

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Elaboración de queso fresco tipo Panela a partir del retenido
obtenido por microfiltración de leche descremada

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Presenta:

Q.A. Martha Alicia Silva Lara

Dirigido por:

Dra. Silvia Amaya Llano

Centro Universitario
Querétaro, Qro
Octubre 2015



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Elaboración de queso fresco tipo panela a partir del retenido
obtenido por microfiltración de leche descremada

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Título de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

Q.A Martha Alicia Silva Lara

Dirigido por:

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Director



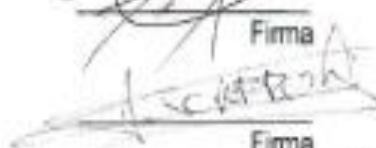
Firma

Dr. Eduardo Castaño Tostado
Asesor



Firma

Dr. Sergio de Jesús Romero Gómez
Asesor



Firma

Dra. Beneranda Murua Pagola
Asesor



Firma

Dr. Lech Ozimek
Asesor



Firma



M.S.P Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad



Dra. Ma. Guadalupe Flavia
Loarca Piña
Directora de Investigación y
Posgrado

RESUMEN

La microfiltración (MF) es un método de separación por membrana que emplea presión separando los componentes de la leche como caseínas, grasa, proteínas de suero, lactosa y minerales en dos fracciones: retenido y permeado; la primera, formada por moléculas que no logran atravesar la membrana y en el permeado, aquellas que pasan a través del poro. Es una tecnología que se ha usado en la industria láctea, para la concentración de proteínas y la elaboración de nuevos productos, por ejemplo, de queso a partir del retenido, como Camembert y Mozzarella, observando mejoras y el empleo de menores cantidades de cuajo. El permeado generado puede ser destinado a la elaboración de productos como bebidas, o separar componentes como la lactosa. Por lo anterior, la MF es una alternativa al proceso tradicional de elaboración de queso pero requiere de la evaluación de factores de proceso como: presión, temperatura y concentración de proteína con el fin de obtener los mejores resultados son necesarios. El objetivo de este trabajo fue desarrollar mediante MF un queso fresco tipo Panela de características similares a un queso de elaboración tradicional, del retenido y permeado, así como la del queso elaborado. Dos factores de concentración (FC) en la MF fueron evaluados 2x y 4x, además, dos temperaturas 30°C y 45°C, a presión de 0 y 0.75 bar. Se elaboraron quesos frescos tipo Panela usando como materia prima retenido de leche descremada (QMF) y por otra parte de leche descremada (QC); se caracterizaron los quesos obtenidos en base a su contenido de proteína total, textura, grasa, humedad, rendimiento y a su evaluación sensorial. De la MF se observó que con FC 4x a 45°C y 0.75 bar de presión se obtuvo mayor porcentaje de proteína total en el retenido con 56.80 ± 0.063 g/L. Dicha condición se usó para la obtención del queso QMF. QMF y QC en grasa, humedad, proteína total y sólidos totales fueron diferentes significativamente entre sí. No se observó diferencia en textura, rendimiento y proteína total. En la evaluación sensorial de los quesos la mayor aceptabilidad fue obtenida para el QC comparado con el QMF. **Palabras clave:** Microfiltración, separación por membrana, leche descremada, queso fresco, caseína.

SUMMARY

Microfiltration is a membrane separation pressure driven technique which divides milk components into casein, fat, whey proteins, lactose on permeate and retentate; the first consisting of larger molecules that cannot pass through the membrane and the permeate smaller particles that pass through the pore. It is a technology that has been used in the dairy industry, allowing the concentration of milk proteins for the development of new products, for example in the manufacture of cheese from retentate, some studies in cheese as Camembert, Feta and Mozzarella have been already made, and in some cases an improvement in the taste has been observed as well as the use of smaller amounts of rennet and whey generation. Permeate can be used for the production of other products such as beverages or concentrate lactose, microfiltration is an alternative to the traditional cheese making process and the evaluation of factors like pressure, temperature and protein concentration are important to obtain the best results. The aim of this study was to developed a type of Panela cheese from retentate with similar characteristics to conventional cheese, and characterize the retentate, permeate and manufactured cheese. Two concentration factors (CF) 2x and 4x were evaluated, two different temperatures (30 y 45°C) and pressure (0 y 0.75 bar) during microfiltration. Total protein was measured by an ultrasonic milk analyzer, total solids by force air and fat by Gerber method. Cheese making trials were conducted on Panela cheese using retentate (QMF) and skim milk (QC) and total protein, texture, fat, moisture, yield also sensory evaluation was performed. Changes in the level of total protein were dependent of CF. 4x CF at 45°C pressure of 0.75 bar showed the highest protein level (56.80 ± 0.063 g/L). This condition was used to make laboratory-scale cheese. Fat, moisture, total solids and cheese yield were significantly different. No difference in texture, yield and total protein. Higher sensory score was for QC vs. QMF

Keywords: Microfiltration, membrane separation, skim milk, fresh cheese, casein.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado durante la realización de este trabajo.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República (PROPAC), por el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

A mi directora de tesis Dra. Silvia Amaya Llano, por el apoyo, por ser ejemplo de paciencia y optimismo, así mismo, por compartir sus conocimientos conmigo y confiar en mí para realizar este proyecto.

A mis sinodales, por sus aportaciones a lo largo de este proyecto; especialmente a la Dra. Beneranda por permitirme trabajar en el laboratorio de lácteos y todos sus valiosos comentarios para este trabajo.

A todos mis profesores, que formaron parte de estos dos años de enriquecimiento académico, por su orientación y consejos.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, que me apoyaron y dieron ánimos durante mi estancia en el laboratorio, gracias por sus palabras de aliento y compañía durante las largas horas de trabajo.

A mis amigos del posgrado, por compartir sus conocimientos conmigo, por ser parte de estos dos años y hacer más divertido todo el proceso.

A mi familia, por su vital apoyo en todo, por estar ahí y escuchar mis quejas, compartir mis alegrías, y ser felices conmigo por mis triunfos.

Al personal administrativo del posgrado, especialmente a Carmelita y Laurita, por su ayuda en todos los trámites realizados.

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS.....	6
1. INTRODUCCIÓN	11
2. ANTECEDENTES	13
2.1 La leche y sus componentes.....	13
2.1.1 Proteínas	14
2.2 Tecnología de membranas y el fraccionamiento de la leche.....	15
2.2.1 Microfiltración	17
2.2.2 Filtración de flujo cruzado.....	18
2.2.3 Membranas	20
2.2.4 Factor de concentración	22
2.2.5 Temperatura y presión	22
2.2.6 Microfiltración en la concentración de proteínas de leche	23
2.3 Queso	24
2.3.1 Elaboración de queso.....	26
2.3.2 Queso en México.....	27
2.3.3 Queso Panela.....	28
2.3.4 Beneficios de la microfiltración en la elaboración de quesos.....	29
3. JUSTIFICACIÓN	32
4. OBJETIVOS	34
4.1 Objetivo general	34
4.2 Objetivos específicos	34
5. MATERIALES Y MÉTODOS	35
5.1 Materiales.....	35
5.2 Métodos	35

5.2.1	Obtención de retenido y permeado mediante microfiltración.	35
5.2.2	Equipo de filtración, parámetros de filtración y tratamientos.	36
5.2.3	Análisis fisicoquímicos de retenido y permeado.	39
5.3	Elaboración de queso fresco tipo Panela control y queso MF.	39
5.3.1	Diseño experimental queso fresco tipo Panela elaborado a partir de retenido obtenido de MF	39
5.3.2	Análisis fisicoquímicos de queso fresco tipo Panela control y queso MF.	40
5.3.3	Determinación de textura de queso fresco tipo Panela control y queso MF.	40
5.3.4	Determinación de color.	41
5.3.5	Análisis fisicoquímicos de suero lácteo	41
5.4	Evaluación sensorial del queso Panela.	41
5.5	Análisis estadístico.	41
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
6.1	Análisis proximal de materia prima	43
6.2	Evaluación del flujo del permeado durante el proceso de MF.	43
6.3	Evaluación de la presión, factor de concentración y temperatura durante la MF de leche descremada	44
6.3.1	Evaluación del efecto de la temperatura y FC en la concentración y separación de los componentes de leche descremada.	44
6.3.2	Evaluación del efecto de la presión y FC en la concentración y separación de los componentes de leche descremada.	47
6.4	Elaboración y evaluación de queso control y queso elaborado a partir del retenido	50
6.4.1	Determinación de sólidos totales y humedad.	52
6.4.2	Determinación de grasa.	53

6.4.3	Determinación de proteína total.....	54
6.4.4	Determinación de Textura	55
6.4.5	Determinación de rendimiento.....	56
6.5	Evaluación de los componentes del suero obtenido de QC (SQC) y suero obtenido del QMF (SQMF).....	57
6.6	Evaluación del efecto de la concentración de enzima, cloruro de calcio (CaCl ₂) y tiempo de coagulación en la elaboración de queso fresco tipo Panela.	59
6.6.1	Determinación del efecto de la concentración de enzima, cloruro de calcio (CaCl ₂) y tiempo de coagulación en sólidos totales y humedad.....	60
6.6.2	Determinación del efecto de la concentración de enzima, cloruro de calcio (CaCl ₂) y tiempo de coagulación en grasa.	61
6.6.3	Determinación del efecto de la concentración de enzima, cloruro de calcio (CaCl ₂) y tiempo de coagulación en proteína total y firmeza.....	62
6.7	Elaboración de QC y QMF	63
6.8	Evaluación sensorial de QC y QMF de atributos de sabor, aroma, color, textura y agrado general.	65
7.	CONCLUSIONES.....	68
8.	REFERENCIAS.....	70

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
2.2 Rango de los componentes de un queso Panela	28
2.3 Composición de suero lácteo obtenido de la elaboración de queso por coagulación enzimática.	29
5.1. Diseño experimental para la obtención de retenido y permeado de leche descremada.....	36
5.2 Diseño experimental para la elaboración de queso fresco tipo Panela a partir de retenido obtenido por microfiltración de leche descremada a un FC 4x y 0.75 bar de presión.	40
6.1. Composición de leche descremada de marca comercial estandarizada y pasteurizada utilizada para la obtención del retenido y permeado.....	43
6.2 Tiempo de microfiltración de leche descremada a FC 2x y 4x con 0 y 0.75 bar de presión a 45°C de temperatura.	47
6.3 Evaluación de sólidos totales y grasa en el retenido obtenido de LD a 45°C. Donde 0 y 0.75 es la presión (bar) y 2x y 4x el FC.	49
6.4 Evaluación de sólidos totales y grasa en el permeado obtenido de LD a 45°C. Donde 0 y 0.75 es la presión (bar) y 2x y 4x el FC.....	50
6.5 Evaluación de firmeza (N) y humedad (%) para los quesos comerciales.....	50
6.6 Determinación de grasa en los tratamientos de queso fresco tipo Panela elaborado a partir del retenido.	61

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pagina
2.1 Micelas de caseína de leche	15
2.2. Separación por membranas para la concentración y fraccionamiento de los componentes de la leche por tamaño de partículas	16
2.3 Filtración de flujo cruzado.....	18
2.4 Efecto del flujo cruzado de filtración.....	19
2.5 Estructura de una membrana simétrica.....	21
2.6 Estructura de una membrana asimétrica.....	21
2.7 Diagrama de flujo de la elaboración de queso	26
2.8 Representación esquemática de la elaboración de queso por MF y el método tradicional.....	30
5.1 Esquema del sistema experimental para la concentración de proteína.	36
5.2 Unidad de separación por membrana utilizada para la separación y concentración de leche descremada	36
5.3 Diagrama de experimentos realizados para la obtención de retenido y permeado por microfiltración de leche descremada con una membrana de 0.3µm PVDF a 45°C y una presión de 0 bar para un FC 2x y 4x.	37
5.4 Diagrama de experimentos realizados para la obtención de retenido y permeado por microfiltración de leche descremada con una membrana de 0.3µm PVDF a 45°C y una presión de 0.75 bar para un FC 2x y 4x	37
6.1 Evaluación del flujo de permeado durante la microfiltración de leche descremada a 45°C con membrana de PVDF de 0.3 µm a FC 2x y 4x con presión 0 y 0.75 bar.	44
6.2 Evaluación del efecto de la temperatura (30 Y 45°C) y FC (2x y 4x) en el porcentaje de proteína total en retenido y permeado obtenido de la microfiltración de leche descremada.....	46
6.3 Evaluación del efecto de la presión y FC en el porcentaje de proteína total en retenido y permeado obtenido de la microfiltración de leche descremada a 0.75 bar.	49

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos 10 años, el consumo de leche y productos lácteos ha tenido un importante incremento, debido sobre todo a la gran variedad de éstos que las empresas ofrecen en el mercado, en particular de alto valor como quesos, leches saborizadas, yogurt, entre otros. El queso es un alimento con excelentes propiedades nutritivas. El consumo de queso fresco en México en 2014 fue de 369 mil toneladas, de queso Panela se produjeron alrededor de 53,315 toneladas, producción valorada en más de dos millones y medio de pesos. Esta producción representó casi 480,000 toneladas de suero lácteo en ese mismo año, tanto de suero dulce como ácido; para 2014 fue de aproximadamente 2.8 millones de toneladas, por lo tanto, resulta relevante su aprovechamiento por los componentes que contiene, ya que al ser desechado es considerado un importante contaminante ambiental (SAGARPA, 2015).

Una alternativa de aprovechamiento es emplear tecnología de separación por membrana, una de ellas es la MF que separa los componentes antes de la fabricación de queso, generando un concentrado pre-queso. Es un proceso que separa selectivamente las moléculas por tamaño. Se ha usado en la industria láctea para la concentración de macromoléculas como proteínas, el procesamiento de suero de quesería para producir concentrados de proteínas de suero y lactosa, la producción de hidrolizados de proteínas de suero para usos en alimentos y farmacéuticos. Así mismo, en la elaboración de algunos tipos de queso (Maubois y Mocquot, 1975; Ong *et al.*, 2013). La separación y concentración de proteínas por medio de esta tecnología ha demostrado fácil adaptación a los procesos industriales, ya que se pueden elaborar desde quesos frescos hasta madurados (Kealey y Kosikowski, 1986; Banks, 2007; Govindasamy-Lucey *et al.*, 2011).

Dentro de las ventajas de esta tecnología aplicada en quesería se reportan: cuajadas más firmes, reducción en el volumen y contenido graso en el suero, por lo que puede ser una alternativa al proceso tradicional de elaboración de queso, permitiendo aprovechar el suero y sus propiedades nutricionales en la elaboración de otro tipo de productos (St-Gelais *et al.*, 1998; Brandsma y Rizvi, 1999; Mistry, 2004).

Se han realizado estudios con microfiltración como pre-tratamiento de la leche para la posterior elaboración de queso como Mozzarella y Cheddar, en los que se ha observado un aumento en el contenido de calcio. En el caso del Mozzarella con MF se ha obtenido mejor textura y mayor recuperación de proteínas solubles en el permeado, comparado con Ultrafiltración (UF) (Brandsma y Rizvi, 1999; Brandsma y Rizvi, 2001; Neocleous *et al.*, 2002; Nelson y Barbano, 2005). Para otros tipos de queso como el Edam la MF no mostró efecto significativo en características como calidad o rendimiento comparado con un queso control (Heino *et al.*, 2010).

Aunque múltiples estudios en diferentes quesos madurados se han realizado en cuanto al rendimiento y las características del queso obtenido, el proceso ha sido optimizado únicamente, como un medio para conocer el ensuciamiento de la membrana, el flujo de permeado, o su uso más popular la separación de proteínas de suero. No obstante, su aplicación en la elaboración de queso fresco y la evaluación del proceso ha sido poco descrita, por lo tanto, un estudio que permita el desarrollo de un queso fresco con características similares a un queso de elaboración tradicional cobra relevancia, sobre todo, al destacar la importancia, las implicaciones y las desventajas de la quesería tradicional actualmente.

2. ANTECEDENTES

2.1 La leche y sus componentes

La leche es un fluido secretado por los mamíferos para la alimentación de sus crías, debido a la cantidad de nutrientes que contiene, lo hacen ser un alimento muy completo, sus componentes pueden coexistir en varios estados: emulsión, suspensión y solución; éstos pueden ser aislados de manera individual sin modificación, aunque no necesariamente son independientes del resto, tal es el caso de la caseína con el fosfato de calcio y el agua ligada a las proteínas, se dice que están en equilibrio, pero las modificaciones realizadas a alguno de estos puede influir en cualquier otro. Éstos pueden ser aproximados ya que varían dependiendo la época de lactancia de la vaca, la temporada del año, la alimentación del animal, entre otros (Fox *et al.*, 2000; Walstra *et al.*, 2006)

La composición típica de la leche de vaca según lo reportado por Walstra *et al.*, (2006) es la siguiente:

Tabla 2.1 Composición aproximada de la leche de vaca (Walstra, *et al.*, 2006). %p/p: % en peso - peso

Componente	Rango (%p/p)
Agua	85.3-88.7
Lactosa	3.8-5.3
Grasa	2.5-5.5
Proteína	2.4-4.4
Caseína	1.7-3.5
Minerales	0.57-0.83

2.1.1 Proteínas

Las proteínas de la leche son conocidas por su valor nutricional y su aplicación como ingrediente funcional, mejorando atributos sensoriales y físicos de un amplio rango de productos lácteos. La leche tiene dos tipos distintos de proteínas: caseínas y proteínas del suero, una parte se encuentra en solución y otra parcialmente en suspensión coloidal. Estas últimas son proteínas globulares con el 20% del total constituidas principalmente por β -lactoglobulina (β -LG), y en menores cantidades α -lactoalbúmina (α -LA), seroalbúmina (BSA) e inmunoglobulinas con pesos moleculares de 15 kDa a 130kDa de estructura secundaria, terciaria y cuaternaria estabilizadas por medio de puentes disulfuro (Andrews, 1964; Fox, 2001). Por otro lado, las caseínas son el 80% del total de las proteínas, se dividen en cinco clases principales: α -s1, α -s2, β , γ , y κ - caseína, con estructura primaria, un residuo de fosfoserina que le provee de áreas hidrofóbicas y carga negativa. Éstas últimas en forma de micelas (Fox, 2001; Walstra, P. y Geurts, T. J., 2006).

2.1.1.1 *Micelas de caseína y proteínas de suero*

La caseína en la leche se encuentra en forma de micelas que le confiere propiedades características a la leche como: su estabilidad física durante el tratamiento térmico, concentración y almacenamiento. Tienen un tamaño de 40 a 300 nm (Figura 2.1). Estas micelas son determinantes en las propiedades reológicas, su interacción con las interfaces de agua-aceite es relevante en la homogenización de productos lácteos, La dispersión coloidal es esencial en las primeras etapas del proceso de la elaboración de queso. Las micelas están formadas por una serie de submicelas de entre 10 y 15 nm y esencialmente son de dos tipos: sin κ -caseína y con κ -caseína, ésta última, se encuentra localizada mayormente al exterior de la micela unida entre sí por calcio (Walstra y Geurts., 2006; Kailasapathy, 2008).

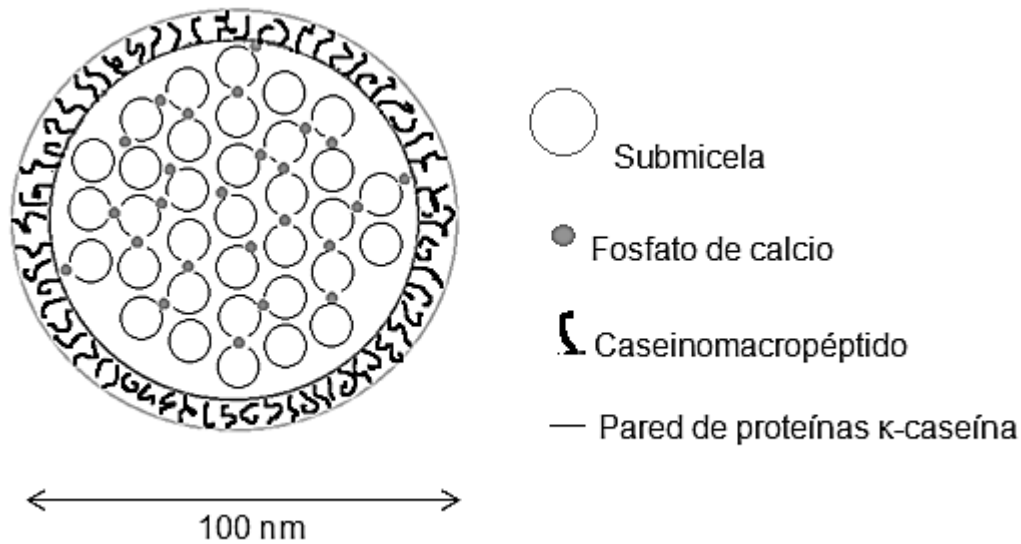


Figura 2.1 Características estructurales de las micelas de caseína de leche de vaca (Dalglish y Corredig, 2012)

Las proteínas del suero son hidrofílicas y se separan durante la coagulación de la leche, por lo que son también llamadas proteínas solubles, son sensibles al calor, y bajo la aplicación de ciertos procesos pueden unirse a la micela de caseína por medio de enlaces covalentes e influenciar negativamente la coagulación, limitando la interacción de la enzima con la micela (Bönisch *et al.*, 2008; Dong *et al.*, 2009).

Las características propias de las proteínas lácteas han permitido su aplicación y uso en el desarrollo de nuevos productos, así mismo de tecnologías innovadoras como la de membranas.

2.2 Tecnología de membranas y el fraccionamiento de la leche.

Esta tecnología ha sido usada en la industria de alimentos, brindando una oportunidad de conseguir la concentración y fraccionamiento de los constituyentes en un sistema líquido complejo como es la leche, manteniendo las características físicas y químicas; este objetivo se ha logrado con el uso de técnicas de filtración con presión aplicada que incluyen: osmosis inversa (RO), nanofiltración (NF),

ultrafiltración (UF) y microfiltración (MF). El tamaño de poro, materiales y presión son las principales diferencias entre ellas (Figura 2.2).

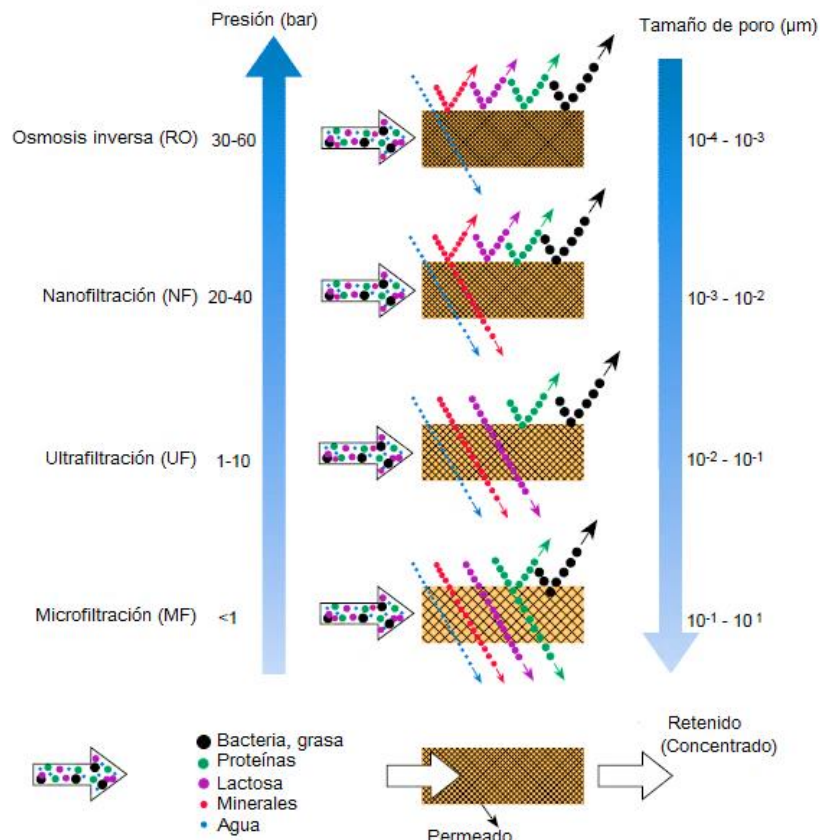


Figura 2.2. Tecnología de membranas usadas en la concentración y fraccionamiento de los componentes de la leche en base al tamaño de partículas (Bylund, 2003)

En la industria de lácteos se le ha dado un amplio uso a esta tecnología incluyendo la elaboración de quesos, en la que ha sido exitosamente aplicado sobre todo en quesos madurados como: Cheddar y Mozzarella, así mismo, se ha aprovechado para recuperar proteínas de suero producido de la elaboración tradicional de queso, concentrando a éstas para su uso en otro tipo de productos (Mohamed y El-Alfy, 2008; Govindasamy-Lucey *et al.*, 2011; Ong *et al.*, 2013), Neocleous *et al.*, (2002) reportan que aumentar la concentración de proteínas usando tecnología de membranas no provoca un cambio en la calidad del queso, sin embargo, se disminuye el tiempo de coagulación. Por otro lado, Klein y Lortal., (1999) reportan los beneficios de la estandarización, minimizando los cambios de

calidad en el producto final. Debido a los resultados obtenidos, es que se ha reconocido a la microfiltración como una tecnología más flexible que el método tradicional, al permitir la elaboración de quesos madurados y algunos frescos, brindando oportunidades de satisfacer la gran demanda de productos.

Su aplicación a nivel industrial ha sido implementada exitosamente, sobre todo en la remoción de bacterias en leche, de igual manera, ha sido también una alternativa para la remoción de proteínas de suero en su forma nativa, generando un suero “ideal” debido a su composición y sus características (estéril, componentes nativos con propiedades funcionales y sin grasa) con un alto potencial y valor en el mercado. Esta ventaja económica aunada a la concentración de caseínas en el retenido ha hecho que la implementación de la microfiltración haya crecido rápidamente, sobre todo en industrias lácteas de la unión europea (Saboya *et al.*, 2001; Neocleous *et al.*, 2002).

Los campos de aplicación de la separación por membranas en lácteos son los siguientes:

En leche: concentración, estandarización en proteínas y caseína, concentrado de proteínas de la leche (MPC), eliminación de bacterias, fraccionamiento de proteínas y elaboración de queso a partir del concentrado.

En suero: concentración, desmineralización, concentrados de proteínas (WPC), proteínas séricas aisladas (WPI).

En permeado: concentración y desmineralización

2.2.1 Microfiltración

La tecnología de microfiltración (MF), es una separación por membrana que con ayuda de presión se emplea para extraer, aislar, purificar y fraccionar ciertas moléculas de líquidos basándose primordialmente en las diferencias de tamaño entre las partículas, con poro de membrana en un rango de 0.05 a 10 μm (Rizvi, 2009), las partículas de tamaño mayor al poro no pueden atravesarlo quedando retenidas (retenido) y aquellas menores atraviesan la membrana (permeado),

separando así, los componentes de la muestra (Harold W, *et al.*, 2002). Regularmente es usada una presión entre 0.1 y 1.0 bar. Se puede emplear para procesos de concentración, fraccionamiento o clarificación. Es a así que, las múltiples aplicaciones para las cuales ha sido usada, así como, el potencial uso de la MF en la industria láctea tiene su fundamento en el mecanismo de trabajo de dicha tecnología.

2.2.2 Filtración de flujo cruzado

En la microfiltración la corriente de alimentación pasa paralelamente a la membrana (Figura 2.3). De esta manera algunas de las partículas pasan al permeado, mientras que en el retenido se concentran las moléculas que no logran atravesar el poro.

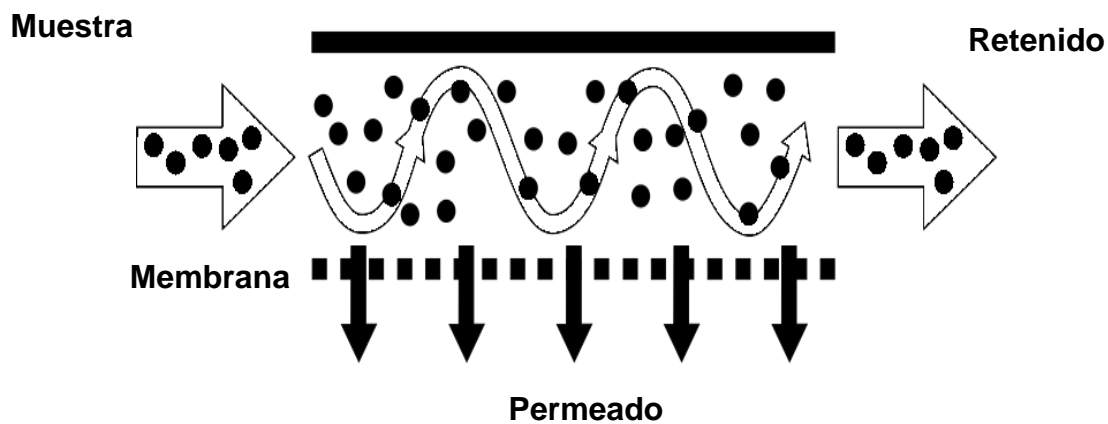


Figura 2.3 Diagrama de proceso en la filtración de flujo cruzado (Smith, 2013)

Este sistema permite tiempos de operación largos sin necesidad de limpieza, aunque eventualmente debido a interacciones soluto-membrana y soluto-soluto, se depositará con el paso del tiempo una cantidad de sólidos que disminuirá el flujo de permeado causado por el ensuciamiento (Figura 2.4) (Mohammad *et al.*, 2012). Dicho fenómeno puede ser reversible o irreversible, el primero, puede ser eliminado con la aplicación de un flujo de agua mientras que el segundo es más

difícil de remover de la superficie y requiere de tratamientos de limpieza, si aún con estos tratamientos el desempeño de la membrana no se reestablece se habla de un ensuciamiento irreversible (Gésan-Guiziuo *et al.*, 1999). Tanto la membrana, el sistema de alimentación y las condiciones de operación son factores de suma importancia para la operación de un sistema de separación como la microfiltración, que dan como resultado, la separación selectiva en retenido y permeado de los componentes de la muestra de interés.

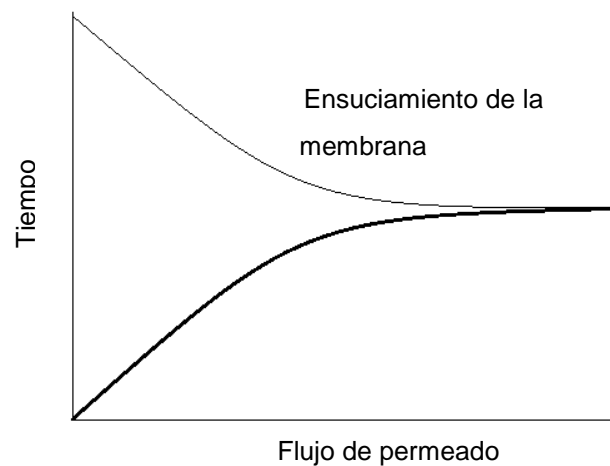


Figura 2.4 Ensuciamiento de la membrana a lo largo del tiempo y el efecto en el flujo durante la filtración de flujo cruzado (Smith, 2013)

Uno de los factores de mayor significancia cuando de limitaciones de la MF se habla, es la disminución del flujo como se observa en la Figura 2.4, éste tiene una relación con el ensuciamiento de la membrana y la polarización por concentración, que es originada por solutos que se acumulan en la superficie (Ramachandra Rao, 2002). Al respecto Beckman *et al.*, (2010), evaluaron su sistema de limpieza al medir el flujo antes de la concentración de proteína en leche y después de ésta, con el fin de ver el cambio en el flujo y de manera indirecta entonces el ensuciamiento, los autores observaron que no hay diferencia significativa en el flujo al comparar ambos, por lo tanto, concluyeron que una adecuada limpieza remueve el ensuciamiento de la membrana (Beckman *et al.*, 2010). Britten *et al.*, (1996) reportaron el efecto del pH en el ensuciamiento de la membrana, a un pH más alto aumenta la precipitación del calcio provocando la disminución en el flujo (Britten y Pouliot, 1996). De los

estudios realizados, se ha visto que diversos factores pueden afectar el flujo a lo largo del proceso de MF.

1) Flujo de permeado

El flujo de la membrana, es una medida de la velocidad de flujo de permeado, tomando en cuenta el área de superficie activa de la membrana y se calcula utilizando la ecuación (2.1).

$$Jp = \frac{Qp/Tiempo}{Am} \quad (2.1)$$

Dónde: Jp es el flujo del permeado ($L\ m^{-1}\ h^{-1}$), Qp el caudal de permeado (L) por tiempo (h) y Am el área efectiva de la membrana (m^2). De esta manera se puede evaluar la efectividad de la membrana a lo largo del proceso de filtración, aunque dicho parámetro también se encuentra relacionado con el material de la membrana y su tipo.

2.2.3 Membranas

La importancia en el material de la membrana debe considerar puntos como: pH, temperatura, presión máxima, tamaño de poro, material de fabricación y tipo de membrana. Dichos factores tienen un papel muy importante al separar y concentrar proteínas, afectando sobre todo el desempeño de la membrana. En base a su estructura interna se clasifican como: simétricas (isotrópicas) y asimétricas (anisotrópicas). En el caso de las simétricas son aquellas que tienen tamaño de poro similar a lo ancho de la membrana (Figura 2.5), mientras que las asimétricas cuentan con un tamaño de poro diferente, siendo en la parte superior más cerrado el poro y a medida que se atraviesa la membrana más amplio (Figura 2.6) esta capa superior más cerrada le da mayor selectividad a la membrana y el poro amplio al final hace que aumente el flujo. Por sus ventajas, las membranas usadas comercialmente en la industria de lácteos son generalmente anisotrópicas (Cheryan,1988; Hausmann *et al.*, 2012).

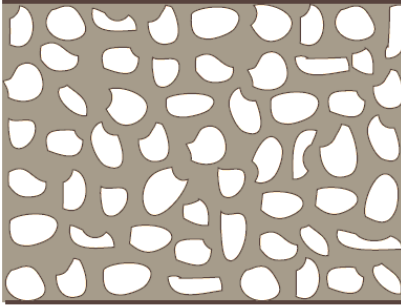


Figura 2.5 Estructura interna de una membrana simétrica (Smith, 2013).

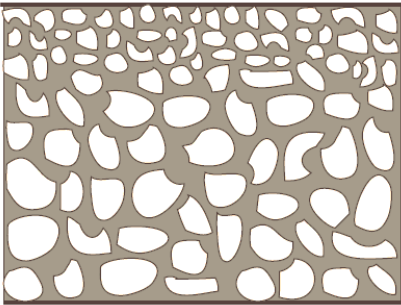


Figura 2.6 Estructura interna de una membrana asimétrica (Smith, 2013).

Tres tipos de membranas son usadas para microfiltración: enrollado en espiral, tubular y en placa, siendo las dos primeras las más usadas en lácteos. Además existen en la actualidad diferentes materiales como cerámica y poliméricas como fluoruro de polivinilideno (PVDF), entre otros materiales. En el caso de microfiltración, la membrana de PVDF se ha estudiado por su alta pureza, sus características de soportar gran fuerza mecánica, resistencia al cloro, solventes, ácidos, bases y temperatura, por lo tanto, ha sido ampliamente recomendada para su aplicación en lácteos, de la cual se han reportado buenos resultados en la separación y concentración de proteínas (Wagner, 2001; Hausmann y Demmer., 2012; Tamime, 2012; Marella *et al.*, 2013).

2.2.4 Factor de concentración

El factor de concentración (FC) es comúnmente usado para expresar el grado de concentración del compuesto de interés. Según (Tamime, 2012), se define como la reducción de volumen logrado por la concentración, es decir, el ratio de volumen inicial de alimentación respecto al volumen final del concentrado (retenido) (2.2).

$$FC = \frac{\text{Volumen inicial de alimentación}}{\text{Volumen retenido}} \quad 2.2$$

Beckman *et al.*, (2010) reportaron que un factor de concentración 3x permitió la separación del 68% de proteínas de suero usando una membrana polimérica de PVDF de 0.3 μm . Por otro lado, en cuanto al contenido de proteína total, se han reportado concentraciones alrededor del 6%, para un factor de concentración 2x. Mientras que para un FC 5x hasta un 13% de proteína total Espina *et al.*, (2008) obtuvieron un 99% de rechazo de caseína, con una membrana de PVDF de disco con tamaño de poro 0.15 μm , a un FC de 4x. Hurt y Barbano (2010) concluyeron que a mayor FC aumenta el contenido de proteína total y caseína en el retenido, además, se logra una mayor remoción de proteínas de suero, aunque esto puede verse reducido debido al ensuciamiento de la membrana, por lo que, dependerá también del material de la membrana.

2.2.5 Temperatura y presión

Así como el factor de concentración tiene un efecto en la concentración de proteína final del retenido y en la remoción de proteínas de suero, la temperatura y presión tienen un papel importante en los resultados obtenidos en la microfiltración.

Se ha reportado una mayor retención de proteínas de suero a bajas temperaturas, mientras que, a mayor temperatura se logra disminuir la retención. Samuelson *et al.*, (1997) estudiaron el efecto de dos temperaturas 55°C y 15°C, obteniendo menor retención de proteínas de suero a 55°C con únicamente 12% de retención, mientras que para 15°C reportaron un 39% de retención. Beckman *et al.*,

(2010) lograron maximizar la separación de proteínas de suero a temperatura de 50°C con una membrana de PVDF de 0.3 μm . En cuanto al rechazo de caseína Espina *et al.*, (2008), concluyeron que temperaturas de 40 y 45°C son óptimas para el rechazo de caseína obteniendo un 99% de rechazo.

Aunque se conoce que a mayores temperaturas disminuye la viscosidad de la leche evitando el ensuciamiento, se ha observado que existe una desnaturalización de la β -caseína que se une a ésta, disminuyendo así, la concentración de proteínas de suero en el permeado, limitando el uso de altas temperaturas (Hurt *et al.*, 2010). Así mismo, a 50°C con una membrana polimérica plana Lawrence *et al.*, (2008) observaron que la composición del permeado es independiente de la temperatura, sin embargo, mayor concentración de κ -caseína en el permeado fue encontrada a esta temperatura. Por lo tanto, condiciones que permitan la mayor remoción de proteínas de suero y el mayor rechazo de caseínas son las ideales, considerando las limitantes de temperatura de la membrana.

En cuanto a la presión se sabe que al aumentarla, la concentración por polarización, provocada por una acumulación de solutos retenidos cerca de la superficie de la membrana, disminuye la separación de proteínas de suero. Por lo que trabajar con presiones bajas (<1 bar) es lo más recomendable para evitar la concentración por polarización (Tamime, 2012) e indirectamente una mayor remoción de proteínas de suero.

2.2.6 Microfiltración en la concentración de proteínas de leche

La remoción de algún líquido es un proceso de concentración (Raja, 2008). La microfiltración es una de las técnicas por las que se puede realizar esta concentración de macromoléculas, como es el caso de las micelas de caseína (Brans *et al.*, 2004), y algunas proteínas de suero, sin embargo, éstas mayormente se encuentran en el permeado también llamado suero nativo, cuyo suero más parecido es el suero dulce (obtenido de la coagulación enzimática) aunque difieren en aspectos tales como: el permeado obtenido no contiene caseinomacropéptidos, cultivos iniciadores, quimosina o proteínas desnaturalizadas. Al contener las

proteínas del suero nativas se convierte en un excelente producto, sobre todo por sus propiedades funcionales, así como su impacto tecnológico y económico mayor al del suero dulce, el suero nativo tiene el mismo pH que la leche mientras que el suero de queso es más ácido, el nativo contiene diferentes aminoácidos por lo que es mayor su valor nutricional y por lo tanto, su utilización como suplemento alimenticio, aumentando así las ventajas del uso de la separación con membranas (Fox, 2001; Maubois, 2002; Walstra, P. y Geurts, T. J 2006).

Las membranas usadas sobre todo en la industria láctea son desde 0.1µm hasta 0.3 µm de fluoruro de polivinilideno (PVDF), tamaño de poro que funciona tanto para la concentración de proteínas de leche como para la separación de proteínas de suero, y por lo tanto, para generar un concentrado usado posteriormente para la elaboración de queso (Brandsma y Rizvi, 2001; Espina *et al.*, 2008; Lawrence *et al.*, 2008; Beckman *et al.*, 2010; Hurt *et al.*, 2010).

2.3 Queso

Desde el punto de vista normativo la NOM-243-SSA1-2010 define al queso como un producto elaborado de la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior, por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos que se clasifican como: frescos, madurados y procesados; que varían entre sí en relación a su contenido de humedad, de grasa y, por tanto, en lo referente a su vida útil y método de maduración.

En la actualidad, se reportan más de 2000 tipos diferentes de quesos y su fabricación incluye etapas fundamentales comunes y algunas otras que son distintivas. El proceso de elaboración de un queso inicia normalmente con la estandarización de la leche además de un tratamiento térmico como puede ser la pasteurización, el paso primordial en la elaboración de queso es la coagulación,

donde se produce un cambio físico y reológico, formado por la agregación de las proteínas de la leche (caseínas) por medio de la acción proteolítica de enzimas, la disminución del pH por debajo del punto isoeléctrico de la proteína (~4.6) o por efecto de un tratamiento térmico combinado con el pH (90°C a pH 5.2), siendo la coagulación enzimática la más popular. El tipo de coagulación proveerá de características diferentes a cada queso (Gunasekaran y Ak, 2002)

La materia prima para la elaboración de queso es la leche y las modificaciones sobre ésta impactarán directamente en la calidad del producto final, los componentes más destacados de la leche son: las micelas de caseína que son hidrolizadas por la quimosina pierden su solubilidad y forman un gel, como efecto de la enzima sobre la κ -caseína; la grasa, contribuye al igual que la caseína con sabor y textura solo que en este caso por lipólisis, mientras que la lactosa puede ser usada como sustrato para el desarrollo de bacterias ácido lácticas y finalmente, el calcio, esencial para la formación del gel en las etapas iniciales de la elaboración de queso (Fox y McSweeney, 1998).

Además como pasos fundamentales se incluye el corte del coágulo, la eliminación de suero, el salado, el prensado y opcionalmente la maduración, esta última no suele ser muy común en México cuyo queso fresco es el que se consume más y éstos son solamente salados o sazonados. En la Figura 2.7 se muestra el diagrama de flujo general para la elaboración de queso (Walstra *et al.*, 2006)

Todo lo anterior le brinda una calidad a cada queso en particular, teniendo en cuenta el producto final sin dejar de lado el costo de producción, el rendimiento y la máxima eficiencia del proceso de manera que nuevas alternativas como la modificación del proceso, la adicción de proteínas de suero, de polvos concentrados de leche descremada y el procesamiento con membranas que ha dado lugar a nuevos e interesantes procesos, productos y variedades en queso (Maubois, 2002; Mistry, 2013).

2.3.1 Elaboración de queso

La elaboración de queso es un proceso en el que se remueve la humedad de la leche, por medio de la combinación de ácido, temperatura o medios mecánicos. Dependiendo de las variantes en estos pasos se obtienen características sensoriales, nutricionales y funcionales diferentes (Gunasekaran y Ak, 2002). La caseína de la leche es precipitada cuando el pH llega a 4.6 o cuando se usa la enzima renina. La enzima actúa induciendo la coagulación, se reconocen tres fases durante este proceso: proteólisis enzimática, agregación y gelificación. La proteólisis enzimática inicia cuando la quimosina entra en contacto con la κ -caseína, que se localiza en la superficie de la micela e hidroliza entre el aminoácido (a.a) 105 y 106 formando dos fracciones; la primera, la para- κ -caseína del a.a 1 al 105 la cual es hidrofóbica y el glicomacropéptido (GMP) del a.a 106 al 169 que es hidrofílico. Entonces, la fase de agregación comienza cuando suficiente cantidad de κ -caseína ha sido hidrolizada.



Figura 2.7 Diagrama de flujo de los principales pasos para la elaboración de queso (Fox y Cogan, 2000)

Una vez que las fuerzas de repulsión entre las micelas disminuyen dan lugar a la fase de agregación. Durante la gelificación, la distancia entre micelas disminuye formando una red compacta causando la sinéresis de suero.

2.3.2 Queso en México

La producción en México de quesos se remonta a la época de la colonia con la introducción de los primeros hatos bovinos y rebaños caprinos y ovinos. Los quesos genuinos, a base de leche cruda, fueron producidos durante más de 350 años, hasta que se introdujo nueva tecnología que incluía descremar, pasteurizar, refrigerar y agregar cultivos lácticos seleccionados, para dar paso a quesos de leche pasteurizada.

La agroindustria quesera en México se caracteriza por ser el subsector de la industria láctea con mayor número de empresas: en 2008 INEGI reportó la existencia de alrededor de 1500 queserías (INEGI). La producción nacional de leche fluida satisface a un 80% del mercado interno, con una importación de alrededor de 35 toneladas. En 2012 según lo reportado por la Secretaría de Economía, se sabe que aproximadamente 4 millones de toneladas se destina al consumo humano como leche fluida y un promedio de 270,000 toneladas para la transformación de productos lácteos, donde el queso mostró de 2005 a 2011 una tasa de crecimiento del 5.7%, después del yogurt con un promedio de 7.3%. El aumento de la producción de estos derivados está asociado principalmente a la demanda de estos productos, así mismo, el desarrollo de nuevos productos lácteos ampliando la variedad de oferta (SE, 2012).

En el país, culturalmente el consumo de quesos está orientado a los quesos frescos, dentro de esta clasificación se encuentra el queso Panela destacan también: Oaxaca, fresco, adobera, sierra, requesón y marqueta todos ellos representando cerca del 80% de los quesos consumidos (Jiménez-Guzmán *et al.*, 2009); algunos madurados como Manchego mexicano, Chihuahua, añejo y Cotija (INEGI) .

2.3.3 Queso Panela

Es un queso fresco de coagulación enzimática de pasta blanda y fresca que no incluye maduración, presado por su propio peso, elaborado con leche descremada o parcialmente, suplementada con cloruro de calcio (Ramírez, 2013). Se usa cuajo, lo que le da su pH entre 6 y 6.5 y puede o no usarse cultivo iniciador (Caro *et al.*, 2014). Además, una vez que se coagula la cuajada se corta en cubos de aproximadamente 1cm y se cocina bajo agitación suave. Se drena la mitad del suero lácteo y se añade sal. Después de mezclar unos minutos, la cuajada húmeda se transfiere a los moldes. Tiene un rendimiento entre 13 – 14 kg de queso por 100 L de leche.

Tabla 2.2 Concentración de los componentes de un queso Panela (Ramírez, 2013)

Componente	Porcentaje (%)
Humedad	53 – 58
Grasa	19 – 25
Proteína	18 – 20
Sal	1.3 – 1.8
pH	5.6 - 6.4

En la quesería tradicional el 90% del volumen inicial de leche es obtenido en forma de suero lácteo y según lo reportado por Cordoba, (2013) la composición típica del suero obtenido de coagulación enzimática se muestra en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3 Composición de suero lácteo obtenido de la elaboración de queso por coagulación enzimática (Tamime, 2009).

Componente	Suero dulce
pH	6.5
Sólidos totales (%)	6.3 - 7.0
Humedad (%)	93-94
Proteínas (%)	0.6 – 1.0
Grasa (%)	0.2 – 0.7
Lactosa (%)	4.6 – 6.0

2.3.4 Beneficios de la microfiltración en la elaboración de quesos.

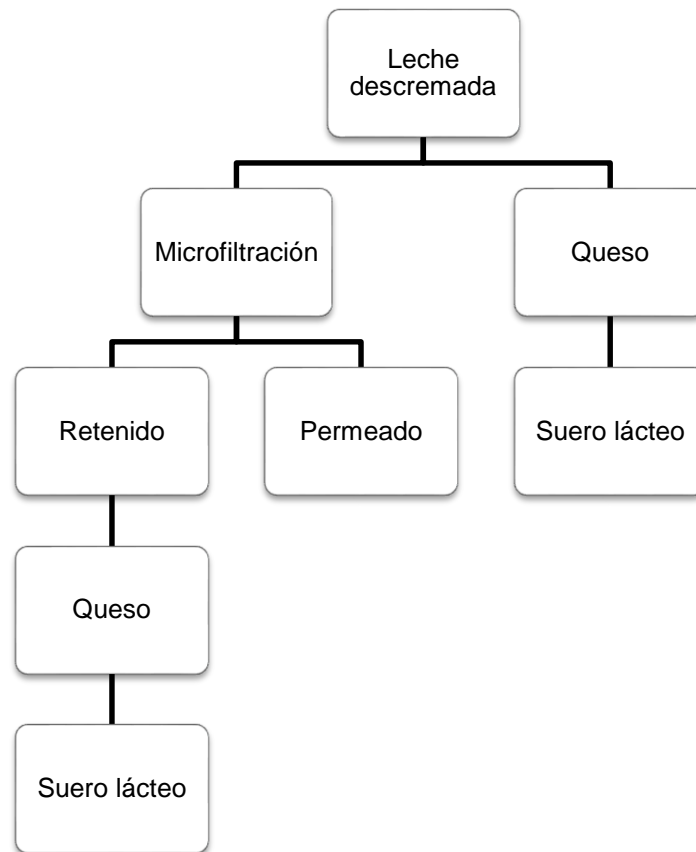
Durante la MF y la concentración de proteínas también se concentra el calcio. El fosfato de calcio contenido en la micela de caseína puede afectar el queso y su textura, así como sus propiedades funcionales y nutricionales, mayor firmeza es asociada a un aumento en el contenido de calcio.

En el proceso tradicional de elaboración de queso el 20% del total de proteína, así como grasa y el 70% de la enzima añadida para la coagulación se pierde en el suero. La grasa y las caseínas se concentran por la eliminación de humedad. Esta humedad conocida como suero contiene componentes solubles que incluyen proteínas de suero, lactosa y minerales. El caseinomacropeptido que durante el cuajado se separa de la κ -caseína también se ha encontrado en suero en hasta un 4% (Banks, 2007).

La microfiltración permite separar el permeado antes de la elaboración del queso por lo que las proteínas se encuentran en forma nativa. Producir suero en forma nativa crea la posibilidad de utilizar el suero en productos en los que el suero

obtenido de forma tradicional no (Maubois, 2002; Nelson y Barbano, 2005). El permeado es altamente rico en lactosa y ésta puede ser separada para su uso en dulces o industrias farmacéuticas y de fermentaciones, así como para la alimentación de animales (Atra *et al.*, 2005; Chollangi, 2009). La tecnología de separación de membranas como la microfiltración es una excelente herramienta para aumentar el valor comercial y la generación de nuevos productos.

Figura 2.8 Representación esquemática de la elaboración de queso MF y queso control.



Además, se reduce la pérdida de caseína y grasa en el suero, tal como lo reporta Heino, (2010), quien observó 20% menos grasa en queso Edam que en su queso control. Por otro lado, la estandarización de la proteína usando MF puede minimizar los cambios del queso que afectan la calidad, entre otros factores que durante la fabricación de queso representan algún punto crítico que puede afectar/beneficiar al producto final (Fox y Cogan, 2000)

Así mismo, se puede reducir la cantidad de desecho generado durante el proceso de elaboración de queso Heino, (2010) reportan una disminución del 20% comparado con su queso control para la elaboración de queso Edam. Maubois *et al.*, (2001) reportaron una reducción de entre 22 y 26% y un aumento del 20% de proteína total en suero.

3. JUSTIFICACIÓN

De manera tradicional el queso Panela forma parte importante de la dieta de los mexicanos; tan solo en 2013 se produjeron alrededor de 342 mil toneladas de este producto lácteo con un valor estimado de 14 millones de pesos de las cuales para Panela fueron más de 50 mil toneladas, lo que representa el 17% del queso elaborado con 19% del total de ventas de queso. De lo anterior, podemos estimar la importancia de este mercado.

Una problemática de la producción de queso es la generación elevada de suero lácteo, el cual contiene nutrientes como proteína, lactosa y vitaminas que pueden ser aprovechados para la generación de otro tipo de productos. Sin embargo, es considerado un desecho y en el último año se calcula que aproximadamente 2 millones y medio de toneladas de éste fueron producidas donde únicamente 15% fue aprovechado y el resto descargado en los drenajes.

Por otra parte, la microfiltración permite la separación selectiva y concentración de proteínas, menor uso de enzima y cloruro de calcio en la elaboración de queso, además se ha observado una disminución en el tiempo de coagulación y se pueden minimizar los cambios de calidad en el producto final al estandarizar la proteína, así mismo, disminuye la producción de suero lácteo, ya que los quesos elaborados usando esta tecnología alternativa presentan menor expulsión de suero posterior a la coagulación del retenido comparado con un queso de leche sin concentrar. El permeado separado antes de la elaboración de queso tiene ciertas propiedades funcionales como lo son: pH muy similar al de la leche, a diferencia del suero de quesería tradicional que suele ser más ácido. Así mismo el permeado tiene una composición parecida al suero dulce. Es estéril y de un color transparente, lo que permite su amplio uso tanto en bebidas o como aditivo. Puede ser usado para la obtención de concentrados o aislados de proteína de suero. El amplio campo de uso para el permeado permite su aprovechamiento en la elaboración de otros productos y por tanto la disminución en la generación de permeado como desecho. Por lo anterior, se propone la evaluación de una

tecnología alternativa como lo es la separación por membrana para la elaboración de un queso fresco de alto consumo en el país como es el Panela y verificar que cumpla con los parámetros fisicoquímicos y sensoriales del queso en comparación con el obtenido por el proceso tradicional.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la tecnología de separación por MF en la elaboración de un queso tipo Panela y realizar su caracterización fisicoquímica y sensorial.

4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto del flujo, presión, factor de concentración y temperatura en la separación de proteínas de leche por microfiltración midiendo el porcentaje de proteína total en el retenido y permeado.
2. Caracterizar el retenido y permeado obtenido de la microfiltración determinando su concentración de proteína total, grasa y sólidos totales.
3. Evaluar el tiempo de coagulación, concentración de enzima y cloruro de calcio en el proceso de elaboración del queso.
4. Caracterizar el queso fresco tipo Panela elaborado con concentrado de proteínas por medio de microfiltración determinando su textura, rendimiento, humedad, proteína total y grasa.
5. Realizar evaluación sensorial del queso fresco tipo Panela elaborado y comparar con un queso de fabricación tradicional.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos para el presente proyecto de tesis se realizaron en el Laboratorio de Innovación y Desarrollo de alimentos.

5.1 Materiales

Se trabajó con leche fresca comercial descremada estandarizada de un supermercado local, analizada en los dos días posteriores a la compra. La composición proximal fue realizada con un analizador ultrasónico LACTOSCAN MCC (Modelo S de la marca Milkatronic Ltd, Bulgar).

5.2 Métodos

5.2.1 Obtención de retenido y permeado mediante microfiltración

Para la obtención de retenido y permeado de leche descremada, se usó una unidad de membrana de flujo cruzado (SEPA CF II, Osmonics) de presión máxima de operación igual a 1000 psi y volumen de retención de 70 mL (Figura 5.2) con una membrana de microfiltración de fluoruro de polivinilideno (PVDF) de $0.3\ \mu\text{m}$ marca Sterlitech modelo JX de $0.014\ \text{m}^2$, este sistema fue adaptado a una bomba de presión (MO3-S, Hydra cell) para impulsar la muestra a través del módulo de separación que consistió en una probeta de 500 mL donde se colocó la leche descremada. Se midió el volumen de permeado para la determinación por volumen del factor de concentración.

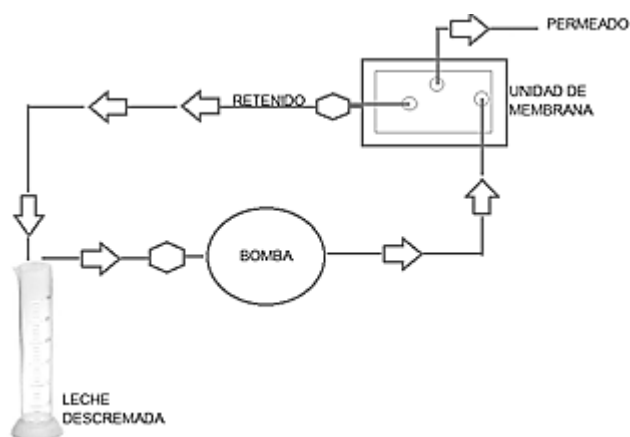


Figura 5.1 Esquema del sistema experimental para la concentración de proteína.



Figura 5.2 Unidad de separación por membrana SEPA CELL II, Osmonics utilizada para la separación y concentración de leche descremada.

5.2.2 Equipo de filtración, parámetros de filtración y tratamientos.

5.2.2.1 *Diseño experimental de la microfiltración*

En la Tabla 5.1 se observa el diseño experimental realizado para la evaluación de la tecnología de membrana.

Tabla 5.1. Diseño experimental para la obtención de retenido y permeado de leche descremada.

Factores	Niveles	
Presión (bar)	0	0.75
Factor de concentración	2x	4x

Cada muestra de leche descremada fue calentada a 45°C y se trabajó a una presión de 0 (

Figura 5.3) y 0.75 bar (

Figura 5.3) hasta tener un factor de concentración dos (2x) y cuatro (4x).

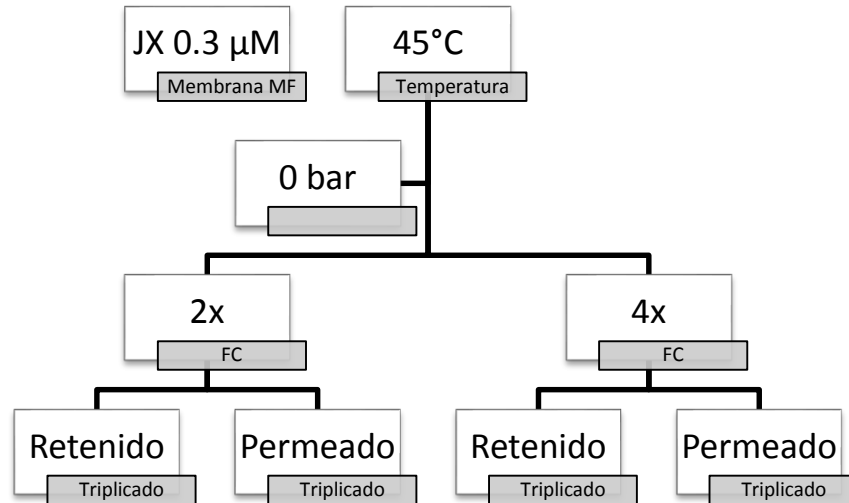


Figura 5.3 Diagrama de experimentos realizados para la obtención de retenido y permeado por microfiltración de leche descremada con una membrana de 0.3μm PVDF a 45°C y una presión de 0 bar para un FC 2x y 4x.

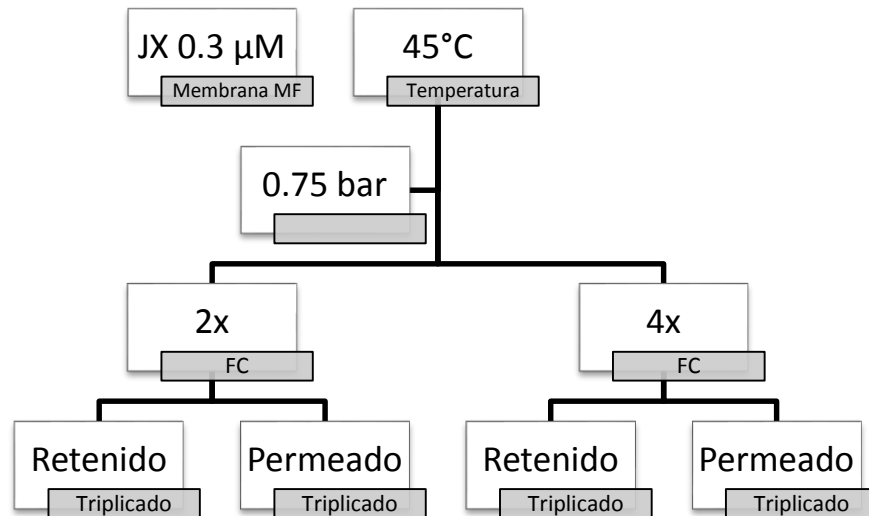


Figura 5.4 Diagrama de experimentos realizados para la obtención de retenido y permeado por microfiltración de leche descremada con una membrana de 0.3 μ m PVDF a 45°C y una presión de 0.75 bar para un FC 2x y 4x

El funcionamiento fue evaluado midiendo el flujo de permeado (2.1) y el contenido de proteína total obtenida tanto en el permeado como en el retenido.

5.2.2.2 Limpieza de equipo de filtración

En el equipo de MF se aplicó el siguiente protocolo de limpieza de la unidad de membrana:

1. Después de armar, verificar que las válvulas estén abiertas y recircular 10 ciclos de agua por 2 minutos y drenar.
2. Hacer limpieza química de NaOH 0.5% + EDTA 0.5% por 15 minutos y drenar.
3. Recircular 250mL de agua durante 10 ciclos de 2 minutos.
4. Finalmente comenzar con leche descremada.
5. Entre cada muestra deberán recircularse en el sistema 10 ciclos de agua por 2 minutos cada uno de éstos.
6. Y proceder con la siguiente muestra de leche.

Para llevar a cabo la limpieza del módulo de membrana después de cada experimento se realizó el siguiente procedimiento:

1. Recircular agua tibia a 40°C por 5 minutos. Drenar agua una vez transcurrido este tiempo.
2. Recircular una solución de NaOH al 0.5% por 15 minutos. Drenar la solución
3. Repetir paso número 1.
4. Recircular en el sistema solución de HCl 0.1N por 15 minutos. Drenar solución
5. Repetir paso número 1

6. Recircular una solución de 0.5% de NaOH + 0.5% EDTA durante 15 minutos. Drenar solución
7. Repetir paso número 1.
8. Para la desinfección de la membrana se recirculara una solución de 1% de formalina al 40%.
9. Retirar la membrana del sistema y almacenar en una solución de formalina al 1.5%

5.2.3 Análisis fisicoquímicos de retenido y permeado.

Se realizaron los análisis fisicoquímicos de las muestras obtenidas de la MF por duplicado. Los sólidos totales fueron determinados gravimétricamente a 100°C en un horno de aire forzado (FED 115, Binder, Alemania), por 24 horas (NMX-F-426-1982, 1982). El contenido de grasa en el retenido fue determinado por el método de Gerber (AOAC 2000.18). El Nitrógeno total se determinó mediante el método Kjeldahl (AOAC 991.20) el factor de conversión de nitrógeno fue 6.38.

5.3 Elaboración de queso fresco tipo Panela control y queso MF

El retenido obtenido de la microfiltración de la leche descremada fue pasteurizado a 63°C por 30 min. Se dejó enfriar hasta una temperatura de 35°C. Se adicionó cloruro de calcio al 0.02% y cuajo microbiano (CHY-MAX®, Chr Hansen, Dinamarca) donde 25mL/100L retenido fue el 100% según lo indicado por el fabricante. Después de 40 minutos la cuajada se cortó en pequeños cubos de aproximadamente 1 cm³. Posteriormente, se realizó el cocinado y salado (0.85% del volumen inicial de leche/retenido usado). La cuajada se moldeó y finalmente se almacenó en refrigeración a 4°C para sus posteriores análisis.

5.3.1 Diseño experimental para el queso fresco tipo Panela elaborado a partir de retenido obtenido de MF y el queso control

Se elaboraron dos tipos de queso Panela, a partir de leche descremada (QC) y a partir de retenido (QMF) en los cuales se evaluó el tiempo de coagulación,

concentración de cuajo y cloruro de calcio, para cada uno de los factores se evaluaron dos niveles, tal como se muestra en la Tabla 5.2.

Por otro lado, se elaboraron el QC y el QMF, ambos bajo las mismas condiciones, las cuales fueron 40 min de coagulación, 100% de cuajo y 0.02% de CaCl₂.

Tabla 5.2 Diseño experimental para la elaboración de queso fresco tipo Panela a partir de retenido obtenido por microfiltración de leche descremada a un FC 4x y 0.75 bar de presión.

Factores	Niveles	
Tiempo de coagulación (min)	30	40
Concentración de cuajo (%)	25	100
Concentración de CaCl ₂ (%)	0	0.02

5.3.2 Análisis fisicoquímicos de queso fresco tipo Panela control y queso MF.

Para la realización de los análisis fisicoquímicos de queso tanto control y MF el contenido de grasa en queso fue determinado por el método de Gerber (NMX-F-710-COFOCALEC-2005). El contenido de proteína por el método de Kjeldahl (AOAC 991.20). Humedad gravimétricamente a 100°C en un horno de aire forzado por 24 horas (NMX-F-111-1984). Sólidos totales por diferencia con el resultado de humedad. Determinación de pH se realizó según la norma oficial NMX.F.099.1970. El rendimiento para QC fue calculado con la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento} = \left(\frac{\text{Peso queso (kg)}}{\text{peso de leche (kg)}} \right) \times 100$$

5.3.3 Determinación de textura de queso fresco tipo Panela control y queso MF

La fuerza de penetración del queso fue evaluada con un Analizador de Textura TA-XT2, (Textura Technologies Corporation, Stable Micro Systems, Surrey, England) usando una punta cilíndrica de 3mm con una carga de 5 Kg a una velocidad pre-ensayo de 2mm/s, ensayo igual a 1mm/s y post ensayo de 2mm/s con

un porcentaje de deformación del 25% y fuerza de contacto de 0.29N. La prueba se llevó a cabo en muestras de 2cm x 1.8cm a las 24 horas de elaboración del queso.

5.3.4 Determinación de color

El análisis de color fue realizado usando el estándar CIE L*, a*, b* en un colorímetro Minolta CM-2600d (Minolta, Osaka, Japón). Las mediciones se realizaron con un estándar a 10° y un iluminante D65. Antes de realizar el análisis se calibró el equipo con un estándar blanco (L* = 0.092; a* = 0.011; b* = 0.003).

5.3.5 Análisis fisicoquímicos de suero lácteo

El suero lácteo obtenido tanto del QC como del QMF fue evaluado en su contenido de grasa por el método de Gerber (AOAC 2000.18). El contenido de proteína por el método de Kjeldahl (AOAC 991.20). La humedad se determinó gravimétricamente a 100°C en un horno de aire forzado por 24 horas (NMX-F-426-1982). Los sólidos totales fueron calculados por diferencia. La lactosa fue determinada por el método fenol-sulfúrico (DuBois *et al.*, 1956) con algunas modificaciones para su aplicación en micro placa.

5.4 Evaluación sensorial del queso Panela

La evaluación sensorial fue realizada con 121 panelistas no entrenados consumidores de queso, con tamaños de muestra de 10 g en cubos de aproximadamente 1 cm³ donde se evaluaron los siguientes atributos: sabor, textura, color, aroma e impresión general utilizando una escala hedónica de 9 puntos (9 = me gusta mucho; 5 = ni me gusta ni me disgusta; 1 = Me disgusta mucho).

5.5 Análisis estadístico

Se aplicó un diseño experimental bifactorial completamente al azar por duplicado para la obtención del retenido y permeado en la primer parte experimental. Los factores de estudio fueron: factor de concentración (2x y 4x), presión (0 y 0.75 bar). Se realizó un análisis de varianza de los datos y una

comparación de medias de Tukey-Kramer ($\alpha = 0.05$) con el programa estadístico JMP versión 10.0.0. Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

En el diseño experimental para la elaboración de queso Panela las variables respuesta (textura, humedad, sólidos totales, proteína total y grasa) fueron analizadas por duplicado con un diseño experimental 2^3 con puntos al centro. Los resultados se expresan como la media \pm error estándar. Se realizaron análisis de varianza de los datos y una comparación de medias usando la prueba de Dunnett ($\alpha = 0.05$).

Para el análisis estadístico de la evaluación sensorial se aplicó un análisis de comparación de dos medias (Matched pairs) ($\alpha = 0.05$) del QC y el QMF. Se reporta la media de los resultados obtenidos.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Análisis proximal de materia prima

En la Tabla 6.1 se presenta el análisis proximal de la leche descremada utilizada como materia prima en la obtención del retenido. Además, se muestran los valores reportados por el proveedor.

Tabla 6.1. Composición de leche descremada de marca comercial estandarizada y pasteurizada utilizada para la obtención del retenido y permeado.

Componente	Experimental (%)	Proveedor (%)
Proteína total	3.18 ± 0.038	3.12
Grasa	0.710 ± 0.146	1%
Sólidos totales	10.037± 0.027	-

6.2 Evaluación del flujo del permeado durante el proceso de MF.

El flujo del permeado o flux es un indicador del desempeño de la membrana, se puede ver afectado por el ensuciamiento, el tamaño de partícula y concentración de la muestra (Vadi y Rizvi, 2001). En la Figura 6.1 se presentan los resultados, donde un mayor flujo fue obtenido para 0.75 bar de presión y FC 4x con $21.51 \pm 0.41 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Diversos estudios han evaluado el flujo de permeado en el proceso de microfiltración de leche descremada a 50°C con membranas poliméricas tubulares. Beckman y Barbano, (2013) obtuvieron un flujo de $22 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ con membrana de PVDF con un tamaño de poro de $0.3 \mu\text{m}$ a un FC 3x. Lawrence *et al.*, (2008) con una membrana de mismo material y tamaño de poro a presión transmembranal (PTM) de 150 kPa obtuvieron $17 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ para un 1x y $6 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ para 3x. Heino, (2010) reportó $13.4 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ para una membrana de $0.1 \mu\text{m}$ para 4x. La disminución del flujo, es atribuida principalmente a la rápida adsorción y posterior depósito de la micela de caseína sobre la membrana (Vetier *et al.*, 1988; Attia *et al.*, 1991). Por otro lado, al incrementar el FC lo hace también la viscosidad del retenido lo que puede llegar a aumentar el ensuciamiento de la membrana (Vadi y Rizvi, 2001).

Sin embargo, los resultados muestran un buen flujo a pesar de trabajar a mayor FC y menor temperatura, con flujos cercanos y en algunos casos incluso mayores a los obtenidos por otros autores con membranas tubulares; las cuales generalmente son más eficientes. Incluso Astudillo *et al.*, (2010) trabajó a menor temperatura (40°C) con una membrana cerámica de 0.14µm a 0.75 bar y obtuvo un flujo de 23 L m⁻² h⁻¹.

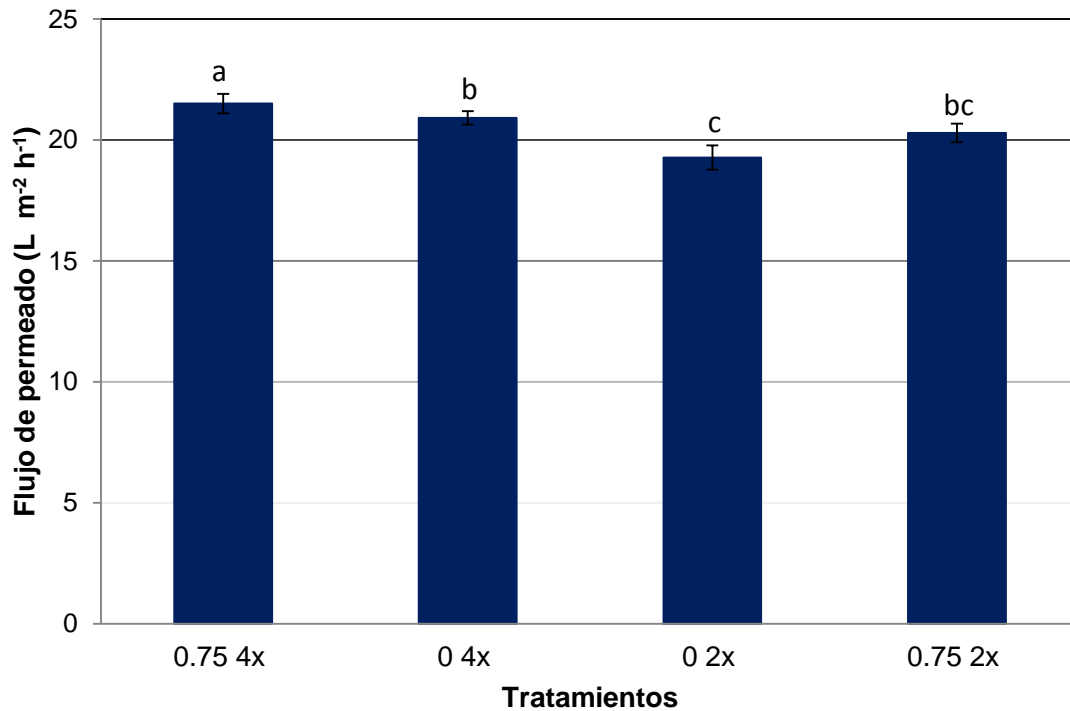


Figura 6.1 Evaluación del flujo de permeado durante la microfiltración de leche descremada a 45°C con membrana de PVDF de 0.3 µm a FC 2x y 4x con presión 0 y 0.75 bar. Datos expresados como la media ± error estándar. Determinación realizada de tres experimentos independientes. Diferente letra indica diferencia significativa ($p < 0.05$) por medio de la prueba de Tukey-Kramer).

6.3 Evaluación de la presión, factor de concentración y temperatura durante la MF de leche descremada

6.3.1 Evaluación del efecto de la temperatura y FC en la concentración y separación de los componentes de leche descremada

A continuación se evaluó el efecto de la temperatura y FC para el contenido de proteína total (%PT) en el retenido y en el permeado (Figura 6.2). El %PT del

retenido para un FC 2x fue mayor a una temperatura de 45°C que a 30°C. A FC 4x se obtuvo un mayor %PT, aunque no se observó diferencia significativa al aumentar la temperatura. A menor FC la temperatura afectó el %PT solamente a 2x, pero no a 4x. El aumento de temperatura puede disminuir la viscosidad del concentrado, lo que afecta tanto la concentración como la separación de las proteínas (Heino, 2010; Astudillo, 2010). Neocleous *et al.*, (2002b) reportaron a 50°C un 4.96% de proteína total para FC 1.82x usando membrana tubular cerámica. Comparado con los resultados (FC 2x) de este trabajo, es más del 1% de lo obtenido a 45°C y casi el 2% a 30°C; cabe señalar que este material de membrana (cerámica) es uno de los más eficientes en la separación de proteínas lácteas. Sin embargo, ya han sido obtenidos buenos resultados sobre todo en la separación de proteínas de suero con membranas poliméricas. En este sentido, Brandsma and Rizvi, (1999) separaron proteínas de suero a partir de leche descremada con una membrana de 0.2µm a un FC 8 y 9 y reportaron un aumento en la relación caseína:proteína total y la separación de proteínas de suero. Por su parte, Lawrence *et al.*, (2008) separaron PS a partir de leche descremada con una membrana de PVDF de 0.3 µm y observaron que se obtiene mayor separación de PS a menor presión transmembranal y que junto con la presión, la temperatura puede aumentar el flujo de la membrana. Govindasamy-Lucey *et al.*, (2007) removieron el 36% de las proteínas de suero con una membrana polimérica de PVDF de 0.2µm a una temperatura de 7°C.

En cuanto al FC 4x el %PT fue 5.68% para el retenido. Zulewska *et al.*, 2009 obtuvieron un 7.79% de proteína total en retenido para 3x con una membrana polimérica tubular de PVDF de 0.3 µm. Govindasamy-Lucey *et al.*, (2007) reportaron para 4x 6.56% de proteína total usando leche descremada a 7°C con una membrana polimérica tubular de PVDF de 0.2µm. Aunque el contenido de proteína total es mayor al obtenido en este trabajo, los autores concluyeron entonces que el tipo de membrana y el material de ésta afectan la concentración de proteína, observando un menor porcentaje al esperado fue obtenido con membranas poliméricas.

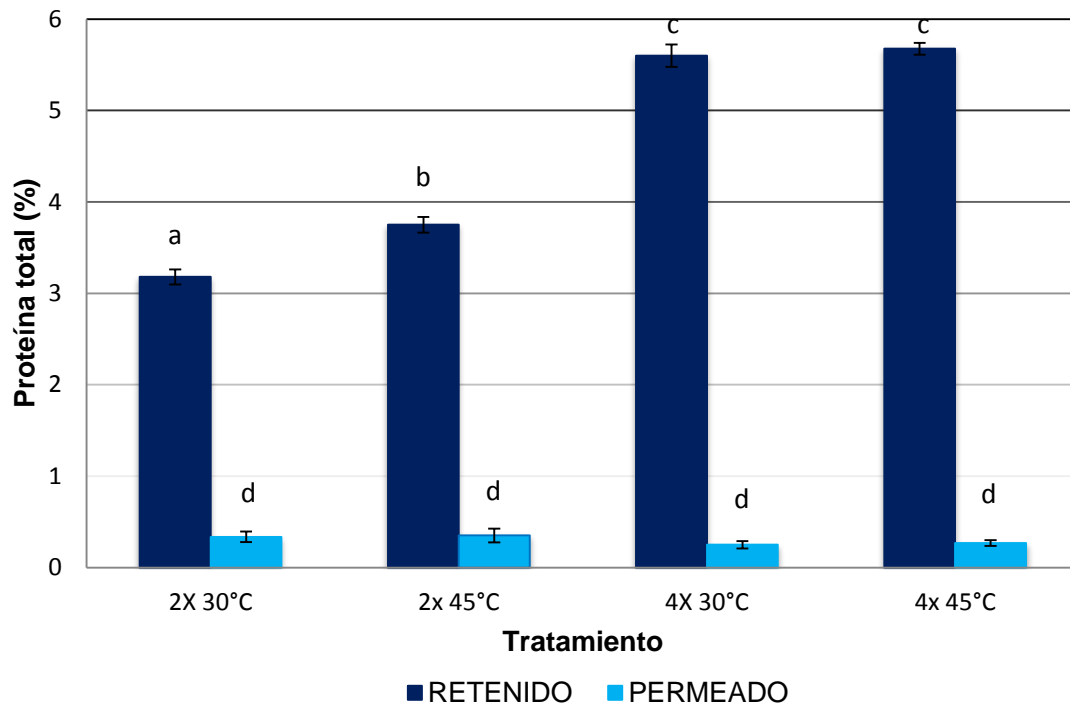


Figura 6.2 Evaluación del efecto de la temperatura (30 y 45°C) y FC (2x y 4x) en el porcentaje de proteína total en retenido y permeado obtenido de la microfiltración de leche descremada a 0.75 bar de presión con membrana de PVDF de 0.3µm. Datos expresados como la media ± error estándar. Determinación realizada de tres experimentos independientes. Diferente letra indica diferencia significativa ($p < 0.05$) por medio de la prueba de Tukey-Kramer.

Según Zulewska *et al.*, (2009) atribuye una disminución del contenido de proteína a la absorción o deposición de éstas sobre la superficie de la membrana polimérica.

En el permeado, no se observó diferencia significativa debida a la temperatura o al FC (Figura 6.2); algunos estudios reportan que al aumentar el FC disminuye el porcentaje de proteína de suero en el permeado (PSP) (Beckman *et al.*, 2010; lo cual tiene que ver con el ensuciamiento de la membrana y el tiempo de proceso, ya que un FC 2x requiere menor tiempo para su concentración mientras que éste es mayor para FC 4x (Tabla 6.2). Le Berre y Daufin, (1996) mencionan que con el tiempo la erosión mueve las micelas grandes del depósito de proteínas, quedando las más pequeñas, causando una mayor retención de proteínas de suero

al ser mayor el tiempo de filtración. Este efecto pudo ser el responsable de obtener un menor contenido de PSP a 4x.

Tabla 6.2 Tiempo de microfiltración de leche descremada a FC 2x y 4x con 0 y 0.75 bar de presión a 45°C de temperatura.

Tratamientos (bar , FC)	Tiempo (min)
0 2x	57.0 ± 0.501 ^a
0.75 2x	55.3 ± 0.104 ^a
0 4x	81.20± 0.692 ^b
0.75 4x	80.1 ± 0.367 ^b

Datos expresados como la media ± error estándar. Determinación realizada de tres experimentos independientes. Diferente letra en la columna indica diferencia significativa ($p < 0.05$) por medio de la prueba de Tukey-Kramer.

Así mismo, se ha reportado que el tipo y material de la membrana influye en la separación de las proteínas, (Beckman *et al.*, 2010) menciona que se separa un bajo porcentaje de proteínas de suero con membranas poliméricas tubulares, obteniendo a 1x 0.51% y 0.14% en 3x para una membrana tubular polimérica de PVDF de 0.3µm. En este trabajo se obtuvieron mayores porcentajes de proteínas a 30°C y 45°C a un FC 2x con 0.35 ± 0.076% y 0.29 ± 0.082% respectivamente.

6.3.2 Evaluación del efecto de la presión y FC en la concentración y separación de los componentes de leche descremada.

En la Figura 6.3 se muestra el efecto de la presión y FC en la separación y concentración de proteínas en el retenido y permeado. Puede resaltarse el menor contenido de proteína total en el permeado al aumentar la presión, tanto para 2x como para 4x, no obstante, la diferencia no fue significativa. En cambio, el retenido fue menor significativamente a FC 2x al incrementar la presión. En el caso de 4x no se observa diferencia significativa al aumentar la presión de trabajo.

Según reportan Koh *et al.*, (2013) dicho fenómeno puede estar asociado a que con el aumento de presión, los solutos se acumulan cerca de la superficie de la membrana, disminuyendo el paso de las PS y formando una capa de proteínas sobre la superficie de la membrana.

Así mismo, en la Tabla 6.3 se puede observar un aumento en el porcentaje de sólidos totales y grasa en el retenido al concentrar la leche descremada (LD), inicialmente con $10.030 \pm 0.027\%$, mientras que a 0.75 bar 2x y 4x fue de 10.025 ± 0.135 y $12.374 \pm 0.100\%$, respectivamente. En este sentido, Beckman y Barbano, (2013) reportaron $14.06 \pm 0.03\%$ a un FC 3x, Crowley *et al.*, (2015) para el mismo FC obtuvieron $17.7 \pm 0.19\%$. Cunha *et al.*, (2006) reportaron para un FC 1.8x un porcentaje de 12.85% de sólidos totales y 2.42% de grasa. Estos resultados muestran mayor contenido de los componentes incluso a menor FC que el obtenido en este trabajo.

Según reportes de Zulewska *et al.*, (2009) y Crowley *et al.*, (2015) la adhesión de sólidos en general, principalmente proteínas, en la superficie de la membrana afecta más a las membranas poliméricas que a las cerámicas, debido a esto, los resultados de sólidos totales y proteína obtenidos son menores que lo reportado por otros autores.

Figura 6.3 Evaluación del efecto de la presión y FC en el porcentaje de proteína total en retenido y permeado obtenido de la microfiltración de leche descremada a 0 y 0.75 bar. Datos expresados como la media \pm error estándar. Determinación realizada de tres experimentos independientes. Diferente letra indica diferencia significativa ($p < 0.05$) por medio de la prueba de Tukey-Kramer.

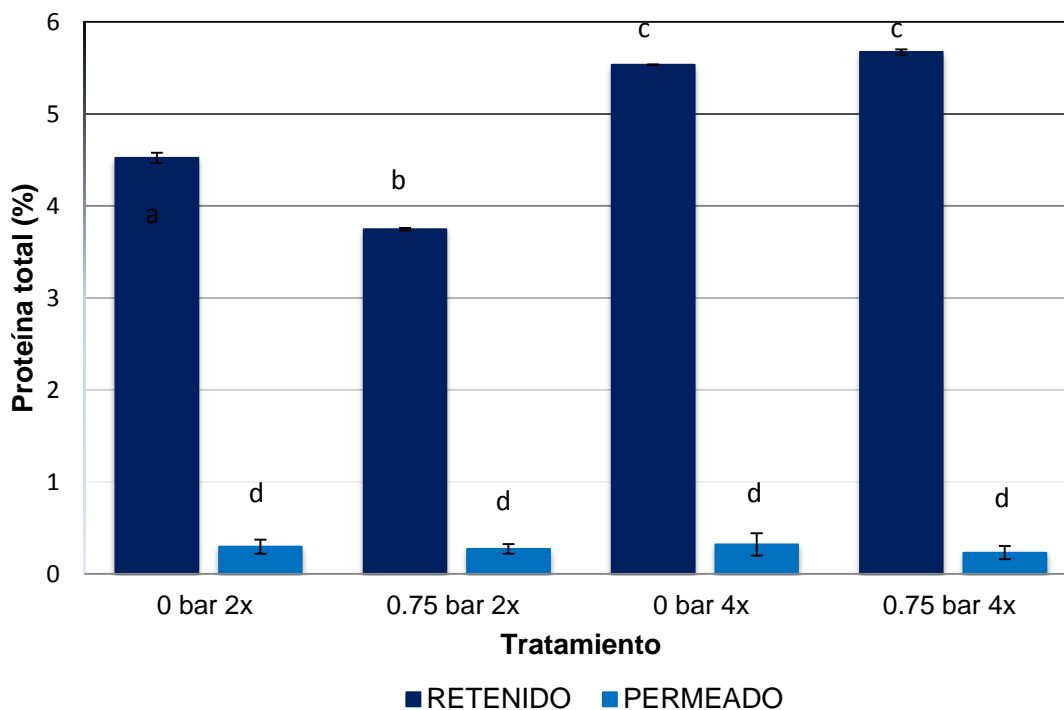


Tabla 6.3 Evaluación de sólidos totales y grasa en el retenido obtenido de LD a 45°C. Donde 0 y 0.75 es la presión (bar) y 2x y 4x el FC.

Tratamiento	Sólidos totales (%)	Grasa (%)
LD	10.037 \pm 0.027 ^a	0.710 \pm 0.70 ^a
0 bar 2x	9.832 \pm 0.133 ^b	1.053 \pm 0.44 ^b
0.75 bar 2x	10.026 \pm 0.135 ^a	1.190 \pm 0.146 ^{ab}
0 bar 4x	12.086 \pm 0.135 ^c	1.605 \pm 0.055 ^c
0.75 bar 4x	12.375 \pm 0.100 ^d	1.888 \pm 0.031 ^d

Datos expresados como la media \pm error estándar. Determinación realizada de tres experimentos independientes. Diferente letra en la columna indica diferencia significativa ($p < 0.05$) por medio de la prueba de Tukey-Kramer

En el porcentaje de sólidos totales en el permeado a 0 bar y 2x se obtuvo menor porcentaje de este parámetro, en el resto de los tratamientos no se observó diferencia significativa (Tabla 6.4). El porcentaje de grasa en el permeado, es menor a 0.1%, esto debido a que el glóbulo de grasa puede llegar a medir hasta 10µm, por lo tanto, no logra atravesar el poro de la membrana quedando retenido

Tabla 6.4 Evaluación de sólidos totales y grasa en el permeado obtenido de LD a 45°C. Donde 0 y 0.75 es la presión (bar) y 2x y 4x el FC.

Tratamientos	Sólidos totales (%)	Grasa (%)
0 bar 2x	4.474 ± 0.0541 ^a	< 0.1 ^a
0.75 bar 2x	4.626 ± 0.043 ^{bc}	< 0.1 ^a
0 bar 4x	4.699 ± 0.022 ^b	< 0.1 ^a
0.75 bar 4x	4.607 ± 0.158 ^{bc}	< 0.1 ^a

Datos expresados como la media ± error estándar. Determinación realizada de tres experimentos independientes. Diferente letra en la columna indica diferencia significativa (p<0.05) por medio de la prueba de Tukey-Kramer.

6.4 Elaboración y evaluación de queso control y queso elaborado a partir del retenido

Para la estandarización de la elaboración de queso fresco tipo Panela se usó leche descremada y se tomó como referencia la firmeza y humedad de dos marcas comerciales (Marca 1 y 2) y uno de elaboración artesanal (Marca 3). En la

Tabla 6.5 se muestran los resultados de textura y humedad.

Tabla 6.5 Evaluación de firmeza (N) y humedad (%) para los quesos comerciales

Queso comercial	Firmeza (N)	Humedad (%)
Marca 1	12.251 ± 0.443	53.240 ± 0.348
Marca 2	10.432 ± 0.476	55.822 ± 0.167
Marca 3	7.729 ± 0.651	58.710 ± 0.600

Datos expresados como la media ± error estándar. Determinación realizada de dos mediciones.

Durante las pruebas preliminares se elaboraron quesos a partir de retenido tomando como referencia la humedad de dos marcas comerciales de queso y uno de elaboración artesanal. Se observó que los quesos elaborados de retenido obtuvieron mayor firmeza que la obtenida para los quesos comerciales incluso al tener la misma humedad (Tabla 6.6). Por lo que se decidió tomar como base de referencia la humedad reportada para queso Panela de Garcia Islas, (2006) y Villegas de gante (2012) que es alrededor de 58% de humedad correspondiente también con la Marca 3 obtenida de un mercado local.

Tabla 6.6 Evaluación preliminar de firmeza (N) y humedad (%) para los quesos a partir de retenido

Queso retenido	Firmeza (N)	Humedad (%)
Prueba 1	14.222 ± 0.443	53.506 ± 0.302
Prueba 2	12.538 ± 0.476	56.100 ± 0.237
Prueba 3	8.509 ± 0.651	58.902 ± 0.650

Datos expresados como la media ± error estándar. Determinación realizada de dos mediciones.

El queso fresco tipo Panela fue elaborado a partir de retenido FC 4x a 0.75 bar de presión y 45°C ya que fue el tratamiento que mostró un contenido de proteína ligeramente mayor pero sobre todo un mejor flujo lo que nos habla de la eficiencia de trabajo de la membrana, así mismo se observó un aumento en el contenido de sólidos totales. En la siguiente figura se observan los componentes evaluados en el queso control elaborado con leche descremada (QC) comparado con el queso elaborado a partir del retenido (QMF) con 0.02% de CaCl₂, 40 minutos de coagulación y 100% de cuajo donde este porcentaje representa la adicción máxima equivalente a 25 mL/100L de leche o retenido.

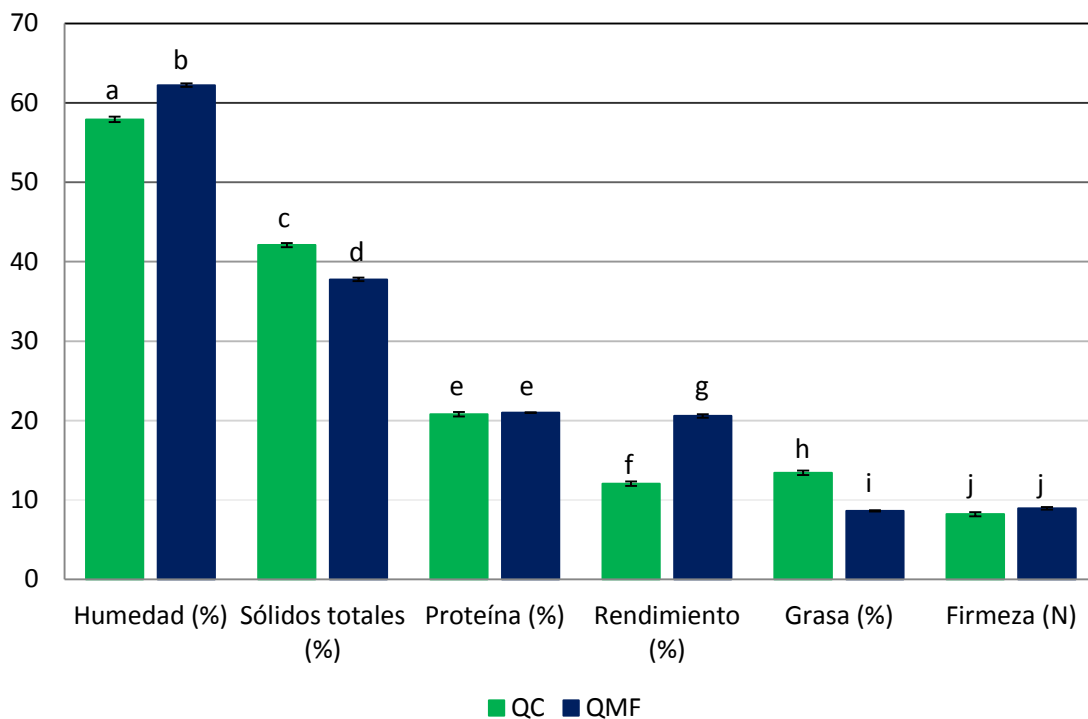


Figura 6.4 Componentes evaluados en queso fresco tipo Panela control (QC) y queso elaborado a partir del retenido de leche descremada (QMF). Datos expresados como la media \pm error estándar. Determinaciones realizadas por duplicado. Diferente letra en cada columna correspondiente al componente evaluado indica diferencia significativa con la prueba de Dunnett ($p < 0.05$).

En la Figura 6.4 se observan a los componentes evaluados, tales como, sólidos totales, humedad, grasa, proteína, textura y rendimiento. Cada uno de ellos fue comparado con el control (QC), se observó diferencia significativa en sólidos totales, humedad, grasa y rendimiento. Mientras que proteína y textura fueron significativamente iguales.

6.4.1 Determinación de sólidos totales y humedad.

La humedad típica de un queso Panela varía de 53 – 59% según García Islas, (2006). La NMX-F-713-COFOCALEC-2005 indica que el contenido máximo de humedad (%) en quesos frescos permitido es de 80% (p/p). Tanto el QC como el QMF se encuentran dentro de dicha normatividad. La norma oficial (NOM-121-SSA1-1994) por su parte, sólo indica que los quesos frescos deben tener consistencia desde untable a pastosa pero no establece el contenido máximo

permitido. Estudios realizados en queso Panela encontraron porcentajes que varían entre 48.4% y 60.5% ((Lobato-Calleros *et al.*, 2006; Ochoa Flores, 2013; Ramírez *et al.*, 2013)). El queso fresco debe su alto nivel de humedad al suero que retiene durante la coagulación de las caseínas (Lobato-Calleros *et al.*, 2006). En base a la normatividad el QC ($57.906 \pm 0.333\%$) se encuentra entre dicho rango de humedad; el QMF obtuvo una mayor humedad ($62.225 \pm 0.217\%$). Sin embargo, al tener menor cantidad de sólidos grasos en el QMF se observó un menor porcentaje de sólidos totales y por lo tanto un aumento en la humedad del QMF. Según Lou y Kwai-Hang, (1992) un aumento en la humedad en quesos, puede estar relacionado con la capacidad de la caseína para absorber agua, por lo que un aumento en el contenido de humedad tiene sentido al aumentar el contenido de proteína en la leche. Ardisson y Rizvi, (2004) en la elaboración de queso Mozzarella observaron que al aumentar el FC aumentaba el porcentaje de humedad.

En sólidos totales $42.094 \pm 0.333\%$ fue obtenido en el QC, por otro lado, para QMF fue de $37.775 \pm 0.217\%$. En queso Panela tradicional según Ramírez *et al.*, (2012) se obtiene un contenido de sólidos totales de 41.7 – 46.8%. Se puede observar menor cantidad de sólidos para el caso de QMF, esto podría estar relacionado con la menor cantidad de sólidos grasos. Por otro lado, Lou y Kwai-Hang, (1992) refieren que un alto contenido de proteína en la leche resulta en menor contenido de sólidos totales en el queso, efecto que fue observado en los resultados de este trabajo. Los resultados en función del contenido de humedad disminuye la proporción de sólidos totales.

6.4.2 Determinación de grasa.

El contenido de grasa de las muestras resultó de un $13.423 \pm 0.288\%$ para QC, lo cual concuerda con lo reportado por Ramírez *et al.*, (2013) con 13% de grasa para su tratamiento control elaborado a partir de leche pasteurizada de vaca. Lou y Kwai-Hang, (1992) reportan cómo al aumentar el porcentaje de proteína en la leche se obtiene un menor contenido de grasa en el queso, lo cual puede observarse en el QMF que arrojó un valor de $8.627 \pm 0.025\%$.

En cuanto a quesos elaborados a partir de retenido, Cunha *et al.*, (2006) elaboraron un queso fresco de alta humedad (Minas) con 69.24% (p/p) y probaron diferentes FC por medio de ultrafiltración (1.2x, 1.5x y 1.8x); para un FC 1.2x obtuvieron alrededor de 1.62% de grasa en el retenido y en el queso un 7.89% los cuales resultan cercanos a los obtenidos en este trabajo. Refieren que menor grasa en un queso a partir de un concentrado proteico puede derivar en un queso más firme y de menor rendimiento. Siendo la grasa uno de los componentes que más afecta la textura del queso, por lo tanto resulta un componente relevante para la obtención de un producto final catalogado como agradable. Si la cuajada es mas firme puede expulsar los glóbulos de grasa más grandes, mientras que los globúlos más pequeños se quedan entre la red de proteína; por otro lado, su la leche contiene mucha grasa la cuajada no es capaz de retener toda la grasa, pasando un buena porción al suero.

6.4.3 Determinación de proteína total.

El contenido de proteína para el QC fue de $20.789 \pm 0.086\%$ y para QMF de $21.003 \pm 0.227\%$ lo cual concuerda con lo reportado por García Islas, (2006) dentro de un intervalo de 16.7 – 20.5% para queso Panela. Aunque el QMF obtuvo mayor contenido de proteína, dicho porcentaje no fue significativamente diferente con respecto del QC. Otras autores se han referido a esto, el contenido de proteína no se ve aumentado significativamente en la elaboración de quesos a partir de retenido, como es el caso del Mozzarella según lo reportado por Ardisson y Rizvi, (2004) probaron 4 diferentes FC por medio de ultrafiltración (6x, 7x, 8x y 9x) y observaron que al aumentar el FC el contenido de proteína disminuye (25.03% a 6x y 24.12% a 9x) aunque que no fue significativamente diferente ($p < 0.05$). Para queso Cheddar Neocleous *et al.*, (2002b) reportan un aumento estadísticamente significativo ($p < 0.01$) en el contenido de proteína al aumentar el FC de 24.98% para el control y de 25.63% a 1.82x, que si bien es significativo es un aumento del 0.65%. Por su parte Ferreira *et al.*, (2006) obtuvieron 27.52% para un queso Mozzarella control y para un FC 1.8x por MF fue de 26.16% siendo significativamente menor ($p < 0.05$). Por lo tanto, de la literatura revisada no se puede asociar directamente la

relación entre un aumento en el porcentaje de proteína en el retenido y un aumento en el contenido de proteína total en el queso final. Así mismo no hay reportes que describan dicho efecto en retenido obtenido de MF para la elaboración de un queso fresco. Otro factor que pudiera estar afectando es el proceso de elaboración del queso y del tipo de queso en sí.

6.4.4 Determinación de Textura

La firmeza de un queso Panela puede ser variable y al igual que la humedad, no existe una normatividad al respecto que indique el valor permitido. El QC obtuvo 8.214 ± 0.239 N mientras que para el QMF fue de 8.968 ± 0.171 N, fueron significativamente iguales, aunque físicamente si se apreciaba diferencia. Al respecto Lobato *et al.*, (2006) evaluaron quesos con menor porcentaje de grasa, donde vieron aumentadas sus características mecánicas como lo son firmeza, masticabilidad, cohesividad y gomosidad comparado con aquellos de mayor porcentaje graso. Por otro lado, varios autores han reportado que el QMF suele ser más firme, esto asociado sobre todo a la coagulación de mayor cantidad de caseína presente en el concentrado de proteína. La coagulación de la leche depende de la cinética de la reacción enzimática; la concentración y el estado de las proteínas, especialmente las caseínas y el pH. Estos factores se ven afectados por la MF. Modificaciones mecánicas pueden estar asociadas a que la red de proteína está relativamente más cerca y compacta debido a la mayor densidad de caseína en el concentrado; mientras que en el queso elaborado de leche descremada no, en éste queso la red de proteína es más abierta, relajada, y entre ella se encuentran además los glóbulos grasos de mayor tamaño lo que cambia sus características mecánicas.

La fuerza o firmeza de la red de caseína formada para la elaboración de queso fresco depende de varios factores como lo son: el contenido de agua, grasa y minerales contenidos en la cuajada (Solís-Méndez *et al.*, 2013). En este sentido Cunha *et al.*, (2006) concluyeron que elaborar un queso fresco a partir de retenido tiene un impacto sobre todo en la textura, esto debido al aumento de caseína en el retenido, causando un cambio en la coagulación y en la humedad del queso. El cambio de la humedad o grasa tiene un efecto en la firmeza del queso, ya que puede

aumentar o disminuir la distancia entre la red de proteína (Cunha et al., 2006). Pero también un aumento en la firmeza puede deberse a la concentración de fosfato de calcio asociado a la micela de caseína, esto provoca cambios en la textura del queso (Heino, 2010). En la industria quesera normalmente se adiciona CaCl_2 para bajar el pH, este aditivo disminuye el tiempo de coagulación e incrementa la firmeza de la cuajada (Heino, 2010).

Al concentrar la leche cambian sus características afectando su capacidad amortiguadora, esto es debido al contenido de caseína y de minerales que afectan la calidad del queso, y al aumentar el contenido de minerales sobre todo de fosfato de calcio promueve cambios en la textura del queso (Caron *et al.*, 1997).

6.4.5 Determinación de rendimiento

En la Figura 6.4 se muestra un mayor rendimiento para el QMF (20.579 ± 0.227) menor para QC (12.058 ± 0.270). Heino, (2010) para queso Edam referencia obtuvo un mayor rendimiento en su control ($10.4 \pm 0.1\%$) y para Edam MF de $9.8 \pm 0.3\%$. Se sabe que las propiedades de coagulación, el tiempo de coagulación y la firmeza de la cuajada están asociadas con el rendimiento (Kwai-Hang *et al.*, 1989). Neocleous *et al.*, (2002b) refieren que un aumento en el rendimiento al concentrar por MF no es esperado (como en UF) ya que no se concentran las proteínas de suero, que ayudan en el aumento de rendimiento; sin embargo, en el presente trabajo se observó un aumento del 8% en QMF respecto del control y 4% respecto a lo reportado por Guerra-Martínez *et al.*, (2012). Al usar 0.150 kg tanto de leche como de retenido se obtuvieron 0.030 kg de queso en promedio para QMF, mientras que para QC se obtuvo 0.018 kg. Brandsma y Rizvi, (2001) reportan que si la leche esta lo suficientemente concentrada puede ser posible aumentar el rendimiento hasta en un 7%. Ambos resultados han sido alcanzados en este trabajo.

6.5 Evaluación de los componentes del suero obtenido de QC (SQC) y suero obtenido del QMF (SQMF)

En la Figura 6.6 se muestra los componentes evaluados en suero lácteo obtenido de la elaboración de QC y QMF.

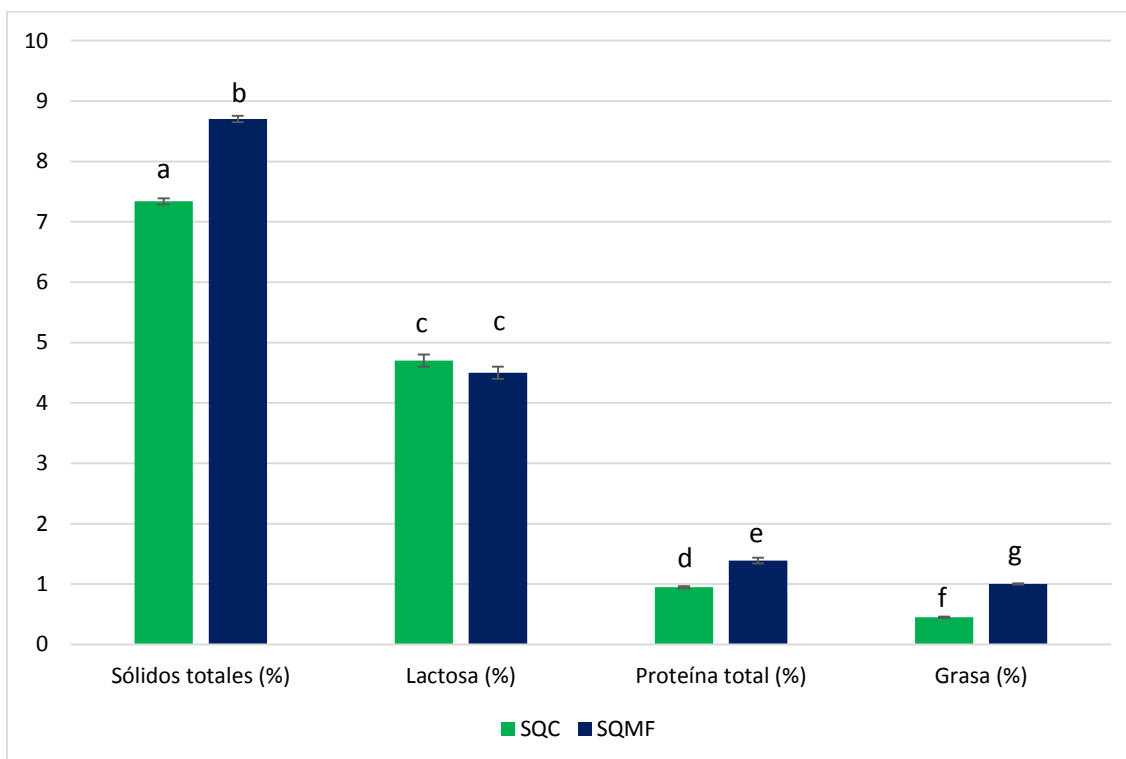


Figura 6.5 Componentes evaluados en suero obtenido de la elaboración de queso fresco tipo Panela control (SQC) y suero de queso elaborado a partir del retenido de leche descremada (SQMF). Datos expresados como la media \pm error estándar. Determinaciones realizadas por duplicado. Diferente letra en cada columna correspondiente al componente evaluado indica diferencia significativa con la prueba de Tukey-Kramer ($p < 0.05$).

Según Jelen, (1992) la composición típica del suero lácteo dulce es de 6 a 8% de sólidos totales, 0.6 a 1.0% de proteína soluble, de 4.6-5.2% de lactosa y de entre 0.4 – 0.5 % de grasa, estos valores suelen variar dependiendo del tipo de queso que se elabora y de su proceso. En cuanto a los resultados obtenidos de SQC comparado con el SQMF se observó un mayor porcentaje de sólidos totales en SQMF, significativamente diferentes; esto correspondiente con mayor porcentaje de proteína total y grasa. Por otro lado, la lactosa fue significativamente igual. En

cuanto a proteína total, se observó un mayor porcentaje en SQMF, esto según la literatura ocurre al aumentar la concentración de proteína en el retenido puede llegar a aumentar el porcentaje de proteína en el suero. Ardisson y Rizvi, (2004) evaluaron el suero de queso mozzarella de baja humedad para 4 FC (6x, 7x, 8x y 9x) y observaron diferencias significativas en sólidos totales, grasa y sales cuya tendencia era aumentar estos valores a medida que se incrementaba el FC. Brandsma y Rizvi, (2001) elaboraron queso Mozzarella de baja humedad parcialmente descremado a partir de concentrar LD a un FC 8. Los componentes individuales fueron de 1.5 a 3 veces más concentrados comparados con el suero de queso Mozzarella normal. Heino, (2010) reportó un aumento del 8% de proteína total en aquellos tratamientos MF comparado con sus tratamientos control, esto para queso Edam.

Y finalmente en grasa, se obtuvo un mayor porcentaje para SQMF respecto del SQC, esto según Dilanjan *et al.*, (1984) asociado a que entre mayor sea la proporción de la grasa en el retenido, la cuajada no puede retener toda la grasa, por lo tanto pasa al suero. Además, en el queso obtenido del retenido la red de proteína es mas tensa y puede provocar la perdida de los glóbulos de grasa de mayor tamaño.

Así pues, este suero puede ser usado para el aprovechamiento de sus componentes como lactosa, lo que es ya realizado en el suero lácteo dulce tradicional.

Otra de las ventajas en el SQMF es el volumen final que se desprende de la cuajada fue de 73%, que comparado con el 90% de un queso tradicional significa una reducción del 17%, lo cual tiene un gran impacto para producción en mayor volumen de leche. Heino, (2010) reportó una disminución del 20% en el volumen de suero comparado con su control, esto en la elaboración de un queso Edam, debido al volumen que es retirado inicialmente en la MF de la leche, donde se obtiene el permeado.

6.6 Evaluación del efecto de la concentración de enzima, cloruro de calcio (CaCl_2) y tiempo de coagulación en la elaboración de queso fresco tipo Panela.

Para determinar el efecto en QMF de concentrar la proteína en el retenido se realizó un diseño experimental, en donde los factores a evaluar fueron la concentración de cuajo, de CaCl_2 y el tiempo de coagulación. La concentración de cuajo que fue usada como referencia fue la recomendada por el fabricante del cuajo lo queso representó como el 100%, debido a que fue 4 veces concentrada, se decidió usar 4 veces menos cuajo (25%). Para el CaCl_2 la normatividad mexicana permite un máximo de 0.02% por lo que fue designado como el máximo (Tabla 5.2). Las variables respuesta fueron: Humedad, sólidos totales, grasa, textura, proteína total y rendimiento.

De manera general se observó una cuajada más firme a pesar de usar menos concentración de cuajo usando retenido. En cuanto al tiempo se observó un menor tiempo necesario para la formación de la cuajada de alrededor de 15 minutos para quesos fabricados a partir del retenido. Por su parte la LD a este tiempo aún estaba en proceso de coagulación, lo que se traducía en un gel muy débil. Debido a lo anterior, se decidió ajustar el tiempo de coagulación a 30 min como fue reportado por Ramírez *et al.*, (2013) además que a 30 min ambos tratamientos ya habían formado el gel.

Según Caron *et al.*, (1997), en un modelo usando diferentes concentrados de proteína de leche en polvo, la firmeza del gel es mayor a medida que se aumenta la concentración de proteína. La alteración de este componente modifica los parámetros de coagulación, los cuales están influenciados por el pH, CaCl_2 , la adicción de enzima y el contenido de proteína. Una disminución en el tiempo de coagulación fue observada en aquellos tratamientos elaborados con el retenido. Heino, (2010) elaboraron queso Edam a partir de retenido por MF de leche descremada a un FC 4x con membrana de PVDF y asocian dicha disminución a la mínima concentración de lactosa y proteínas de suero que pasan al permeado y por lo tanto se reduce su contenido en el retenido. Esto genera una cuajada más firme y disminuye el tiempo de coagulación final. La difusión de la enzima en el medio

puede ser más rápida al ser mínimo el contenido de proteínas de suero. Y suponen que la ausencia de estos componentes incrementan la actividad de la enzima (Heino, 2010).

6.6.1 Determinación del efecto de la concentración de enzima, cloruro de calcio (CaCl_2) y tiempo de coagulación en sólidos totales y humedad.

En la Figura 6.5 puede observarse que no hay diferencia significativa entre la humedad y los sólidos totales en los tratamientos, sin embargo, fueron diferentes significativamente al QC en ambos componentes evaluados. Así mismo, es claro que no existe una diferencia entre la concentración de cuajo, de CaCl_2 y el tiempo de coagulación, por lo que el cambio debido a los factores estudiados no afectó considerablemente el contenido en humedad y en sólidos totales.

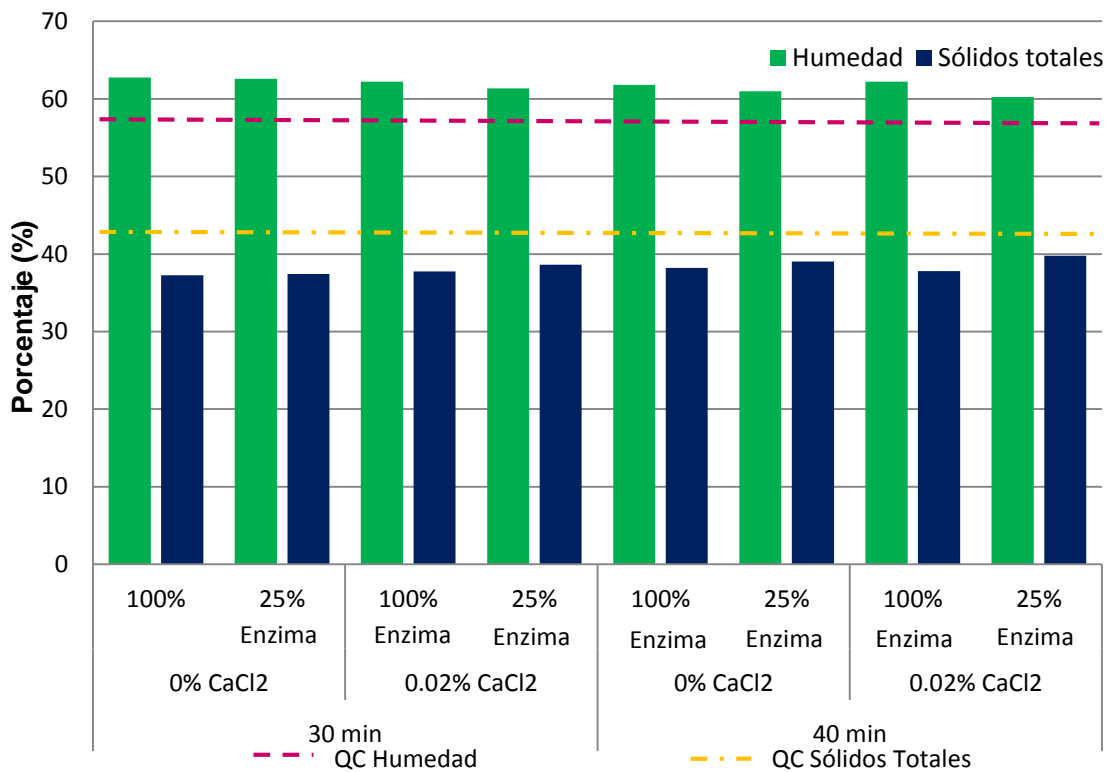


Figura 6.6 Componentes evaluados en queso fresco tipo Panela elaborado de retenido a 30 y 40 minutos de coagulación con 0% de CaCl_2 y 100% de enzima comparado con el QC (elaborado de LD con 0.02% de CaCl_2 y 100% de enzima a 40 min de coagulación). Datos expresados como la media \pm error estándar. Determinaciones realizadas por duplicado. Diferente letra en cada bloque de columnas indica diferencia significativa con la Prueba de Dunnett ($p < 0.05$)

La razón que explica la mayor retención de humedad y menor contenido de sólidos totales en el QMF respecto del QC puede explicarse por la capacidad de las caseínas para hidratarse de la cual se habló en el apartado 6.4.1 (Ardisson y Rizvi, 2004).

6.6.2 Determinación del efecto de la concentración de cuajo, cloruro de calcio (CaCl_2) y tiempo de coagulación en grasa.

En la Tabla 6.7 se presenta el porcentaje de grasa obtenido para los diferentes tratamientos. Los resultados de dichos tratamientos muestran diferencia significativa con el control ($13.423 \pm 0.288\%^a$). Brandsma y Rizvi, (2001) elaboraron queso Mozzarella de baja humedad parcialmente descremado a partir de concentrar LD por MF a un FC 8, ellos observaron menor porcentaje de grasa (17.25%) comparado con el comercial (21.60%), 4.35% menos para el Mozzarella MF.

Tabla 6.7 Determinación de grasa en los tratamientos de queso fresco tipo Panela elaborado a partir del retenido, con dos concentraciones de enzima (100% y 25%) y CaCl_2 (0% y 0.02%) a dos tiempos de coagulación (30 y 40 min).

Tiempo de coagulación	0% CaCl_2		0.02% CaCl_2	
	100%	25%	100%	25%
30 min	8.228 ± 0.145^b	8.643 ± 0.158^b	8.030 ± 0.106^b	8.470 ± 0.101^b
40 min	8.519 ± 0.085^b	8.311 ± 0.116^b	8.627 ± 0.039^b	8.777 ± 0.134^b

Datos expresados como la media \pm error estándar. Determinación realizada por duplicado. Diferente letra en la columna indica diferencia significativa ($p < 0.05$) por medio de la prueba de Dunnett.

De los resultados mostrados en la Tabla 6.7 no se aprecia alguna diferencia asociada al tiempo de coagulación, concentración de cuajo o CaCl_2 .

La grasa tiene impacto sobre todo en la textura del producto terminado (Gutiérrez, 2013), así como en el sabor percibido por el consumidor y si bien los porcentajes obtenidos son bajos, un ajuste de grasa previo a la elaboración del queso puede aumentar los porcentajes en el producto final.

6.6.3 Determinación del efecto de la concentración de enzima, cloruro de calcio (CaCl₂) y tiempo de coagulación en proteína total y firmeza.

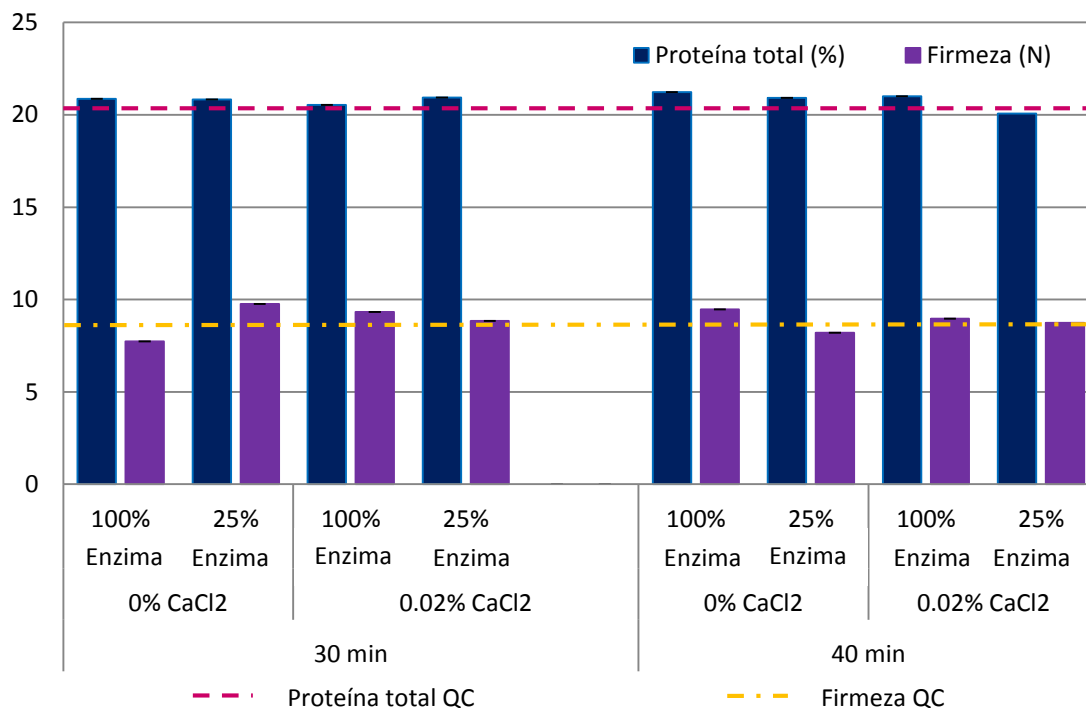


Figura 6.7 Diseño experimental realizado para la evaluación del efecto de diferentes niveles de enzima (25 y 100%), CaCl₂ (0 y 0.02%) y tiempo de coagulación (30 y 40 min) en proteína total (%) y firmeza (N). Datos expresados como la media ± error estándar. Determinaciones realizadas por duplicado.

La coagulación de la leche combina una hidrólisis enzimática y una subsecuente reacción de agregación de las proteínas. Se sabe que el tiempo de cuajado puede disminuir si se aumenta la concentración de cuajo, debido al aumento en la proteólisis de la κ -caseína (Nájera *et al.*, 2003). Sin embargo, del diseño experimental realizado se pudo observar que aunque se aumente la concentración de cuajo no se coagula más proteína, lo que resulta en el mismo porcentaje de proteína total en el queso obtenido. Finalmente, dicho aumento de proteína impactaría en el tiempo de coagulación y no tanto en el de proteína total en el queso. Se observó además que la disminución de 10 minutos en el tiempo de coagulación y no añadir CaCl₂ no afectó el porcentaje de proteína total final. Por lo

que es viable la disminución de tiempo y cloruro de calcio para la elaboración de quesos sin afectar el contenido de proteína.

El contenido de proteína total y firmeza en el QMF no mostró diferencia significativa con el QC. Por otro lado, para la firmeza en QMF se observó cambios respecto al nivel de cuajo añadido, ya que a menor cantidad de cuajo en el queso se obtuvo menor firmeza en el producto con excepción del tratamiento con 0% de CaCl_2 , 100% de enzima y 30 minutos de coagulación, sin embargo, dicha diferencia no fue significativa. Así como tampoco se observó una clara diferencia en la disminución del tiempo de coagulación o el porcentaje de CaCl_2 . La firmeza es uno de los parámetros que más impactan en el agrado de un producto como el queso; problemas de quesos muy firmes han sido asociados a quesos elaborados de retenido MF o UF. Para lo anterior, se pueden probar diferentes niveles de cuajo para la mejora de la textura del producto.

6.7 Elaboración de QC y QMF

Para la evaluación sensorial se elaboraron QC (40 min de coagulación, 0.02% de CaCl_2 y 100% de cuajo) y QMF (40 min coagulación, 0% de CaCl_2 y 25% de cuajo) fue seleccionado este tratamiento por ser uno de los tratamientos que con 0% de CaCl_2 y 25% de enzima tenía una firmeza aproximada al queso control. En humedad ambos quesos concuerdan con lo reportado por García Islas, (2006); Lobato-Calleros *et al.*, (2006); Ochoa Flores, (2013). Así mismo, cumple con la NMX-F-713-COFOCALEC-2005. Se puede observar la misma tendencia de mayor humedad y menor porcentaje de sólidos totales que ya fue descrita en el apartado 6.4.1. En proteína total y textura fueron significativamente iguales, tal como el diseño evaluado anteriormente para QC y QMF.

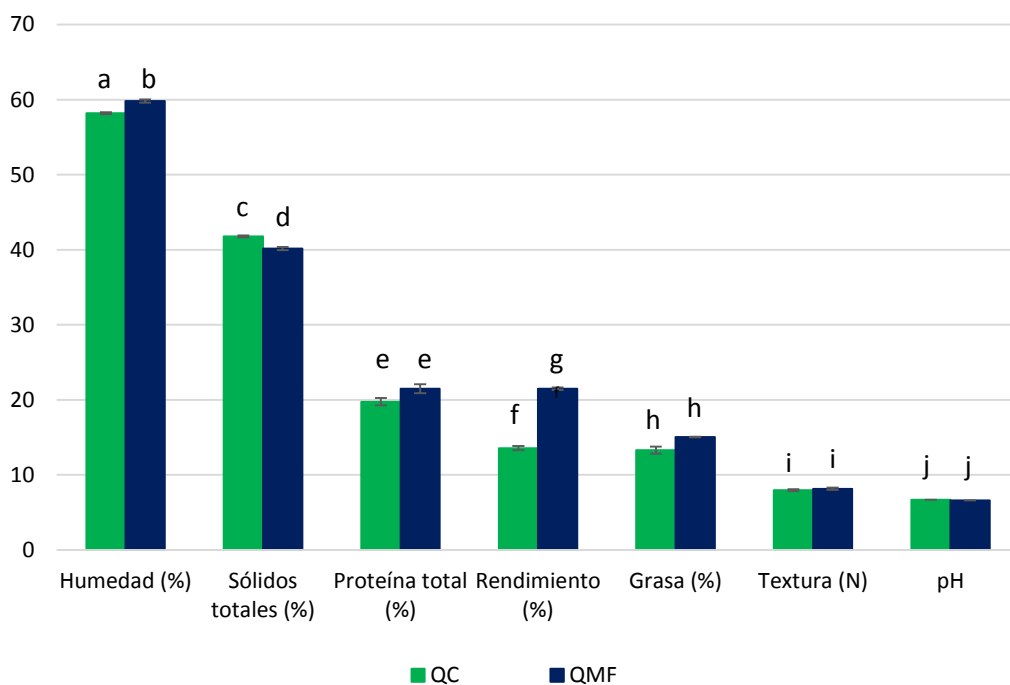


Figura 6.8 Componentes evaluados en queso fresco tipo Panela control (QC) y queso elaborado a partir del retenido de leche descremada (QMF). Datos expresados como la media \pm error estándar. Determinaciones realizadas por duplicado. Diferente letra en cada columna correspondiente al componente evaluado indica diferencia significativa con la prueba de Dunnett ($p < 0.05$).

Sin embargo, en grasa se observó un aumento del QMF comparado con el QC aunque dicha diferencia no fue significativa. El porcentaje de este componente fue mayor comparado con el QMF elaborado para el análisis inicial ya que para la elaboración y posterior análisis de estos quesos se realizó un ajuste de grasa (5%) con el propósito de mejorar la textura, aroma y color del QMF. Ambos quesos fueron ajustados con crema al 68%.

En cuanto al pH, no se observó diferencia significativa, aunque los quesos obtuvieron un valor mayor al reportado por Caro *et al.*, (2014) (6.12) y Ramírez *et al.*, (2012) (5.6) para queso Panela. En ese mismo sentido, García Islas, (2006) refiere que el pH del queso Panela debe ser cercano al de la leche, ya que este tipo de queso no requiere de un proceso de acidificación para la formación de la cuajada, por lo tanto, no se ve un cambio mayor en su pH. Por otro lado, Sandra *et al.*, (2011)

evaluaron las propiedades de coagulación de la leche concentrada por UF hasta un FC 3x y observaron que el pH puede disminuir al aumentar el FC, que para un FC 1x fue de 6.71 mientras que para 3x fue de 6.68, cercano al obtenido en los resultados de este trabajo. Ellos atribuyen este cambio de pH al cambio en el equilibrio de las sales que se ve afectado por el proceso de UF.

6.8 Evaluación sensorial de QC y QMF de atributos de sabor, aroma, color, textura y agrado general.

Para realizar la evaluación sensorial de los dos quesos elaborados (QC y QMF) se reclutaron 126 consumidores de queso. De la evaluación se descartaron los resultados de 6 consumidores debido al llenado erróneo de las hojas de evaluación. El resto de los resultados fueron analizados. Posteriormente, se realizó el análisis estadístico (Comparación de dos medias) determinando la diferencia obtenida de cada consumidor al evaluar ambos quesos. Con las medias obtenidas se generó el gráfico de la Figura 6.9.

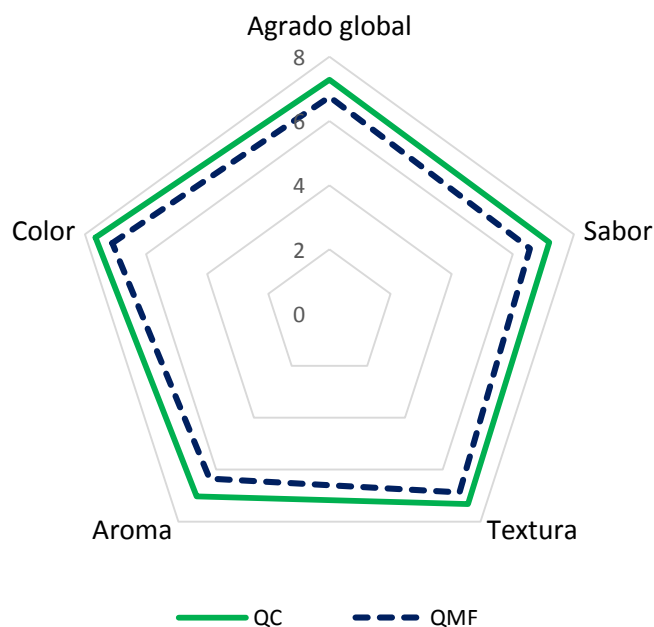


Figura 6.9 Perfil sensorial comparativo de atributos de sabor, textura, aroma, color y agrado global entre QC y QMF por cada panelista.

Todos los atributos evaluados mostraron diferencia significativa. El agrado global para QC fue de 7.28 y para QMF de 6.75 lo que indicó que dicha diferencia no es muy grande, donde 7 es me gusta moderadamente y 6 me gusta levemente. El resto de los atributos expresaron igualmente diferencias pequeñas entre el QC y QMF.

Para la mejora del QMF los comentarios mostraron la siguiente información:

Sabor: En cuanto al sabor de QC los comentarios generales fueron positivos pero el QMF tenía un sabor menos perceptible que el QC, por lo que se pudo apreciar que recibió una calificación más baja. Al respecto y junto con la textura, la grasa puede tener un impacto positivo en el producto final.

Textura: Las evaluaciones de textura para el QC (7.33) y para QMF (6.88), no mostraron una diferencia mayor aunque fue significativa. Por otro lado, los resultados obtenidos en el texturómetro no mostraron diferencia significativa. Cabe señalar que según reportes de Foegeding y Drake, (2007) el consumidor suele hacer una evaluación general de la textura en la que engloba todo el proceso de masticación y no sólo de compresión al masticar con los molares por lo que realizar una evaluación sensorial para textura es de importancia ya que aporta información más certera del gusto del consumidor en un panorama general y no sólo la evaluación de la compresión. Al respecto una de las mejoras que se propondría al producto es experimentar con diferentes porcentajes de grasa, ya que se ha reportado que este componente puede afectar la textura del queso y por tanto, la percepción final del consumidor. Así mismo, la humedad puede ser otro parámetro de relevancia para la mejora de la textura del queso.

Aroma: En el caso del aroma ambos quesos recibieron buenos comentarios, éste fue el atributo que presentó mayor diferencia entre QC (7.03) y QMF (6.34), aun así, fueron percibidos con un ligero aroma lácteo y en algunos casos a formula láctea para el QMF. A lo cual podría deberse la diferencia en la calificación del atributo de aroma.

Color: El color es uno de los atributos que se esperaba fueran diferentes entre el QC y QMF, ya que debido al proceso de MF el retenido obtenido suele tener un valor L* mayor, por lo que el retenido se observaba en un tono gris-verdoso, color que se conserva en el queso. Sin embargo, la adicción de crema previa a la elaboración del queso contrarrestó un poco el tono característico del retenido. En la Tabla 6.8 podemos observar una disminución significativa en el valor L* de QMF ($p < 0.05$) correspondiente a la luminosidad, Caron *et al.*, (1997) reportaron un valor promedio de L* de 88.3 ± 1.4 . El color del queso depende del color de la grasa de la leche y del contenido de grasa. Así mismo, cambios en los componentes o estructura de la leche descremada puede resultar en cambios en la manera que la leche absorbe la luz (Caron *et al.*, 1997). Se obtuvo un aumento para el valor de a* para QC comparado con la leche descremada (-3.911). b* no presentó diferencia significativa. Para mejorar el color del QMF en todos los parámetros, una evaluación que identifique que componentes y en qué medida pueden afectar el color final en el queso debe ser realizada, y finalmente mejorar la apariencia del QMF.

Tabla 6.8 Parámetros de color de QC vs. QMF

Muestra/ Parámetro	L*	a*	b*
QC	89.500 ± 0.175^a	-0.428 ± 0.008^a	8.538 ± 0.134^a
QMF	89.452 ± 0.284^b	-1.836 ± 0.078^b	8.018 ± 0.266^a

Datos expresados como la media \pm error estándar. Determinación realizada por triplicado. Diferente letra en la columna indica diferencia significativa ($p < 0.05$) por medio de la prueba de Dunnett

7. CONCLUSIONES

- ✓ El tratamiento de 0.75 bar a 4x y 45°C fue el que mayor flujo obtuvo ($21.51 \pm 0.41 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) lo que indica el buen desempeño de la membrana para la separación de proteína así como mayor contenido de proteína total ($56.8 \pm 0.063 \text{ g/L}$) lo que representa un mayor contenido respecto a la leche descremada ($31.8 \pm 0.038 \text{ g/L}$), debido a la concentración de la proteína en el retenido.
- ✓ A un FC 2x se observó efecto de la temperatura en la concentración de proteína en el retenido, a 4x no se observó dicho efecto. Esto puede deberse a que el aumento de la temperatura disminuye la viscosidad del concentrado afectando la concentración y separación de las proteínas, aunque al aumentar el FC se ve disminuido el efecto.
- ✓ La presión afectó la concentración de proteína en el retenido a un FC 2x, obteniéndose mayor porcentaje a menor presión, esto puede deberse a que el aumento de presión acumula solutos sobre la membrana afectando el proceso de MF. A FC 4x no se observó diferencia significativa respecto de la presión, sino del FC en sí, lo cual indica que la presión ejerce un efecto hasta cierto punto.
- ✓ La MF es un proceso que permite la estandarización de proteína, disminuye el uso de aditivos y suero generado posterior a la coagulación del retenido.
- ✓ Se obtuvo un queso de composición fisicoquímica y sensorial similar al QC, aunque, algunas mejoras en el proceso de elaboración del queso y su formulación pueden aumentar el agrado general del QMF.
- ✓ Un rendimiento de 20% fue obtenido en el QMF que comparado con el QC representa un 8% más.
- ✓ Una reducción de cuajo de 75% fue observada sin tener un efecto en el contenido de proteína total, lo cual, puede ser explicado por el aumento en la relación de caseína/proteína total.
- ✓ Dicho aumento además causó una disminución en el tiempo de coagulación, ya que se requiere que menor cantidad de κ -caseína sea hidrolizada para la formación del gel.

- ✓ Se puede disminuir o incluso eliminar la adición de cloruro de calcio, debido a que por el proceso de concentración en sí, se puede concentrar el calcio asociado a las micelas de caseína.
- ✓ Una reducción de suero del 17% fue obtenida por medio de la MF ya que como parte de la concentración para la obtención del retenido se separa el permeado, antes de la elaboración del queso. Además, el permeado puede ser usado en la elaboración de otros tipos de productos como pueden ser bebidas.
- ✓ La textura es uno de los parámetros más afectados en QMF, durante la evaluación fisicoquímica no se observó diferencia significativa, aun así, sensorialmente el QMF fue percibido como diferente, principalmente debido a que el consumidor hace una evaluación que engloba todo el proceso de masticación.
- ✓ Sensorialmente fueron obtenidas diferencias significativas entre el QMF y el QC, aunque dichas diferencias no fueron muy marcadas, sin embargo, se sugirió una mejora de la textura y el aroma del QMF.

8. REFERENCIAS

Andrews, P. 1964. Estimation of the molecular weights of proteins by Sephadex gel-filtration. *Biochem. J.* 91:222–233.

Ardisson-Korat, A. V., y S. S. H. Rizvi. 2004. Vatless Manufacturing of Low-Moisture Part-Skim Mozzarella Cheese from Highly Concentrated Skim Milk Microfiltration Retentates. *J. Dairy Sci.* 87:3601–3613.

Astudillo Castro, C. 2010. Estudio de microfiltración de leche con membranas cerámicas para la obtención de concentrado de caseínas y proteínas de suero. Disponible from: <http://dspace2.conicyt.cl/handle/10533/76674>

Atra, R., G. Vatai, E. Bekassy-Molnar, y A. Balint. 2005. Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *J. Food Eng.* 67:325–332.

Attia, H., M. Bannasar, y B. T. De La Fuente. 1991. Study of the fouling of inorganic membranes by acidified milks using scanning electron microscopy and electrophoresis. I. Membrane with pore diameter 0.2 μm . *J. Dairy Res.* 58:39–50.

Banks, J.M. 2007. Ultrafiltration of cheese milk. In: *Cheese problems solved*. CRC Press. p. 30–32.

Beckman, S. L., y D. M. Barbano. 2013. Effect of microfiltration concentration factor on serum protein removal from skim milk using spiral-wound polymeric membranes¹. *J. Dairy Sci.* 96:6199–6212.

Beckman, S. L., J. Zulewska, M. Newbold, and D. M. Barbano. 2010. Production efficiency of micellar casein concentrate using polymeric spiral-wound microfiltration membranes. *J. Dairy Sci.* 93:4506–4517.

Bönisch, M. P., T. C. Heidebach, y U. Kulozik. 2008. Influence of transglutaminase protein cross-linking on the rennet coagulation of casein. *Food Hydrocoll.* 22:288–297.

Brandsma, R. L., y S. S. H. Rizvi. 1999. Depletion of Whey Proteins and Calcium by Microfiltration of Acidified Skim Milk Prior to Cheese Making¹. *J. Dairy Sci.* 82:2063–2069.

Brandsma, R. L., y S. S. H. Rizvi. 2001. Manufacture of Mozzarella cheese from highly-concentrated skim milk microfiltration retentate depleted of whey proteins¹. *Int. J. Food Sci. Technol.* 36:611–624.

Brans, G., C. G. P. H. Schroën, R. G. M. van der Sman, y R. M. Boom. 2004. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *J. Membr. Sci.* 243:263–272.

Britten, M., and Y. Pouliot. 1996. Characterization of whey protein isolate obtained from milk microfiltration permeate. *Le Lait* 76:255–265.

Bylund, G. 2003. Membrane filters. In: *Handbook milk and dairy products*. Mundi-Prensa Libros. p. 125.

Caron, A., D. St-Gelais, y Y. Pouliot. 1997. Coagulation of milk enriched with ultrafiltered or diafiltered microfiltered milk retentate powders. *Int. Dairy J.* 7:445–451.

Cheryan, M. 1988. Membrane Chemistry, Structure, and Function. In: *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*. Pennsylvania Technomic Publishing AG. p. 31–35.

Chollangi, A. 2009. Comparison of two ultrafiltration membrane systems for whole milk feta cheese production: a thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Technology in Food Technology at Massey University, Auckland, New Zealand. Disponible from: <http://mro.massey.ac.nz/handle/10179/1060>

Crowley, S. V., V. Caldeo, N. A. McCarthy, M. A. Fenelon, A. L. Kelly, y J. A. O'Mahony. 2015. Processing and protein-fractionation characteristics of different polymeric membranes during filtration of skim milk at refrigeration temperatures. *Int. Dairy J.* 48:23–30.

Cunha, C. R. da, W. H. Viotto, y L. A. Viotto. 2006. Use of low concentration factor ultrafiltration retentates in reduced fat “Minas Frescal” cheese manufacture: Effect on composition, proteolysis, viscoelastic properties and sensory acceptance. *Int. Dairy J.* 16:215–224.

Dalgleish, D. G., y M. Corredig. 2012. The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 3:449–467.

Dilanjan, S. C., F. Kühn, y C. B. de Q. y Fernández. 1984. *Fundamentos de la elaboración del queso*. Acribia.

Dong, J.-Y., L.-J. Chen, J.-L. Maubois, y Y. Ma. 2009. Influence of medium-concentration factor microfiltration treatment on the characteristics of low-moisture Mozzarella cheese. *Dairy Sci. Technol.* 89:139–154.

DuBois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, y F. Smith. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28:350–356.

Espina, V. S., M. Y. Jaffrin, M. Frappart, y L.-H. Ding. 2008. Separation of casein micelles from whey proteins by high shear microfiltration of skim milk using rotating ceramic membranes and organic membranes in a rotating disk module. *J. Membr. Sci.* 325:872–879.

Ferreira, D. N., D. B. Moura, C. R. Cunha, and W. H. Viotto. 2006. Rheological properties of reduced fat mozzarella cheese made by direct acidification using low concentration factor ultrafiltration retentates. *Desalination* 200:552–554.

Foegeding, E. A., y M. A. Drake. 2007. Invited Review: Sensory and Mechanical Properties of Cheese Texture¹. *J. Dairy Sci.* 90:1611–1624.

Fox, P. F. 2001. Milk proteins as food ingredients. *Int. J. Dairy Technol.* 54:41–55.

Fox, P. F., G. T. P., y M. P. L. H., Cogan, T. M. 2000. Cheese: Historical Aspects. In: *Fundamentals of cheese science*. Aspen Publishers, Inc. p. 1–5.

Fox, P. F., y P. L. H. McSweeney. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Springer Science & Business Media.

García Islas Briselda. 2006. Caracterización físico-química de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de Tulancingo hgo con el fin de proponer normas de calidad [Ingeniero Agroindustrial]. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tulancingo de Bravo Hidalgo. Disponible from: http://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icap/LI_GranSem/Norma_Vera/11.pdf

Gésan-Guiziou, G., E. Boyaval, y G. Daufin. 1999. Critical stability conditions in crossflow microfiltration of skimmed milk: transition to irreversible deposition. *J. Membr. Sci.* 158:211–222.

Govindasamy-Lucey, S., J. J. Jaeggi, M. E. Johnson, T. Wang, y J. A. Lucey. 2007. Use of Cold Microfiltration Retentates Produced with Polymeric Membranes for Standardization of Milks for Manufacture of Pizza Cheese. *J. Dairy Sci.* 90:4552–4568.

Govindasamy-Lucey, S., J. J. Jaeggi, C. Martinelli, M. E. Johnson, y J. A. Lucey. 2011. Standardization of milk using cold ultrafiltration retentates for the manufacture of Swiss cheese: Effect of altering coagulation conditions on yield and cheese quality. *J. Dairy Sci.* 94:2719–2730.

Guerra-Martínez, J. A., J. G. Montejano, y S. T. Martín-del-Campo. 2012. Evaluation of proteolytic and physicochemical changes during storage of fresh Panela cheese from Queretaro, Mexico and its impact in texture. *CyTA - J. Food* 10:296–305.

Gunasekaran, S., y M. M. Ak. 2002. *Cheese Rheology and Texture*. CRC Press.

Gutiérrez Méndez Néstor. 2013. Texture profile analysis of Fresh cheese and Chihuahua cheese using miniature cheese models - Texture_profile_analysis_of_Fresh_cheese_and_Chihuahua_cheese_using_miniat ure_cheese_models.pdf. Disponible from: http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v7n2/Data/Texture_profile_analysis_of_Fresh_cheese_and_Chihuahua_cheese_using_miniat ure_cheese_models.pdf

Hausmann, A., D., M. ., and Demmer, T. 2012. Principle of membrane filtration. In: Membrane procesing dairy and beverage applications. John Wiley & Sons. p. 17–25.

Heino. 2010. Microfiltration in cheese and whey processing. University of Helsinki, Viikki, Helsinki.

Heino, A., J. Uusi-Rauva, y M. Outinen. 2010. Pre-treatment methods of Edam cheese milk. Effect on cheese yield and quality. LWT - Food Sci. Technol. 43:640–646.

Hurt, E., J. Zulewska, M. Newbold, and D. M. Barbano. 2010. Micellar casein concentrate production with a 3X, 3-stage, uniform transmembrane pressure ceramic membrane process at 50°C. J. Dairy Sci. 93:5588–5600.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). INEGI. Disponible from: http://www.inegi.org.mx/Default_encabezado.aspx

Jelen, P. 1992. Whey Cheeses and Beverages. In: J. G. Zadow, editor. Whey and Lactose Processing. Springer Netherlands. p. 157–193. Disponible from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-2894-0_5

Jiménez-Guzmán, J., A. Flores-Nájera, A. E. Cruz-Guerrero, y M. García-Garibay. 2009. Use of an exopolysaccharide-producing strain of *Streptococcus thermophilus* in the manufacture of Mexican Panela cheese. LWT - Food Sci. Technol. 42:1508–1512.

Kailasapathy, K. 2008. Chemical Composition, Physical and Functional Properties of Milk and Milk Ingredients. In: R. C. C. P. D. C. E. Consultant, editor. Dairy Processing & Quality Assurance. Wiley-Blackwell. p. 75–103. Disponible from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780813804033.ch4/summary>

Kealey, K. S., y F. V. Kosikowski. 1986. Cottage Cheese from Ultrafiltered Skim Milk Retentates in Industrial Cheese Making. J. Dairy Sci. 69:1479–1483.

Koh, L. L. A., M. Ashokkumar, y S. E. Kentish. 2013. Membrane Fouling, Cleaning and Disinfection. In: A. Y. Tamime, editor. Membrane Processing. Blackwell Publishing Ltd. p. 73–106. Disponible from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118457009.ch4/summary>

Lawrence, N. D., S. E. Kentish, A. J. O'Connor, A. R. Barber, y G. W. Stevens. 2008. Microfiltration of skim milk using polymeric membranes for casein concentrate manufacture. Sep. Purif. Technol. 60:237–244.

Lobato-Calleros, C., L. Ramos-Solís, A. Santos-Moreno, y M. E. Rodríguez-Huezo. 2006. Microstructure and Texture of Panela Type Cheese-Like Products: Use of Low Methoxyl Pectin and Canola Oil as Milk-Fat Substitutes. Rev. Mex. Ing. Quím. Disponible from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62050106>

Lou, Y., and K. F. Ng-Kwai-Hang. 1992. Effects of protein and fat levels in milk on Cheddar cheese yield. *Food Res. Int.* 25:437–444.

Marella, C., K. Muthukumarappan, y L. E. Metzger. 2013. Application of membrane separation technology for developing novel dairy food ingredients. *J. Food Process. Technol.* 4:269.

Maubois, J.-L. 2002. Membrane microfiltration: a tool for a new approach in dairy technology. In: *Australian journal of dairy technology*. Vol. 57. Dairy Industry Association of Australia. p. 92–96. Disponible from: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=13866908>

Maubois, J. L., y G. Mocquot. 1975. Application of Membrane Ultrafiltration to Preparation of Various Types of Cheese. *J. Dairy Sci.* 58:1001–1007.

Milk microfiltrate, a convenient starting material for fractionation of whey proteins and derivatives. 2001. In: *Hamburg, Germany*. p. 59–72.

Mistry, V. V. 2004. Application of membrane separation technology to cheese production. In: *Cheese chemistry, physics, and microbiology*. Elsevier Academic Press, London. p. 261–286.

Mohamed B. El-Alfy, M. E. S. 2008. Using Ultrafiltered (Uf) Retentate in Mozzarella Cheese Making.

Mohammad, A. W., C. Y. Ng, Y. P. Lim, y G. H. Ng. 2012. Ultrafiltration in Food Processing Industry: Review on Application, Membrane Fouling, and Fouling Control. *Food Bioprocess Technol.* 5:1143–1156.

Nájera, A. I., M. de Renobales, y L. J. R. Barron. 2003. Effects of pH, temperature, CaCl₂ and enzyme concentrations on the rennet-clotting properties of milk: a multifactorial study. *Food Chem.* 80:345–352.

Nelson, B. K., y D. M. Barbano. 2005. A Microfiltration Process to Maximize Removal of Serum Proteins from Skim Milk Before Cheese Making. *J. Dairy Sci.* 88:1891–1900.

Neocleous, M., D. M. Barbano, y M. A. Rudan. 2002a. Impact of Low Concentration Factor Microfiltration on Milk Component Recovery and Cheddar Cheese Yield. *J. Dairy Sci.* 85:2415–2424.

Neocleous, M., D. M. Barbano, y M. A. Rudan. 2002b. Impact of low concentration factor microfiltration on milk component recovery and Cheddar cheese yield. *J. Dairy Sci.* 85:2415–2424.

Ng-Kwai-Hang, K. F., I. Politis, R. I. Cue, y A. S. Marziali. 1989. Correlations Between Coagulation Properties of Milk and Cheese Yielding Capacity and Cheese Composition. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 22:291–294.

Ochoa Flores AA, G. G. S. 2013. Rendimiento, firmeza y aceptación sensorial de queso panela adicionado con estabilizantes. *Univ. Cienc.* 23:277–286.

Ong, L., R. R. Dagastine, S. E. Kentish, y S. L. Gras. 2013. Microstructure and Composition of Full Fat Cheddar Cheese Made with Ultrafiltered Milk Retentate. *Foods* 2:310–331.

Raja Ghosh. 2008. Ultrafiltration-Based Protein Bioseparation. In: *Handbook of Membrane Separations*. CRC Press. p. 497–511. Disponible from: <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9781420009484.ch18>

Ramachandra Rao, H. G. 2002. Mechanisms of flux decline during ultrafiltration of dairy products and influence of pH on flux rates of whey and buttermilk. *Desalination* 144:319–324.

Saboya, L. V., H. Goudardranche, J.-L. Maubois, A. L. S. Lerayer, y S. Lortal. 2001. Impact of broken cells of lactococci or propionibacteria on the ripening of Saint-Paulin UF-cheeses: extent of proteolysis and GC-MS profiles. *Le Lait* 81:699–713.

SAGARPA. 2015. Boletín de leche. México, DF. Disponible from: http://www.siap.gob.mx/wp-content/uploads/boletinleche/boletinlechenero-marzo_2015.pdf

Sandra, S., C. Cooper, M. Alexander, y M. Corredig. 2011. Coagulation properties of ultrafiltered milk retentates measured using rheology and diffusing wave spectroscopy. *Food Res. Int.* 44:951–956.

SE. 2012. Análisis del sector lácteo en México.

Smith, K. 2013. Commercial Membrane Technology. In: A. Y. Tamime, editor. *Membrane Processing*. Blackwell Publishing Ltd. p. 52–72. Disponible from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118457009.ch3/summary>

Solís-Méndez, A. D., J. G. Estrada-Flores, y O. A. Castelán-Ortega. 2013. A study on the texture diversity of the Artisan Ranchero Cheese from Central Mexico. *Int. J. Dairy Technol.* 66:37–44.

St-Gelais, D., D. Roy, y P. Audet. 1998. Manufacture and composition of low fat Cheddar cheese from milk enriched with different protein concentrate powders. *Food Res. Int.* 31:137–145.

Tamime, A. Y. 2009. *Dairy Powders and Concentrated Products*. John Wiley & Sons.

Tamime, A. Y. 2012. *Membrane Processing: Dairy and Beverage Applications*. John Wiley & Sons.

Vadi, P. K., and S. S. H. Rizvi. 2001. Experimental evaluation of a uniform transmembrane pressure crossflow microfiltration unit for the concentration of micellar casein from skim milk. *J. Membr. Sci.* 189:69–82.

Vetier, C., M. Bennasar, y B. T. de la Fuente. 1988. Study of the fouling of a mineral microfiltration membrane using scanning electron microscopy and physicochemical analyses in the processing of milk. *J. Dairy Res.* 55:381–400.

Wagner, J. 2001. *Membrane Filtration Handbook: Practical Tips and Hints.* Osmonics.

Walstra, P., W. J. T. M, y Geurts, T. J.,. 2006. Milk components. In: *Dairy science and technology.* CRC Press, New York. p. 19–23.

Zulewska, J., M. Newbold, y D. M. Barbano. 2009. Efficiency of serum protein removal from skim milk with ceramic and polymeric membranes at 50 degrees C. *J. Dairy Sci.* 92:1361–1377.