



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**MICROESTRUCTURA Y TEXTURA DE QUESO
FRESCO AL SUSTITUIR SU FRACCIÓN GRASA CON
EMULSIONES ACEITE-AGUA Y PROTEÍNAS DE
LACTOSUERO**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

PRESENTA:

JUAN REYES HERNÁNDEZ



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Chapingo, Estado de México, mayo de 2005

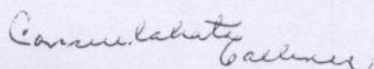


**MICROESTRUCTURA Y TEXTURA DE QUESO FRESCO AL SUSTITUIR
SU FRACCIÓN GRASA CON EMULSIONES ACEITE-AGUA Y
PROTEÍNAS DE LACTOSUERO.**

Tesis realizada por **Juan Reyes Hernández** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

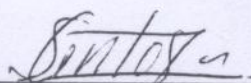
**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

DIRECTOR:



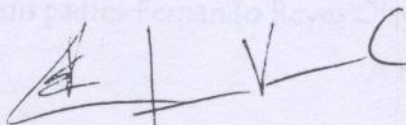
Dra. Consuelo Lobato Calleros

ASESOR:



M.C. Armando Santos Moreno

ASESOR:



Dr. Jaime Vernon Carter

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, por permitirme alcanzar más de mis grandes metas.

Al Departamento de Ingeniería Agroindustrial y a la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, por mi formación recibida.

A mi directora de tesis Dra. Consuelo Lobato Calles, por su valiosa amistad, los conocimientos aportados, su apoyo incondicional y por su confianza para la realización de esta investigación.

Al M.C. Armando S. A. Moreno y al Dr. Jaime Vernon Carter, por su contribución a la culminación de este trabajo.

A la M.C. Yolanda Hernández Uribe del Instituto de Limnología y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su gran colaboración en la parte microestructural de esta investigación.

Al Dr. Arturo Hernández Morales y M.C. David Rubio Hernández, por todo el apoyo brindado durante mi estancia en esta maestría.

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme lograr una meta más en mi vida.

A mis padres Fernando Reyes Olaya y Magdalena Hernández Bautista.

A mis hermanos Álvaro, José y Yanet.

A mis cuñadas Ruth y Yeny.

A mis amigos y familiares.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, por permitirme alcanzar otra de mis grandes metas.

Al Departamento de Ingeniería Agroindustrial y a la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, por mi formación recibida.

A mi directora de tesis Dra. Consuelo Lobato Calleros, por su valiosa amistad, los conocimientos aportados, su apoyo incondicional y por su confianza para la realización de esta investigación.

Al M.C. Armando Santos Moreno y al Dr. Jaime Vernon Carter, por su contribución a la culminación de este trabajo.

A la M.C. Yolanda Hornelas Uribe del Instituto de Limnología y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su gran colaboración en la parte microestructural de esta investigación.

Al Dr. Arturo Hernández Montes y M.C. David Rubio Hernández, por todo el apoyo brindado durante mi estancia en esta maestría.

A la secretaria Rosa Carmina Romero Vázquez y al Sr. Hugo Flores Rodríguez, por la amistad brindada y su apoyo incondicional.

A mis grandes amigos de la Maestría, por su valiosa amistad y por todos los gratos momentos compartidos en todo este tiempo.

A todos los profesores de la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, por los conocimientos y experiencias brindadas.

Juan Reyes Hernández nació el 17 de julio de 1977 en México D.F. Su formación académica inició con sus estudios Básicos en el Distrito Federal. Posteriormente realizó sus estudios de Nivel Medio Básico y Medio Superior en el municipio de Coxcatlán, San Luis Potosí. Su educación Superior la realizó en la Universidad Autónoma Chapingo en Texcoco, Estado de México, donde obtuvo el título de Ingeniero Agroindustrial.

RESUMEN

Juan Reyes Hernández

MICROESTRUCTURA Y TEXTURA DE QUESO FRESCO AL SUSTITUIR SU FRACCIÓN GRASA CON EMULSIONES ACEITE-AGUA Y PROTEÍNAS DE LACTOSUERO

Mayo, 2005

(Bajo la dirección de C. Lobato Calleros)

Se prepararon nueve productos tipo queso Panela (PTQ) a partir de leche, cuya fracción grasa estuvo constituida por aceite de canola emulsionado y/o grasa láctea (0.1 a 24.0 g L^{-1}), adicionada con concentrado de proteína de lactosuero (0 a 10 g L^{-1}). Se elaboró un queso tipo Panela completo en grasa láctea (CG_{24}) como control, a partir de leche conteniendo $24 \text{ g grasa L}^{-1}$. Los PTQ y el CG_{24} , se sometieron a análisis químico proximal, determinación de análisis de perfil de textura instrumental y análisis estructural (Microscopía Electrónica de Barrido). La composición química y microestructura de los PTQ, fueron diferentes de aquellas exhibidas por el CG_{24} y estuvieron determinadas por la naturaleza, concentración y propiedades funcionales de su fracción grasa, emulsificantes de bajo peso molecular y proteínas de lactosuero adicionadas a la leche. Se obtuvieron modelos polinomiales que estiman las características texturales de los PTQ, en función de las concentraciones de aceite de canola, emulsificantes y proteína de lactosuero en la leche usada en su preparación. Los modelos polinomiales indicaron que los emulsificantes individualmente e interactuando con las proteínas de lactosuero adicionadas, afectaron las características texturales de los PTQ.

Palabras clave: Queso tipo Panela, microestructura, textura, emulsiones aceite-agua.

Key words: Panela cheese, microstructure, texture, oil-water emulsions.

ABSTRACT

Juan Reyes Hernández

MICROSTRUCTURE AND TEXTURE OF FRESH CHEESE WHEN SUBSTITUTING ITS MILK-FAT CONTENT WITH OIL-WATER EMULSIONS AND WHEY PROTEINS

mayo, 2005

(Under the direction of C. Lobato-Calleros)

Nine Panela cheese-like products (PTQ) were prepared from milk with a fat content composed of emulsified canola oil and/or milk-fat (0.1 a 24.0 g L^{-1}), and with whey protein concentrate (0 a 10 g L^{-1}) added to them. A full-fat Panela cheese (CG₂₄) was elaborated using milk containing 24 g of milk-fat L^{-1} as a control. The PTQ cheeses and CG_{24G} cheese were subjected to approximate chemical analysis, instrumental texture profile determination analysis and structural analysis (Scanning Electron Microscopy). The chemical composition and microstructure of the PTQ cheeses were different from those exhibited by the CG_{24G} cheese, and they were determined by the nature, concentration and functional properties of their fat content, low-molecular weight emulsifiers and whey protein added to the milk. Polynomial models, which estimate the textural characteristic values of the PTQ cheeses, were obtained in function of the canola oil, emulsifiers and whey protein concentrations in the milk used to prepare these same PTQ cheeses. The polynomial models indicated that the emulsifiers, both individually and interacting with whey proteins, affected the textural characteristics of the PTQ cheeses.

Key words: Panela cheese, microstructure, texture, oil-water emulsions.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
LISTADE CUADROS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1. Queso Panela: Características y proceso de elaboración.....	2
2.2. Grasa láctea.....	4
2.3. Tendencias en el consumo de grasa.....	4
2.4. Influencia de la grasa en las características del queso.....	5
2.5. Métodos usados en la elaboración de quesos reducidos en grasa.....	6
2.6. Sustitutos de grasa.....	7
2.7. Características de las proteínas de lactosuero.....	8
2.8. Textura.....	9
2.8.1. Medición instrumental de la textura.....	11
2.9. Microestructura.....	11

3. MICROESTRUCTURA Y TEXTURA DE QUESO FRESCO AL SUSTITUIR SU FRACCIÓN GRASA CON EMULSIONES ACEITE-AGUA Y PROTEÍNAS DE LACTOSUERO.....	12
3.1. Resumen.....	12
3.2. Abstract.....	13
3.3. Introducción.....	14
3.4. Materiales y métodos.....	17
3.4.1. Ubicación del trabajo.....	17
3.4.2. Tratamientos.....	17
3.4.3. Proceso de elaboración.....	18
3.4.3.1. Estandarización del contenido en grasa láctea de la leche inicial.....	18
3.4.3.2. Formulación de la leche.....	19
3.4.3.3. Proceso de manufactura de los tratamientos.....	20
3.4.4. Determinación de la composición química de los tratamientos.....	21
3.4.5. Determinación de las características texturales.....	22

3.4.6. Determinación de la microestructura.....	22
3.4.7. Análisis de datos.....	23
3.5. Resultados y discusión.....	24
3.5.1. Composición química de los tratamientos.....	24
3.5.2. Características estructurales de los tratamientos.....	28
3.5.3. Características texturales.....	43
3.6. Conclusiones.....	51
3.7. Literatura citada.....	54
4. LITERATURA.....	60

LISTA DE FIGURAS

Página

LISTA DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Tratamientos de queso.....	18
Cuadro 2. Composición química de los tratamientos de queso.....	24
Cuadro 3. Características texturales de los tratamientos de queso.....	43
Cuadro 4. Modelos polinomiales que estiman las características texturales de los quesos.....	46

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Proceso de elaboración del queso Panela.....	3
Figura 2 Micrografía electrónica de barrido del queso completo en grasa	40
CG _{24G}	29
Figura 3. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso	41
PTQ1 _{24A}	30
Figura 4. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso	42
PTQ2 _{10W}	32
Figura 5. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso	43
PTQ3 _{12G-12A}	33
Figura 6. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso	44
PTQ4 _{12A-5W}	35
Figura 7. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso	45
PTQ5 _{12G-5W}	37
Figura 8. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso	46
PTQ6 _{8G-8A-3.3W}	38

1. INTRODUCCIÓN

Los hábitos alimenticios de la población referentes al consumo de grasa, entre todo de aquella de tipo saturado, pueden contribuir a la aparición de graves enfermedades entre ellas: hipertensión arterial, padecimientos cardiovasculares y obesidad. Las recomendaciones dietéticas actuales, incluyen reducciones en la cantidad de grasa

Figura 9. Micrografía electrónica de barrido de un glóbulo de grasa del

PTQ6_{8G-8A-3.3W}..... 39

Figura 10. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso

PTQ7_{15.9G-4A-1.7W}..... 40

Figura 11. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso

PTQ8_{4G-15.9A-1.7W}..... 41

Figura 12. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso

PTQ9_{4G-4A-6.6W}..... 42

Los hábitos alimenticios de nuestra población sufren el tipo de cambio de la demanda de productos lácteos, por consumidores que desean mantener su salud, apariciones o reducciones de grasa en los alimentos. Entre los derivados lácteos reducidos en grasa disponibles en el mercado, se encuentran algunos tipos de queso, sin embargo, el desarrollo y manufactura de estos productos se ha realizado de manera empírica en la gran mayoría de los casos y utilizando únicamente sustitutos de grasa o grasas para disminuir los efectos de la reducción de grasa sobre las cualidades del producto. Cabe destacar además que no se ha explorado la posibilidad de mejorar el balance de ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados en los derivados lácteos reducidos en grasa. La reducción de grasa en las formulaciones de los alimentos altera sus características físicas, tales como las texturales, y en consecuencia también afecta su aceptación por el consumidor. La sustitución de la grasa láctea de la leche, por aceites vegetales

1. INTRODUCCIÓN

Los hábitos alimenticios de la población referentes al consumo de grasa, sobre todo de aquella de tipo saturado, pueden contribuir a la aparición de graves enfermedades; entre ellas, hipertensión arterial, padecimientos cardiovasculares y obesidad. Las recomendaciones dietéticas actuales, incluyen reducciones en la cantidad de grasa ingerida diariamente. Lo antes expuesto, ha impulsado, desde hace algunos años, la introducción de alimentos bajos en grasa en el mercado, los cuales faciliten a los consumidores la aplicación de reducciones en su ingesta de grasa, hasta niveles considerados como saludables.

La industria láctea de nuestro país enfrenta el reto de cubrir la demanda de productos reducidos en grasa, por consumidores que desean mantener su salud, apariencia o requieren someterse a regímenes especiales. Entre los derivados lácteos reducidos en grasa disponibles en el mercado, se encuentran algunos tipos de queso; sin embargo, el desarrollo y manufactura de estos productos se ha realizado de manera empírica en la gran mayoría de los casos y utilizando únicamente sustitutos de grasa o gomas para disminuir los efectos de la reducción de grasa sobre las cualidades del producto. Cabe considerar además que no se ha explorado la posibilidad de mejorar el balance de ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados en los derivados lácteos reducidos en grasa.

La reducción de grasa en las formulaciones de los alimentos altera sus características mecánicas, tales como las texturales, y en consecuencia también afecta su aceptación por el consumidor. La sustitución de la grasa láctea de la leche, por aceites vegetales

emulsionados, constituye una opción a explorar para la obtención de quesos con un balance graso (ácidos grasos saturados/insaturados) más saludable.

Entre los ingredientes usados como sustitutos de grasa en la industria de los alimentos, se encuentran aquellos basados en proteínas de lactosuero, las cuales además de presentar excelentes propiedades emulsificantes son bien conocidas por su alto valor nutricional.

El objetivo de esta investigación fue determinar la microestructura y las características instrumentales de textura de queso fresco elaborado mediante la sustitución parcial de la grasa láctea por aceite de canola emulsificado y/o concentrado de proteína de lactosuero, en comparación con un queso control completo en grasa láctea.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Queso Panela: Características y proceso de elaboración

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

Figura 1. Proceso de elaboración del queso Panela

El queso Panela se elabora generalmente con leche entera, tiene un sabor a leche fresca y dulce; es un queso que se rebana y desmenuza fácilmente. Contiene aproximadamente 53-58 % humedad, 19-25 % grasa, 18-22 % proteína, y entre 1.3-1.8 % sal, además de tener un pH de 5.6-6.4. Este tipo de queso es algunas veces conocido como “canasto”, porque la cuajada se coloca en canastos de plástico para su enfriamiento y drenado, adquiriendo forma de canasto y quedando impresas en su superficie las tiras cruzadas del molde (Van Hekken y Farkye, 2003).

El proceso de elaboración del queso Panela, ha sido descrito por varios autores; sin embargo, en general, todos los procesos son muy similares, variando en factores como temperatura y tiempo de oreado, método de salado, etc. Lobato-Calleros *et al.* (1987), han investigado las propiedades mecánicas resultantes en este tipo de queso, al variar su composición química, y proponen el proceso de elaboración descrito en la figura 1.

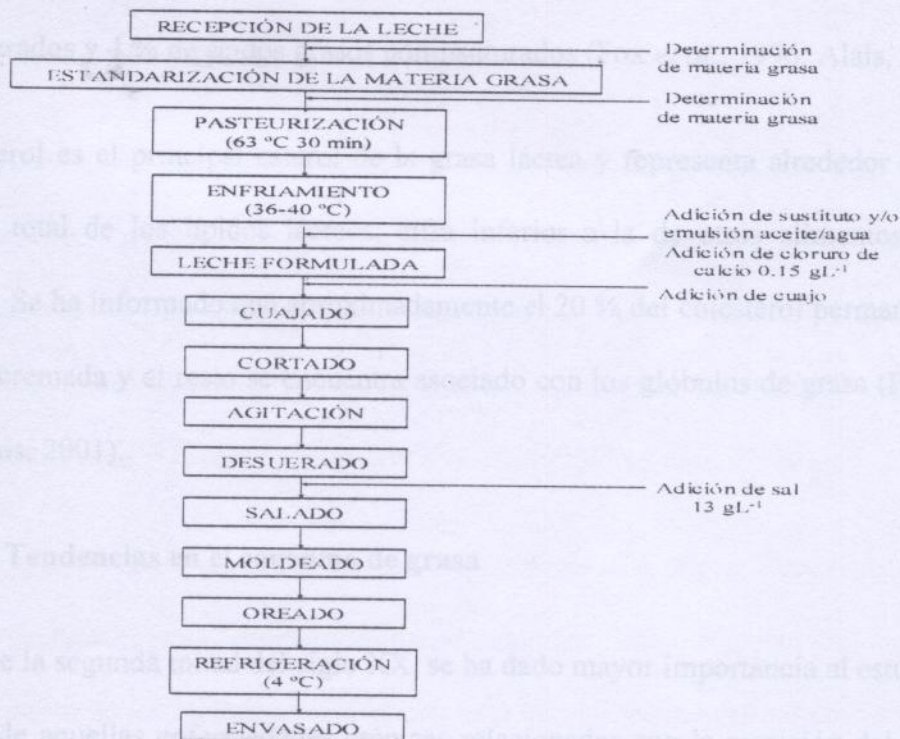


Figura 1. Proceso de elaboración del queso Panela

2.2. Grasa láctea

El contenido de grasa láctea en el queso, varía considerablemente, dependiendo de la leche usada o el método de manufactura (Fox *et al.*, 1996). Los lípidos de la leche figuran entre los constituyentes más importantes de la leche, por razones económicas, nutritivas y por las características físicas y sensoriales que imparten a los productos lácteos.

En la grasa láctea se encuentran tres clases de sustancias asociadas: la materia grasa, constituida por triglicéridos, que se supone alrededor del 98 % del conjunto; los fosfolípidos en una proporción de 0.5 - 1 % y sustancias insaponificables, diferentes de las precedentes desde el punto de vista químico, pero insolubles en el agua y solubles en las grasas, en concentración cercana al 1 % (Alais, 2001). La grasa láctea contiene aproximadamente 66 % de ácidos grasos saturados, 30 % de ácidos grasos monosaturados y 4 % de ácidos grasos poliinsaturados (Fox *et al.*, 1996; Alais, 2001).

El colesterol es el principal esteroide de la grasa láctea y representa alrededor de 0.3 % (p/p) del total de los lípidos lácteos; cifra inferior a la de otros alimentos de gran consumo. Se ha informado que aproximadamente el 20 % del colesterol permanece en la leche descremada y el resto se encuentra asociado con los glóbulos de grasa (Fox *et al.*, 1996; Alais, 2001).

2.3. Tendencias en el consumo de grasa

A partir de la segunda mitad del siglo XX, se ha dado mayor importancia al estudio de la etiología de aquellas enfermedades crónicas relacionadas con la nutrición del paciente,

puesto que se han convertido en importantes causas de mortalidad, sustituyendo a las enfermedades infecciosas. La atención se ha centrado en el papel de la dieta del ser humano sobre la conservación de su salud y la reducción del riesgo de contraer dichas enfermedades crónicas, tales como cáncer, hipertensión arterial, obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares, entre otras (Lawson, 1999).

De esta forma, y a pesar de los beneficios para el organismo e indiscutibles atributos sensoriales que puede generar la presencia de grasa en los alimentos, en los últimos 20 años, diversas organizaciones ligadas a la salud han recomendado reducciones en la ingesta de grasa en general y de grasa saturada en particular; de tal forma que el aporte de la primera no sobrepase el 30 % de la densidad energética total de la dieta y en el caso de la segunda, no contribuya con más del 10 % de dicha energía (Fox *et al.*, 1996; Giese, 1996; Pszczola, 1996; Lawson, 1999).

2.4. Influencia de la grasa en las características del queso

La grasa desempeña funciones importantes en el queso, entre éstas las relacionadas con textura y sabor. La influencia de la grasa en el sabor del queso depende de la variedad; en algunas variedades, como el queso tipo Manchego o el Cheddar, los ácidos grasos libres y sus metabolitos son importantes constituyentes de su sabor (Dziezak, 1989; Clark, 1994; Lucca y Tepper, 1994; Drake *et al.*, 1996; Fox *et al.*, 1996).

Al ser la grasa, uno de los componentes estructurales más importantes del queso, junto con la proteína y el agua, alteraciones en su contenido, tipo y distribución, modifican el arreglo interno de los elementos que conforman la microestructura del producto (Bryant *et al.*, 1995; Rosenberg *et al.*, 1995; Zalazar *et al.*, 1998) y como consecuencia su textura

es afectada (Chen *et al.*, 1979; Rayan *et al.*, 1980; Lawrence *et al.*, 1984; Pangborn y Eymery, 1988; Marshall, 1990; Glicksman, 1991; Stampanoni y Noble, 1991; Tunick *et al.*, 1991; Anderson y Mistry, 1994; Bryant y *et al.*, 1995; Metzger y Mistry, 1995; Ustunol *et al.*, 1995; Punidadas *et al.* 2000).

Son varias las características texturales del queso que son alteradas al modificar su contenido graso, entre ellas destacan: dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad, cremosidad y masticabilidad. Al reducir el contenido graso, la matriz proteínica del queso se compacta, resultando quesos de textura más elástica, chiclosa y firme que la de su contraparte completa en grasa (Jamenson, 1990; Fenelon y Guinee, 1997; Zalazar *et al.*, 1998).

2.5. Métodos usados en la elaboración de quesos reducidos en grasa

Diversas modificaciones al proceso de elaboración del queso bajo o reducido en grasa han sido propuestas por distintos investigadores con el fin de mejorar la aceptabilidad del producto. Entre ellas destaca la homogenización de la leche o grasa, adición de cultivos adjuntos no atenuados y atenuados por aplicación de calor o bajas temperaturas, aceleración de la maduración por temperaturas mayores a las aplicadas normalmente, adición de enzimas encapsuladas, lipasas y proteasas exógenas, así como la incorporación de ingredientes que imitan algunas propiedades funcionales de la grasa láctea (Phillips y Barbano, 1997; Rudan *et al.*, 1998; Lo y Bastian, 1998; Mann, 2000).

2.6. Sustitutos de grasa

Los sustitutos de grasa son ingredientes que se han intentado utilizar en la reducción del contenido graso y valor calórico de algunos alimentos, con la finalidad de compensar en lo posible, los atributos sensoriales que la grasa otorga a los alimentos (Drake *et al.*, 1996). Se ha sugerido la incorporación de diversos sustitutos de grasa con la finalidad de desarrollar propiedades mecánicas en los productos alimenticios, y en particular en el queso, de tal manera que este alimento cumpla con las expectativas sensoriales de los consumidores (McMahon *et al.*, 1996). Los sustitutos de grasa disponibles en el mercado influyen de distinta manera en la composición química, el arreglo estructural y el comportamiento mecánico del producto, de acuerdo a sus características particulares, tales como naturaleza química, capacidad ligante de agua, actividad emulsificante, nivel de microparticulación, distribución e interacción con otros componentes del alimento (Singhal *et al.*, 1991; Lucca y Tepper, 1994; Mc Mahon *et al.*, 1996; Drake *et al.*, 1996).

La mayoría de los ingredientes que se proponen como sustitutos de la grasa de los alimentos, pueden ser clasificados en tres grandes categorías: de base proteínica, base sacárida y base grasa. El uso o potencial de uso de cada sustituto de grasa, depende del producto alimenticio, nivel de sustitución y contenido de grasa inicial (Lobato-Calleros, *et al.*, 1998).

El uso de proteínas de lactosuero como sustituto de grasa ha sido recomendado, debido a la amplia diversidad de sus propiedades funcionales, dependientes de su proceso de obtención. Por ejemplo, existe en el mercado proteína de lactosuero microparticulada, cuyos agregados tienen dimensiones similares a las de los glóbulos de grasa láctea.

Las proteínas son, en general, menos efectivas para ligar agua que los almidones. Sin embargo, se ha demostrado que el menor carácter hidrofóbico de las proteínas particularmente de las proteínas desnaturalizadas, aumentan su habilidad emulsificante e interacciones con otros componentes del alimento (Clark, 1994).

El valor calórico de los imitadores grasos de base proteínica varía entre 1 y 4 Cal g⁻¹, dependiendo del grado de hidratación; es decir, menos de la mitad de las calorías de la grasa (Giese, 1996; Akoh, 1998). Los sustitutos de grasa basados en proteínas son generalmente utilizados en productos lácteos, postres, helados y margarinas (Akoh, 1998).

2.7. Características de las proteínas de lactosuero

Las proteínas del lactosuero representan aproximadamente 20 % del total de las proteínas en la leche. Como estas no son precipitadas bajo condiciones normales del queso o en la obtención de caseína, estas son recuperadas en la fracción suero que representa alrededor de 80-90 % del volumen total y contiene aproximadamente la mitad de los sólidos originales de la leche (Fox y McSweeney, 1998).

Las proteínas de lactosuero son proteínas globulares típicas con altos niveles de estructuras secundaria y terciaria, y por lo tanto, susceptibles a desnaturalizarse por varias vías. Las dos proteínas mayoritarias, la β -lactoglobulina (50 %) y la α -lactoalbúmina (20 %), son moléculas globulares compactas con una secuencia primaria uniformemente repartida en residuos polares (cargados o no) e hidrófobos. Su estructura tridimensional está estabilizada por puentes disulfuro (Fox y McSweeney, 1998).

La estructura y funcionalidad de la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina está fuertemente influenciada por la presencia simultánea de grupos tiol y disulfuro, modificando la mayor parte de sus propiedades, entre ellas la solubilidad. Sin embargo, la desnaturalización térmica se produce a temperaturas mayores de 75 °C provocando una exposición de los grupos SH al calor y un desplegamiento de las moléculas, favoreciéndose la asociación entre las mismas, así como con otras moléculas presentes (Ferry, 1948; Morr, 1982; Kneifel y Seiler, 1993; Lucca y Tepper, 1994; Dickinson y Yamamoto, 1996; Fox y McSweeney, 1998).

Las proteínas se usan a menudo como ingrediente funcional en los alimentos debido a su habilidad para estabilizar emulsiones aceite-agua (Dickinson, 1992; Phillips *et al.*, 1994; Aguilera, 1995; Huffman, 1996). En la industria láctea se utilizan como agentes de relleno por su capacidad emulsificante, de interacción con las cadenas de caseína y su habilidad de gelificación (Chen, *et al.*, 2000).

El comportamiento funcional de estas proteínas lácteas en los alimentos es muy complejo, puesto que surge de las relaciones entre las propiedades intrínsecas de las proteínas nativas, como la composición y secuencia de aminoácidos, tamaño molecular, conformación, flexibilidad, carga neta e hidrofobicidad, y los factores extrínsecos como temperatura, pH y otros componentes del alimento. Las proteínas del lactosuero, son bien conocidas por su alto valor nutritivo (de Wit, 1998).

2.8. Textura

La Organización Internacional para la Estandarización (ISO, 1992) define a la textura de un producto alimenticio como todos los atributos reológicos y estructurales (geométrico

y superficial) de un producto, perceptible por medio de receptores mecánico, táctil, auditivo y visual.

Según Lobato-Calleros (1987), las características texturales de un material, son el grupo de características físicas que surgen de la forma en la cual sus componentes estructurales están arreglados en una macro y microestructura, además, están relacionadas a la deformación, la desintegración y el flujo de un material, bajo una fuerza, y se miden objetivamente a través de funciones de masa, tiempo y distancia (Giese, 2003).

Algunos de los atributos identificados como descriptores de la textura de los alimentos son: dureza, elasticidad, cohesividad, adhesividad, fracturabilidad y masticabilidad (Meullenet *et al.*, 1999).

La textura del queso es una respuesta física relacionada con la composición y estructura de su red proteínica (Diefes *et al.*, 1993). Esta red es críticamente afectada por el contenido de proteína, grasa y agua, o bien, por las actividades bioquímicas que ocurren durante el almacenamiento.

El efecto del contenido de grasa en la microestructura y textura en el queso ha sido ampliamente estudiado. Se ha informado que la textura de queso completo en grasa es generalmente más aceptable que la de su contraparte bajo en grasa (Muir *et al.*, 1997).

La reducción en su fracción grasa los quesos tienden a ser más firmes, elásticos y con mayor adhesividad, sin embargo, la cohesividad decrece con el contenido graso (Emmons *et al.*, 1980; Olson y Johnson, 1990; Bryant *et al.*, 1995).

2.8.1. Medición instrumental de la textura

El método denominado Análisis de Perfil de Textura (TPA) es ampliamente utilizado para caracterizar de forma geométrica y mecánica a los alimentos. Esta técnica fue desarrollada por la compañía General Foods, a partir de un equipo que imita las condiciones a la que es sometido un alimento inmediatamente después de su ingestión: El alimento a caracterizar texturalmente es sujeto a una doble compresión en dos ciclos, obteniéndose una gráfica de dos picos, a partir de la cual se pueden determinar las características texturales (Bourne, 1978)

2.9. Microestructura

Mediante la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), es posible detectar diferencias sutiles en el arreglo interno de las componentes de un alimento, originadas por alteraciones en su composición química.

La microestructura del queso consiste de una matriz continua de proteína con una estructura relajada y abierta, con espacios ocupados por los glóbulos de grasa, dispersos a través de la red proteínica (Bryant *et al.*, 1995). El arreglo estructural de la red de proteína del queso determina sus características texturales y es afectada por factores tales como composición, proceso de elaboración, tamaño y distribución de las partículas de grasa, así como la proteólisis ocurrida durante la maduración (Lagoueyte *et al.*, 1994; Bryant *et al.*, 1995; Sutheerawattananonda *et al.*, 1997).

3. MICROESTRUCTURA Y TEXTURA DE QUESO FRESCO AL SUSTITUIR SU FRACCIÓN GRASA CON EMULSIONES ACEITE-AGUA Y PROTEÍNAS DE LACTOSUERO¹

Juan Reyes Hernández², Consuelo Lobato Calleros³

Armando Santos Moreno⁴, Jaime Vernon Carter⁵

3.1. Resumen

Se prepararon nueve productos tipo queso Panela (PTQ) a partir de leche, cuya fracción grasa estuvo constituida por aceite de canola emulsionado y/o grasa láctea (0.1 a 24.0 g L⁻¹), adicionada con concentrado de proteína de lactosuero (0 a 10 g L⁻¹). Se elaboró un queso tipo Panela completo en grasa láctea (CG₂₄) como control, a partir de leche conteniendo 24 g grasa L⁻¹. Los PTQ y el CG_{24G}, se sometieron a análisis químico proximal, determinación de análisis de perfil de textura instrumental y análisis estructural (Microscopía Electrónica de Barrido). La composición química y microestructura de los PTQ, fueron diferentes de aquellas exhibidas por el CG_{24G} y estuvieron determinadas por la naturaleza, concentración y propiedades funcionales de su fracción grasa, emulsificantes de bajo peso molecular y proteínas de lactosuero adicionadas a la leche. Se obtuvieron modelos polinomiales que estiman las características texturales de los PTQ, en función de las concentraciones de aceite de canola, emulsificantes y proteína de lactosuero en la leche usada en su preparación. Los modelos polinomiales indicaron que los emulsificantes individualmente e interactuando con las proteínas de lactosuero adicionadas, afectaron las características texturales de los PTQ.

Palabras clave: Queso tipo Panela, microestructura, textura, emulsiones aceite-agua.

²Estudiante de la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. ^{3,4}Profesores investigadores de la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. ⁴Profesor investigador de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

¹ Para su posible publicación en la Revista Journal of Texture Studies.

3.2. Abstract

Nine Panela cheese-like products (PTQ) were prepared from milk with a fat content composed of emulsified canola oil and/or milk-fat (0.1 a 24.0 g L⁻¹), and with whey protein concentrate (0 a 10 g L⁻¹) added to them. A full-fat Panela cheese (CG₂₄) was elaborated using milk containing 24 g of milk-fat L⁻¹ as a control. The PTQ cheeses and CG_{24G} cheese were subjected to approximate chemical analysis, instrumental texture profile determination analysis and structural analysis (Scanning Electron Microscopy). The chemical composition and microstructure of the PTQ cheeses were different from those exhibited by the CG_{24G} cheese, and they were determined by the nature, concentration and functional properties of their fat content, low-molecular weight emulsifiers and whey protein added to the milk. Polynomial models, which estimate the textural characteristic values of the PTQ cheeses, were obtained in function of the canola oil, emulsifiers and whey protein concentrations in the milk used to prepare these same PTQ cheeses. The polynomial models indicated that the emulsifiers, both individually and interacting with whey proteins, affected the textural characteristics of the PTQ cheeses.

Key words: Panela cheese, microstructure, texture, oil-water emulsions.

3.3. Introducción

Los hábitos alimenticios de los seres humanos en relación al consumo de grasa, pueden contribuir a la aparición de graves enfermedades, entre ellas la hipertensión arterial y las enfermedades cardiovasculares, además de obesidad. Desde hace algunas décadas se han introducido al mercado alimentos bajos en grasa, los cuales faciliten a los consumidores reducciones en la ingesta de grasa hasta niveles recomendados (Giese, 1996). No obstante, investigaciones recientes han demostrado que más importante aún que la cantidad de grasa ingerida, lo es su balance de ácidos grasos saturados/insaturados. Dietas con niveles altos de grasas saturadas han sido asociadas a diversas enfermedades, destacando las de carácter cardiovascular; por el contrario, dietas abundantes en grasas mono y poliinsaturadas son consideradas como saludables (Webb, 1999).

La reducción de grasa en la formulación de los alimentos altera sus características mecánicas, entre las que destacan las texturales, y en consecuencia también afecta su aceptación por el consumidor. En el caso particular del queso (alimento rico en grasa láctea de tipo saturado), se han llevado a cabo diversas investigaciones para evaluar las consecuencias de la reducción parcial o total de su contenido graso y/o su reemplazo con distintos ingredientes; entre los quesos estudiados se encuentran el Cheddar (Drake, *et al.*, 1996; Ma *et al.*, 1996; Bryant *et al.*, 1995; Fenelon y Guinee, 2000), Mozzarella (Bhaskaracharya y Shan, 2001; McMahon y Oberg, 1998; Rudan *et al.*, 1998; Fife, *et al.*, 1996; McMahon *et al.*, 1996; Tunick *et al.*, 1993) y el Manchego Mexicano (Lobato-Calleros, *et al.*, 2001). Los resultados de estas investigaciones han sido más favorables cuando se reduce solo parcialmente la grasa láctea del queso, ya que al decrecer el contenido graso, la matriz proteínica se convierte en más compacta y la textura del queso

es más elástica, chiclosa y firme que la de su contraparte completa en grasa (Zalazar *et al.*, 1998).

La sustitución de grasa láctea en la leche por aceites vegetales emulsionados, constituye una opción a explorar para la obtención de quesos con un balance graso (ácidos grasos saturados/insaturados) más saludable (Yu y Hammond, 2000). Sin embargo, al ser la grasa láctea, uno de los componentes más importantes del queso, junto con la proteína y el agua, alteraciones en su contenido, tipo y distribución, modifican la microestructura del queso (Bryant *et al.*, 1995), y como resultado también su comportamiento textural (Ustunol *et al.*, 1995; Drake *et al.*, 1996; Lobato-Calleros *et al.*, 2003).

La emulsificación de un aceite vegetal en leche descremada, involucra el uso de emulsificantes de bajo peso molecular; los que en emulsiones aceite-agua, rinden partículas grasas de tamaño variable, de acuerdo a su habilidad para disminuir la tensión interfacial (Euston *et al.*, 1995) y para estabilizar la emulsión formada (Lobato-Calleros *et al.*, 2003). Se ha informado que diferencias en el tamaño de los glóbulos grasos del queso afectan su textura, fenómeno asociado al grado de interrupción del entrecruzamiento de las cadenas de caseína de la matriz proteínica (McMahon *et al.*, 1996; Lobato-Calleros *et al.*, 2003). Adicionalmente, las lactoproteínas y los emulsificantes de bajo peso molecular compiten por su adsorción en la superficie de las partículas grasas durante la preparación de emulsiones aceite-agua (Dickinson y Tanai, 1992). La naturaleza y la concentración de las especies adsorbidas sobre las partículas grasas influyen en las interacciones caseína-glóbulos grasos, caseína-caseína, glóbulos grasos-glóbulos grasos y en consecuencia, en el comportamiento mecánico del queso (Everett y Olson, 2000). Jost *et al.* (1989), han señalado que los glóbulos grasos pueden

adsorber moléculas de proteína, primero actúan como membranas emulsificantes y más tarde interaccionan con proteínas de la fase dispersante que los rodea y formar así una red proteínica continua desnaturalizadas del lactosuero adicionado.

Con la finalidad de ayudar a preservar las características sensoriales de los alimentos bajos en grasa, se ha propuesto el uso de una serie de ingredientes denominados como sustitutos de grasa (Lucca y Tepper, 1994). Entre los ingredientes usados como sustitutos de grasa en la industria de los alimentos, se encuentran aquellos basados en proteínas de lactosuero, las cuales además presentan excelentes propiedades emulsificantes (Mulvihill y Fox, 1989; Dickinson, 1997). El comportamiento funcional de estas proteínas lácteas en los alimentos es muy complejo, puesto que surge de las relaciones entre las propiedades intrínsecas de las proteínas nativas, como la composición y secuencia de aminoácidos, tamaño molecular, conformación, flexibilidad, carga neta e hidrofobicidad, y los factores extrínsecos como temperatura, pH y otros componentes del alimento. Las proteínas del lactosuero, son bien conocidas por su alto valor nutricional (de Wit, 1998).

Con base en lo antes expuesto, en este trabajo se planteó como objetivo determinar la microestructura y las características instrumentales de textura de queso fresco elaborado mediante la sustitución parcial de la grasa láctea por aceite de canola emulsificado y/o concentrado de proteína de lactosuero, en comparación con un queso control completo en grasa láctea.

3.4. Materiales y métodos

3.4.1. Ubicación del trabajo

La elaboración de los tratamientos de queso, así como la cuantificación del contenido graso de los mismos y de la leche a partir de la cual se elaboraron se realizó en el Laboratorio de Investigación de Productos Lácteos del Departamento de Ingeniería Agroindustrial (DIA). El análisis de Perfil de Textura Instrumental de los diferentes tratamientos, se llevó a cabo en el Laboratorio de Control de Calidad del DIA. Las determinaciones de humedad, proteína cruda y pH de los tratamientos, se efectuaron en el Laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Zootecnia y en el Laboratorio de Investigación en Tecnología de Alimentos del Departamento de Preparatoria Agrícola. Todos los laboratorios antes mencionados pertenecientes a la Universidad Autónoma Chapingo (UACH). La determinación del diámetro volumétrico-superficial medio ($d_{3,2}$) de los glóbulos grasos de la leche y de las gotas de aceite de la emulsión aceite/agua, se realizó en la Planta Piloto de Ciencias Básicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I). El estudio de la microestructura de los tratamientos de queso se efectuó en el Instituto de Limnología y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

3.4.2. Tratamientos

Se prepararon productos tipo queso Panela (PTQ) a partir de leche, cuya fracción grasa fue sustituida parcial o totalmente por aceite de canola emulsionado en leche descremada y/o concentrado de proteína de lactosuero (WPC) conteniendo 34 % de proteína (Química Laitz, S.A. de C.V. México) (Cuadro 1). Este último se utilizó como

sustituto de grasa, por lo que la cantidad incorporada a la leche varió de 0 a 10 g L⁻¹, de acuerdo al contenido graso total de la leche, este último varió de 0.1 a 24 g L⁻¹ (Cuadro 1). Se elaboró un queso tipo Panela completo en grasa (CG_{24G}) como control, a partir de leche con 24 ± 0.1 g de grasa láctea L⁻¹. Los PTQ y el CG_{24G}, se elaboraron por triplicado, aplicando un diseño experimental completamente aleatorio. Para la elaboración de cada réplica se utilizaron 10 L de leche cruda, la cual fue proporcionada por la Unidad Tecnológica Lechera (UTL) de la Universidad Autónoma Chapingo.

Cuadro 1. Tratamientos de queso.

Código del tratamiento	Grasa láctea (g L ⁻¹ leche)	Aceite de canola (g L ⁻¹ leche)	WPC (g L ⁻¹ leche)	Emulsificante g L ⁻¹ leche		
				P ^a	S ^b	G ^c
CG _{24G}	24.0	0.0	0.0	0.00	0.00	0.00
PTQ1 _{24A}	0.1	24.0	0.0	1.32	0.53	0.79
PTQ2 _{10W}	0.1	0.0	10.0	0.00	0.00	0.00
PTQ3 _{12G-12A}	12.0	12.0	0.0	0.66	0.26	0.40
PTQ4 _{12A-5W}	0.1	12.0	5.0	0.66	0.26	0.40
PTQ5 _{12G-5W}	12.0	0.0	5.0	0.00	0.00	0.00
PTQ6 _{8G-8A-3.3W}	8.0	8.0	3.3	0.43	0.17	0.27
PTQ7 _{15.9G-4A-1.7W}	15.9	4.0	1.7	0.22	0.09	0.13
PTQ8 _{4G-15.9A-1.7W}	4.0	15.9	1.7	0.87	0.35	0.52
PTQ9 _{4G-4A-6.6W}	4.0	4.0	6.6	0.22	0.09	0.13

^aPolisorbac-60 (monoestearato de sorbitán polioxietileno), ^bSorbac-60 (monoestearato de sorbitán),

^cGlicepol-160 (monoestearato de glicerilo)

3.4.3. Proceso de elaboración

3.4.3.1. Estandarización del contenido en grasa láctea de la leche inicial

Se ajustó la composición y contenido graso de los lotes de leche de acuerdo al tratamiento en particular (Cuadro 1). El contenido de grasa láctea en la leche se estandarizó mediante la combinación adecuada de leche entera (38 ± 0.2 g de grasa L⁻¹) y leche descremada (0.1 ± 0.1 g de grasa L⁻¹). Se comprobó el contenido de grasa de cada uno de los lotes de leche mediante su cuantificación por el método Gerber (AOAC, 1995).

3.4.3.2. Formulación de la leche

Adición de la emulsión aceite de canola-leche descremada. Para la incorporación de aceite de canola a la leche destinada a la elaboración de los tratamientos que lo contuvieron (Cuadro 1), previamente se preparó una emulsión sencilla aceite-agua, en la que la fase dispersa estuvo constituida por aceite de canola y la fase dispersante por leche descremada. Cada 100 g de emulsión de aceite de canola-leche descremada estuvieron constituidos por 17.5 g de aceite de canola (Capullo®, Unilever de México, S.A. de C.V.), 80.57 g de leche descremada, 0.96 g de monoestearato de sorbitán polioxietileno (P) (Canarcel TW-60 o polisorbac-60 o POE (20)®, Canamex, S.A. de C.V., México), 0.39 g de monoestearato de sorbitán (S) (Canarcel-60 o sorbac-60®, Canamex, S.A. de C.V., México) y 0.58 g de monoestearato de glicerol (G) (Glicepol 160®, Canamex, S.A. de C.V., México). P, S y G, emulsificantes de bajo peso molecular, el primero de carácter hidrofílico y los dos últimos de carácter lipofílico. Las fracciones en masa de los emulsificantes respecto a la cantidad total de los mismos, fueron: 0.5P-0.2S-0.3G. Se adicionó 0.11 de mezcla emulsificante por cada g de aceite (Lobato-Calleros *et al.*, 2002).

El proceso de preparación de la emulsión de aceite de canola-leche descremada, fue el recomendado por Lobato-Calleros *et al.* (2002) e involucró las siguientes operaciones: calentamiento a baño maría del aceite de canola adicionado con los emulsificantes de bajo peso molecular hasta una temperatura de 60 ± 1 °C, aplicando agitación continua; calentamiento por separado de la leche descremada a baño maría, hasta una temperatura de 60 ± 1 °C; incorporación, gota a gota, de la mezcla de aceite-emulsificantes a la leche descremada, mediante la acción de un homogenizador Ultra-Turrax® T50 basic (IKA

Works, Inc., Wilmington, E.U.A.) a una velocidad de 5 200 rpm; continuación de la homogenización, después de que la última gota de la mezcla aceite-emulsificantes se adicionó, durante 5 min a la misma velocidad. La emulsión obtenida fue agregada lentamente y con agitación moderada a los lotes de leche, en la cantidad correspondiente a cada tratamiento.

El diámetro medio volumétrico-superficial ($d_{3,2}$) de las gotas de aceite de la emulsión aceite de canola-leche descremada, se determinó en un período menor a las 2 h después de su preparación en un equipo analizador de tamaño de partícula y gota, Malvern Master Sizer MSE serie 2600 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, Inglaterra). También el $d_{3,2}$ de los glóbulos de grasa láctea de la leche entera usada en esta investigación fue analizado.

Adición del concentrado de proteína de lactosuero (WPC). El WPC se dispersó en leche descremada (38 ± 1 °C), en una relación de 0.14:0.86, respectivamente, mediante agitación moderada con un equipo CAFRAMO (modelo RZR1, Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, E.U.A.); posteriormente, la mezcla se calentó a 78 ± 1 °C, durante 10 min y se enfrió a una temperatura de 38 ± 1 °C (Lobato-Calleros *et al.* 2001). Finalmente la dispersión acuosa de WPC se adicionó a la leche pasteurizada y enfriada a una temperatura de 38 ± 1 °C, con agitación moderada y en la cantidad adecuada para cada tratamiento (Cuadro 1).

3.4.3.3. Proceso de manufactura de los tratamientos

Cada lote de leche formulada conforme a lo establecido para cada tratamiento (Cuadro 1), se pasteurizó a 63 ± 1 °C durante 30 min, se enfrió a 38 ± 1 °C y se adicionó con

cloruro de calcio (ac) hasta lograr una concentración de 0.15 g L^{-1} . Posteriormente, se llevó a cabo la coagulación de la leche mediante la adición de agente coagulante a base de renina (fuerza 1:10 000) (Industrias Cuamex, S.A. de C.V., México) a una concentración de 0.25 mL L^{-1} de leche y manteniendo la temperatura a $36 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 25-30 min aproximadamente. La cuajada obtenida se cortó en cubos de 1 cm^3 y el grano se trabajó por 10 min, aplicando movimientos lentos para facilitar el desuerado; después se realizó un desuerado parcial (eliminación del 80 % del volumen) y salado de la cuajada con 13 g de sal de mesa disuelta en 2 L de suero L^{-1} de leche dando un período de reposo de 10 min. La cuajada se colocó en moldes de plástico con una capacidad de 1 kg y se dejó desuerar a temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$) durante dos períodos, uno de 2 h y el otro de 1 h, volteando los moldes. Una vez que la cuajada desueró a temperatura ambiente, los moldes se cubrieron con película de polietileno y se colocaron en refrigeración ($4 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$) por 24 h. Finalmente, los quesos se desmoldaron, se envasaron en bolsas de polietileno y se refrigeraron por 3 días a $4 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$, antes de su caracterización.

3.4.4. Determinación de la composición química de los tratamientos

Los quesos de los distintos tratamientos, después de 3 días de refrigeración, se sometieron a determinaciones de humedad por el método de estufa, grasa por el método de Gerber, proteína cruda por el método de Kjeldahl y pH de macerado en agua (AOAC, 1995). Se realizaron tres determinaciones a cada una de las tres réplicas de cada tratamiento.

3.4.5. Determinación de las características texturales

A los quesos de los distintos tratamientos, después de 3 días de refrigeración, se les determinó textura instrumental por el método de Análisis de Perfil de Textura (Bourne, 1982), en un Texturómetro TA-XT2i (Stable Micro Systems, Texture Technologies Corp., White Plains, N.Y.), con una celda de 5 Kg. Se tomaron muestras del centro de cada tratamiento utilizando un sacabocados de 1 cm de diámetro interno y se cortaron a una altura de 1 cm. Las muestras se colocaron en cajas petri hasta alcanzar la temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y posteriormente se sometieron a compresión del 50 % de su altura, en dos ciclos, a una velocidad del cabezal (pre, ensayo y post) de 2 mm s^{-1} . Se realizaron 5 determinaciones a las réplicas de cada tratamiento. Las características texturales medidas a los quesos fueron: dureza, elasticidad, cohesividad, masticabilidad y adhesividad, cuyos valores se calcularon a partir de las curvas fuerza-tiempo y fuerza-distancia obtenidas para cada caso, usando el software del equipo.

3.4.6. Determinación de la microestructura

El análisis de la microestructura de los quesos se realizó por Microscopía Electrónica de Barrido. Se tomaron muestras cilíndricas del centro de cada tratamiento de queso, después de 3 días de refrigeración, usando un sacabocados con un diámetro interno de 0.5 cm y se cortaron a una altura de 0.5 cm. Las muestras se fijaron en una disolución de glutaraldehído al 2% en buffer de fosfatos 0.1 M y pH 7.2 durante 6 h y se deshidrataron mediante su inmersión progresiva en disoluciones acuosas de etanol (50, 60, 70, 80, 90 y 100 %) por 30 min en cada una de ellas. Posteriormente las muestras se colocaron en acetona por 1 h (Lobato-Calleros *et al.*, 1998), se secaron a punto crítico en un equipo

CPA II Technics Critical Point Dryer (Tousimis, Rockville, MD) y se fragmentó manualmente en “rodajas” de 0.25 cm. Los fragmentos se montaron en soportes para Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y se recubrieron con una fina capa de oro en un Fine Coat Ion Sputter JFC 1100 (Jeol Ltd., Akishima, Japón). La observación de la microestructura se realizó en un microscopio electrónico de barrido de alto vacío, JEOL Scanning Electrón Microscope JMS-6360LV (Jeol Ltd., Akishima, Japón). Se tomaron micrografías representativas de cada tratamiento, a ampliificaciones de 500, 3000 y 10000×.

3.4.7. Análisis de datos

En esta investigación se establecieron como factores experimentales las concentraciones de grasa láctea (GL), aceite de canola (AC) y concentrado de proteína de lactosuero (WPC), en la leche utilizada para la preparación de los tratamientos; los rangos de concentración de estos tres factores en la leche, variaron de 0.1 a 24 g L⁻¹ para GL, de 0 a 24 g L⁻¹ para AC y de 0 a 10 g L⁻¹ para WPC. La presencia de uno de estos tres factores o combinaciones de los mismos en la leche, resultaron en 10 tratamientos. Las variables de repuesta a evaluar fueron la composición química, características texturales (dureza, elasticidad, cohesividad, masticabilidad y adhesividad) y microestructura de los quesos correspondientes a los distintos tratamientos. Los datos de composición química y textura se sometieron a Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) y en los casos pertinentes a prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$), con la finalidad de determinar si existieron diferencias significativas entre tratamientos respecto a sus características. Los datos de textura y de contenido graso en base seca de los quesos de los distintos

tratamientos, se analizaron mediante regresión múltiple lineal ascendente, para la obtención de modelos polinomiales que permitan estimar estos datos en el queso, en función de los factores experimentales estudiados. El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico Statgraphics Plus versión * 5.1 (Statistical Graphics Corp. Manugistics, Inc., Cambridge, M.A.).

3.5. Resultados y discusión

3.5.1. Composición química de los tratamientos

Los tratamientos de queso mostraron diferencias ($p \leq 0.05$) en sus contenidos de grasa, humedad y proteína (Cuadro 2), como resultado de variaciones en la composición química de la leche a partir de la que se prepararon (Cuadro 1).

Cuadro 2. Composición química de los tratamientos de queso.

Código del tratamiento	Grasa b.s. (%)	Proteína b.s. (%)	Humedad (%)
CG _{24G}	42.9 f (0.83)	37.8 a (0.98)	61.9 a (0.56)
PTQ1 _{24A}	37.4 e (0.53)	45.3 c (0.52)	64.4 bc (0.59)
PTQ2 _{10W}	0.03 a (0.0)	70.7 f (0.37)	69.6 e (0.47)
PTQ3 _{12G-12A}	37.8 e (0.85)	45.2 c (0.34)	64.8 bc (0.68)
PTQ4 _{12A-5W}	31.0 c (2.81)	55.4 e (0.17)	67.4 de (0.92)
PTQ5 _{12G-5W}	30.9 c (1.89)	55.2 e (0.52)	66.0 cd (0.51)
PTQ6 _{8G-8A-3.3W}	34.8 de (0.61)	43.8 bc (0.07)	65.9 cd (2.2)
PTQ7 _{15.9G-4A-1.7W}	32.6 cd (0.62)	48.7 d (0.53)	62.6 ab (0.39)
PTQ8 _{4G-15.9A-1.7W}	35.0 de (1.64)	42.3 b (1.21)	60.7 a (1.7)
PTQ9 _{4G-4A-6.6W}	20.2 b (0.77)	49.9 d (0.04)	66.3 cd (0.38)

Medias en una misma columna con letras distintas son diferentes significativamente ($p \leq 0.05$). Valores en paréntesis corresponden a la desviación estándar.

Mediante análisis de regresión múltiple ascendente, se obtuvo un modelo polinomial que estima satisfactoriamente el contenido graso de los tratamientos de queso, en función de la composición de la leche usada en su preparación (ec. 1).

$$\text{Grasa (\%)} = 1.571 \text{ GL} + 1.500 \text{ AC} + 8.250 \text{ WPC} \times \text{S} + 0.161 \text{ GL} \times \text{WPC} \dots\dots\dots (1)$$

$$R^2=0.99, p < 0.0001$$

donde: AC: aceite de canola (g L^{-1} de leche); GL: grasa láctea (g L^{-1} de leche); WPC: concentrado de proteína de lactosuero (g L^{-1} de leche) y S: monoestearato de sorbitán (g L^{-1} de leche).

En este modelo los coeficientes GL y AC indicaron en términos prácticos que, ambos tipos de grasa contribuyen de igual forma en el contenido graso del queso. De la misma manera, la interacción GL $\times$ WPC también contribuye a incrementar el contenido graso en el queso. Se ha informado que el calentamiento de la leche, incluso a temperaturas de pasteurización, ocasiona el depósito de micelas de caseína y proteínas de lactosuero sobre la superficie de los glóbulos de grasa láctea (Buchhheim y Dejmek, 1997). Estas proteínas pueden interaccionar en la superficie globular, en especial β -lactoglobulina y κ -caseína a través de enlaces disulfuro (Davies *et al.*, 1978).

La interacción WPC $\times$ S, es la que más contribuyó en el contenido graso del queso. La utilidad del uso de emulsificantes de bajo peso molecular (EBPM) en emulsiones lácteas, se basa en su gran capacidad para estabilizar gotas pequeñas de emulsión, ya que sus moléculas se difunden rápidamente a la interfase aceite-agua (Euston, 1997). Sin embargo, las moléculas de los emulsificantes de bajo peso molecular presentes en emulsiones lácteas, compiten con las lactoproteínas por el área interfacial, tendiendo a desplazarlas de la interfase. La habilidad de los EBPM para desplazar a las

lactoproteínas de la interfase aceite-agua, depende de su carácter hidrofílico o lipofílico. P, de carácter hidrofílico, desplaza más proteína de la interfase que G y S, liposolubles (Euston *et al.*, 1996), debido a que gran parte de su molécula soluble en agua, se proyecta hacia la fase continua, mientras que las moléculas de S y G predominantemente liposolubles se localizan en el lado oleoso de la interfase y es posible que coexistan con las moléculas de proteína adsorbidas en el lado acuoso de la interfase (Dickinson, 1992; Dickinson y Tanai, 1992).

La composición de la película o superficie que recubre a los glóbulos grasos influye en la retención de los mismos en la red proteínica del queso. Una superficie cubierta con mayor cantidad de proteína, como el caso de los glóbulos de grasa láctea, permite una mayor interacción de los mismos con la red proteínica; por el contrario, el desplazamiento de proteína de la superficie de los glóbulos de aceite, disminuirá su interacción con la red proteínica y en consecuencia su retención en la misma. Sin embargo, se ha encontrado que la adsorción competitiva también puede resultar enlazamientos entre emulsificantes y moléculas de proteína (Boss *et al.*, 1997). Así mismo, las proteínas adsorbidas en la superficie de los glóbulos pueden interaccionar con proteínas del lactosuero, debido a estas últimas son relativamente pequeñas, desordenadas y tienen la capacidad de difundirse fácil y rápidamente a la interfase (Euston y Hirst, 2000). Everett y Olson (2000), han informado que las proteínas adsorbidas a la superficie de los glóbulos de grasa láctea interactúan también con las cadenas de caseína que conforman la red proteínica del queso.

Las variaciones en los contenidos de proteína y humedad de los tratamientos de queso. Las variaciones en los contenidos de proteína de los quesos (Cuadro 2) estuvieron relacionadas con modificaciones al contenido graso y adición de WPC en la leche.

Disminuciones en la cantidad de grasa y aumentos en la cantidad de WPC adicionado provocaron incrementos ($p \leq 0.05$) en el contenido proteínico de los quesos. Los PTQ exhibieron contenidos proteínicos mayores al observado en el queso control CG_{24G} ($p \leq 0.05$), puesto que sus contenidos grasos fueron menores (Cuadro 2). De los PTQ, el PTQ_{210W} presentó el contenido proteínico más alto (Cuadro 2), ya que fue el tratamiento al que se le adicionó la mayor cantidad de WPC, se le retiró casi en su totalidad la grasa láctea y no fue incorporado con aceite de canola.

Al igual que los contenidos proteínicos, los contenidos de humedad de los tratamientos de queso, estuvieron relacionados con modificaciones al contenido graso y cantidad de WPC adicionada a la leche. Disminuciones en la cantidad de grasa y aumentos en la cantidad de WPC, provocaron incrementos ($p \leq 0.05$) en el contenido de humedad de los quesos. En general, los PTQ mostraron contenidos mayores de humedad que el queso control CG_{24G} ($p \leq 0.05$) (Cuadro 2), ya que en los primeros se redujo el contenido graso de la leche y en la mayoría de los casos fue adicionada con WPC. La habilidad de las proteínas de lactosuero para ligar agua, es una propiedad altamente apreciada en la formulación y manufactura de diversos geles alimenticios (Lucca y Tepper, 1994). Los únicos PTQ que tuvieron contenidos de humedad comparables a los del queso CG_{24G} ($p > 0.05$) fueron: el PTQ_{715.9G-4A-1.7W} y el PTQ_{84G-15.9A-1.7W}, en los que la reducción del contenido graso (17 %) y la cantidad de WPC adicionada a la leche (1.7 g L⁻¹ de leche) fueron las menores.

Las variaciones en los contenidos de proteína y humedad de los tratamientos de queso, en función del contenido graso de la leche y de la adición de proteína de lactosuero,

coinciden con resultados informados por Lobato-Calleros *et al.* (2001) en queso tipo Manchego bajo en grasa incorporado con sustitutos de grasa de distinta naturaleza química y por Lozano-Castañeda (2004), en queso fresco tipo Panela reducido en grasa e incorporado con concentrado de proteína de lactosuero.

3.5.2. Características estructurales de los tratamientos

La estructura del CG_{24G} consistió de una matriz proteínica relajada y abierta, interrumpida por numerosos glóbulos de grasa láctea; la morfología semiesférica y la gran variación en el tamaño de estos últimos, pueden apreciarse mediante la observación de los espacios vacíos que originalmente ocuparon (Figuras. 2a y 2b). La amplia variación en el tamaño de los glóbulos de grasa láctea es acorde a la informada para la leche cruda. El diámetro de los glóbulos de grasa en la leche, varía en el rango de alrededor de 0.2 a 20 μm , representando aquellos con diámetros entre 1 y 8 μm el 90% o más del contenido graso total (Buchheim y Dejmek, 1997).

La sustitución de la grasa láctea por glóbulos de aceite de canola, confirió al PTQ1_{24A} características estructurales que lo diferenciaron notablemente del CG_{24G}, destacando una menor asociación de las cadenas de caseína, reflejada en la formación de fibras proteínicas más cortas, en las que aún pueden observarse restos de sus estructuras micelares originales (Figura 3a). La presencia de un mayor número de glóbulos de aceite en este PTQ, en comparación con los observados en el CG_{24G} (Figura 2a), como resultado de su menor tamaño, promovió la creación de numerosos espacios pequeños en la red proteínica del PTQ1_{24A} (Figura 3b), los cuales, a su vez, impidieron la interacción

Figura 2. Micrografía electrónica de barrido del queso completo en grasa (CG_{24G})
(a) CG_{24G}, amplificación 3000x, (b) CG_{24G}, amplificación 500x.

entre las cadenas de caseína, favoreciendo una estructura proteínica altamente porosa y abierta.

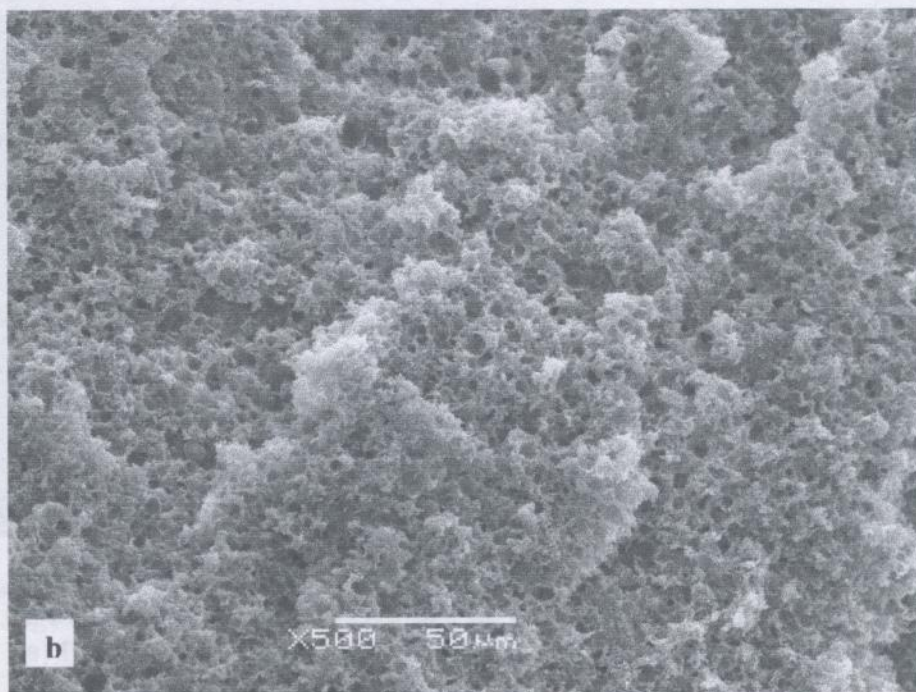
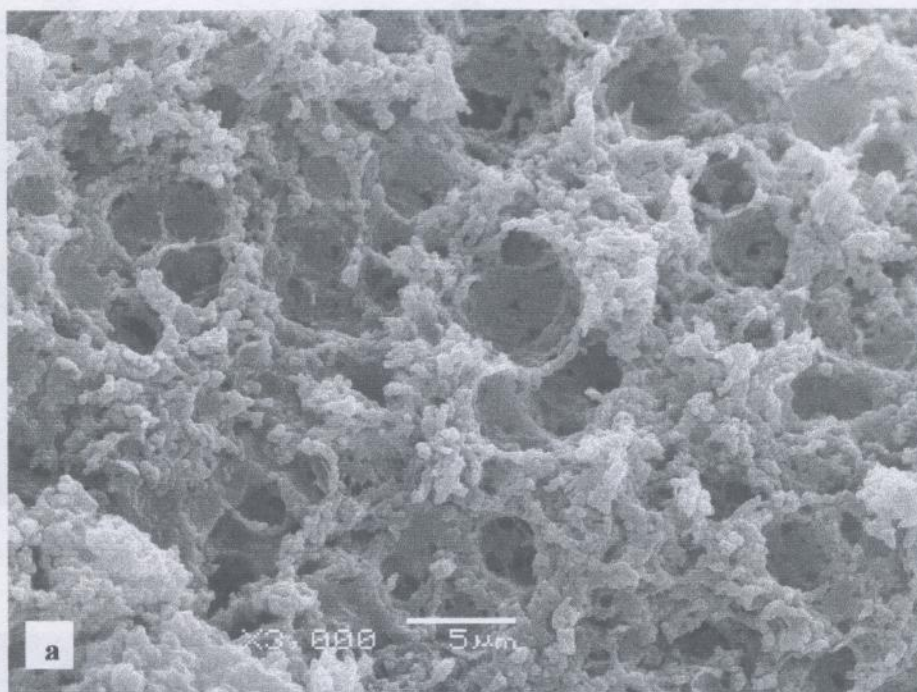


Figura 2. Micrografía electrónica de barrido del queso completo en grasa (CG_{24G})
(a) CG_{24G}, amplificación 3000x, (b) CG_{24G}, amplificación 500x.c

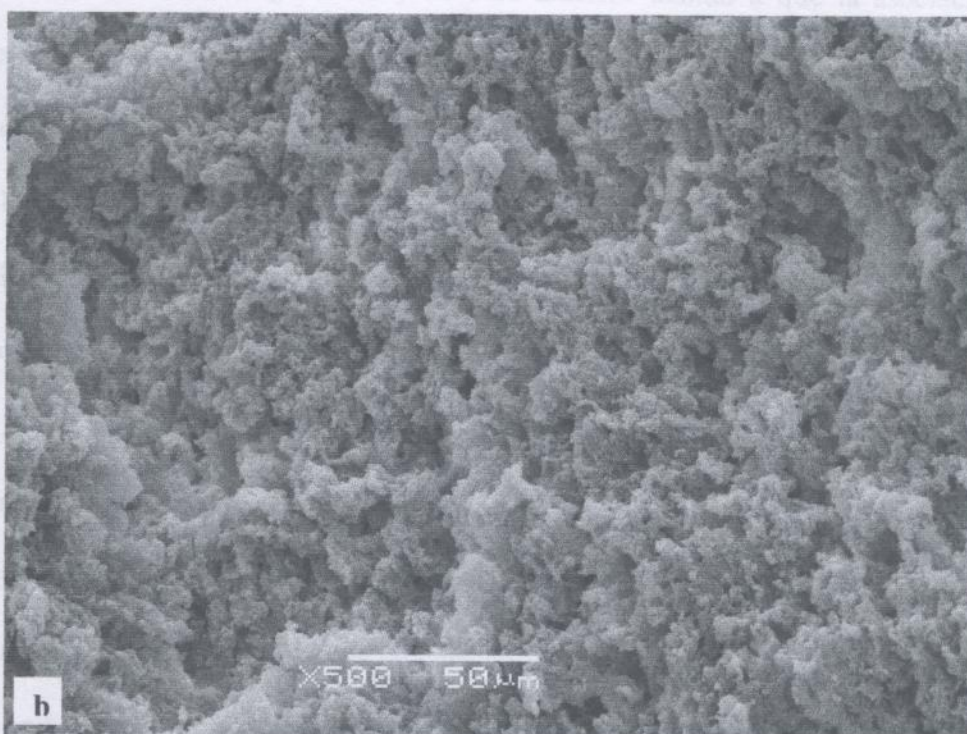
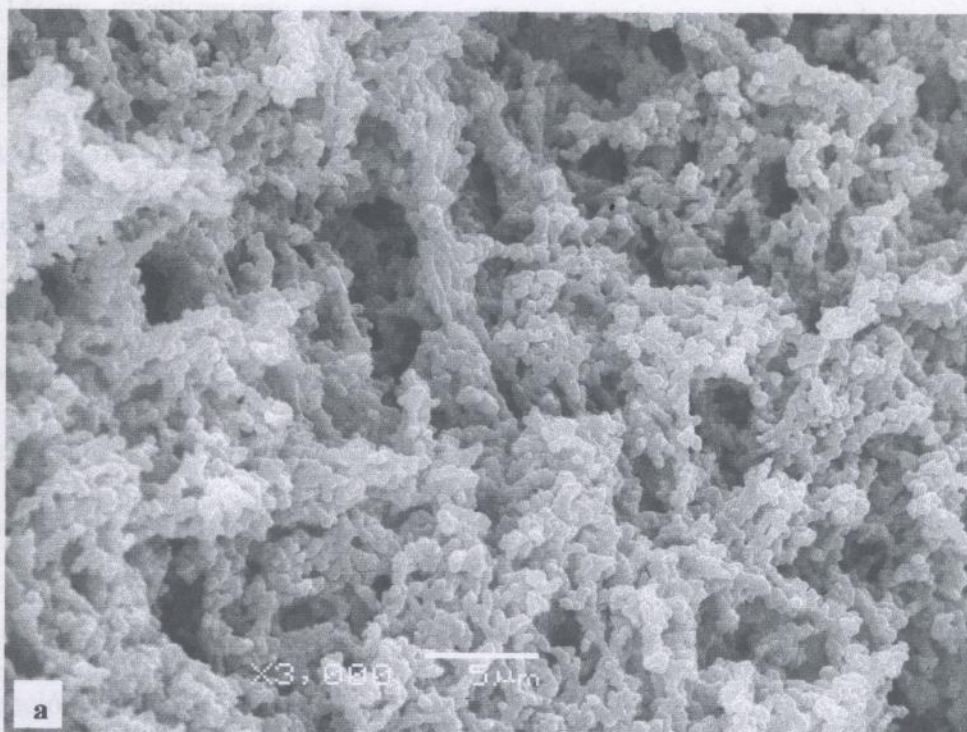


Figura 3. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso (a) PTQ_{124A}, amplificación 3000x, (b) PTQ_{124A}, amplificación 500x.

El PTQ2_{10W}, prácticamente exento de grasa, mostró una red proteínica compacta (Figuras 4a y 4b), constituida por fibras de caseína de forma semiesférica, más cortas aún que las observadas en el PTQ1_{24A} (Figura 3a). Estos resultados indican que la presencia de proteínas de lactosuero limitó la extensión de asociación entre las cadenas de caseína, debido posiblemente a la formación de enlaces disulfuro entre moléculas de β -lactoglobulina y de κ -caseína micelar, así como a interacciones por puente de hidrógeno entre las proteínas de lactosuero y el agua retenida en la matriz proteínica del PTQ2_{10W}.

El uso de una mezcla de grasa láctea y de aceite de canola en proporciones 1:1, originó la formación de una red proteínica en el PTQ3_{12G-12A} (Figura 5a), comparable a la observada en el CG_{24G} (Figuras 2a y 2b). Lo anterior debido a que la asociación de cadenas de caseína en el PTQ3_{12G-12A}, fue interrumpida por la presencia de glóbulos grasos de tamaño muy variable (Figura 5b), atribuyéndose a los formados por aceite de canola los tamaños más pequeños, de acuerdo a lo observado en el PTQ1_{24A} (Figuras 3a y 3b). Puesto que el PTQ3_{12G-12A} (Figura 5a) contuvo tanto glóbulos de grasa láctea, como aquellos de aceite, su grado de compactación fue mayor que el correspondiente al PTQ1_{24A} (Figura 3a). En la figura 5a, se aprecia la estructura de un glóbulo de grasa láctea embebido en la red proteínica, de aproximadamente 6.4 μm , en cuya superficie se encontraron estructuras granulares, atribuidas a micelas de caseína depositadas, así como estructuras filamentosas, de cadenas de caseína y/o proteínas de lactosuero. El depósito de tales proteínas sobre la superficie globular, durante el calentamiento de la leche, pudo favorecer su interacción e integración en la red proteínica del queso.

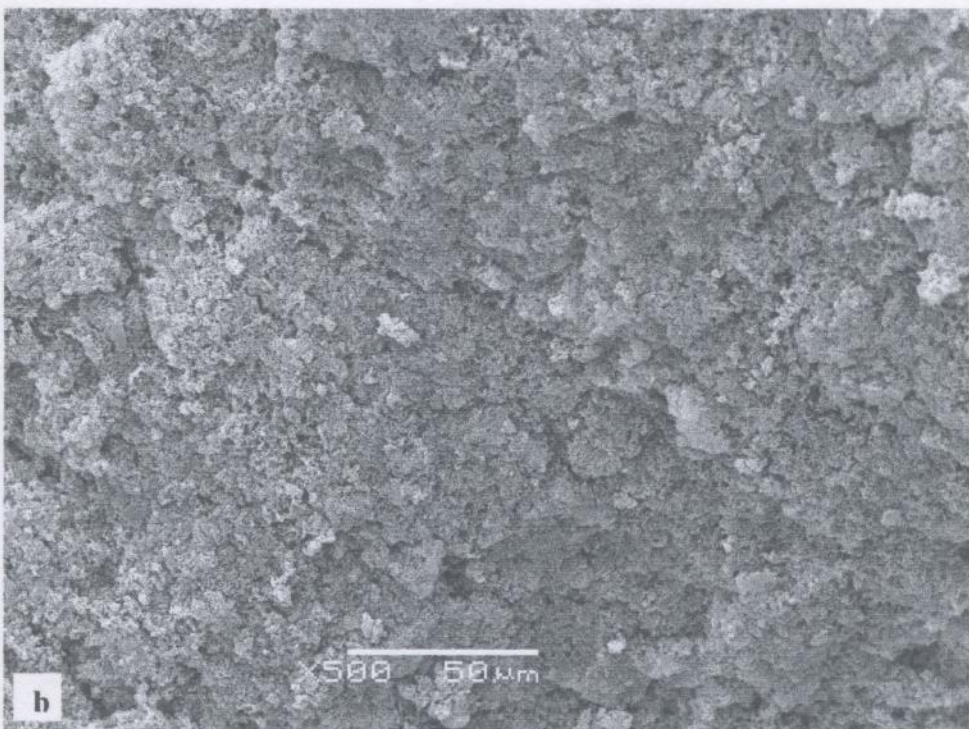
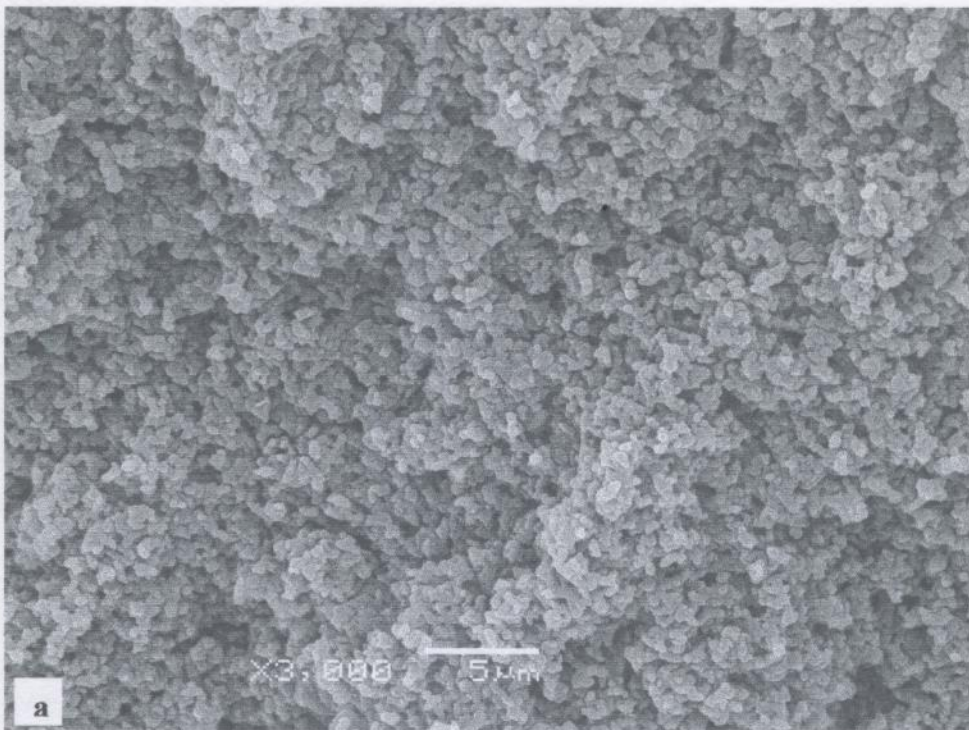


Figura 4. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso
(a) PTQ2_{10w}, amplificación 3000x, (b) PTQ2_{10w}, amplificación 500x.

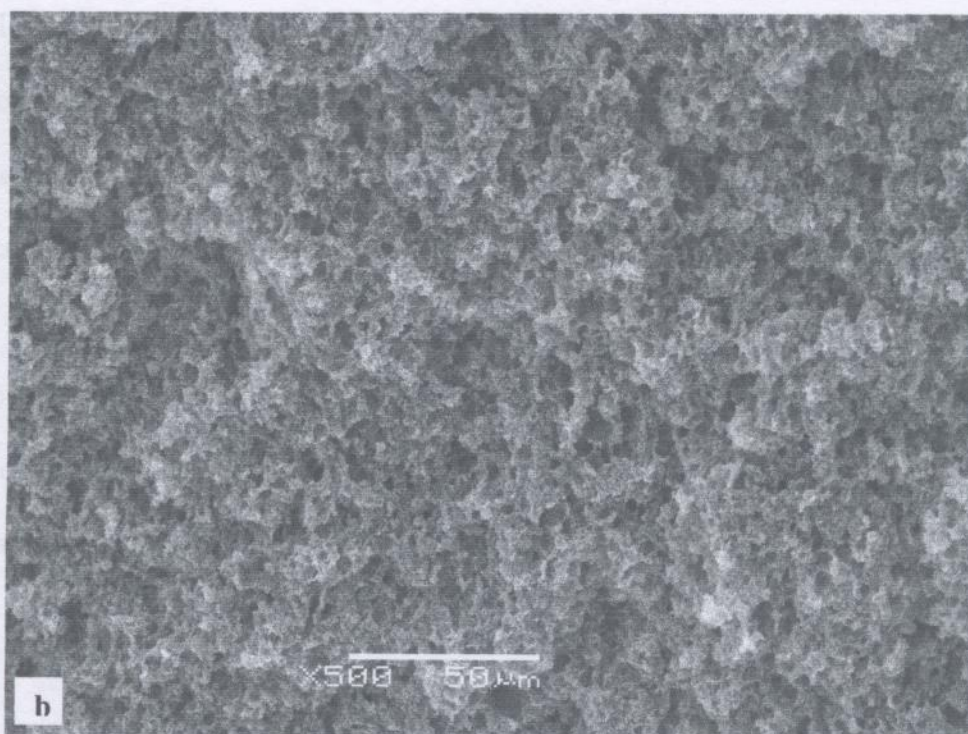
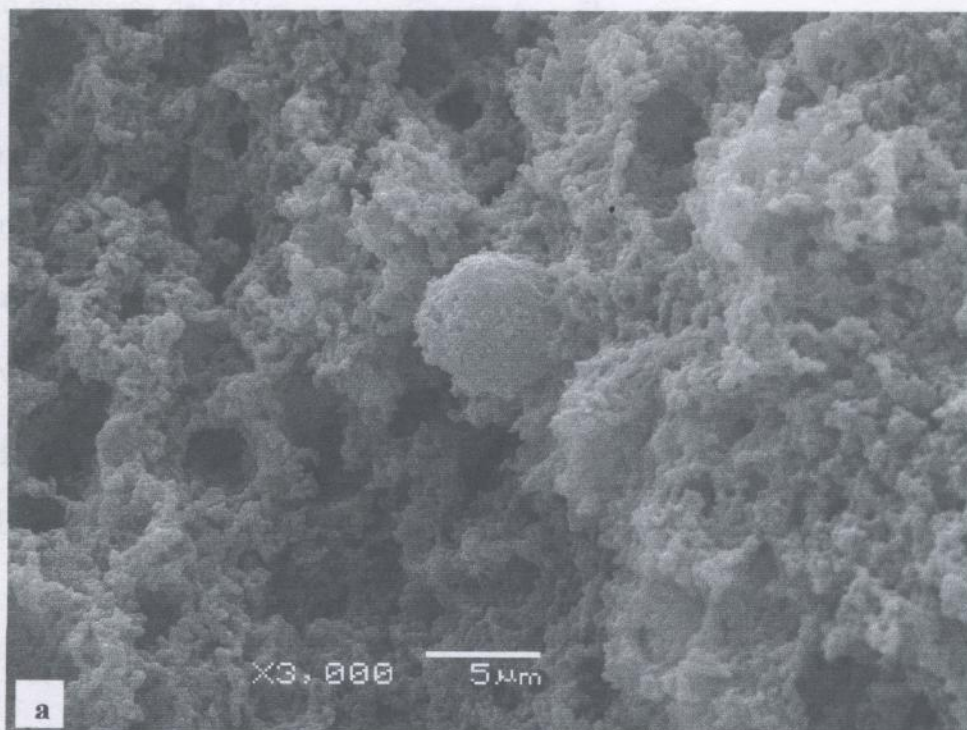


Figura 5. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso (a) PTQ3_{12G-12A}, amplificación 3000x, (b) PTQ3_{12G-12A}, amplificación 500x.

La red proteínica del PTQ4_{129A-5W} (Figuras 6a y 6b) mostró una estructura más cerrada que la del CG_{24G} (Figuras. 2a y 2b), existiendo más zonas en las que la proteína predominó. Lo anterior, porque aún cuando los glóbulos de aceite en el PTQ4_{12A-5W} fueron más pequeños que los glóbulos de grasa láctea en el CG_{24G}, la cantidad de aceite fue tan solo la mitad con respecto a la de grasa láctea en el CG_{24G}. En la figura 6a puede observarse un glóbulo de aceite, de alrededor de 6.9 μm , cuya superficie aparece lisa, homogénea y cubierta por algunos restos de la red proteínica en la cual se encontraba embebido, en oposición con la superficie de los glóbulos de grasa láctea (Figura 5a) que aparece rugosa, no homogénea, con depósitos de proteína en forma de gránulos. La figura 6b, muestra la presencia de dos glóbulos de aceite, de diámetros de 4.1 y 6.9 μm , aproximadamente. La observación por Microscopia Electrónica de Barrido de algunos glóbulos de aceite, induce a la conclusión de que éstos estuvieron cubiertos por una capa de proteína, la cual fue fijada durante el proceso de preparación de la muestra. Las características estructurales de la película protectora de los glóbulos de aceite que aparecen en las figuras 6a y 6b, coinciden con aquellas informadas en glóbulos de grasa láctea homogenizados en concentrado de proteína de lactosuero por Walstra y Oortwijn (1979). Lo antes expuesto parece indicar que la película o capa protectora de los glóbulos de aceite estuvo constituida por proteínas de lactosuero, muy posiblemente por aquellas presentes en el WPC.

Figura 6. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso
(a) PTQ4_{129A-5W} ampliación 3800x, (b) PTQ4_{12A-5W} ampliación 540x

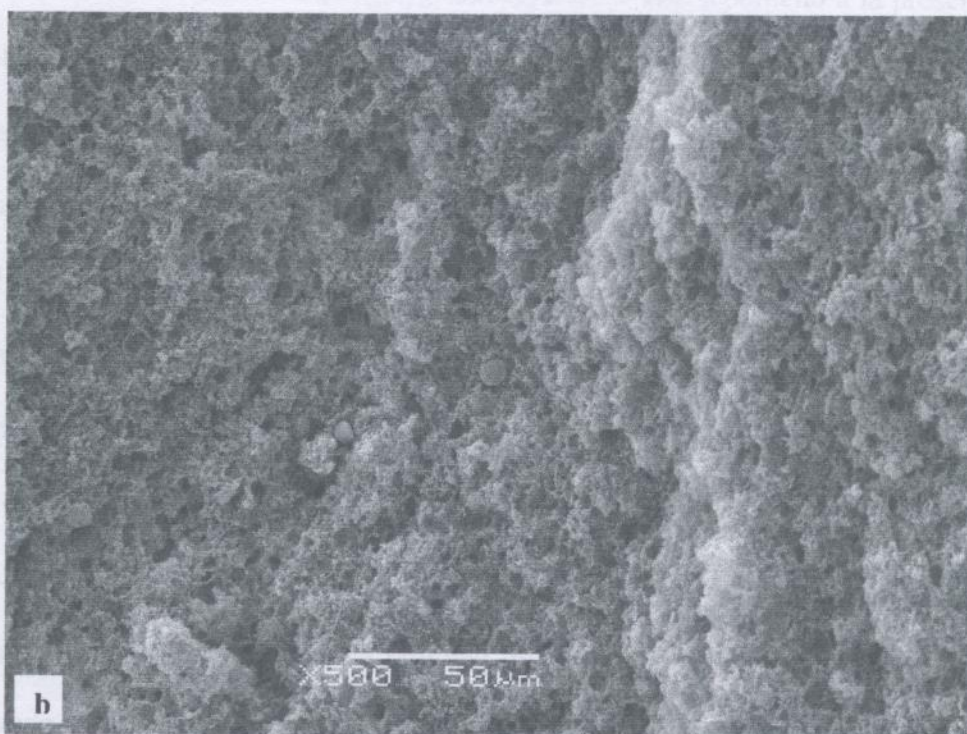


Figura 6. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso
(a) PTQ4_{12A-5W}, amplificación 3000x, (b) PTQ4_{12A-5W}, amplificación 500x

La red proteínica del PTQ5_{12G-5W} (Figuras 7a y 7b) apareció más cerrada que la correspondiente al queso CG_{24G} (Figuras 2a y 2b), presentando menor número de espacios vacíos atribuidos a glóbulos de grasa láctea y zonas más extensas en las que predominó la proteína. Lo anterior, debido al menor contenido en grasa láctea (50 %) y la presencia de WPC en el PTQ5_{12G-5W}, en comparación con la formulación del CG_{24G} (Cuadro 2).

La red proteínica del PTQ6_{8G-8A-3.3W} estuvo interrumpida por glóbulos grasos de tamaño muy variable (Figuras 8a y 8b) al igual que aquella del PTQ3_{12G-12A} (Figuras 5a y 5b), debido a que estos dos tratamientos contuvieron glóbulos grasos lácteos, así como glóbulos de aceite. Sin embargo, la agregación de proteína en el PTQ6_{8G-8A-3.3W} fue más fina que la observada en el PTQ3_{12G-12A}, atribuyéndose este fenómeno a la presencia de las proteínas disgregadas y desnaturalizadas del WPC. Lobato-Calleros *et al.* (2001), informaron que la adición de concentrado de proteína de lactosuero parcialmente desnaturalizado a queso tipo Manchego reducido en grasa, resultó en la formación de una red proteínica más fina que la correspondiente al queso reducido en grasa exento de este sustituto de grasa. Los autores antes citados explican que los cambios estructurales de la red proteínica del queso mediante la adición de proteínas de lactosuero se debe probablemente a interacciones proteína de lactosuero-caseína y proteína de lactosuero-agua. Adicionalmente se encontró que la agregación proteínica de la red del PTQ6_{8G-8A-3.3W} (Figuras 8a y 8b) fue más fina también que aquella del CG_{24G} (Figuras 2a y 2b), presentando estructuras proteínicas más cortas. En la figura 9, puede observarse la cubierta protectora de un glóbulo graso, parcialmente destruida, en la que aparecen micelas de caseína, restos de micelas de caseína y proteínas de lactosuero adsorbidas.

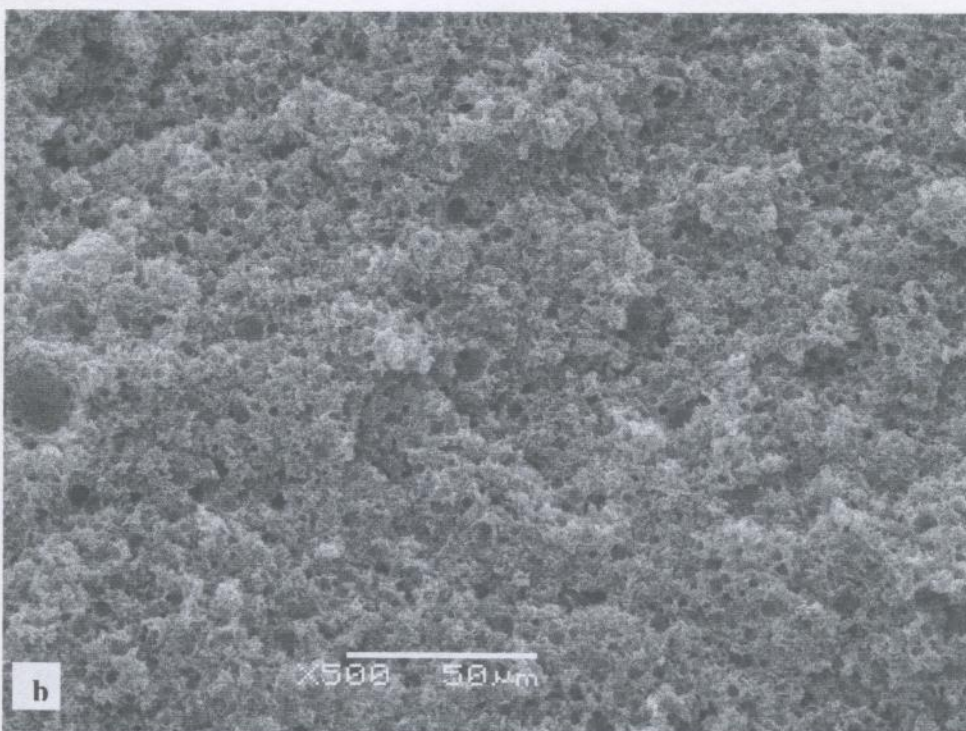
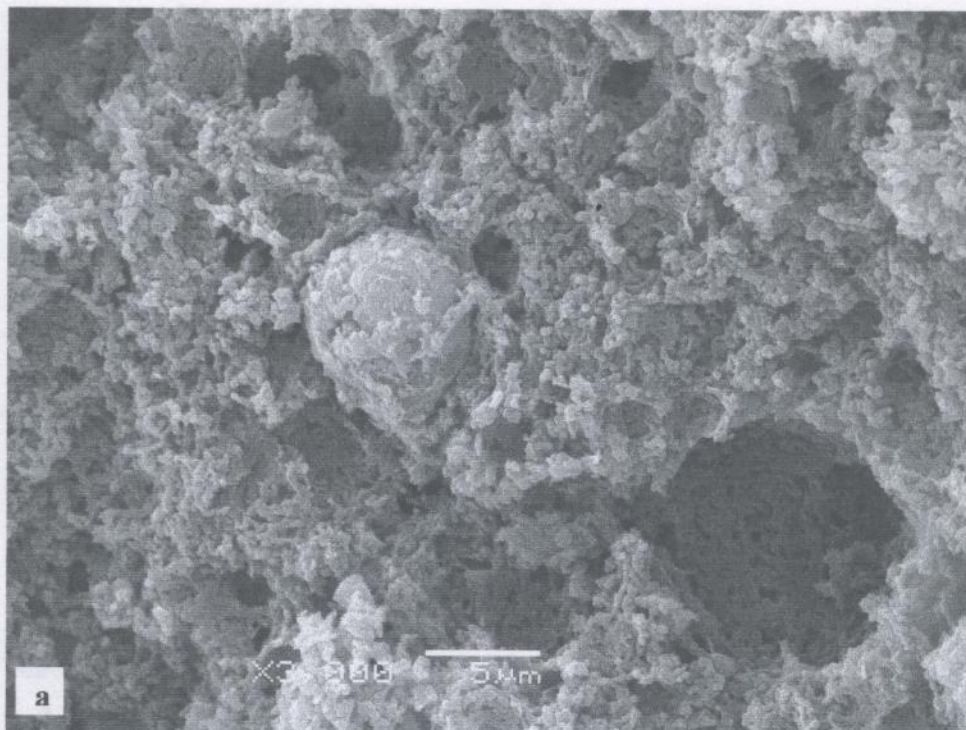


Figura 7. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso
(a) PTQ5_{12G-5W}, amplificación 3000x, (b) PTQ5_{12G-5W}, amplificación 500x

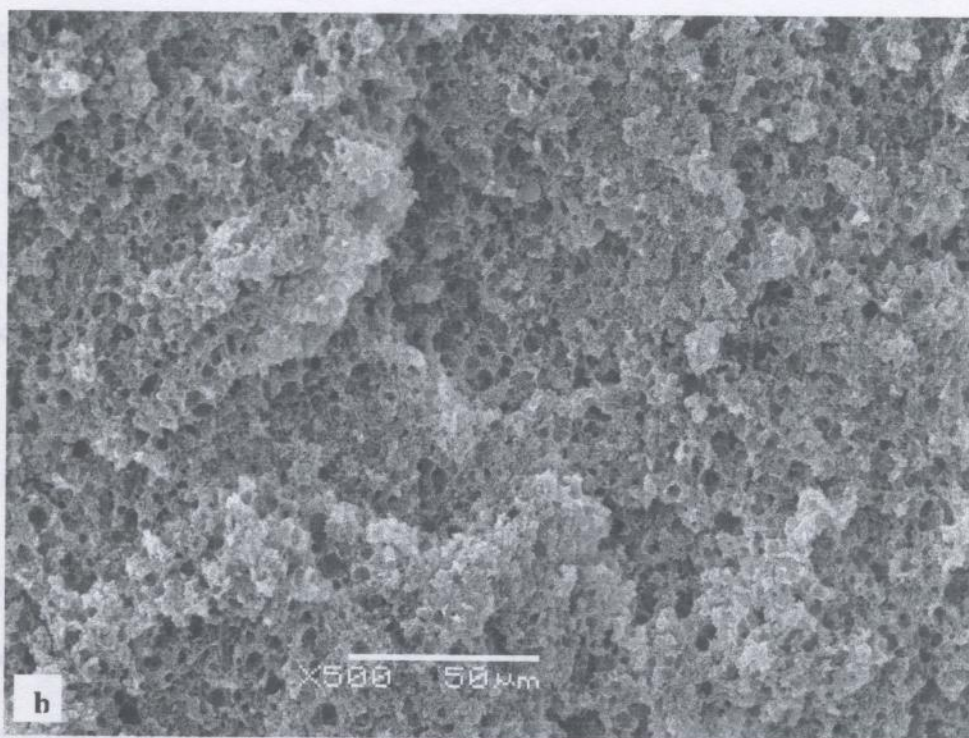
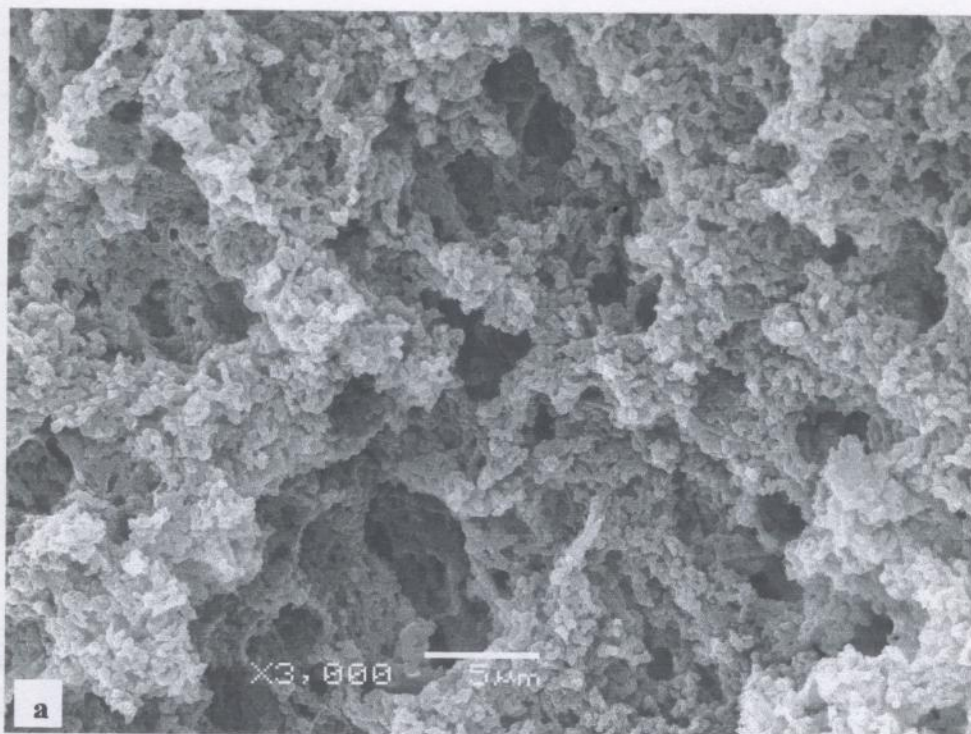


Figura 8. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso
(a) PTQ_{68G-8A-3.3W}, amplificación 3000x, (b) PTQ_{68G-8A-3.3W}, amplificación 500x

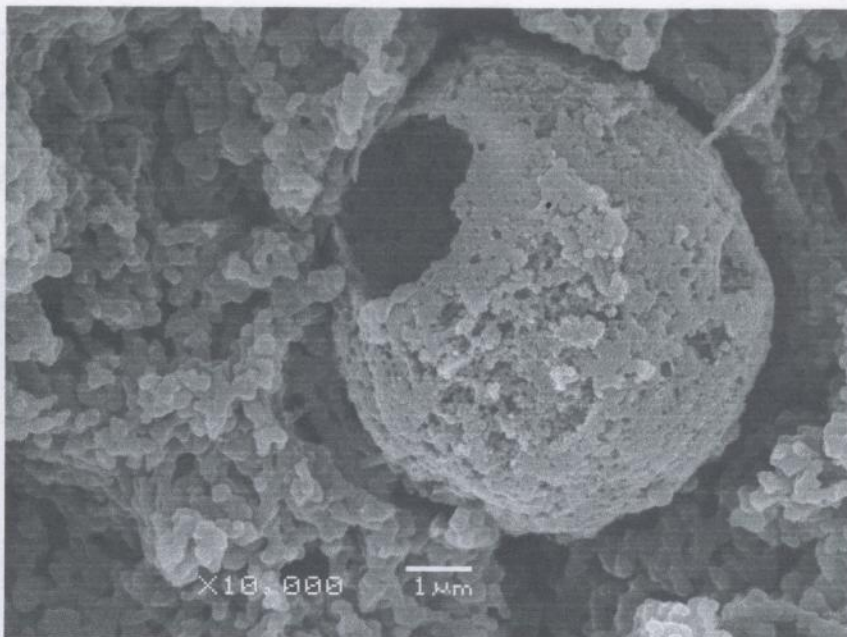


Figura 9. Micrografía electrónica de barrido de un glóbulo de grasa del PTQ6_{8G-8A-3.3W}.

La red proteínica del PTQ7_{15.9G-4A-1.7W} (Figuras 10a y 10b) no fue tan fina como las correspondientes al resto de los PTQ conteniendo cantidades mayores de WPC, reforzándose la idea de que las proteínas de lactosuero del WPC, limitaron la fusión de fibras de caseína. El PTQ7_{15.9G-4A-1.7W} (Figuras 10a y 10b), presentó áreas de proteína interrumpidas por glóbulos de grasa láctea relativamente grandes y al mismo tiempo exhibió áreas lisas de mayor densidad proteínica interrumpidas por pocos glóbulos de aceite; las primeras y predominantes, fueron similares a las encontradas en la red proteínica del CG_{24G} (Figuras 2a y 2b).

La red proteínica del PTQ8_{4G-15.9A-1.7W} (Figuras 11a y 11b), mostró pequeños espacios originalmente ocupados por glóbulos de aceite; pudiendo observarse dos de estos últimos en la figura 11b, con diámetros de alrededor de 6.7 y 6.9 μm . Puesto que este PTQ, también contuvo una pequeña proporción de grasa láctea, su red proteínica exhibió espacios más grandes que los atribuidos a los glóbulos de aceite.

El PTQ⁹_{4G-4A-6.6W} (Figuras 12a y 12b) mostró una red proteínica cerrada, compacta, solo con algunos espacios originalmente ocupados por partículas grasas, debido al bajo contenido graso de la leche a partir de la cual fue preparado (Cuadro 1).

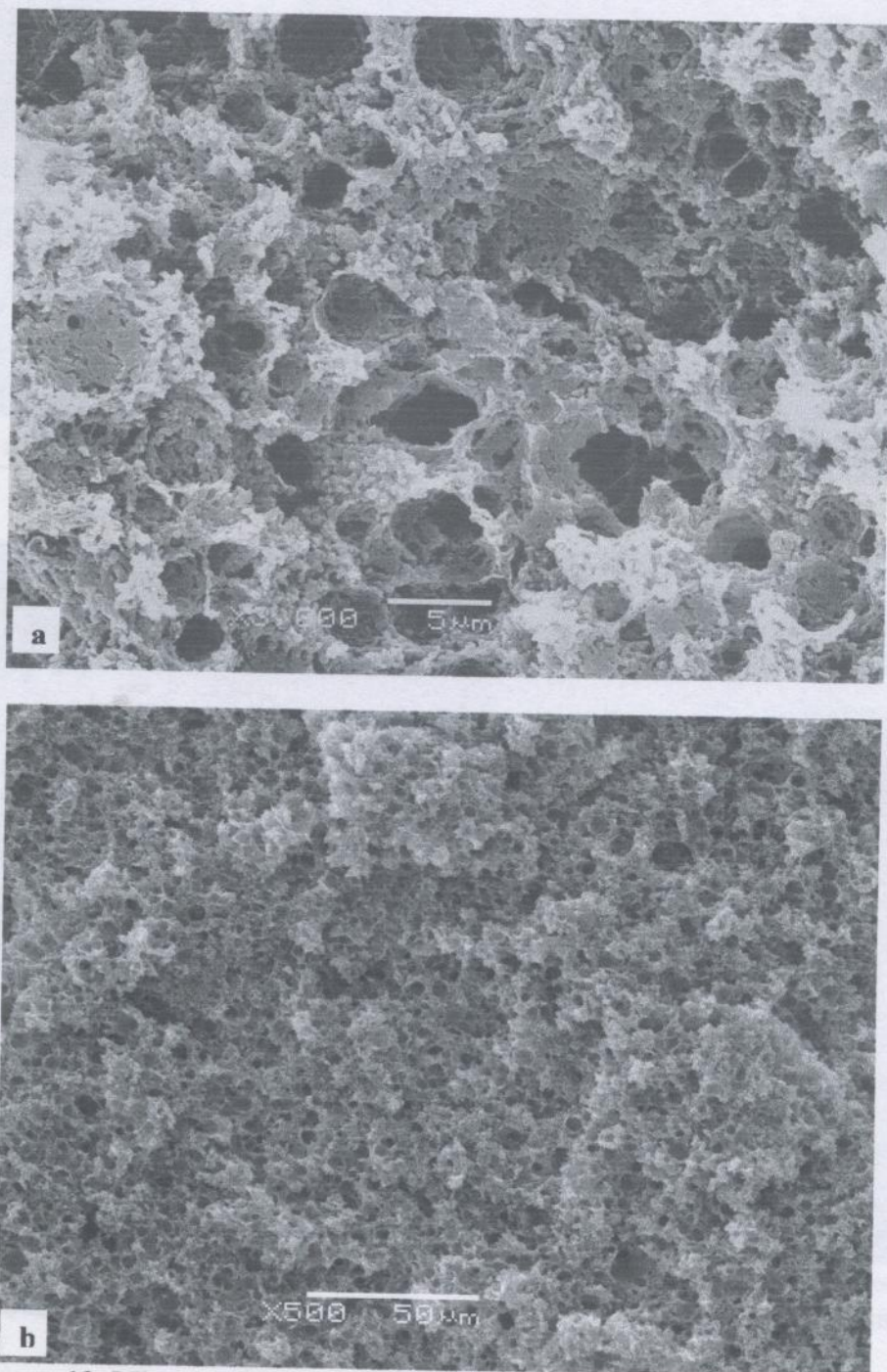


Figura 10. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso
(a) PTQ⁷_{15.9G-4A-1.7W}, amplificación 3000x, (b) PTQ⁷_{15.9G-4A-1.7W}, amplificación 500x

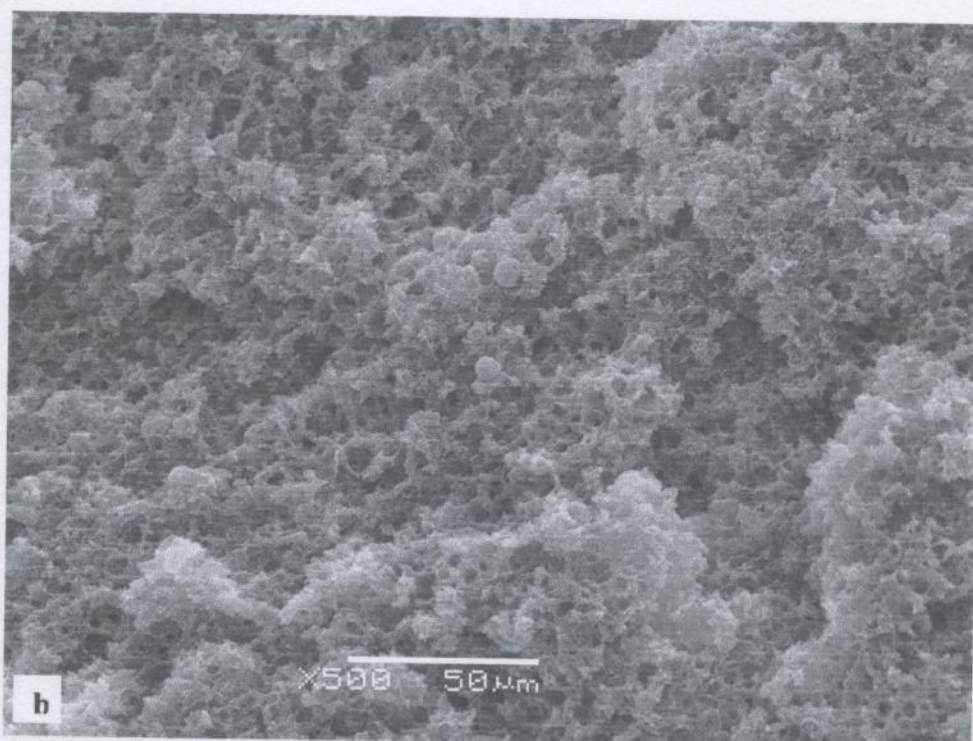
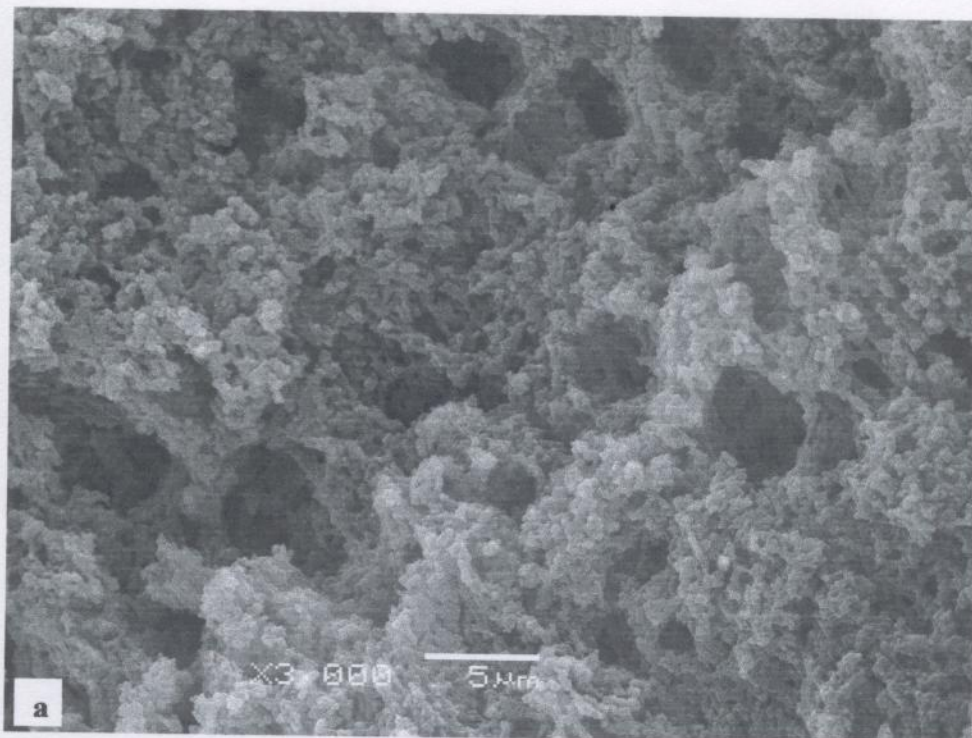


Figura 11. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso
(a) PTQ8_{4G-15.9A-1.7W}, amplificación 3000x, (b) PTQ8_{4G-15.9A-1.7W}, amplificación 500x

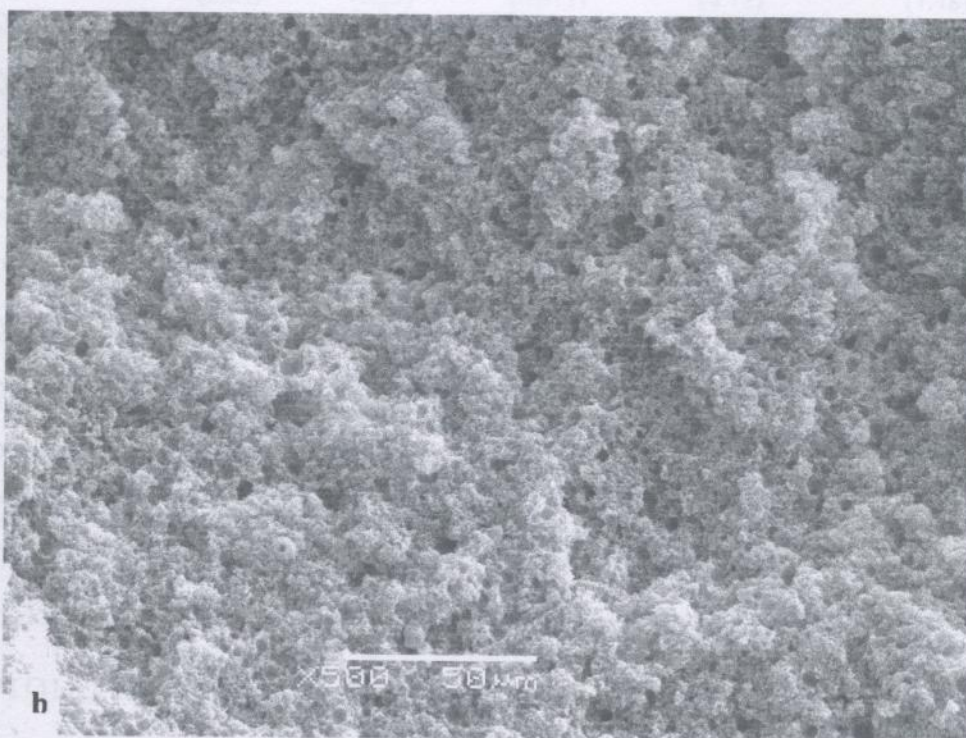
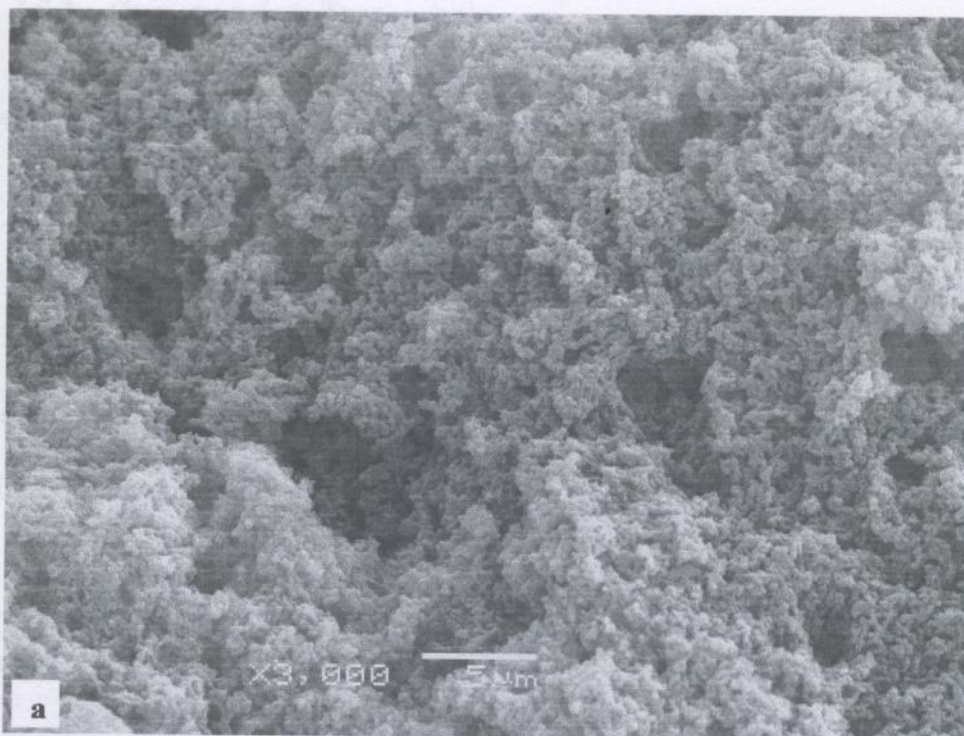


Figura 12. Micrografía electrónica de barrido del producto tipo queso
(a) PTQ9_{4G-4A-6.6W}, amplificación 3000x, (b) PTQ9_{4G-4A-6.6W}, amplificación 500x

3.5.3. Características Texturales

Los quesos de los distintos tratamientos presentaron diferencias en sus características de dureza, adhesividad, cohesividad y masticabilidad ($p \leq 0.05$), pero no así en elasticidad ($p > 0.05$) (Cuadro 3). Como ya se discutió, modificaciones en la composición de la leche, influyeron en la composición química y arreglo microestructural de los tratamientos de queso; de tal manera que su respuesta mecánica, dependiente de estos dos últimos factores, también fue alterada.

Cuadro 3. Características texturales de los tratamientos de queso.

Código del tratamiento	Dureza (N)	Adhesividad (N.mm)	Elasticidad (mm)	Cohesividad (adimensional)	Masticabilidad (N.mm)
CG _{24G}	4.59 bc (0.79)	0.54 bc (0.09)	4.99 a (0.009)	0.60a (0.68)	13.60 bc (1.76)
PTQ1 _{24A}	3.24 a (0.24)	0.44 a (0.23)	4.99 a (0.011)	0.60 a (0.12)	9.68 a (1.48)
PTQ2 _{10W}	7.11 f (0.54)	0.55 bc (0.30)	4.99 a (0.006)	0.80 d (0.36)	28.55 f (1.52)
PTQ3 _{12G-12A}	3.91 ab (0.25)	0.51 abc (0.04)	4.99 a (0.002)	0.79 cd (0.36)	15.41 cd (1.55)
PTQ4 _{12A-5W}	5.10 cd (0.62)	0.54 bc (0.25)	5.00 a (0.001)	0.71 bcd (0.55)	18.00 de (1.93)
PTQ5 _{12G-5W}	5.63 de (0.61)	0.64 de (0.08)	4.99 a (0.006)	0.76 cd (0.70)	21.16 e (3.41)
PTQ6 _{8G-8A-3.3W}	4.82 bcd (0.69)	0.58 cd (0.28)	4.99 a (0.004)	0.75 cd (0.44)	18.1 de (0.89)
PTQ7 _{15.9G-4A-1.7W}	4.56 bc (0.34)	0.55 bcd (0.21)	4.96 a (0.075)	0.64 ab (0.48)	14.56 cd (2.72)
PTQ8 _{4G-15.9A-1.7W}	3.32 a (0.51)	0.48 ab (0.23)	5.00 a (0.004)	0.62 ab (0.68)	10.31 ab (2.99)
PTQ9 _{4G-4A-6.6W}	6.22 ef (0.44)	0.68 e (0.22)	4.99 a (0.004)	0.70 bc (0.49)	21.72 e (2.28)

Medias en una misma columna con letras distintas son diferentes significativamente ($p \leq 0.05$). Valores en paréntesis corresponden a la desviación estándar.

La sustitución de la grasa láctea por de aceite de canola, sin la adición de WPC, resultó en un PTQ1_{24A} con valores de dureza, adhesividad y masticabilidad menores ($p \leq 0.05$), pero valores de elasticidad y cohesividad similares ($p > 0.05$) a las correspondientes al queso control CG_{24G} (Cuadro 3). Las características texturales del PTQ1_{24A} estuvieron

relacionadas con la formación de una red proteínica (Figuras 3a y 3b) relajada y abierta, interrumpida por numerosos espacios pequeños vacíos, originalmente ocupados por glóbulos de aceite de canola, que limitaron la extensión de asociación entre las moléculas de caseína originando una red porosa; mientras que la microestructura del CG_{24G} (Figuras 2a y 2b) consistió de una red proteínica interrumpida por menor número de glóbulos grasos, constituidos por grasa láctea, de tamaño heterogéneo, presentando zonas en las que la asociación entre caseínas fue mayor. Lobato-Calleros *et al.* (2002), informaron que la sustitución de la grasa láctea de queso tipo Manchego por aceite de canola, resultó, en términos generales, en productos con menor dureza, elasticidad y masticabilidad, debido a que el queso conteniendo grasa láctea exhibió una distribución más uniforme del esfuerzo y mayor resistencia a la deformación, puesto que los glóbulos de grasa láctea consisten de una capa externa grasa de alto punto de fusión rodeando aceite líquido contenido en el interior. En contraste, los productos tipo queso contuvieron gotas de aceite de canola de bajo punto de fusión y por su tamaño más pequeño, fueron más numerosos.

Cuando se utilizó leche conteniendo grasa láctea y aceite de canola (12.0 g L⁻¹ de cada uno), se obtuvo un PTQ3_{12G-12A}, con mayor cohesividad ($p \leq 0.05$), pero con dureza, adhesividad, elasticidad y masticabilidad comparables ($p > 0.05$) a aquellas mostradas por el CG_{24G} (Cuadro 3). Debido a que el PTQ3_{12G-12A} (Fig. 5a) contuvo tanto glóbulos de grasa láctea, como aquellos de aceite, el grado de compactación de su red proteínica fue mayor que la correspondiente al PTQ1_{24A} (Figura 3a) y comparable a la del CG_{24G}.

La formulación de leche con distintas concentraciones de grasa láctea, aceite de canola - y en consecuencia de emulsificantes de bajo peso molecular- y concentrado de proteína

de lactosuero, resultó en PTQ que exhibieron una amplia gama de características texturales (Cuadro 3), de acuerdo a la concentración y funcionalidad de los componentes antes mencionados. Los PTQ_{512G-5W}, PTQ_{94G-4A-6.6W} y PTQ_{210W}, preparados a partir de leche con reducciones en su contenido graso de 50, 66.6 y 99.6 %, respectivamente, mostraron valores similares de elasticidad ($p > 0.05$) al del CG_{24G}, pero, en general, valores más elevados de dureza, adhesividad, cohesividad y masticabilidad ($p \leq 0.05$) que aquellos del CG_{24G}. El arreglo estructural de estos PTQ, estuvo caracterizado por redes proteínicas (Figuras 7, 12 y 4) más cerradas que la correspondiente al queso CG_{24G} (Figura 2), presentando menor número de espacios vacíos atribuidos a glóbulos de grasa láctea y/o de aceite y zonas más extensas en las que predominó la proteína. La reducción en el número de glóbulos grasos resultó en una red proteínica con áreas relativamente extensas donde la continuidad de la caseína predominó en la estructura de estos PTQ. El efecto del predominio de proteína sobre la estructura del queso ha sido asociado con incrementos en su dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad (Metzger y Mistry, 1995; Bryant *et al.*, 1995; Lobato-Calleros *et al.*, 2001). En esta investigación no se encontraron diferencias ($p \leq 0.05$) entre los valores de elasticidad de los distintos tratamientos, lo que parece indicar que el grado de compresión de las muestras no fue suficiente para poder diferenciarlos.

El PTQ_{715.9G-4A-1.7W}, mostró dureza, adhesividad, elasticidad, cohesividad y elasticidad semejantes ($p > 0.05$) a aquellas mostradas por el CG_{24G} (Cuadro 3). La red proteínica del PTQ_{715.9G-4A-1.7W} (Figuras 10a y 10b) no fue tan fina como las correspondientes al resto de los PTQ conteniendo cantidades mayores de WPC, estuvo interrumpida por glóbulos de grasa láctea relativamente grandes y al mismo tiempo exhibió áreas en las

que estuvieron inmersos algunos glóbulos de aceite; las primeras y predominantes, fueron similares a las encontradas en la red proteínica del CG_{24G} (Figuras 2a y 2b).

Para obtener una mayor comprensión del efecto que modificaciones en la composición de la leche ejercen sobre las propiedades mecánicas de los productos tipo queso, se obtuvieron modelos polinomiales que permiten la predicción de estas últimas en función de las variables de composición de la leche estudiada (Cuadro 4). Las características texturales de los tratamientos de queso, en especial de los PTQ conteniendo aceite de canola solo o en combinación con grasa láctea, fueron determinadas en gran medida por la funcionalidad de los emulsificantes de bajo peso molecular usados, incluyendo su capacidad de desplazamiento de proteína de la interfase aceite-agua, su interacción con las proteínas del lactosuero de WPC y en consecuencia con el grado de interacción entre los glóbulos grasos y la red proteínica de los quesos (Cuadro 4). La adsorción competitiva entre proteínas y emulsificantes de bajo peso molecular en interfases aceite-agua es complicada por los enlaces que pueden formarse entre ambos tipos de moléculas (Boss *et al.*, 1997), los cuales a su vez modifican su comportamiento en la interfase.

Cuadro 4. Modelos polinomiales que estiman las características texturales de los quesos.

Variable de repuesta	Modelo	R-cuadrada
Dureza	$2.191 P + 0.190 GL + 0.701 WPC$	0.991
Adhesividad	$2.912 WPC \times S + 0.018 AC + 0.022 GL + 0.002 GL \times WPC - 1.138 WPC \times P + 0.053 WPC$	0.993
Cohesividad	$0.080 WPC - 0.914 P \times S + 1.529 G + 0.025 GL - 0.057 WPC \times P$	0.992
Masticabilidad	$6.829 P + 0.615 GL + 0.053 WPC$	0.993
Elasticidad	$0.002 GL \times WPC - 0.542 P \times S + 3.944 P + 0.208 GL + 0.479 WPC$	0.999

P: monoestearato de sorbitán polioxietileno (g L⁻¹ leche); S: monoestearato de sorbitán (g L⁻¹ leche); G: monoestearato de glicerol (g L⁻¹ leche); GL: grasa láctea (g L⁻¹ leche); AC: aceite de canola (g L⁻¹ leche); WPC: concentrado de proteína de lactosuero (g L⁻¹ leche). Para todos los modelos $p < 0.0001$.

El emulsificante de bajo peso molecular P, individualmente, produjo incrementos en la dureza, masticabilidad y elasticidad de los PTQ (Cuadro 4). Las moléculas de P rápidamente se difunden a la interfase aceite-agua y debido a su carácter hidrosoluble la mayor porción de sus moléculas (hidrofílica) se orienta del lado acuoso, causando así una disminución rápida de la tensión interfacial y la formación de gotas de aceite muy pequeñas (Dickinson, 1992). Gotas emulsionadas más pequeñas perturban la red proteínica en menor grado (Euston *et al.*, 2001), por lo que se produce un mayor grado de entrecruzamiento entre las cadenas de caseína y la formación de una red proteínica más resistente a la aplicación de esfuerzos externos (Lobato-Calleros *et al.*, 2002).

WPC y GL, de igual manera que P, contribuyeron a las características de dureza, masticabilidad y elasticidad de los PTQ, pero además incrementaron los valores de las características de cohesividad y adhesividad (Cuadro 4) de los tratamientos de queso. Se ha informado que la desnaturalización térmica de las proteínas de lactosuero, produce exposición de grupos -SH y desplegamiento de molecular, factores que favorecen la asociación entre sus cadenas proteínicas, así como su interacción con otras proteínas (Ferry, 1948; Morr, 1982; Kneifel y Seiler, 1993; Lucca y Tepper, 1994; Dickinson y Yamamoto, 1996, Fox y McSweeney, 1998). Esta mayor reactividad de las proteínas de lactosuero desnaturalizadas, al parecer es la responsable de su integración estructural a la red proteínica, resultando una estructura con comportamiento mecánico distinto a aquel asociado con una red conformada fundamentalmente por caseína. Lobato-Calleros *et al.* (2001), informaron que queso tipo Manchego reducido en grasa e incorporado con WPC, mostró glóbulos de grasa interconectados por cadenas de proteína, formando una red proteínica similar a aquella de queso tipo Manchego completo en grasa, pero con menor

número de glóbulos grasos. Las características estructurales impartidas por WPC a queso tipo Manchego reducido en grasa, estuvieron relacionadas con un comportamiento textural de este queso, similar al mostrado por el queso completo en grasa.

El efecto positivo de GL sobre las características de textura de los tratamientos de queso, indica que la presencia de los glóbulos de grasa láctea de la leche, incrementaron la resistencia de la red proteínica a la deformación; efecto que no fue observado para AC. Este último únicamente contribuyó de manera significativa a la adhesividad de los PTQ (Cuadro 4). Resultados similares han sido observados en análogos de queso formulados con distintos tipos de grasas, las cuales variaron en su punto de fusión. Marshall (1991), menciona que bajo la aplicación de esfuerzos pequeños, la dureza de análogos de queso incrementó con su contenido graso, pero que este aumento fue más efectivo para el caso de grasas “duras” que para el caso de grasas “suaves”. Lobato-Calleros *et al.* (1998), encontraron que la grasa butírica contribuyó en mayor grado a la dureza y a la elasticidad de análogos de queso, que el aceite de soya.

La interacción GL $\times$ WPC tuvo efectos positivos sobre la elasticidad y la adhesividad de los PTQ (Cuadro 4). Como ya se mencionó, esta interacción pudo influir en una integración integral de los glóbulos de grasa láctea a la red proteínica, incrementando la funcionalidad de los primeros. Las propiedades emulsificantes de las proteínas dependen estrechamente de su superficie hidrofóbica (Kato y Nakai, 1979). Por calentamiento, las proteínas del lactosuero se desdobl原因 parcialmente, ocurriendo exposición de sus grupos no polares e incrementos en su habilidad emulsificante (Evans, 1986). Se ha demostrado que moléculas de β -lactoglobulina adsorbidas en interfases aceite-agua se polimerizan lentamente vía intercambio grupos sulfhidrilo-disulfuro (Dickinson y Matsumura, 1991).

Las redes proteínicas son afectadas por la presencia de gotas de lípidos cubiertas por proteína, resultando en aumentos en las propiedades de los geles (Dickinson y Yamamoto, 1996).

El efecto negativo de la interacción WPC $\times$ P sobre las características texturales de cohesividad y adhesividad de los PTQ (Cuadro 4), refuerza la idea de que al aumentar la concentración de P, los glóbulos de aceite inmersos en la red proteínica se encuentran cubiertos por menores cantidades de proteína, limitándose así la oportunidad de interacción entre los mismos con la red proteínica del queso. Dickinson y Yamamoto (1996), informaron que conforme se incrementa la relación molar emulsificante hidrofílico (Tween 20, monolaurato de sorbitán polioxietileno) : proteína, en geles de proteínas de lactosuero conteniendo gotas de aceite emulsionadas, más proteína de la interfase es desplazada, lo cual reduce el módulo elástico del gel. Los autores antes citados, atribuyen este comportamiento a una reducción en la extensión de las interacciones entre las gotas de emulsión con la red proteínica y mencionan que el comportamiento contrario se observa a bajos niveles de emulsificante, debido a la formación de un complejo 1:1 entre la β -lactoglobulina y Tween 20. Estas interacciones también han sido observadas para otros emulsificantes no iónicos de carácter hidrofílico (Euston *et al.*, 2001), por lo que es muy probable que las moléculas de P y de β -lactoglobulina presentes en la leche formulada para la elaboración de los PTQ, interactuaran de manera similar a la antes descrita.

Los emulsificantes S y G, tuvieron contribuciones distintas a las características texturales de los PTQ, que aquellas del emulsificante P. La interacción WPC $\times$ S, al

contrario que aquella entre WPC y P, contribuyó positivamente a la adhesividad de los PTQ; al mismo tiempo G, en forma individual, contribuyó a la cohesividad de los PTQ (Cuadro 4). Las moléculas lipofílicas de G y S, de carácter lipofílico, se localizan predominantemente en el lado oleoso de la interfase, por lo que causan menor desplazamiento de proteína de la interfase (Euston *et al.*, 1996; Lobato-Calleros *et al.*, 2003) y consecuentemente permiten mayor interacción entre los glóbulos grasos y la red proteínica del queso. Chen y Dickinson (1993) han demostrado que los emulsificantes de bajo peso molecular lipofílicos no desplazan proteína de la interfase fácilmente, sino por el contrario pueden interactuar con ella para formar algún tipo de complejo interfacial, el cual entonces permite que moléculas adicionales de β -lactoglobulina de la solución se enlacen a la proteína originalmente adsorbida para formar una especie de capa o película secundaria.

El efecto negativo de la interacción $P \times S$ sobre la elasticidad y cohesividad de los PTQ (cuadro 4), puede estar relacionado a la adsorción competitiva que P ejerce sobre la de S, en la interfase aceite-agua. Resultados similares fueron informados por Lobato-Calleros *et al.* (2002) sobre la cohesividad de productos tipo queso Manchego, elaborados con emulsiones aceite de canola-leche descremada, estas últimas formuladas con diferentes proporciones en peso de los emulsificantes P, S y G.

3.6. Conclusiones

Los productos tipo queso mostraron variaciones en sus contenidos de grasa, proteína y humedad, como resultado de modificaciones en la composición química de la leche a partir de la que se prepararon.

Los contenidos grasos de los productos tipo queso fueron menores que aquel mostrado por el queso control (CG_{24G}) y estuvieron determinados por la grasa láctea (GL), aceite de canola (AC) y las interacciones entre las proteínas de lactosuero adicionadas a la leche con los glóbulos de grasa láctea y el monoestearato de sorbitán (S).

Los contenidos de proteína y de humedad de los productos tipo queso fueron en general más elevados que aquellos presentados por el queso control (CG_{24G}) y estuvieron correlacionados directamente con la cantidad de concentrado de proteína de lactosuero (WPC) adicionada y negativamente con sus contenidos grasos.

La estructura del queso control (CG_{24G}) consistió de una matriz proteínica relajada y abierta, interrumpida por numerosos glóbulos de grasa láctea de tamaño muy variable.

El arreglo estructural de los productos tipo queso, fue determinado por la naturaleza, concentración y propiedades funcionales de su fracción grasa, emulsificantes de bajo peso molecular (EBPM) y proteínas de lactosuero adicionadas a la leche.

La sustitución de la grasa láctea por aceite de canola emulsionado, promovió la formación de una matriz proteínica en el producto tipo queso 1 (PTQ_{124A}), de apariencia relajada y abierta, interrumpida por pequeños espacios, originalmente ocupados por glóbulos de aceite. Esta estructura presentó valores de dureza, adhesividad y

masticabilidad menores a los del queso control (CG_{24G}), pero valores de cohesividad similares.

Cuando se sustituyó una fracción de la grasa láctea por aceite de canola, se obtuvo un producto tipo 3 (PTQ3_{12G-12A}) con una red proteínica interrumpida tanto por glóbulos de grasa láctea, como de aceite; estos últimos de menor tamaño y más numerosos. Las características estructurales de este producto tipo queso (PTQ3_{12G-12A}), estuvieron relacionadas con mayor cohesividad, pero dureza, adhesividad y masticabilidad comparables a aquellas mostradas por el queso control (CG_{24G}).

Aquellos productos tipo queso formulados con grasa láctea, aceite de canola y proteínas de lactosuero, mostraron redes proteínicas con diferentes arreglos estructurales; observándose que la reducción del contenido graso total en los productos tipo queso, originó mayor entrecruzamiento de las cadenas de caseína y la formación de redes proteínicas de apariencia más compacta y cerrada que la del queso control (CG_{24G}); mientras que las proteínas de lactosuero adicionales influyeron en la formación de redes de proteína más finas, con cadenas de caseína más cortas. Los productos tipo queso 5, 9 y 2 (PTQ5_{12G-5W}, PTQ9_{4G-4A-6.6W} y PTQ2_{10W}), preparados a partir de leches formuladas como antes se mencionó, con reducciones del 50, 66.6 y 99.6 % de grasa, respecto a 24 g L⁻¹ y adición de concentrado de proteína de lactosuero en concentraciones de 5, 6.6 y 10 g L, mostraron valores más elevados de dureza, adhesividad, cohesividad y masticabilidad que el CG_{24G}.

Los glóbulos grasos lácteos observados mediante Microscopía Electrónica de Barrido, exhibieron una cubierta no homogénea, con depósitos de partículas de proteína (micelas

o fragmentos de micelas de caseína), así como zonas lisas atribuidas a la adsorción de proteínas disgregadas (cadenas de caseína y proteínas de lactosuero). Por su parte, los glóbulos de aceite mostraron una cubierta lisa y homogénea, atribuida a proteínas disgregadas que muy probablemente se encontraron coadsorbidas con los emulsificantes de bajo peso molecular.

El producto tipo queso 7 (PTQ7_{15.9G-4A-1.7W}), conteniendo 33.8 % menos grasa que el queso control (CG_{27G}) y variaciones en su arreglo estructural, mostró características de dureza, adhesividad, cohesividad y masticabilidad comparables a las del queso control (CG_{24G}).

Los modelos obtenidos para predecir las características texturales de los productos tipo queso en función de la composición de la leche usada para su elaboración, mostraron que el comportamiento mecánico de estos productos es determinado en gran medida por la funcionalidad de los emulsificantes de bajo peso molecular usados, incluyendo su capacidad de desplazamiento de proteína de la interfase aceite-agua, su interacción con las proteínas del lactosuero del concentrado de proteína de lactosuero y en consecuencia con el grado de interacción entre los glóbulos grasos y la red proteínica de los quesos.

El concentrado de proteína de lactosuero (WPC), grasa láctea (GL) y monoestearato de sorbitan polioxietileno (P), contribuyeron a las características de dureza, masticabilidad y elasticidad, pero además el concentrado de proteína de lactosuero (WPC) y la grasa láctea (GL) incrementaron los valores de las características de cohesividad y adhesividad de los tratamientos de queso. La interacción de grasa láctea (GL) × concentrado de proteína de lactosuero (WPC), tuvo efectos positivos sobre la elasticidad y la

adhesividad de los productos tipo queso; sin embargo, la interacción concentrado de proteína de lactosuero (WPC) × monoestearato de sorbitan polioxietileno (P) presentó efectos negativos sobre las características texturales de cohesividad y adhesividad. La interacción concentrado de proteína de lactosuero (WPC) × monoestearato de sorbitan (S), al contrario de la interacción de concentrado de proteína de lactosuero (WPC) y monoestearato de sorbitan polioxietileno (P), contribuyó positivamente a la adhesividad de los productos tipo queso; al mismo tiempo el monoestearato de glicerol (G), en forma individual, contribuyó a la cohesividad.

3.7. Literatura citada

- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- Bhaskaracharya, R.K y Shan, N.P. 2001. Texture and microstructure of skim milk Mozzarella cheese made using fat replacers. *Australian Journal of Dairy Technology* 56(1): 9-14.
- Boss, M., Nylander, T., Arnebrant, T. y Clark, D.C. 1997. Protein/emulsifier interaction. En: *Food emulsifiers and their applications*. Hasenhuettl, G. L. y Hartel, R. W. (eds). Nueva York: Chapman and Hall, pp: 95-146.
- Bourne, M.C. 1982. *Food Texture and Viscosity: Concept and measurement*. Academic Press, New York.
- Bryant, A., Ustunol, Z. y Steffe, J. 1995. Texture of cheddar cheese as influenced by fat reduction. *Journal of Food Science* 60(6): 1216-1219, 1236.

- Buchheim, W. y Dejmek, P. 1997. Milk and dairy type emulsions. En: *Food Emulsions*. Friberg, S.E. y Larsson, K. (eds.). 3rd ed. Nueva York: Marcel Dekker, Inc. pp: 235-278.
- Chen, J. y Dickinson, E. 1993. Time-dependent competitive adsorption of milk proteins and surfactants in oil-in-water emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62: 283-289.
- Davies, F.L., Shankar, R.A., Brooker, B.E. y Hobbs, D.G. 1978. A heat-induced change in the ultrastructure of milk and its effects on gel formation in yogurt. *Journal of Dairy Research* 45:53-58.
- de Wit, J.N. 1998. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of Dairy Science* 81: 597-608.
- Dickinson, E. 1992. Structure and composition of adsorbed layers and the relationship to emulsion stability. *Journal of the Chemical Society Faraday Transactions* 88: 2973-2983.
- Dickinson, E. 1997. Properties of emulsion stabilized with milk proteins. *Journal of Food Science* 80: 2607-2619.
- Dickinson, E. y Matsumura, Y. 1991. Time-dependent polymerization of β -lactoglobulin through disulphide bonds at the oil-water interface in emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules* 13: 26-30.
- Dickinson, E. y Tanai, S. 1992. Protein displacement from the emulsion droplet surface by oil-soluble and water-soluble surfactants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 40: 179-183.
- Dickinson, E. y Yamamoto, Y. 1996. Viscoelastic properties of heat-set whey protein-stabilized emulsion gels with added lecithin. *Journal of Food Science* 61(4): 811-816.

- Drake, M.A., Boylston, T.D. y Swanson, B.G. 1996. Fat mimetics in low-fat cheddar cheese. *Journal of Food Science* 61(6): 1267-1270, 1288.
- Euston, S.R. 1997. Emulsifiers in dairy products and dairy substitutes. En: *Food emulsifiers and their applications*. Hasenhuettl, G. L. y Hartel, R. W. (eds). Nueva York: Chapman and Hall, pp: 173-210.
- Euston, S.E., Singh, H., Munro, P.A. y Dalgleish, D.G. 1995. Competitive adsorption between sodium caseinate and oil-soluble and water-soluble surfactants in oil-in-water emulsion. *Journal of Food Science* 60: 1124-1131.
- Euston, S.E., Singh, H., Munro, P.A. y Dalgleish, D.G. 1996. Oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate or whey protein isolate as influenced by glycerol monostearate. *Journal of Food Science* 61(5): 916-920.
- Euston, S.R. y Hirst, R.L. 2000. The emulsifying properties of commercial milk protein products in simple oil-in-water emulsions and in a model food system. *Journal of Food Science* 65(6): 934-940.
- Euston, S.R., Finnigan, S.R. y Hirst, R.L. 2001. Aggregation kinetics of heated whey protein-stabilised emulsions: effect of low-molecular weight emulsifiers. *Food Hydrocolloids* 15: 253-262.
- Evans, E.W. 1986. Interactions of milk components in food systems. En: *Interactions of food components*. Birch, G.G. y Lindley, M.G. (eds.). Londres/Nueva York: Elsevier Applied Science Publishers, pp: 241-275.
- Everet, D.W. y Olson, N.F. 2000. Dynamic rheology of renneted milk gels containing fat globules stabilized with different surfactants. *Journal of Dairy Science* 83: 1203-1209.
- Fenelon, M.A. y Guinee, T.P. 2000. Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheese manufactured to different fat contents. *International Dairy Journal* 10: 151-158.

- Ferry, J.D. 1948. Proteins gels. *Advances in Protein Chemistry* 4: 1-79.
- Fife, R.L, McMahon, D.J. y Oberg, C.J. 1996. Functionality of low fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 79(11): 1903-1910.
- Fox, P.F. y McSweeney, P.L.H. 1998. *Dairy chemistry and biochemistry*. Blackie Academic and Professional. London, U.K., 479 p.
- Giese, J. 1996. Fats, oils and replacers. *Food Technology* 50(4):77-83.
- Jost, R., Dannenberg, F. y Rosset, J. 1989. Heat-set gel based on oil/water emulsion: an application of whey protein functionality. *Food Microstructure* 8:23.
- Kato, A. y Nakai, S. 1979. The relationship between hydrophobicity and interfacial tension of proteins. *Biochemica et Biophysica Acta* 576: 269-279.
- Kneifel, W. y Seiler, A. 1993. Water-holding properties of milk protein products: a review. *Food Structure* 12(3): 297-308.
- Lobato-Calleros, C., Vernon-Carter, E.J. y Hornelas-Urbe, Y. 1998. Microstructure and texture of cheese analogs composed of different fat types. *Journal of Texture Studies* 29: 569-586.
- Lobato-Calleros, C., Robles-Martínez, J.C., Caballero-Pérez, J.F. y Aguirre-Mandujano, E. 2001. Fat replacers in low-fat Mexican Manchego cheese. *Journal of Texture Studies* 32: 1-14.
- Lobato-Calleros, C., Ramirez-Santiago, C., Osorio-Santiago, V.J. y Vernon-Carter, E.J. 2002. Microstructure and texture of Manchego cheese-light products made with canola oil, lipophilic, and hydrophilic emulsifiers. *Journal of Texture Studies* 33: 165-182.

- Lobato-Calleros, C., Velázquez-Varela, J., Sánchez-García, J. y Vernon-Carter, E.J. 2003. Dynamic rheology of Mexican Manchego cheese-like products containing canola oil and emulsifiers blends. *Food Research International* 36: 81-90.
- Lozano-Castañeda, I. 2004. Estudio comparativo de formulaciones para el desarrollo de quesos frescos bajos en grasa saturada y en colesterol. Tesis Profesional. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, México, 104 p.
- Lucca, P.A. y Tepper, B.J. 1994. Fat replacers and the functionality of fat in foods. *Trends in Food Science and Technology* 5(1): 12-19.
- Ma, L., Drake, M.A., Barbosa-Canovas, G.V. y Swason, B.G. 1996. Viscoelastic properties of reduced-fat and full-fat Cheddar cheese. *Journal of Food Science* 61(4): 821-823.
- Marshall, R.J. 1991. Relationships between sensory perception of texture and psychophysical properties of processed cheese analogues. En: *Food Polymers, gels and colloids*. Dickinson, E. (ed.). The Royal Society of Chemistry, Londres, R.U. pp: 415-431.
- McMahon, D.J., Alleyne, M.C., Fife, R.L. y Oberg, C.J. 1996. Use of fat replacers in low fat mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 79: 1911-1921.
- McMahon, D.J. y Oberg, C.J. 1998. Influence of fat, moisture and salt on functional properties of Mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology* 53(2): 98-101.
- Metzger, L.E. y Mistry, V.V. 1995. A new approach using homogenization of cream in the manufacture of reduced fat Cheddar cheese. 2. Microstructure, fat globule distribution, and free oil. *Journal of Dairy Science* 78: 1883-1885.

- Morr, C.V. 1982. Functional properties of milk proteins and their use as functional ingredients. En: *Developments in dairy chemistry-1*. Fox, P.F. (ed.). Elsevier Applied Science, Londres, pp: 375.
- Mulvihill, D.M. y Fox, P.H. 1989. Physicochemical and functional properties of milk proteins. En: *Development in dairy chemistry-1*. Fox, P.H. (ed.). Elsevier Applied Science, Londres, pp: 375-399.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M. y Kindstedt, P.S. 1998. Effect of fat replacer (Salatrim®) on chemical composition, proteolysis, functionality, appearance, and yield of reduced fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 81(8): 2077-2088.
- Tunik, M.H., Mackey, K.L., Shieh, J.J., Smith, P.W., Cooke, P. y Malin, E.L. 1993. Rheology and microstructure of low-fat Mozzarella cheese. *International Dairy Journal* 3(7): 649-662.
- Ustunol, Z., Kawachi, K. y Steffe, J. 1995. Rheological properties of cheddar cheese as influenced by fat reduction and ripening time. *Journal of Food Science* 60(6): 1208-1210.
- Walstra, P. y Oortwijn, H. 1979. The membranes of recombined fat globules. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 33:134-154.
- Webb, D. 1999. The smart fat makeover. *Prevention* 51: 134-141.
- Yu, L. y Hammond, E.G. 2000. The modification and analysis of vegetable oil for cheese making. *Journal American of Chemical Oil Society* 77: 911-915.
- Zalazar, C.S., Bernal, S. y Zalazar, C. 1998. Quesos reducidos en materia grasa: Revisión del estado actual de conocimientos y tecnologías. *Microbiologie Aliments Nutrition* 17: 71-78.

4. LITERATURA

- Aguilera, J. 1995. Gelation of whey proteins. *Food Technology* 49(10): 83-89.
- Akoh, C. 1998. Fat replacers. *Food Technology* 52(3): 47-53.
- Alais, Ch. 2001. *Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera*. Compañía Editorial Continental, 13ra. ed., México D.F., 594 p.
- Anderson, D.L. y Mistry, V.V. 1994. Reduced fat Cheddar cheese from condensed milk. II. Microstructure. *Journal of Dairy Science* 77(1): 7-15.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- Bhaskaracharya, R.K y Shan, N.P. 2001. Texture and microstructure of skim milk Mozzarella cheese made using fat replacers. *Australian Journal of Dairy Technology* 56(1): 9-14.
- Boss, M., Nylander, T., Arnebrant, T. y Clark, D.C. 1997. Protein/emulsifier interaction. En: *Food emulsifiers and their applications*. Hasenhuettl, G. L. y Hartel, R. W. (eds). Nueva York: Chapman and Hall, pp: 95-146.
- Bourne, M.C. 1978. Texture profile analysis. *Food Technology* 32(7): 62-72.
- Bourne, M.C. 1982. *Food Texture and Viscosity: Concept and measurement*. Academic Press, New York.
- Bryant, A., Ustunol, Z. y Steffe, J. 1995. Texture of cheddar cheese as influenced by fat reduction. *Journal of Food Science* 60(6): 1216-1219, 1236.

- Buchheim, W. y Dejmek, P. 1997. Milk and dairy type emulsions. En: *Food Emulsions*. Friberg, S.E. y Larsson, K. (eds.). 3rd ed. Nueva York: Marcel Dekker, Inc. pp: 235-278.
- Chen, A.H., Larkin, J.W., Clark, C.J. y Irwin W.E. 1979. Textural analysis of cheese. *Journal of Dairy Science* 62(6): 901-907.
- Chen, J. y Dickinson, E. 1993. Time-dependent competitive adsorption of milk proteins and surfactants in oil-in-water emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62: 283-289.
- Chen, J., Dickinson, E., Langton, M. y Hermansson, A. M. 2000. Mechanical properties and microstructure of heat-set whey protein emulsion gels: Effect of emulsifiers. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 33: 299-307.
- Clark, D. 1994. Fat replacers and fat substitutes. *Food Technology* 48(12): 86.
- Davies, F.L., Shankar, R.A., Brooker, B.E. y Hobbs, D.G. 1978. A heat-induced change in the ultrastructure of milk and its effects on gel formation in yogurt. *Journal of Dairy Research* 45:53-58.
- de Wit, J.N. 1998. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of Dairy Science* 81: 597-608.
- Dickinson, E. 1992. Structure and composition of adsorbed layers and the relationship to emulsion stability. *Journal of the Chemical Society Faraday Transactions* 88: 2973-2983.
- Dickinson, E. 1997. Properties of emulsion stabilized with milk proteins. *Journal of Food Science* 80: 2607-2619.
- Dickinson, E. y Matsumura, Y. 1991. Time-dependent polymerization of β -lactoglobulin through disulphide bonds at the oil-water interface in emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules* 13: 26-30.

- Dickinson, E. y Tanai, S. 1992. Protein displacement from the emulsion droplet surface by oil-soluble and water-soluble surfactants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 40: 179-183.
- Dickinson, E. y Yamamoto, Y. 1996. Viscoelastic properties of heat-set whey protein-stabilized emulsion gels with added lecithin. *Journal of Food Science* 61(4): 811-816.
- Diefes, H.A., Rizvi, S.S.H. y Bartsch, J.A. 1993. Rheological behavior of frozen and thawed low-moisture, part-skim Mozzarella cheese. *Journal of Food Science* 58(4): 764-769.
- Drake, M.A., Boylston, T.D. y Swanson, B.G. 1996. Fat mimetics in low-fat cheddar cheese. *Journal of Food Science* 61(6): 1267-1270, 1288.
- Dziezak, J.D. 1989. Fat oils and fat substitutes. *Food Technology* 43(7): 65-74.
- Emmons, D.B., Kalab, M., Larmond, E. y Lowrie, R.J. 1980. Milk gel structure X. Texture and microstructure in Cheddar cheese made from whole milk and from homogenized low fat milk. *Journal of Texture Studies* 11: 15-34.
- Euston, S.R. 1997. Emulsifiers in dairy products and dairy substitutes. En: *Food emulsifiers and their applications*. Hasenhuettl, G. L. y Hartel, R. W. (eds). Nueva York: Chapman and Hall, pp: 173-210.
- Euston, S.E., Singh, H., Munro, P.A. y Dalgleish, D.G. 1995. Competitive adsorption between sodium caseinate and oil-soluble and water-soluble surfactants in oil-in-water emulsion. *Journal of Food Science* 60: 1124-1131.
- Euston, S.E., Singh, H., Munro, P.A. y Dalgleish, D.G. 1996. Oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate or whey protein isolate as influenced by glycerol monostearate. *Journal of Food Science* 61(5): 916-920.

- Euston, S.R. y Hirst, R.L. 2000. The emulsifying properties of commercial milk protein products in simple oil-in-water emulsions and in a model food system. *Journal of Food Science* 65(6): 934-940.
- Euston, S.R., Finnigan, S.R. y Hirst, R.L. 2001. Aggregation kinetics of heated whey protein-stabilised emulsions: effect of low-molecular weight emulsifiers. *Food Hydrocolloids* 15: 253-262.
- Evans, E.W. 1986. Interactions of milk components in food systems. En: *Interactions of food components*. Birch, G.G. y Lindley, M.G. (eds.). Londres/Nueva York: Elsevier Applied Science Publishers, pp: 241-275.
- Everet, D.W. y Olson, N.F. 2000. Dynamic rheology of renneted milk gels containing fat globules stabilized with different surfactants. *Journal of Dairy Science* 83: 1203-1209.
- Fenelon, M. y Guinee, T. 1997. The compositional, textural and maturation characteristics of reduced-fat Cheddar made from milk containing added Dairy-Lo. *Milchwissenschaft* 52(7): 385-389.
- Fenelon, M.A. y Guinee, T.P. 2000. Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheese manufactured to different fat contents. *International Dairy Journal* 10: 151-158.
- Ferry, J.D. 1948. Proteins gels. *Advances in Protein Chemistry* 4: 1-79.
- Fife, R.L, McMahon, D.J. y Oberg, C.J. 1996. Functionality of low fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 79(11): 1903-1910.
- Fox, P.F., O'Connor, T.P., McSweeney, P.L.H, Guinee, T.P. y O'Brien, N.M. 1996. Cheese: physical, biochemical, and nutritional aspects. *Advances in Food Nutrition Research* 39: 163-328.

- Fox, P.F. y McSweeney, P.L.H. 1998. *Dairy chemistry and biochemistry*. Blackie Academic and Professional. London, U.K., 479 p.
- Giese, J. 1996. Fats, oils and replacers. *Food Technology* 50(4):77-83.
- Giese, J. 2003. Texture measurement in foods. *Food Technology* 57(3): 63-67.
- Glicksman, M. 1991. Hydrocolloids and the search for the "oily grail". *Food Technology* 45(10): 94, 96-101, 103.
- Huffman, L.M. 1996. Processing whey protein for use as a food ingredient. *Food Technology* 50(2): 49-52.
- Jamenson, G. 1990. Cheese with less fat. *Australian Journal of Dairy Technology* 45(11): 93-98.
- Jost, R., Dannenberg, F. y Rosset, J. 1989. Heat-set gel based on oil/water emulsion: an application of whey protein functionality. *Food Microstructure* 8:23.
- Kato, A. y Nakai, S. 1979. The relationship between hydrophobicity and interfacial tension of proteins. *Biochemica et Biophysica Acta* 576: 269-279.
- Kneifel, W. y Seiler, A. 1993. Water-holding properties of milk protein products: a review. *Food Structure* 12(3): 297-308.
- Lagoueyte, N., Lablee, J., Lagaude, A. y Tarodo-de la Fuente, B. 1994. Temperature affects microstructure of renneted milk gel. *Journal of Food Science* 59 (5): 956-959.
- López-Camacho, I. 2004. Estudio comparativo de formulaciones para el desarrollo de quesos frescos bajos en grasa saturada y en colesterol. Tesis Profesional.

- Lawrence, R.C., Heap, H.A. y Gilles, J. 1984. A controlled approach to cheese technology. *Journal of Dairy Science* 67: 1632-1645.
- Lawson, H. 1999. *Aceites y grasas alimentarias*. Acribia. Zaragoza, España, 333 p.
- Lo, C. y Bastian, E. 1998. Incorporation of native and denatured whey proteins into cheese curd manufacture of reduced fat, Havarti-type cheese. *Journal of Dairy Science* 81: 16-24.
- Lobato-Calleros, C. 1987. Efecto de la adición de caseinato de sodio en el rendimiento y las propiedades reológicas de queso fresco tipo panela modificado. Tesis de Maestría. Universidad Iberoamericana, México.
- Lobato-Calleros, C., Vernon-Carter, E.J. y Hornelas-Urbe, Y. 1998. Microstructure and texture of cheese analogs composed of different fat types. *Journal of Texture Studies* 29: 569-586.
- Lobato-Calleros, C., Robles-Martínez, J.C., Caballero-Pérez, J.F. y Aguirre-Mandujano, E. 2001. Fat replacers in low-fat Mexican Manchego cheese. *Journal of Texture Studies* 32: 1-14.
- Lobato-Calleros, C., Ramirez-Santiago, C., Osorio-Santiago, V.J. y Vernon-Carter, E.J. 2002. Microstructure and texture of Manchego cheese-light products made with canola oil, lipophilic, and hydrophilic emulsifiers. *Journal of Texture Studies* 33: 165-182.
- Lobato-Calleros, C., Velázquez-Varela, J., Sánchez-García, J. y Vernon-Carter, E.J. 2003. Dynamic rheology of Mexican Manchego cheese-like products containing canola oil and emulsifiers blends. *Food Research International* 36: 81-90.
- Lozano-Castañeda, I. 2004. Estudio comparativo de formulaciones para el desarrollo de quesos frescos bajos en grasa saturada y en colesterol. Tesis Profesional.

- Lucca, P.A. y Tepper, B.J. 1994. Fat replacers and the functionality of fat in foods. *Trends in Food Science and Technology* 5(1): 12-19.
- Ma, L., Drake, M.A., Barbosa-Canovas, G.V. y Swason, B.G. 1996. Viscoelastic properties of reduced-fat and full-fat Cheddar cheese. *Journal of Food Science* 61(4): 821-823.
- Mann, E. 2000. Low fat cheese. *Dairy Industries International* 65 (4): 19-20.
- Marshall, R.J. 1990. Composition, structure, rheological properties and sensory texture of processed cheese analogues. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 50(2): 237-252.
- Marshall, R.J. 1991. Relationships between sensory perception of texture and psychophysical properties of processed cheese analogues. En: *Food Polymers, gels and colloids*. Dickinson, E. (ed.). The Royal Society of Chemistry, Londres, R.U. pp: 415-431.
- McMahon, D.J., Alleyne, M.C., Fife, R.L. y Oberg, C.J. 1996. Use of fat replacers in low fat mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 79: 1911-1921.
- McMahon, D.J. y Oberg, C.J. 1998. Influence of fat, moisture and salt on functional properties of Mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology* 53(2): 98-101.
- Metzger, L.E. y Mistry, V.V. 1995. A new approach using homogenization of cream in the manufacture of reduced fat Cheddar cheese. 2. Microstructure, fat globule distribution, and free oil. *Journal of Dairy Science* 78: 1883-1885.

- Meullenet, J.F. y Gross, J. 1999. Instrumental single and double compression tests to predict sensory texture characteristics of foods. *Journal of Texture Studies* 30: 167-180.
- Morr, C.V. 1982. Functional properties of milk proteins and their use as functional ingredients. En: *Developments in dairy chemistry-1*. Fox, P.F. (ed.). Elsevier Applied Science, Londres, pp: 375.
- Muir, D.D. Williams, S.A.R., Tamime, A.Y. y Shenana, M.E. 1997. Comparison of the sensory profiles of regular and reduced-fat commercial cheese spread. *International Journal of Food Science and Technology* 32: 279-287.
- Mulvihill, D.M. y Fox, P.H. 1989. Physicochemical and functional properties of milk proteins. En: *Development in dairy chemistry-1*. Fox, P.H. (ed.). Elsevier Applied Science, Londres, pp: 375-399.
- Olson, N. y Johnson, M. 1990. Light cheese products: characteristics and economics. *Food Technology* 44(10): 93-96.
- Pangborn, R.M. y Eymery, O. 1988. Influence of fat, citric acid and sodium chloride on texture and taste of a cheese analog. *Sciences des Aliments* 8(1): 15-32.
- Phillips, L. y Barbano, D. 1997. The influence of fat substitutes based on protein and titanium dioxide on the sensory properties of low-fat milks. *Journal of Dairy Science* 80: 2726-2731.
- Phillips, L.G., Whitehead, D.M., y Kinsella, J.E. 1994. *Structure-function properties of food proteins*. Academic Press. San Diego, California.

- Pszczola, D. 1996. Low fat dairy products. Getting a new lease on life. *Food Technology* 50: 32.
- Punidades, P., Tung, M.A. y Feirtag, J. 2000. Potential use of homogenized whey protein dispersions and process for the manufacture of low and reduced fat Cheddar type cheese. *International Journal of Dairy Technology* 53(2): 45-50.
- Rayan, A.A., Kalab, M. y Ernstrom, C.A. 1980. Microstructure and rheology of process cheese. *Scanning Electron Microscopy III* 635-643.
- Rosenberg, M., Wang, Z., Chiang, S.L. y Shoemaker, C.F. 1995. Viscoelastic property changes in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Food Science* 60: 640-644.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M. y Kindstedt, P.S. 1998. Effect of fat replacer (Salatrim®) on chemical composition, proteolysis, functionality, appearance, and yield of reduced fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 81(8): 2077-2088.
- Singhal, Gupta, A.K. y Kulkarni, P.R. 1991. Low-calorie fat substitutes. *Trends in Food Science and Technology* 2(10): 241-244.
- Stampanoni, C.R. y Noble, A.C. 1991. The influence of fat, acid and salt: a scalar study. *Journal of Texture Studies* 22: 367-380.
- Sutheerawattananonda, M., Fulcher, R.G., Martin, F.B. y Bastian, E.D. 1997. Fluorescence image analysis of process cheese manufactured with trisodium citrate and sodium chloride. *Journal of Dairy Science* 80: 620-627.

- Tunick, M.H., Mackey, K.L., Smith, P.W. y Holsinger, V.H. 1991. Effects of composition and storage on texture of Mozzarella cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 45(2): 117-125.
- Tunik, M.H., Mackey, K.L., Shieh, J.J., Smith, P.W., Cooke, P. y Malin, E.L. 1993. Rheology and microstructure of low-fat Mozzarella cheese. *International Dairy Journal* 3(7): 649-662.
- Ustunol, Z., Kawachi, K. y Steffe, J. 1995. Rheological properties of cheddar cheese as influenced by fat reduction and ripening time. *Journal of Food Science* 60(6): 1208-1210.
- Van Hekken, D.L. y Farkye, N.Y. 2003. Hispanic cheese: The quest for queso. *Food Technology* 57(1): 32-38.
- Walstra, P. y Oortwijn, H. 1979. The membranes of recombined fat globules. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 33:134-154.
- Webb, D. 1999. The smart fat makeover. *Prevention* 51: 134-141.
- Yu, L. y Hammond, E.G. 2000. The modification and analysis of vegetable oil for cheese making. *Journal American of Chemical Oil Society* 77: 911-915.
- Zalazar, C.S., Bernal, S. y Zalazar, C. 1998. Quesos reducidos en materia grasa: Revisión del estado actual de conocimientos y tecnologías. *Microbiologie Aliments Nutrition* 17: 71-78.