotas dispersas.

Estas sustancias que, actúan como agentes tensoactivos, pueden ser las proteínas, que son capaces de estabilizar la interface al disminuir la tensión superficial y formar una película proteica (Damodaran, 1996; Ordóñez et al., 1998).

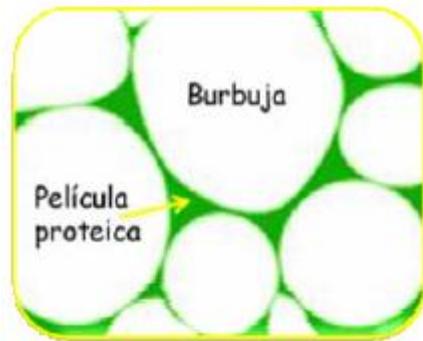
Las proteínas, al poseer ese carácter anfipático, pueden migrar y difundir hacia la interface, creada durante la homogeneización o batido, donde se desdoblán y extienden rápidamente para disminuir la tensión. Al entrar en contacto con la interface los aminoácidos no polares se orientan hacia la fase no acuosa permitiendo la adsorción proteica. Las proteínas parcialmente desdobladas y adsorbidas a la interface experimentan un reordenamiento molecular e interacciones intermoleculares para formar una capa o película fuerte, resistente, cohesiva y elástica capaz de proteger los glóbulos de las emulsiones o las burbujas de aire (Morr y Ha, 1993; Ordóñez et al., 1998)



### **Propiedad espumante.**

Las espumas son dispersiones o sistemas de fases que contienen burbujas de gas (aire o CO<sub>2</sub>) separadas por una capa continua líquida (Zayas, 1997; Ordóñez et al., 1998). Para formar una espuma es necesario aportar una energía mecánica, que permita crear una interface, y agentes de superficie que disminuyan la tensión superficial y que eviten la coalescencia de las burbujas de gas. Las proteínas ayudan a la estabilización de la fase gaseosa formando una barrera o película protectora elástica entre las burbujas de gas atrapadas (Ordóñez et al., 1998; Singh, 2003). Las espumas más estables

se forman con proteínas solubles que pueden interaccionar y formar películas viscosas y gruesas (Zayas, 1997). La estructura típica de una espuma se muestra en la siguiente figura.



Para que una proteína sea un buen agente espumante debe poseer las siguientes características (Zayas, 1997):

- ✓ Estabilizar rápidamente y efectivamente a las espumas a bajas concentraciones.
- ✓ Actuar como un buen agente en un amplio rango de pH y con presencia en el medio de inhibidores de espumas, tales como grasa, alcohol o sustancias responsables del sabor.

En la propiedad espumante se pueden distinguir 2 conceptos (Patel y Kilara, 1990):

**Capacidad espumante:** Es la habilidad de la proteína para ayudar a la dispersión del aire en la fase continua líquida.

**Estabilidad de la espuma:** Describe la habilidad de las proteínas para formar una película fuerte y cohesiva alrededor de las burbujas que resista la difusión de aire desde las burbujas, estabilizando la espuma.

Es importante señalar que las características que favorecen la formación de la espuma y las necesarias para una buena estabilidad, se deben a diferentes propiedades, que a veces pueden ser antagónicas (Ordóñez et al., 1998), lo que sugiere que las propiedades que son buenas para la formación de espumas no confieren estabilidad a las espumas creadas (Damodaran, 1996).

La estabilidad de las espumas también se ve potenciada por una baja tensión entre las 2 fases y por una gran viscosidad de la fase líquida (Damodaran, 1996; Ordóñez et al., 1998). Además se necesita un equilibrio adecuado entre la flexibilidad y la rigidez molecular para que no sólo una espuma se forme, sino también para que sea estable (Damodaran, 1996).

Un tratamiento térmico suave y una desnaturalización parcial de las proteínas por calor, mejoran las propiedades espumantes, siendo el efecto mayor en la estabilidad que en la capacidad espumante, pero una excesiva desnaturalización y agregación proteica perjudica la propiedad espumante de CPS (Cayot y Lorient, 1997; Singh, 2003). Un tratamiento térmico suave se puede relacionar con la formación de complejos lipoproteicos, que precipitan y facilitan la formación de espumas. Sin embargo a temperaturas altas (80°C), se reduce esta propiedad, debido a abundantes interacciones que pueden causar una excesiva agregación proteica y una disminución de la formación de la película (Zayas, 1997; Damodaran, 2005).

### **Gelificación.**

Aunque la termolabilidad es indeseable cuando se quiere preparar un producto rico en proteínas séricas, se puede explotar esta característica para la elaboración de geles mediante calor con proteínas séricas, ya que éstas poseen unas propiedades gelificantes excelentes (Mulvihill, 1992).

Los geles son coloides sólidos en líquido, en el que la fase sólida forma una estructura que inmoviliza el líquido (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

Exhiben un comportamiento tipo sólido (Aguilera, 1995), aunque retienen muchas de las propiedades de los componentes de los fluidos (Mulvihill y Kinsella, 1987).

La gelificación puede definirse como el fenómeno de agregación proteica en el cual las interacciones proteína-proteína y proteína-agua están tan equilibradas que se forma una red tridimensional, capaz de inmovilizar grandes cantidades de agua y de otros componentes (De Wit et al., 1988).

Las propiedades del gel son el resultado de las interacciones entre la red molecular y el solvente, el agua, el cual influye en la naturaleza y la magnitud de las fuerzas intermoleculares que mantienen la integridad de la matriz, mientras que ésta retiene al agua e impide que se escape (Oakenfull et al, 1997).

La formación de geles proteicos tiene lugar en 2 etapas (véase figura 10) (Mangino, 1984; Cheftel et al., 1989; Mangino, 1992a,b; Morr y Ha, 1993; Robin et al., 1993; Matsumura y Mori, 1996; Zayas, 1997; Ordóñez et al., 1998, Sullivan et al. 2008):

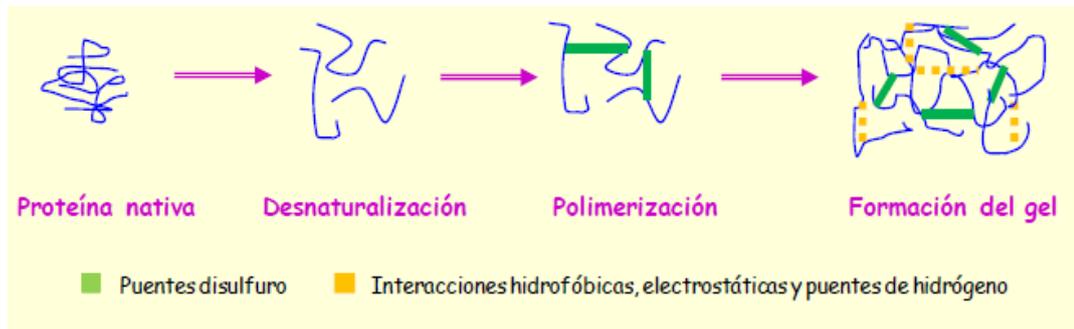
### **Desnaturalización.**

Al calentar una proteína, los enlaces que mantienen su estructura secundaria y terciaria (puentes de hidrógeno y disulfuro), se debilitan y a cierta temperatura se rompen. La ruptura de estos enlaces intramoleculares desencadena la alteración de la estructura proteica, es decir, su desnaturalización.

Cuando ocurre esta desnaturalización por calor, se modifica la conformación nativa de las proteínas (a nivel de estructura secundaria, terciaria y cuaternaria), pero no va acompañada de la ruptura de los enlaces peptídicos implicados en la estructura primaria, produciéndose el desplegamiento de las moléculas proteicas, quedando al descubierto y disponibles para enlaces intermoleculares, grupos hidrófobos y residuos de cisteína que en la proteína nativa se encuentran orientados hacia el interior estabilizando la molécula. No se requiere una desnaturalización total (Aguilera, 1995; Oakenfull et al., 1997), que raramente ocurre por debajo de 100°C (Aguilera, 1995).

### **Agregación.**

Se produce la asociación o polimerización entre las moléculas proteicas previamente dissociadas y desnaturalizadas, formándose una red tridimensional de proteínas, capaz de inmovilizar la mayoría del solvente, y que constituye el gel.



El proceso de gelificación se completa mediante enfriamiento y conservación a bajas temperaturas, que permiten que las proteínas continúen polimerizando e interaccionando con el agua (Morr y Ha, 1993) con lo que aumenta la fuerza del gel formado y se intensifican las interacciones con el solvente (Morr y Ha, 1993).

La gelificación requiere un equilibrio entre las fuerzas de atracción (encargadas de formar la red) y las de repulsión (evitan el colapso y así ayudan a retener el agua) entre las proteínas y con el agua (Mangino, 1992a,b; Cayot y Lorient, 1997; Zayas, 1997). Si predominan las fuerzas de atracción (las interacciones proteína-proteína son muy fuertes) se forma un coágulo, se colapsará la red formada y el agua será expulsada de la estructura, pero si por el contrario predominan las fuerzas de repulsión (las interacciones entre proteínas son débiles), aumentará la viscosidad pero no se formará ningún gel verdadero (Mangino, 1992a,b; Robin et al., 1993; Matsumura y Mori, 1996). A mayor número de enlaces, mayor será la fuerza del gel formado (Damodaran, 1996; Zayas, 1997).

## 2.5 Hipótesis

### **General:**

La incorporación de concentrados de proteínas del suero en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa mejorará las propiedades del producto final, permitiendo un mayor aprovechamiento de los residuos generados en las queserías.

***Específicas:***

$H_0$  = El tipo y cantidad de proteínas del suero incorporadas no influyen sobre el rendimiento quesero, desuerado, microestructura, propiedades de coagulación del queso fresco con reducido contenido de grasa.

$H_1$  = El tipo y cantidad de proteínas del suero incorporadas influyen sobre el rendimiento quesero, desuerado, microestructura, propiedades de coagulación del queso fresco con reducido contenido de grasa.

**2.6 Señalamiento de variables de la hipótesis**

*Variable independiente:*

- Concentrados de proteínas del suero

*Variable dependiente:*

*Queso fresco con reducido contenido de grasa.*

*Respuesta Experimental:*

- Rendimiento quesero
- Desuerado
- Microestructura
- Propiedades de coagulación

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA**

#### **3.1 Modalidad básica de la investigación.**

Este estudio tiene un sustento bibliográfico documental y de campo. Es de tipo bibliográfico porque considera información publicada en diversas fuentes sobre estudios previos y resultados obtenidos respecto al uso de concentrados de proteínas del suero.

Es una investigación de campo porque incluye una parte experimental realizada en laboratorio y una parte de gestión realizada conjuntamente con la gente de los sectores involucrados.

#### **3.2 Nivel o tipo de investigación**

Este estudio ha empleado los siguientes tipos de investigación: exploratoria, descriptiva, deductiva, de correlación de variables e inductiva.

- Investigación exploratoria porque emplea como una de sus herramientas la búsqueda de información científica, económica y social.
- Investigación descriptiva, porque expone situaciones y resultados previos a fin de desarrollar criterios y contenidos.

- Investigación deductiva, porque parte de un análisis del problema a nivel macro, para llegar a establecer una alternativa de solución que contribuirá a reducir una parte del problema global.
- Investigación de correlación, porque busca encontrar el efecto de ciertas variables sobre una en particular, considerada de relativa importancia para el fin que desea lograr.
- Investigación inductiva porque la correlación de variables permite obtener resultados que puedan considerarse como principios generales y así dar validez a la hipótesis y mediante ella, a la propuesta de este trabajo.

### 3.3 Población y muestra.

Se aplicó un muestreo no probabilístico: basado en el conocimiento y criterio del investigador.

En el trabajo se ensaya la adición de concentrados de proteínas del suero obtenidas por tratamiento térmico elevado (>60°C), un concentrado comercial low heat (< 60°C) sobre la leche para la elaboración de quesos con reducido contenido de grasa (1,5 %).

**Tabla 5.**Concentrados de proteínas del suero.

<b>Concentrados de proteína</b>	<b>Código:</b>	<b>Porcentaje de adición</b>
Proteína térmica (65°C)	A235	1,5%
Proteína térmica (70°C)	A635	1,5%
Proteína térmica (75°C)	A835	1,5%
Proteína térmica (80°C)	A725	1,5%
Proteína low heat	A001	1,5%

**Elaborado por:** Diego Salazar

### 3.4 Operacionalización de variables.

**Tabla 6. Variable independiente:** Concentrados de proteínas del suero.

Conceptualización	Categorías	Indicador	Ítems	Test
Los concentrados de proteínas del suero compuestos principalmente de $\alpha$ -lactoalbúmina ( $\alpha$ -LA) y $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG) tienen propiedades funcionales que permiten mejorar los rendimientos y atributos sensoriales especialmente de alimentos en los que su grasa es parcial o totalmente retirada.	Propiedades funcionales.	Espumabilidad, formación de emulsiones y geles.	¿La formación de emulsiones y geles, la espumabilidad son propiedades que podrían afectar de manera significativa la producción de quesos con reducido contenido de grasa?	Fuentes bibliográficas.
	Rendimientos	Rendimiento quesero	¿Se mejorará el rendimiento quesero con la inclusión de concentrados de proteínas del suero?	Resultados previos.
	Atributos sensoriales	Color, aroma y textura	¿Los parámetros color, aroma y textura se verán afectados por la presencia de proteínas del suero?	Pruebas de catación.

Elaborado por: Diego Salazar.

**Tabla 7. Variable dependiente:** Queso fresco con reducido contenido de grasa.

Conceptualización	Categorías	Indicador	Ítems	Test
Queso fresco: producto de alto valor nutricional con características sensoriales diferentes a los producidos con toda la cantidad de grasa	Alto valor nutricional.	Minerales, vitaminas y proteínas.	¿De qué forma afecta la presencia de minerales, vitaminas y proteínas en quesos con reducido contenido de grasa?	Fuentes bibliográficas.
	Atributos sensoriales.	Textura y sabor.	¿Por qué es importante la textura y sabor en quesos con reducido contenido de grasa?	Fuentes Bibliográficas.
	Contenido de grasa	Porcentaje	¿Cuál es el porcentaje óptimo de proteínas del suero agregadas?	Experimentación.

Elaborado por: Diego Salazar.

### **3.5 Plan de recolección de información.**

Los datos obtenidos en los análisis se tabularon en hojas de cálculo Excel.

### **3.6 Plan de procesamiento de datos.**

El experimento completo se repitió tres producciones distintas. Los datos se trataron mediante un análisis de varianza (ANOVA) mediante el procedimiento Modelo Lineal General (GLM) del paquete estadístico SPSS v19 (SPSS Inc. Chicago Illinois, 2005). Las medias se compararon con el test Student Newman Keuls con un nivel de significancia de  $P < 0.05$ .

### **3.7 Materiales y métodos:**

#### **3.7.1 Obtención y preparación de la leche.**

La leche entera se desnató hasta reducir su contenido graso a 0,5%. Posteriormente se mezcló la leche desnatada con leche entera, utilizando el método cuadrado de Pearson, para obtener un producto final con 1,5% de grasa.

#### **3.7.2 Análisis fisicoquímicos de las leches, sueros y quesos.**

El contenido en grasa de las leches y los quesos se determinó por el método Van Gulik (ISO, 1975). El contenido total de nitrógeno en los sueros y en los quesos fue analizado por el método de combustión Dumas (IDF, 2002).

Los sólidos totales del queso se midieron mediante la norma IDF 4A (1982) y la determinación del pH de los quesos se realizó en una mezcla (1:1) de queso con agua destilada mediante un pH-metro (Crison Micro-pH, 2001).

#### **3.7.3 Preparación de los concentrados de proteína.**

Para este estudio se utilizaron dos tipos de concentrados de proteínas del suero (CPS) comerciales. Uno obtenido por tratamientos a baja temperatura "low heat" (A001Prolacta 90,BBA) en el que las proteínas séricas se encuentran en estado nativo. El otro CPS fue obtenido por tratamiento térmico elevado "high heat" (A235, A235, A635, A835, A725 Ferrer

Alimentación S.A. Barcelona) en el que las proteínas séricas se hallan afectadas por la temperatura. Se preparó una solución al 10% (w/v) de ambos concentrados con agua miliQ.

#### **3.7.4 Determinación del grado de desnaturalización de las proteínas del suero.**

La desnaturalización de los concentrados de proteínas del suero se determinó mediante un análisis por cromatografía líquida en fase inversa (HPLC, Dionex Softron GmbH, U.S.A.). Las separaciones se llevaron a cabo en una columna Nucleosil C8 (250 × 4,6 mm, 300Å de poro, 5 µm tamaño de partícula) mediante un gradiente preparado a partir de 0,1% de ácido trifluoroacético (TFA) en agua (solvente A) y 0,1% de ácido trifluoroacético en acetonitrilo (solvente B). Se inyectó 20 µl de muestra con un gradiente de 65% de A durante 33 min. El gradiente para la determinación permaneció constante durante todo el tiempo de extracción con flujo de 1 ml min<sup>-1</sup>.

La detección espectrofotométrica se realizó a 300 nm con un flujo de 1 ml min<sup>-1</sup>. Los niveles de α-lactoalbúmina (α-LA) y β-lactoglobulina (β-LG) se midieron como área total integrada de los picos resultantes. El porcentaje de desnaturalización se calculó a partir de la muestra de concentrado de proteínas del suero “low heat” sin tratamiento (A001).

#### **3.7.5 Rendimiento queso.**

El rendimiento queso se determinó por triplicado por centrifugación forzada mediante el método descrito por Calvo y Balcones (1998). Las muestras de leche (200 g) se calentaron a 32°C y se adicionó el concentrado de proteínas del suero (CPS) al 1,5% (v/w), cloruro de calcio al 0,01% (v/v) y la solución coagulante al 0,03% (v/v). Las muestras se coagularon en tubos de centrifuga a 32°C durante 45 min y se centrifugaron a 13000 g durante 15 min a 10°C. El rendimiento expresado como gramos de cuajada por 100 g de leche se determinó mediante el peso del precipitado obtenido posterior a la centrifugación.

### 3.7.6 Elaboración de queso fresco.

Se elaboraron quesos (500 g) a partir de leche al 1,5% de grasa, tomando en consideración el proceso de elaboración de queso fresco descrito en el Anexo 1. Se fabricaron una serie de quesos modificando su contenido de grasa y añadiendo los diferentes tipos de CPS según la Tabla 8.

Las muestras de leche (500 ml) se pasteurizaron (65°C, 30 min) y se atemperaron hasta 32°C donde se le adicionó el 1,5% del respectivo concentrado de proteínas del suero 0,01% (v/v) de cloruro cálcico y 0,03% (v/v) de la solución coagulante (Maxiren 180).

La coagulación se realizó a 32°C durante 45 min. Posteriormente se cortó la cuajada, se recalentó durante 15 min a 37°C, se eliminó el suero, se colocaron en moldes y se almacenaron a 4°C.

**Tabla 8. Codificación de quesos**

<b>Código</b>	<b>Tipo de Queso</b>
QLD	Quesos a partir de leche al 1,5% de grasa.
QPS	Quesos a partir de leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A001
QPS3	Quesos a partir de leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A235.
QPS5	Quesos a partir de leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A635.
QPS6	Quesos a partir de leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A835,
QPS7	Quesos a partir de leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A725

**Elaborado por:** Diego Salazar

### 3.7.7 Cinética de eliminación de suero.

La eliminación de suero se determinó acorde al método descrito por Calvo y Espinoza (1999) en los distintos quesos fabricados.

La sinéresis del queso se midió a través del peso del suero eliminado a los 30, 60, 90 y 120 min después del corte.

### **3.7.8 Propiedades de coagulación.**

Las muestras de leche fueron calentadas hasta 32°C y se añadió 0,03% (v/v) de una solución de quimosina (Maxiren 180, DSM Food Specialities, Seclin Cedex, Francia). La coagulación tuvo lugar a 32°C durante 45 min. Las propiedades de coagulación como el tiempo de floculación (RCT), la velocidad de agregación (RCF) y la dureza del gel a los 30 (CF 30) y 45 min (CF45) fueron evaluados mediante un coagulómetro Optigraph® (YsebaertInc, Frépillon, Francia).

### **3.7.9 Microestructura por microscopía laser confocal.**

Para determinar la microestructura de las leches coaguladas se realizaron observaciones de los geles mediante un microscopio laser confocal (CSLM Leica TCS SP5 Microsystems, Heidelberg, Germany) en modo de fluorescencia.

Las muestras de leche (10 ml) se calentaron a 32°C y se tiñeron con dos gotas de isotiocianato de fluoresceína (FITC; Fluka, Steinheim, Alemania) y tres gotas de rojo de nilo (Sigma, Steinheim, Alemania). Los colorantes FITC y rojo de nilo se disolvieron en etanol a una concentración de 2 y 1 mg ml<sup>-1</sup>, respectivamente.

Se adicionó a cada leche el respectivo concentrado de proteínas del suero y el coagulante (Maxiren 180) a las concentraciones antes indicadas. De 3 a 4 gotas de las muestras fueron transferidas a portaobjetos con cavidades cóncavas, se cubrieron con cubreobjetos y se sellaron para evitar la evaporación. Finalmente se incubaron a 30°C durante 30 min. Las preparaciones se enfriaron y se mantuvieron a 4°C durante un máximo de 3 h. Las muestras se excitaron con láser de argón a 488 nm y se detectaron a 493-519 nm para observar la proteína y se excitaron con diode láser a 561 nm y se detectaron a 600-773 nm para la grasa. Las imágenes se obtuvieron mediante una lente a 63x de aumento y una apertura de 1,40.

## CAPÍTULO IV

### ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

#### 4.1 Análisis fisicoquímico

Los resultados de la composición fisicoquímica de los quesos se muestran en la Tabla 9. No se observaron diferencias significativas de pH entre los quesos fabricados, mostrando que la adición de concentrados de proteínas del suero no influyó en los valores de pH. Independientemente del CPS añadido a la leche, el pH de todos los quesos osciló entre 6,5 y 6,7, ajustándose a los valores obtenidos por Mehaia *et al.* (2002) en queso fresco tipo Domianati y por Zamora. (2007) en queso fresco elaborado con leche pasteurizada.

El porcentaje de materia grasa de los quesos obtenidos a partir de leche al 1,5% de grasa fue  $7,92 \pm 0,05\%$  ajustándose a la denominación de quesos con contenido reducido de grasa según la reglamentación europea sobre declaraciones nutricionales (Reglamento 1924/2006).

En cuanto al contenido de nitrógeno, los quesos elaborados con la adición de concentrado de proteínas del suero A835 (QPS6) presentaron los valores más elevados de nitrógeno, mostrando una mayor retención de las proteínas séricas en la matriz del queso.

La pérdida de proteína con el suero fue menor en los quesos QPS6, aumentando un 3,3% el porcentaje de nitrógeno sobre extracto seco

respecto a los QLD. Los QPS6 junto con los QPS presentaron los valores más elevados de humedad.

Una de las características de las proteínas del suero desnaturalizadas es su capacidad de retención de agua, la cual aumenta con su grado de desnaturalización (Hinrichs, 2001; López-Fandiño, 2006), y depende de la estructura final de las molécula. Zalazar *et al.* (2002) también encontraron un mayor nivel de humedad en quesos frescos blandos con bajo contenido de grasa elaborados con un sustituto de grasa proteico.

**Tabla 9. Análisis fisicoquímicos de los quesos.**

Muestra	pH	Grasa <sup>Y</sup>	Nitrógeno <sup>Y</sup> (queso)	Nitrógeno <sup>Y</sup> (suero)	Extracto seco <sup>Y</sup>	N/ES
QLD	6,64 ± 0,12	7,96 ± 0,05	1,88 <sup>b</sup> ± 0,22	0,24 ± 0,01	21,26 <sup>b</sup> ± 0,36	8,78 <sup>c</sup> ± 0,30
QPS	6,66 ± 0,06	7,93 ± 0,11	2,13 <sup>b</sup> ± 0,09	0,23 ± 0,01	20,32 <sup>b</sup> ± 0,78	10,28 <sup>b</sup> ± 0,40
QPS3	6,51 ± 0,07	7,93 ± 0,11	2,08 <sup>b</sup> ± 0,13	0,22 ± 0,01	22,76 <sup>a</sup> ± 0,74	9,94 <sup>b</sup> ± 0,53
QPS5	6,55 ± 0,17	7,86 ± 0,11	2,09 <sup>b</sup> ± 0,12	0,23 ± 0,02	22,80 <sup>a</sup> ± 1,41	9,40 <sup>bc</sup> ± 0,58
QPS6	6,75 ± 0,03	7,86 ± 0,11	2,60 <sup>a</sup> ± 0,13	0,21 ± 0,01	20,96 <sup>b</sup> ± 0,71	12,06 <sup>a</sup> ± 0,47
QPST	6,71 ± 0,06	7,93 ± 0,11	2,02 <sup>b</sup> ± 0,11	0,22 ± 0,06	21,19 <sup>b</sup> ± 0,50	9,65 <sup>bc</sup> ± 0,39

Valores presentados por media ± desviación estándar.

<sup>a,b</sup> Medias en la misma columna con diferente superíndice indican diferencia.

<sup>Y</sup>Expresado como porcentaje.

N/ES: Porcentaje de nitrógeno sobre extracto seco.

QLD: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa, QPS: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A001, QPS3: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A235, QPS5: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A635, QPS6: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A835, QPST: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A725.

#### 4.2 Desnaturalización de los concentrados de proteína.

La Tabla 10 muestra el grado de desnaturalización de  $\alpha$ -La y  $\beta$ -Lg de los concentrado de proteínas del suero medido mediante HPLC. Los CPS tratados térmicamente mostraron un incremento directo en los porcentajes de desnaturalización de  $\beta$ -Lg.

La  $\beta$ -Lg es la proteína sérica predominante y la principal responsable de las características fisicoquímicas del suero (Wong *et al.*, 1996). Estos resultados

están en concordancia con lo reportado por Waungana *et al.* (1996) en relación a la cantidad de  $\beta$ -Lg que se desnaturaliza mediante tratamientos térmicos. La desnaturalización de la  $\alpha$ -La fue mucho menor que la  $\beta$ -Lg, no observándose diferencias significativas entre los distintos tratamientos. Está descrito la mayor resistencia a la desnaturalización de la  $\alpha$ -La respecto de la  $\beta$ -Lg bajo la acción de temperatura (Lo y Bastian, 1998).

Los cromatogramas que se presentan en la Figura 1 muestran los resultados de la integración de los picos de las fracciones de  $\alpha$ -La y  $\beta$ -Lg, donde se observa claramente los efectos de la desnaturalización térmica en comparación con el concentrado de proteínas del suero low heat.

**Tabla 10. Porcentaje de desnaturalización de  $\alpha$ -Lactoalbúmina y  $\beta$  - Lactoglobulina de los concentrados de proteínas séricas.**

Muestra	$\alpha$ -Lactalbúmina <sup>Y</sup>	$\beta$ -Lactoglobulina <sup>Y</sup>
CPS	1,06 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	1,85 <sup>c</sup> $\pm$ 0,31
CPS3	3,89 <sup>a</sup> $\pm$ 2,62	5,50 <sup>b</sup> $\pm$ 2,33
CPS5	3,24 <sup>a</sup> $\pm$ 1,46	9,27 <sup>b</sup> $\pm$ 4,05
CPS6	2,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,26	22,64 <sup>a</sup> $\pm$ 2,39
CPST	3,54 <sup>a</sup> $\pm$ 0,42	26,74 <sup>a</sup> $\pm$ 4,72

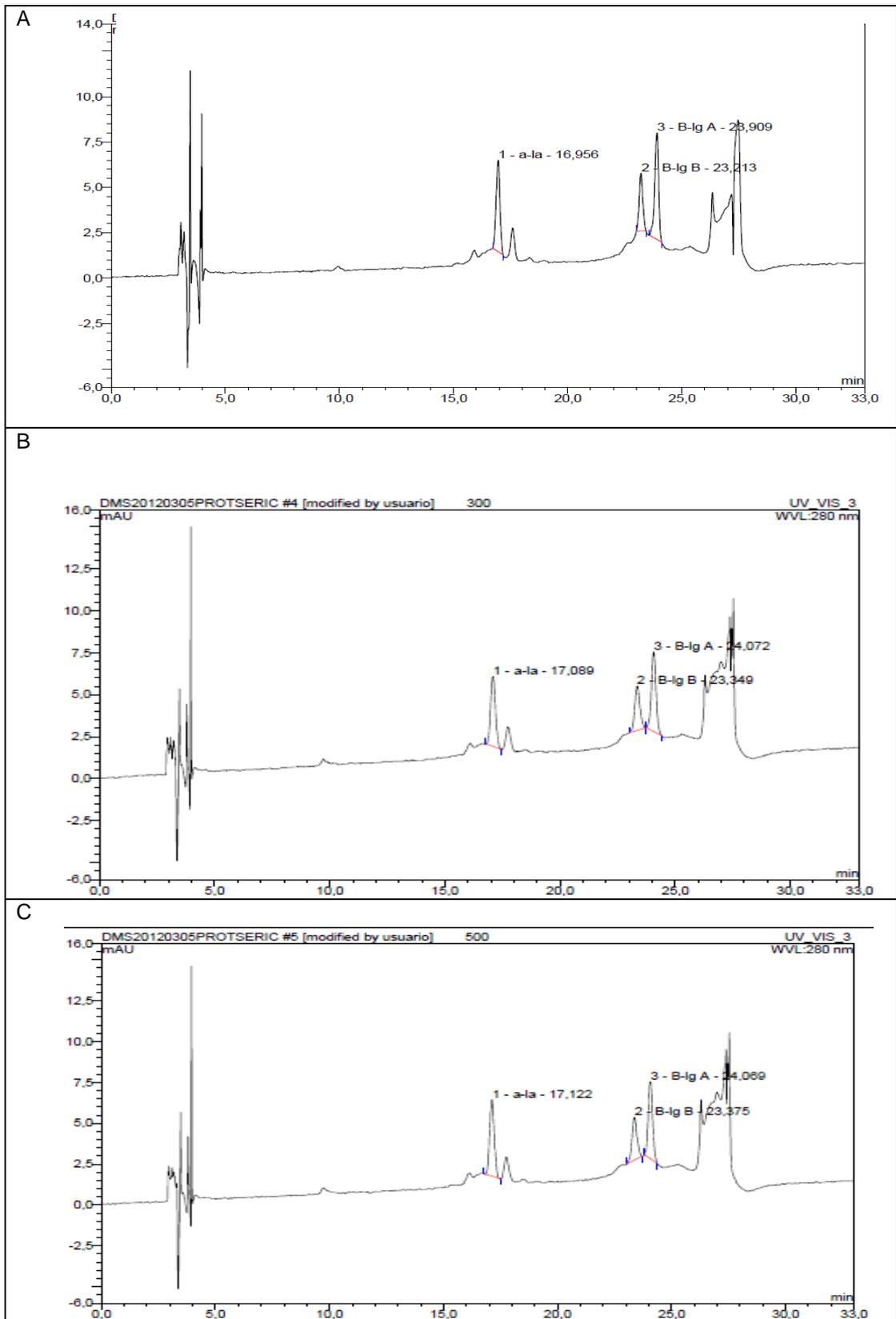
Valores presentados por media  $\pm$  desviación estándar.

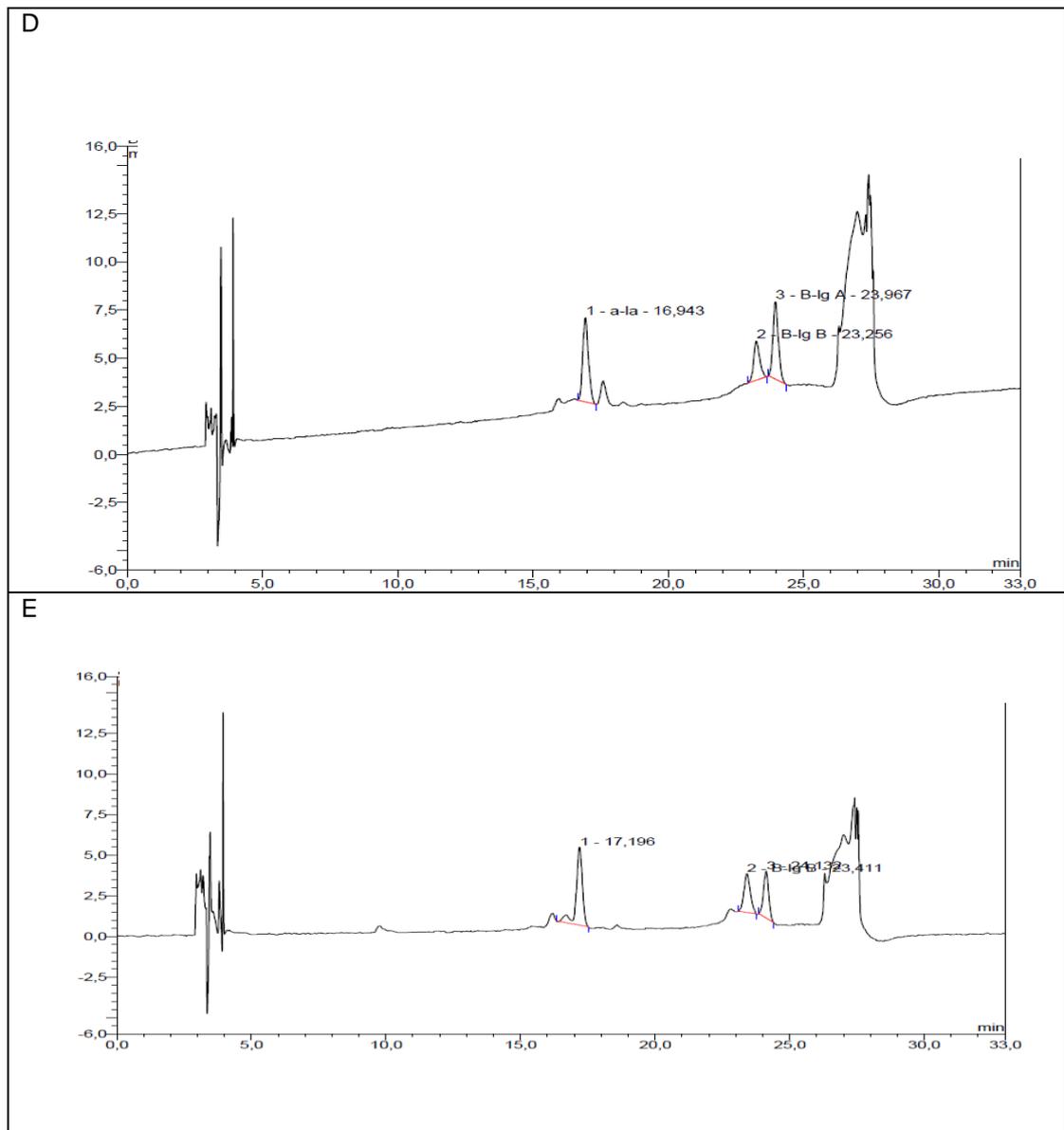
<sup>ab</sup> Medias en la misma columna con diferente superíndice indican diferencia.

<sup>Y</sup>Expresado como el porcentaje respecto al concentrado de proteínas séricas sin presurizar.

CPS: concentrado de proteína de suero A001, CPS3: concentrado de proteína de suero A235, CPS5: concentrado de proteína de suero A635, CPS6: concentrado de proteína de suero A835, CPST: concentrado de proteína de suero A725,

**Figura 1: A:** Cromatograma CPS; **B:** Cromatograma CPS3; **C:** Cromatograma CPS5; **D:** Cromatograma CPS6; **E:** Cromatograma CPST.





### 4.3 Rendimiento queso.

El rendimiento queso es un parámetro de especial interés en quesería por razones de rentabilidad. Si observamos los resultados de rendimiento de los quesos, a pesar que las diferencias no son estadísticamente significativas (debido a diferencias entre producciones) el valor de rendimiento más elevado lo presentaron los quesos elaborados con el concentrado de proteína de suero A835 (Tabla 11). El incremento en el rendimiento proviene de la incorporación adicional de la  $\beta$ -Lg en la cuajada, así como de un mayor grado de retención de humedad. Estos resultados concuerdan con los valores de nitrógeno más elevados encontrados en los QPS6 (Tabla 9),

indicando la retención de las proteínas séricas en la cuajada y evitando así su pérdida con el suero en el proceso de fabricación de los quesos y con los valores más elevados de humedad. (López-Fandiño *et al.*, 1996; Molina *et al.*, 2000; Huppertz, 2004).

La desnaturalización de la  $\beta$ -Lg y consiguiente incorporación en la matriz del queso junto con la caseína, aumenta la carga negativa, aumentando la retención de agua y disminución de la sinéresis (López-Fandiño, 2006). El concentrado de proteína del suero A725 presentó el mismo grado de desnaturalización que el concentrado de proteína del suero A835, sin embargo el rendimiento de las cuajadas producidas a partir de este último concentrado proteico (QPS6) fue mayor. Esto podría ser debido a que la desnaturalización obtenida a 75 °C de temperatura produce una perturbación menos drástica de la estructura de las proteínas, comparado con la producida por los tratamientos térmicos más elevados (Jonas, 2002). Por ello, a pesar de tener el mismo grado de desnaturalización, los cambios producidos en la estructura de la molécula son diferentes, variando las posibles interacciones con las micelas de caseína y los agregados formados.

**Tabla 11. Rendimiento y porcentaje de humedad de los quesos.**

Muestra	Rendimiento <sup>Y</sup>	Humedad <sup>Y1</sup>
QLD	13,54 ± 1,60	66,71 <sup>d</sup> ± 0,75
QPS	13,35 ± 1,46	70,14 <sup>a</sup> ± 0,36
QPS3	13,15 ± 2,05	68,69 <sup>b</sup> ± 0,24
QPS5	13,33 ± 2,10	67,60 <sup>c</sup> ± 0,60
QPS6	14,75 ± 1,04	70,21 <sup>a</sup> ± 0,34
QPST	13,36 ± 1,60	68,24 <sup>c</sup> ± 1,37

Valores presentados por media ± desviación estándar.

a,b,c Medias de la misma columna con diferente superíndice indican diferencia.

YExpresado como el porcentaje respecto a la cantidad total de leche inicial.

Y1 Expresado como porcentaje

QLD: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa, QPS: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A001, QPS3: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A235, QPS5: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A635, QPS6: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A835, QPST: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A725.

#### **4.4 Cinética de eliminación de suero.**

La muestra QPS6 mostró los valores de desuerado más bajos durante las 2 horas posteriores al moldeado del queso (Tabla 12). Estos resultados están de acuerdo con Lucey. (2011), quien describió que la presencia de proteínas de suero desnaturalizadas en la superficie micelar impide la fusión de micelas retenidas y limita la reordenación de las cadenas y *clusters*, que son un requisito del proceso de sinéresis.

En particular, las proteínas del suero desnaturalizadas y altamente hidratadas obstruyen la sinéresis, de modo que se drena menos agua durante la fabricación del queso (Lucey y Gorry, 1994). Los concentrados de proteínas del suero A835 y A725 presentaron similar grado de desnaturalización proteica, sin embargo, la estructura de las moléculas proteicas de estos concentrados variarían dependiendo del tratamiento tecnológico aplicado (López-Fandiño, 2006).

La estructura de la  $\beta$ -Lg desnaturalizada permitiría una mejor adhesión a la matriz del queso, produciendo una menor eliminación del suero durante su elaboración. Esto concuerda con el mayor contenido de humedad observada en los QPS6 (Tabla 11).

La reducción de la sinéresis en la elaboración de queso con adición de proteínas séricas produce ventajas como incremento en el rendimiento, y en especial en el caso de quesos con reducido contenido de grasa, las propiedades sensoriales podrían mejorar (Hinrichs, 2001).

**Tabla 12. Porcentaje de desuerado de los quesos durante su elaboración.**

<b>Muestra</b>	<b>Desuerado<sup>Y</sup></b>
QLD	11,49 <sup>a</sup> ± 3,97
QPS	9,60 <sup>ab</sup> ± 2,35
QPS3	8,50 <sup>ab</sup> ± 4,70
QPS5	11,43 <sup>a</sup> ± 3,85
QPS6	5,89 <sup>b</sup> ± 1,42
QPST	10,30 <sup>ab</sup> ± 3,92

Valores presentados por media ± desviación estándar.

a,b Medias con diferente superíndice indican diferencia.

<sup>Y</sup>Expresado como el porcentaje respecto a la cantidad total de leche inicial.

QLD: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa, QPS: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A001, QPS3: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A235, QPS5: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A635, QPS6: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A835, QPST: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A725.

#### **4.5 Propiedades de coagulación**

Las propiedades de coagulación en el proceso de elaboración de queso son de vital importancia por los rendimientos y por los factores económicos que implica. Con relación a las propiedades de coagulación, pudimos observar como la adición de concentrado de proteína del suero producen un incremento del tiempo de floculación (RCT), con excepción de la muestra QPS6 (Tabla 13), la cual mostró los valores más bajos, iguales que los QLD. Los quesos elaborados con concentrado de proteína del suero obtenido por tratamiento térmico presentaron los valores de RCT más elevados.

Aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, se observó un ligero aumento de la velocidad de agregación (RCF) en las leches añadidas de CPS A835. No se observaron diferencias en la dureza del gel a los 30 min, pero sí a los 45 min, donde las leches QPS5 y QPS6 mostraron el menor valor. Estos resultados podrían atribuirse a que las proteínas desnaturalizadas tienen una mayor capacidad de retención de agua, lo que provocaría una menor dureza en el gel.

**Tabla 13. Propiedades de coagulación enzimática.**

<b>Muestra</b>	<b>RCT (min)</b>	<b>RCF (mA/min)</b>	<b>CF 30 (mA)</b>	<b>CF45 (mA)</b>
QLD	18,50 <sup>c</sup> ± 1,20	0,31 ± 0,19	6,33 ± 1,61	8,51 <sup>ab</sup> ± 1,48
QPS	20,67 <sup>ab</sup> ± 2,14	0,31 ± 0,13	6,79 ± 1,12	9,48 <sup>a</sup> ± 1,10
QPS3	19,40 <sup>bc</sup> ± 1,02	0,48 ± 0,08	5,57 ± 0,78	7,75 <sup>ab</sup> ± 0,59
QPS5	19,40 <sup>bc</sup> ± 0,93	0,48 ± 0,06	5,66 ± 0,57	7,59 <sup>c</sup> ± 0,60
QPS6	17,80 <sup>c</sup> ± 0,51	0,46 ± 0,05	5,50 ± 0,75	7,26 <sup>c</sup> ± 0,89
QPST	21,48 <sup>a</sup> ± 0,53	0,30 ± 0,11	5,63 ± 1,50	7,99 <sup>ab</sup> ± 1,53

Valores presentados por media ± desviación estándar.

abc Medias en la misma columna con diferente superíndice indican diferencia.

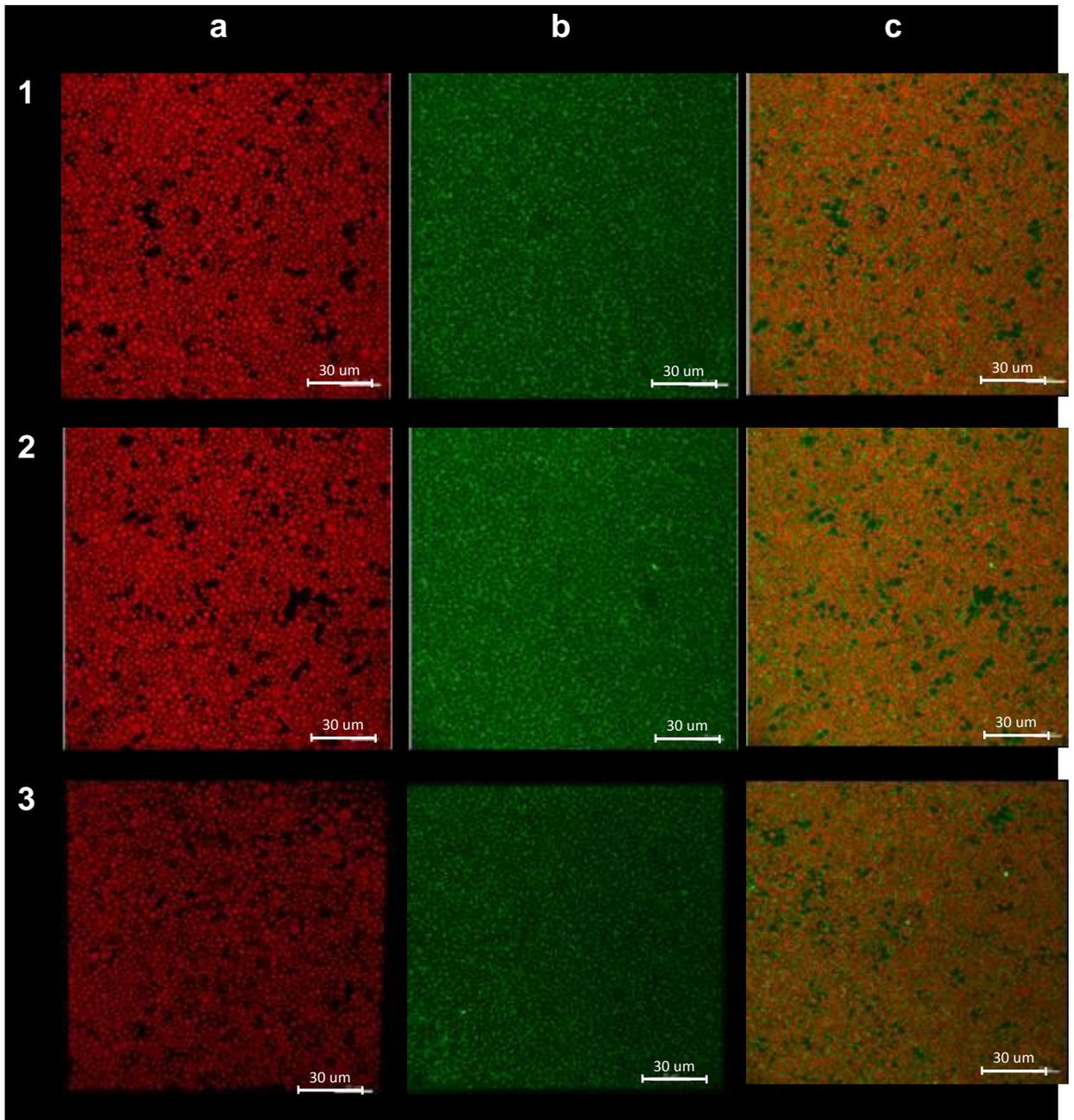
RCT: tiempo de floculación, RCF: velocidad de agregación, CF30: dureza del gel a los 30 min, CF45: dureza del gel a los 45 min.

QLD: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa, QPS: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A001, QPS3: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A235, QPS5: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A635, QPS6: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A835, QPST: Queso elaborado con leche al 1,5% de grasa más 1,5% del CPS A725.

#### **4.6 Micro estructura por microscopía laser confocal.**

Las imágenes obtenidas a partir de la coagulación de las distintas leches mediante microscopía laser confocal no mostraron grandes diferencias en la matriz proteica ni en la distribución de los glóbulos grasos. En la Figura 2 se puede observar la matriz proteica (a) los glóbulos grasos (b) y su interacción (c) de las muestras QPS6, QPST y QLD. En todos los casos se observó una matriz proteica distribuida de manera uniforme y los glóbulos grasos repartidos en tamaños similares.

**Figura2:** Imágenes de microestructura por microscopia laser confocal de las cuajadas a partir de: (1): leche al 1,5% de grasa y (2) leche al 1,5% de grasa más CPST, (3) leche al 1,5% de grasa más CPS6.



a: matriz proteica, b: glóbulos grasos, c: interacción proteína-grasa

## **CAPITULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.**

#### **5.1 Conclusiones**

- La aplicación de las altas temperaturas para obtener concentrado de proteína del suero, produce la desnaturalización de sus proteínas, siendo ésta mayor a medida que aumenta la temperatura. El tratamiento a 75°C produce similar porcentaje de desnaturalización proteica que la que presentan los concentrados proteicos comerciales obtenidos a 80°C. Sin embargo, las propiedades funcionales de las proteínas se ven modificadas en función del tratamiento tecnológico aplicado.
- Los concentrados proteicos son capaces de incorporarse a la matriz del queso, aumentando así su valor nutricional y mejorando sus propiedades funcionales.
- Los quesos bajos en grasa elaborados con CPS6 presentan mayor contenido de nitrógeno, menor sinéresis durante su elaboración, mayor humedad y rendimiento quesero que sus homólogos elaborados sin adición de CPS. La adición de este concentrado proteico no afecta las propiedades de coagulación ni la microestructura de los geles formados.

## **5.2 Recomendaciones.**

Este estudio muestra un gran potencial en la incorporación de concentrados de proteínas del suero en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa. Sin embargo, es necesario profundizar y continuar investigando con la finalidad de determinar los atributos organolépticos del producto, y por supuesto las aplicaciones industriales y las adaptaciones necesarias para el proceso de elaboración.

## CAPITULO VI

### PROPUESTA

#### 6.1 Datos Informativos

- **Título:** “Obtención de concentrados de proteínas del suero para su utilización en la elaboración de queso fresco con reducido contenido de grasa”
- **Unidad Ejecutora:** Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
- **Beneficiarios:** Productores de Queso
- **Provincia:** Tungurahua
- **Cantón:** Pillaro
- **Director del Proyecto:** Ing. Alex Valencia
- **Personal Operativo:** Ing. Diego Salazar.

#### 6.2 Antecedentes de la Propuesta

Para reducir el alto poder contaminante que posee el lacto suero y sobre todo por las propiedades funcionales y nutritivas que ofrece se ha observado que la recuperación de los componentes sólidos del suero lácteo es muy importante, por lo que la solución más ventajosa, para resolver este problema ecológico y aprovechar esta funcionalidad, es procesar el suero para la obtención de productos alimenticios y farmacéuticos (Ostojic et al., 2005; Bonnaillie y Tomasula, 2008).

La mayoría del suero se procesa como lactosuero en polvo. En el año 2000 la Unión Europea y Estados Unidos produjeron 1,8 millones de toneladas de suero en polvo, 400.000 toneladas de suero en polvo desmineralizado, 109.000 toneladas de CPS con 35% de proteína, y 16.500 toneladas de

aislados de proteínas séricas (APS o WPI) con 80% de proteína (Foegeding y Luck, 2003).

La tecnología más simple para obtener proteínas del suero en un producto industrial valioso es la eliminación de filamentos de caseína, desnatado y deshidratación o secado que permita eliminar la mayoría del contenido acuoso (93-94%) y obtener así concentrados de proteína de suero en polvo (Jelen, 1992; 2003), ya que se consigue, en un volumen reducido, un producto nutritivo de gran interés.

El procesado industrial consiste en la concentración en evaporadores de efectos múltiples a vacío hasta un contenido sólido total entre 40-70%, seguido de una cristalización de la lactosa con el fin de que este disacárido se transforme en su forma cristalina  $\alpha$  monohidratada, y de este modo, poder minimizar sus efectos de higroscopicidad (es decir reducir su absorción de agua), y finalmente una deshidratación mediante secado por atomización (Morr, 1992a; Jelen, 2003). Se puede realizar una pasteurización previa a la concentración (U.S.D.E.C., 2004). También se puede aplicar ósmosis inversa para preconcentrar el suero previo a la evaporación. La concentración del suero por esta técnica está limitada por la viscosidad del retenido, por este motivo la ósmosis inversa no puede remplazar por completo a la evaporación (Pearce, 1992).

### **6.3 Justificación**

La elaboración de queso a partir de la inclusión de concentrados de proteínas del suero es una técnica que se emplea en todo el mundo (Scott, 1991) generalmente siguiendo una elaboración tradicional y a pequeña escala (Pintado et al., 2001).

Es una de las formas más directas de recuperación de las proteínas séricas, las cuales acompañadas de cierta grasa residual, se desnaturalizan y coagulan tras la aplicación de un tratamiento térmico (Philippopoulos y Papadakis, 2001).

Como regla general, si se calienta el suero a más de 70°C a pH por debajo de 3,9, las proteínas séricas precipitan y, para que esta precipitación sea completa, el suero debe calentarse al menos hasta valores de 90°C y mantenerlo a esta temperatura durante varios minutos (Jelen, 1992) .

Los quesos de suero reciben diferentes nombres en función del país y de la región donde se produzcan: en España se denomina Requesón; en Noruega, Mysost Primost, Gjestost o Grubransdalsost; en Portugal, Requeijão; en Italia, Ricotta; en Francia, Serac, Brousse, Broccio, Greuil; en Grecia, Manouri, Myzithra, Anthotyros; en Suiza, Schottenziegr, Hudelziger, Mascarpone; en Israel, Urda; siendo el Ricotta el más importante y más conocido suero de queso del mundo (Pintado et al., 2001), junto con el Mysost (Jelen, 2003). Los quesos de suero son significativamente diferentes unos de otros, en cuanto su composición química debido principalmente a las variaciones en el origen y el tipo de suero, así como a la forma de elaboración (Pintado et al., 2001).

## **6.4 Objetivos.**

### **6.4.1 Objetivo General.**

- Proponer una tecnología básica de obtención de concentrados de proteínas del suero de quesería

### **6.4.2 Objetivos Específicos.**

- Determinar la tecnología básica adecuada de obtención de concentrados de proteínas del suero para su utilización en la elaboración de quesos con reducido contenido de grasa.
- Establecer un estudio económico para la tecnología de obtención de concentrados de proteínas del suero de quesería.

## **6.5 Análisis de factibilidad.**

En la fase de investigación de este proyecto se realizó la elaboración de quesos con reducido contenido de grasa en los que se adiciono concentrados de proteínas del suero comerciales, de acuerdo a los análisis

se determinó que efectivamente la adición de concentrados de proteínas del suero mejoran las propiedades del queso como reducción de la sinéresis, mejoramiento del rendimiento y de las propiedades de coagulación.

Análisis de factibilidad para la obtención de proteínas del suero en polvo.

<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>Costo*</b>	<b>Costo*</b>	<b>Costo*</b>	<b>Costo*</b>	<b>Horas</b>	<b>Costo</b>
		<b>anual</b>	<b>día</b>	<b>Hora</b>	<b>utilizadas</b>	<b>Total</b>
Tanque silo	1000	100,00	0,33	0,04	8,00	0,33
Desnatadora	1500	150,00	0,50	0,06	1,00	0,06
Equipo laboratorio	345	34,50	0,12	0,01	0,50	0,01
Selladora	800	80,00	0,27	0,03	0,50	0,02
Marmita	2000	200,00	0,67	0,08	1,00	0,08
Deshidratador	600	60,00	0,20	0,03	5,00	0,13
					<b>Sub total</b>	0,63
					<b>Imprevistos</b>	0,06
					<b>Total</b>	0,69

\*Costo en Dólares Americanos

<b>Materia Prima</b>	<b>Unidades</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo Unitario*</b>	<b>Costo Total*</b>
Suero	litros	100	0,11	11
			<b>Total</b>	11

\*Costo en Dólares Americanos

<b>Sueldo</b>	<b># personal</b>	<b>Costo*</b>	<b>Costo*</b>	<b>Costo*</b>
		<b>mes</b>	<b>día</b>	<b>hora</b>
264	1	264	13.2	1.65
		<b>Total</b>	13.2	1.65

\*Costo en Dólares Americanos

<b>Suministros</b>					
<b>Detalle</b>	<b>Cantidad Mensual</b>	<b>Costo* Unitario</b>	<b>Costo* mensual</b>	<b>Costo* día</b>	<b>Costo* hora</b>
Energía eléctrica (Kw-h)	364	0,13	49,24	2,46	0,31
Agua (lt)	30	0,70	21	1,05	0,13
Diesel (gal)	40	1,05	42	2,10	0,26
Detergente (Kg)	2	2,27	4,54	0,23	0,03
		<b>Total</b>	<b>5,84</b>	<b>0,73</b>	

<b>Costos de Produccion*</b>	<b>\$</b>
materia prima	11,00
Activos fijos	0,69
Sueldos	6,60
Suministros	5,84
Total <sup>1</sup>	30,73
Costo Unitario (Kg)	10,24
Utilidad(30%)	3,07
Precio de venta (Kg)	13,32

<sup>1</sup> 3 Kg de concentrados de proteína del suero.

\*Costo en Dólares Americanos

El costo estimado de producción es de 13.32 \$ por cada Kilo de concentrado de proteínas del suero que se han obtenido a partir de 100 lt de suero destinado a botadero, de los resultados obtenidos experimentalmente se puede observar que la inclusión de este tipo de proteína podría incrementar el rendimiento y puede ser aprovechado por la misma quesería para mejorar sus productividad.

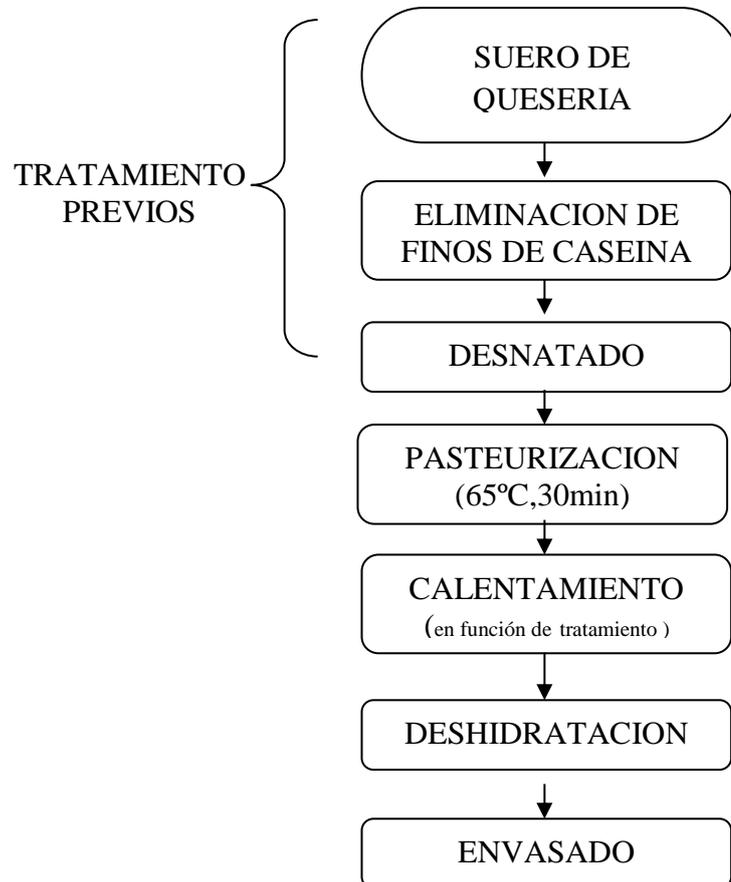
## **6.6 Fundamentación.**

La investigación se fundamenta en el desarrollo de nuevos productos los mismos que deben ayudar a los consumidores en aspecto nutricional y organoléptico y a los productores a innovar y por ende a mejorar sus ingresos y su estilo de vida.

Las técnicas que permiten concentrar las proteínas del suero en relación a los componentes no proteicos del suero, y poder, de este modo, explotar las propiedades de las proteínas se pueden dividir en 2 categorías: la recuperación de proteínas séricas que permite concentrar las proteínas séricas sin selectividad aumentando el contenido proteico del suero (obtención de lactoalbumina y de concentrados y aislados de proteínas séricas) y el fraccionamiento proteico del para obtener concentrados de proteínas del suero. (Pearce, 1992b; Bonnaillie y Tomasula, 2008).

Los concentrados proteicos son mezclas de proteínas en las mismas proporciones que están en el lactosuero, pero en las que se ha aumentado su porcentaje sobre extracto seco (Riera et al., 1996b; Etzel, 2004).

### 6.7 Metodología. Modelo Operativo



#### Tratamientos previos

Antes de realizar ningún tratamiento en el suero es necesario eliminar los finos de caseína y grasa que podrían afectar el proceso normal de obtención de concentrados de proteínas del suero. Para ello se utilizan separadoras centrífugas. A continuación es necesario realizar una pasteurización para destruir aquellos microorganismos (patógenos, cultivos iniciadores y otras bacterias) que puedan estar presentes.

El tratamiento térmico mínimo y más común es el de 65°C durante 30 minutos. Luego puede ser almacenado a temperaturas de refrigeración hasta que se produzca el procesado posterior.

### **Calentamiento.**

Tras la realización de estos tratamientos previos, el suero se somete a calentamiento hasta temperaturas de 75 °C, se puede adicionar 0.05 ml de ácido láctico por cada 10 lt de suero con la finalidad de ayudar en la precipitación. La obtención de proteínas del suero por este método convencional produce desnaturalización de las proteínas séricas y mejoran sus características funcionales. Una de las ventajas de esta desnaturalización es el incremento de la capacidad de retención de agua y el mejoramiento de las propiedades sensoriales de los quesos con reducido contenido de grasa que se elaboren.

### **Deshidratación**

Para poder obtener un producto en polvo se lleva a cabo la deshidratación en un secador de bandejas a una temperatura de 60°C.

Luego de la deshidratación es necesario pulverizar el concentrado obtenido para evitar la presencia de masas compactas de proteínas.

### **Envasado.**

Se recomienda el envasado del polvo en envases que no permitan el paso de humedad a la muestra.

**Tabla 14.-** Modelo operativo (plan de acción).

<b>Fases</b>	<b>Metas</b>	<b>Actividades</b>	<b>Responsable</b>	<b>Recursos</b>	<b>Presupuesto</b>	<b>Tiempo</b>
1. Formular la propuesta	Justificar la importancia de la utilización de concentrados de proteína de suero de quesería	Revisión bibliográfica Normas INEN	Investigador	Humano Técnico Económico	\$15	30 días
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Elaborar concentrados de proteína del suero de quesería.	Desarrollar el concentrado de proteínas del suero de quesería.	Investigador	Humano Técnico Económico	\$100	10 días
3. Implementación de la propuesta	Ejecutar procedimientos y fichas técnicas para la elaboración de concentrados de proteínas del suero.	Elaboración fichas técnicas y redacción de metodología.	Investigador	Humano Técnico Económico	\$50	60 días
4. Evaluación de la propuesta	Proponer talleres de socialización de resultados y beneficios a los interesados de la propuesta.	Análisis con productores de quesos.	Investigador	Humano Técnico Económico	\$100	30 días

**Elaborado por:** Diego Salazar

## 6.8 Administración.

Para la ejecución del presente trabajo de investigación se requerirá de los siguientes recursos:

### 6.8.1. Recursos humanos

Está conformando por el investigador y los propietarios de queserías a quienes les resulte atractivo un nuevo sistema de aprovechamiento de recursos y mejoramiento de tecnología de procesamiento y producción.

### 6.8.2. Recursos físicos

Las actividades se desarrollaran en un ambiente adecuado con todas las comodidades para el avance satisfactorio de las actividades planificadas.

### 6.8.3. Recursos materiales

- Computador y Proyector.
- Cuadernos y bolígrafos.
- Impresiones.
- Resma de Papel Bond.
- Resaltadores.

**Tabla 15.-** Administración.

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
Aprovechamiento del suero de quesería como mimético de la grasa en quesos con reducido contenido de grasa	Desaprovechamiento del suero de quesería	Producción de concentrados de proteínas del suero para ser utilizados como miméticos de la grasa en sistemas alimenticios.	Elaborar concentrados de proteína de suero de quesería	Investigador: Diego Salazar

**Elaborado por:** Diego Salazar

## 6.9. Previsión de la evaluación

A fin de garantizar y asegurar la ejecución de la propuesta de conformidad con lo programado, para el cumplimiento de los objetivos planteados, se deberá realizar el monitoreo del plan de acción, como un proceso de monitoreo y evaluación permanente que nos permita anticipar contingencias que se pueden presentar en el camino con la finalidad de implementar correctivos a través de acciones que nos aseguren la consecución de las metas.

<b>PREGUNTAS BÁSICAS</b>	<b>EXPLICACIÓN</b>
<b>Quiénes solicitan evaluar?</b>	Productores de quesos.
<b>Por qué evaluar?</b>	Porque la propuesta tiene como objetivo mejorar la productividad, tecnología de procesamiento y las condiciones de vida, tener una valoración cuantitativa y cualitativa para su mejora constante.
<b>Para qué evaluar?</b>	Para determinar si la propuesta contribuye en logro los objetivos propuestos.
<b>Qué evaluar?</b>	El impacto que genera la producción de concentrados de proteínas del suero y su incorporación en la elaboración de quesos con reducido contenido de grasa.
<b>Quién evalúa?</b>	El investigador
<b>Cuando evaluar?</b>	Durante el proceso e inmediatamente luego de concluida la aplicación de la propuesta.
<b>Cómo evaluar?</b>	A través de encuestas, cuestionarios, entrevistas.
<b>Con qué evaluar?</b>	Utilizando los instrumentos adecuados según las técnicas aplicadas.

Elaborado por: Diego Salazar

## C.- MATERIALES DE REFERENCIA

### 1. BIBLIOGRAFÍA.

- American Dietetic Association. 2005. Position of the american dietetic association: Fat replacers. *J. American Dietetic Association*, 105: 266-275.
- Calvo, M. M., Balcones, E. 1998. Influence of heat treatment on rennet clotting properties of mixtures of cow's, ewe's, and goat's milk and on cheese yield. *J. Agric. Food Chem.*,46: 2957-2962.
- Calvo, M. M., Espinoza, N. A. 1999. Syneresis rate of cow's, ewe's, and goat's curd. effect of thermal treatment and ultrafiltration. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 883-886.
- Capellas, M. 1998. *Aplicación de la alta presión hidrostática en mató (queso fresco de leche de cabra)*. Departament Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.
- Caro, I., Soto, S., Franco, M. J., Meza-Nieto, M., Alfaro-Rodríguez, R. H., 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: 580-588.
- Dissanayake, M., Vasiljevic, T. 2009. Functional properties of whey proteins affected by heat treatment and hydrodynamic high-pressure shearing. *J. Dairy Sci.*, 92: 1387-1397.
- Drake, M. A., Swanson, B.G. 1995. Reduced- and low-fat cheese technology: A review. *T. Food Sci & Tech*, 6: 366-369.
- Evans, J., Zulewska, J., Newbold, M., Drake, M.A., Barbano, D.M. 2010. Comparison of composition and sensory properties of 80% whey protein and milk serum protein concentrates. *J. Dairy Sci.*, 93: 1824-1843.

- Famelart, M., Chapron, L., Piot, M., Brulé, G., Durier, C. 1998. High pressure-induced gel formation of milk and whey concentrates. *J. Food Eng.*, 36: 149-164.
- Galazka, V.B., Sumner, I.G., Ledward, D.A. 1996. Changes in protein-protein and protein-polysaccharide interactions induced by high pressure. *Food Chem.*, 57: 393-398.
- Hinrichs, J. 2001. Incorporation of whey proteins in cheese. *Int. Dairy J.*, 11: 495-503.
- Hinrichs, J., Rademacher, B. 2005. Kinetics of combined thermal and pressure-induced whey protein denaturation in bovine skim milk. *Int. Dairy J.*, 15:315-323.
- Huppertz, T., Fox, P. F., Kelly, A.L. 2004. Effects of high pressure treatment on the yield of cheese curd from bovine milk. *J. Food Sci. & Emerging Tech.*, 5: 1-8.
- Ibanoglu, E., Karataş, Ş. 2001. High pressure effect on foaming behaviour of whey protein isolate. *J. Food Eng.*, 47: 31-36.
- International Obesity Task Force. 2011. Overweight and Obesity. I. Obesity Task Force, 1-16.
- IDF. 2002. Milk and milk products – Determination of nitrogen content. IDF Standard 185:2002/ISO 14891. International Dairy Federation, Brussels, Belgium
- IDF, 2004. Cheese and processed cheese - Determination of the total solids content (Reference Method). IDF Standard 004:2004. International Dairy Federation, Brussels, Belgium
- ISO, 1975. Cheese - Determination of fat content - van Gulik method. ISO Standard 3433. International Organization for Standardization, Leusden, Netherlands.
- Johnson, M. E. 2011. *Cheese low-fat and reduced-fat cheese*. Encyclopedia of dairy sciences (second edition), 833-842.

- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Kondyli, E., Alichanidis, E. 2002. Flavour enhancement of low-fat feta-type cheese using a commercial adjunct culture. *Food Chem.*, 79: 193-198.
- Koca, N., Metin, M. 2004. Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh kashar cheeses produced by using fat replacers. *Int. Dairy J.*, 14: 365-373.
- Liu, X., Powers, J.R., Swanson, B.G., Hill, H.H., Clark, S. 2005. Modification of whey protein concentrate hydrophobicity by high hydrostatic pressure. *I. Food Sci. & Emerging Tech.*, 6: 310-317.
- Lo, C.G., Bastian, E.D. 1998. Incorporation of native and denatured whey proteins into cheese curd for manufacture of reduced fat, Havarti-type cheese. *J. Dairy Sci.*, 81: 16-24.
- Lobato-Calleros, C., Reyes-Hernández, J., Beristain, C.I., Hornelas-Uribe, Y., Sánchez-García, J.E., Vernon-Carter, E.J. 2007. Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. *Food Research Int.*, 40: 529-537.
- Lopez-Fandiño, R., Carrascosa, A.V., Olano, A. 1996. The effects of high pressure on whey protein denaturation and cheese-making properties of raw milk. *J. Dairy Sci.*, 79: 929-936.
- López-Fandiño, R. 2006. High pressure-induced changes in milk proteins and possible applications in dairy technology. *Int. Dairy J.*, 16: 1119-1131.
- Lucey, J.A. 2011. *Cheese curd syneresis*. Encyclopedia of dairy sciences. (second edition), 591-594.
- Mazri, C., Sánchez, L., Ramos, S. J., Calvo, M., Pérez, M.D. 2012. Effect of high-pressure treatment on denaturation of bovine lactoferrin and lactoperoxidase. *J. Dairy Sci.*, 95: 549-557.
- Mehaia, M.A. 2002. Manufacture of fresh soft white cheese (Domiaty-type) from ultrafiltered goats' milk. *Food Chem.*, 79: 445-452.

- Merrill, R.K., Oberg, C.J., McMahon, D.J. 1994. A method for manufacturing reduced fat Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.*, 77: 1783-1789.
- O'Connor, T. P., O'Brien, N.M. 2002. *Lipids fat replacers*. Enciclopedia of dairy sciences, Hubert Roginski (Ed.), Oxford: Elsevier, 1617-1622.
- Padiernos, C.A., Lim, S., Swanson, B.G., Ross, C.F., Clark, S. 2009. High hydrostatic pressure modification of whey protein concentrate for use in low-fat whipping cream improves foaming properties. *J. Dairy Sci.*, 92: 3049-3056.
- Parris, N., Baginski, M.A. 1991. A rapid method for the determination of whey protein denaturation. *J. Dairy Sci.*, 74:, 58-64.
- Pittia, P., Wilde, P.J., Clark, D.C. 1996. The foaming properties of native and pressure treated  $\beta$ -casein. *Food Hydrocolloids*, 10: 335-342.
- Ritvanen, T., Lilleberg, L., Tupasela, T., Suhonen, U., Eerola, S., Putkonen, T. 2010. The characterization of the most-liked reduced-fat havarti-type cheeses. *J. Dairy Sci.*, 93: 5039-5047.
- Sipahioglu, O., Alvarez, V.B., Solano-Lopez, C. 1999. Structure, physico-chemical and sensory properties of feta cheese made with tapioca starch and lecithin as fat mimetics. *Int. Dairy J.*, 9: 783-789.
- Ur Rehman, S., Farkye, N.Y., Considine, T., Schaffner, A., Drake, M.A. 2003. Effects of standardization of whole milk with dry milk protein concentrate on the yield and ripening of reduced-fat Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.*, 86: 1608-1615.
- Vikram V., M. 2001. Low fat cheese technology. *Int. Dairy J.*, 11: 413-422.
- Waungana, A., Singh, H., Bennett, R.J. 1996. Influence of denaturation and aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin on rennet coagulation properties of skim milk and ultrafiltered milk. *Food Research Int.*, 29: 715-721.
- Zalazar, C.A., Zalazar, C.S., Bernal, S., Bertola, N., Bevilacqua, A., Zaritzky, N. 2002. Effect of moisture level and fat replacer on physicochemical,

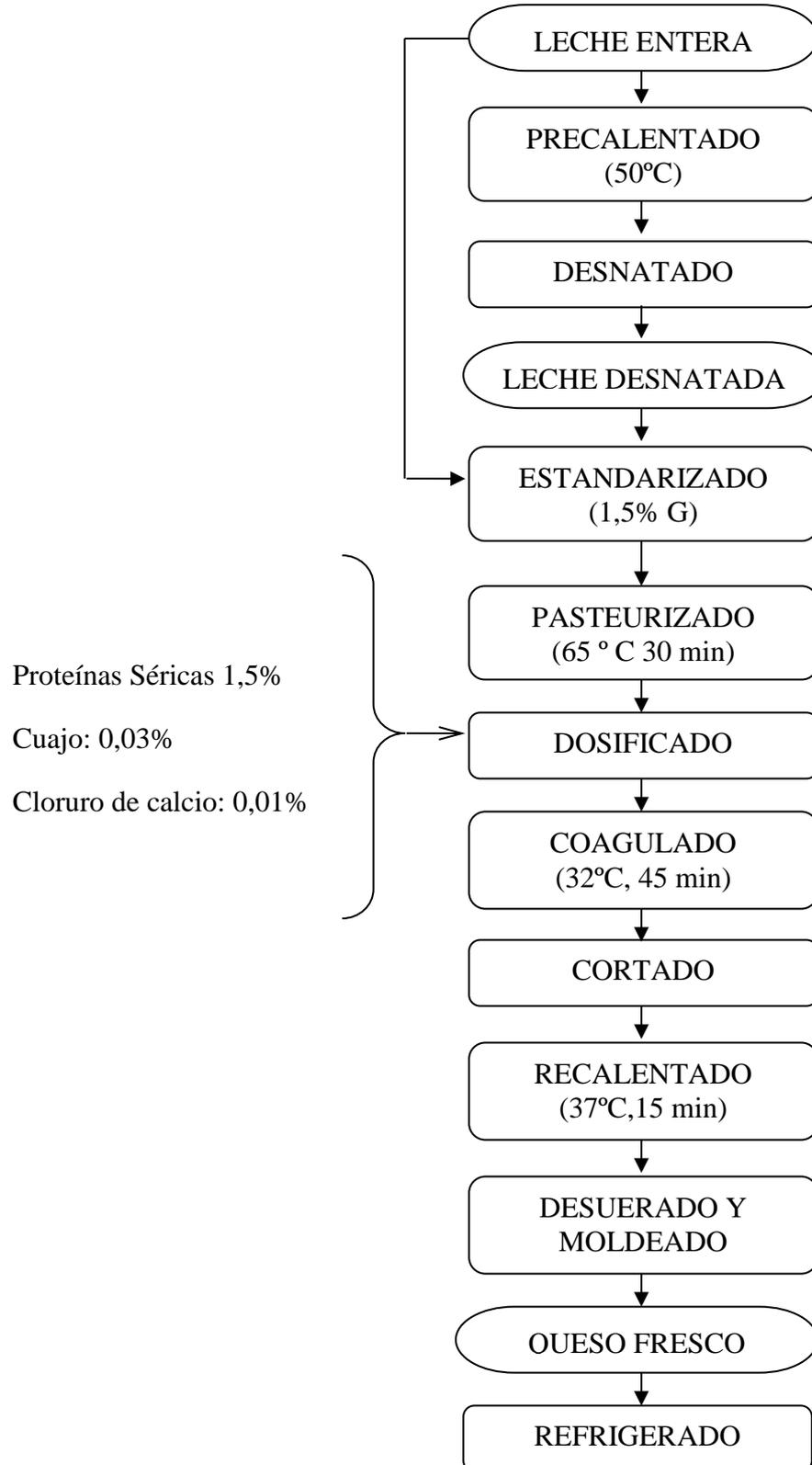
rheological and sensory properties of low fat soft cheeses. *Int. Dairy J.*, 12: 45-50.

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

## 2. ANEXOS

### ANEXO1

#### Diagrama de Proceso de la Elaboración de Queso Fresco



## ANEXO 2

### RESULTADOS ESTADISTICOS

#### VARIABLE DEPENDIENTE: SUERO SINERISIS

##### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Suero Sinerisis

Muestra	Media	Desviación típica	N
,00	355,32	24,59	9
1,00	389,88	33,96	6
2,00	360,74	14,86	9
3,00	371,47	35,55	9
5,00	374,35	13,24	9
6,00	364,67	30,67	6
7,00	378,94	13,96	6
Total	369,59	25,87	54

##### Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Suero Sinerisis

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	5913,38 <sup>a</sup>	6	985,563	1,566	0,178
Intersección	7132463,47	1	7132463,473	11334,819	0,000
VAR00001	5913,38	6	985,563	1,566	0,178
Error	29574,86	47	629,252		
Total	7412004,29	54			
Total corregida	35488,24	53			

## Pruebas Post hoc.

### Suero Sinerisis

Student-Newman-Keuls<sup>a,b,c</sup>

Muestra	N	Subconjunto
,00	9	355,32
2,00	9	360,74
6,00	6	364,67
3,00	9	371,47
5,00	9	374,35
7,00	6	378,94
1,00	6	389,88
Sig.		0,134

## VARIABLE DEPENDIENTE: HUMEDAD

### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Humedad

Muestras	Media	Desviación típica	N
,00	73,96	3,44	9
1,00	68,21	1,55	6
2,00	75,35	2,18	9
3,00	77,54	0,87	9
5,00	77,49	0,97	9
6,00	75,53	0,29	6
7,00	77,67	1,31	6
Total	75,32	3,38	54

### Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Humedad

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	439,596 <sup>a</sup>	6	73,266	20,524	0,000
Intersección	292712,860	1	292712,860	81999,043	0,000
VAR00001	439,596	6	73,266	20,524	0,000
Error	167,776	47	3,570		
Total	307028,268	54			
Total corregida	607,372	53			

### Pruebas post hoc

#### Humedad

Student-Newman-Keuls<sup>a,b,c</sup>

Muestras	N	Subconjunto		
		1	2	3
1,00	6	68,21		
,00	9		73,96	
2,00	9		75,35	75,35
6,00	6		75,53	75,53
5,00	9			77,49
3,00	9			77,54
7,00	6			77,67
Sig.		1,000	0,253	0,143

**VARIABLE DEPENDIENTE: NITROGENO EN QUESO Y EN SUERO**

**Estadísticos descriptivos**

	Muestra	Media	Desviación típica	N
%Nitrogeno Queso	0,00	2,1283	0,09079	3
	2,00	1,8883	0,21933	3
	3,00	2,0807	0,13484	3
	5,00	2,0913	0,12174	3
	6,00	2,6047	0,12591	3
	Total	2,1587	0,27529	15
%Nitrogeno Suero	0,00	0,2313	0,00791	3
	2,00	0,2409	0,00548	3
	3,00	0,2201	0,01405	3
	5,00	0,2288	0,01650	3
	6,00	0,2124	0,00849	3
	Total	0,2267	0,01388	15

**Contrastes multivariados<sup>c</sup>**

Efecto	Valor	F	Gl de la hipótesis	Gl del error	Sig.	
Intersecció	Traza de Pillai	0,998	2932,348 <sup>a</sup>	2,000	9,000	0,000
	Lambda de Wilks	0,002	2932,348 <sup>a</sup>	2,000	9,000	0,000
	Traza de Hotelling	651,633	2932,348 <sup>a</sup>	2,000	9,000	0,000
	Raíz mayor de Roy	651,633	2932,348 <sup>a</sup>	2,000	9,000	0,000

VAR00013	Traza de Pillai	1,049	2,759	8,000	20,000	0,031
	Lambda de Wilks	,083	5,571 <sup>a</sup>	8,000	18,000	0,001
	Traza de Hotelling	9,487	9,487	8,000	16,000	0,000
	Raíz mayor de Roy	9,316	23,289 <sup>b</sup>	4,000	10,000	0,000

### Pruebas post hoc

#### %Nitrogeno Queso

Student-Newman-Keuls<sup>a,b,c</sup>

Muestra	N	Subconjunto	
		1	2
2,00	3	1,88	
3,00	3	2,08	
5,00	3	2,09	
,00	3	2,12	
6,00	3		2,60
Sig.		0,242	1,000

### %Nitrogeno Suero

Student-Newman-Keuls<sup>a,b,c</sup>

Muestra	N	Subconjunt
		1
6,00	3	0,2124
3,00	3	0,2201
5,00	3	0,2288
,00	3	0,2313
2,00	3	0,2409
Sig.		0,067

### VARIABLE DEPENDIENTE: DESNATURALIZACION MEDIDA POR HPLC

#### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente:%Desnaturalizacion  
HPLC

Muestra	Media	Desviación típica	N
,00	0,00	0,00	6
3,00	5,50	2,33	6
5,00	6,41	6,57	6
6,00	23,20	1,95	3
7,00	27,91	4,08	6
Total	11,42	11,64	27

### Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente:%Desnaturalizacion HPLC

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	3191,714 <sup>a</sup>	4	797,928	52,488	0,000
Intersección	3973,281	1	3973,281	261,366	0,000
VAR00016	3191,714	4	797,928	52,488	0,000
Error	334,443	22	15,202		
Total	7053,239	27			
Total corregida	3526,157	26			

### Pruebas post hoc

#### %Desnaturalizacion HPLC

Student-Newman-Keuls<sup>a,b,c</sup>

Muestra	N	Subconjunto		
		1	2	3
0,00	6	0,0000		
3,00	6		5,5021	
5,00	6		6,4152	
6,00	3			23,2027
7,00	6			27,9139
Sig.		1,000	,715	,069

**VARIABLE DEPENDIENTE: pH y GRASA**

**Estadísticos descriptivos**

muestra		Media	Desviación típica	N
pH	0,00	6,6600	0,06083	3
	2,00	6,6433	0,12503	3
	3,00	6,5167	0,07767	3
	5,00	6,5500	0,17436	3
	6,00	6,7500	0,03606	3
	7,00	6,7167	0,06028	3
	Total	6,6394	0,12041	18
Grasa	0,00	7,9333	0,11547	3
	2,00	8,0000	0,00000	3
	3,00	7,9333	0,11547	3
	5,00	7,8667	0,11547	3
	6,00	7,8667	0,11547	3
	7,00	7,9333	0,11547	3
	Total	7,9222	0,10033	18

## Pruebas post hoc

Grasa			pH		
Student-Newman-Keuls <sup>a,b,c</sup>			Student-Newman-Keuls <sup>a,b,c</sup>		
muestra	N	Subconjunt 1	muestra	N	Subconjunt 0 1
5,00	3	7,86	3,00	3	6,51
6,00	3	7,86	5,00	3	6,55
,00	3	7,93	2,00	3	6,64
3,00	3	7,93	0,00	3	6,66
7,00	3	7,93	7,00	3	6,71
2,00	3	8,00	6,00	3	6,75
Sig.		0,64	Sig.		0,117

## VARIABLE DEPENDIENTE: PROPIEDADES DE COAGULACION

### Estadísticos descriptivos

	muestra	Media	Desviación típica	N
rct	,00	18,59	2,78	12
	2,00	18,10	0,89	13
	3,00	18,89	0,93	15
	5,00	18,75	0,89	15
	6,00	17,69	0,46	12
	7,00	18,78	2,92	12
	Total		18,49	1,71
rcf	,00	0,41	0,15	12
	2,00	0,35	0,13	13
	3,00	0,45	0,06	15
	5,00	0,44	0,06	15
	6,00	0,42	0,07	12
	7,00	0,39	0,12	12

	Total	0,41	0,11	79
cf30	,00	6,15	1,20	12
	2,00	5,90	1,27	13
	3,00	5,62	0,75	15
	5,00	5,58	0,71	15
	6,00	5,52	0,64	12
	7,00	5,60	1,07	12
	Total	5,72	0,96	79
	cf45	,00	8,33	1,64
2,00		7,80	1,40	13
3,00		7,61	0,76	15
5,00		7,42	0,81	15
6,00		7,21	0,76	12
7,00		7,67	1,15	12
Total		7,66	1,13	79

### Pruebas de los efectos inter-sujetos

Origen	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática
Modelo corregido	rct	14,238 <sup>a</sup>	5	2,848
	rcf	,091 <sup>b</sup>	5	,018
	cf30	3,717 <sup>c</sup>	5	,743
	cf45	8,920 <sup>d</sup>	5	1,784

Intersección	rct	26683,295	1	26683,295
	rcf	13,367	1	13,367
	cf30	2570,825	1	2570,825
	cf45	4612,145	1	4612,145
VAR00001	rct	14,238	5	2,848
	rcf	,091	5	,018
	cf30	3,717	5	,743
	cf45	8,920	5	1,784
Error	rct	215,547	73	2,953
	rcf	,865	73	,012
	cf30	68,287	73	,935
	cf45	91,801	73	1,258
Total	rct	27245,377	79	
	rcf	14,567	79	
	cf30	2661,849	79	
	cf45	4746,552	79	
Total corregida	rct	229,785	78	
	rcf	,956	78	
	cf30	72,004	78	
	cf45	100,721	78	

**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Origen	Variable dependiente	F	Sig.
Modelo corregido	rct	0,964	0,445
	rcf	1,528	0,192
	cf30	0,795	0,557
	cf45	1,419	0,228
Intersección	rct	9036,915	,000
	rcf	1127,631	,000
	cf30	2748,257	,000
	cf45	3667,571	,000
VAR00001	rct	0,964	0,445
	rcf	1,528	0,192
	cf30	0,795	0,557
	cf45	1,419	0,228
Error	rct		
	rcf		
	cf30		
	cf45		
Total	rct		
	rcf		
	cf30		
	cf45		
Total corregida	rct		
	rcf		
	cf30		
	cf45		

### 1. muestra

Variable dependiente	muestra	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
rct	,00	18,593	0,496	17,604	19,582
	2,00	18,106	0,477	17,157	19,056
	3,00	18,894	0,444	18,010	19,779
	5,00	18,756	0,444	17,871	19,640
	6,00	17,690	0,496	16,702	18,679
	7,00	18,781	0,496	17,792	19,769
rcf	,00	0,418	0,031	0,355	0,480
	2,00	0,351	0,030	0,291	0,411
	3,00	0,450	0,028	0,394	0,506
	5,00	0,442	0,028	0,386	0,498
	6,00	0,427	0,031	0,365	0,490
	7,00	0,393	0,031	0,330	0,456
cf30	,00	6,151	0,279	5,594	6,707
	2,00	5,909	0,268	5,374	6,443
	3,00	5,626	0,250	5,129	6,124
	5,00	5,586	0,250	5,088	6,084
	6,00	5,522	0,279	4,965	6,078
	7,00	5,605	0,279	5,048	6,161
cf45	,00	8,332	0,324	7,687	8,977
	2,00	7,808	0,311	7,188	8,427
	3,00	7,619	0,290	7,042	8,196
	5,00	7,425	0,290	6,848	8,002
	6,00	7,216	0,324	6,571	7,861
	7,00	7,674	0,324	7,028	8,319

**Pruebas post hoc**

**rct**

Student-Newman-Keuls<sup>a,b,c</sup>

muestra	N	Subconjunto
		1
6,00	12	17,6903
2,00	13	18,1064
,00	12	18,5931
5,00	15	18,7556
7,00	12	18,7806
3,00	15	18,8944
Sig.		,479

**rcf**

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

muestra	N	Subconjunto
		1
2,00	13	,3507
7,00	12	,3930
,00	12	,4175
6,00	12	,4274
5,00	15	,4417
3,00	15	,4500
Sig.		,196

**cf30**Student-Newman-Keuls<sup>a,b,c</sup>

muestra	N	Subconjunto
		1
6,00	12	5,5219
5,00	15	5,5860
7,00	12	5,6046
3,00	15	5,6264
2,00	13	5,9089
,00	12	6,1505
Sig.		,563

**cf45**Student-Newman-Keuls<sup>a,b,c</sup>

muestra	N	Subconjunto
		1
6,00	12	7,2160
5,00	15	7,4251
3,00	15	7,6191
7,00	12	7,6737
2,00	13	7,8075
,00	12	8,3322
Sig.		,126