



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE HIDALGO**
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

**EFFECTO DEL PROCESAMIENTO
DEL LACTOSUERO EN SUS
PROPIEDADES MICROBIOLÓGICAS,
FISICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

INGENIERO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

ESTRADA FERNÁNDEZ ANA GUADALUPE

DIRECCIÓN: M. en B. DIANA JAQUELINE PIMENTEL GONZÁLEZ

ÍNDICE

ÍNDICE	I	
ÍNDICE DE CUADROS	V	
ÍNDICE DE FIGURAS	VII	
RESUMEN	VIII	
INTRODUCCIÓN	X	
Capítulo 1	REVISIÓN DE LITERATURA	1
	1.1 Definición de lactosuero	1
	1.2 Componentes del lactosuero	1
	1.2.1 Proteínas	1
	1.2.2 Lactosa	3
	1.2.3 Grasa	4
	1.2.4 Minerales	5
	1.3 Tipo de lactosuero	5
	1.4 Lactosuero como subproducto	6
	1.5 Propiedades funcionales	9
	1.5.1 Propiedades de hidratación	13
	1.5.1.1 Capacidad para ligar agua	14
	1.5.1.2 Solubilidad	15
	1.5.2 Propiedades relacionadas con las interacciones proteína- proteína	16
	1.5.2.1 Formación de geles	16
	1.5.3 Propiedades de superficie	18
	1.5.3.1 Propiedades emulsificantes	18
	1.5.3.1.1 Emulsiones	18

	1.5.3.1.2 Constituyentes de una emulsión	19
	1.5.3.1.3 Mecanismos de inestabilidad de las emulsiones	21
	1.5.3.2 Propiedades espumantes	24
	1.5.4 Propiedades interfaciales de las proteínas	26
	1.6 Efecto del tratamiento térmico en los componentes de la leche y lactosuero	27
	1.6.1 Efecto de la temperatura en la caseína	29
	1.6.2 Efecto de la temperatura en las proteínas del lactosuero	31
Capítulo 2	JUSTIFICACIÓN	33
Capítulo 3	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	34
	3.1 Hipótesis	34
	3.2 Objetivos	34
	3.2.1 Objetivo general	34
	3.2.2 Objetivos particulares	34
Capítulo 4	MATERIALES Y MÉTODOS	35
	4.1 Localización del área de estudio	35
	4.2 Descripción de la materia prima	35
	4.3 Establecimiento del experimento	35
	4.4 Análisis microbiológicos	36
	4.4.1 Preparación de muestras y diluciones	36
	4.4.2 Cuantificación de mesófilos aerobios	37
	4.4.3 Cuantificación de coliformes totales	37
	4.4.4 Cuantificación de Bacterias Ácido Lácticas	37

4.5	Análisis fisicoquímicos	38
4.5.1	Determinación de azúcares totales mediante el reactivo de antrona	38
4.5.2	Determinación de proteínas por el método de Lowry	39
4.5.3	Determinación de pH por medio de un método potenciómetro convencional	41
4.5.4	Determinación de grasa por el método de Gerber	41
4.5.5	Determinación de densidad	42
4.5.6	Determinación de Acidez titulable	42
4.6	Propiedades funcionales	42
4.6.1	Actividad emulsificante	42
4.6.2	Estabilidad de la emulsión	43
4.6.3	Capacidad de retención de aceite (CRa)	43
4.6.4	Capacidad de formar espuma (CFE) y estabilidad de la espuma (EE)	44
4.6.5	Capacidad de gelificación	45
4.7	Análisis de resultados	46
Capítulo 5	Resultados y discusiones	47
5.1	Análisis microbiológicos	47
5.2	Caracterización fisicoquímica	49
5.2.1	Carbohidratos	49
5.2.2	Proteínas	51
5.2.3	Grasa, pH, Dornic y densidad	54
5.3	Propiedades funcionales	55
5.3.1	Capacidad de retención de aceite	55

	5.3.2 Actividad emulsificante	56
	5.3.3 Estabilidad de la emulsión	59
	5.3.4 Capacidad para formar espuma	62
	5.3.5 Capacidad de gelificación	64
Capitulo 6	Conclusión y Recomendaciones	66
Capitulo 7	Bibliografía	68
	Anexos	

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Composición de aminoácidos de las proteínas del lactosuero (g/100g de proteína).	3
Cuadro 2	Composición lipídica media de la leche.	4
Cuadro 3	Composición de los diferentes tipos de lactosuero.	6
Cuadro 4	Aprovechamiento del lactosuero en diferentes industrias.	9
Cuadro 5	Papel de las proteínas en sistemas alimenticios.	10
Cuadro 6	Componentes típicos encontrados en las emulsiones.	20
Cuadro 7	Procesamiento de las variables que puede afectar a las propiedades funcionales de la caseína y las proteínas de suero de leche y sus productos.	28
Cuadro 8	Cambios inducidos por el calentamiento a una temperatura de 80 a 150 °C en las proteínas de la leche.	29
Cuadro 9	Tratamientos aplicados.	36
Cuadro 10	Datos para realizar curva patrón de carbohidratos.	38
Cuadro 11	Elaboración de curva patrón para proteínas.	39

Cuadro 12	Adición de concentrado proteico de suero a los tratamientos de lactosuero para observar su capacidad de formar espuma.	44
Cuadro 13	Composición microbiológica del lactosuero dulce.	48
Cuadro 14	Desnaturalización de las proteínas solubles por diversos tratamientos térmicos.	52
Cuadro 15	Propiedades del lactosuero.	55
Cuadro 16	Capacidad de Formar Espuma y Estabilidad de la Espuma.	64
Cuadro 17	Capacidad de gelificación.	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Las emulsiones pueden ser inestables debido a varios mecanismos físicos, incluyendo el cremado, sedimentación, floculación, coalescencia y fase de inversión.	22
Figura 2	Regiones que forman una emulsión.	22
Figura 3	Curva patrón, azúcares totales (método de antrona).	39
Figura 4	Curva patrón, de proteína por el Método de Lowry.	40
Figura 5	Contenido de carbohidratos en lactosuero dulce.	50
Figura 6	Contenido de proteína en lactosuero dulce.	54
Figura 7	Capacidad de retención de aceite en el lactosuero dulce.	56
Figura 8	Actividad emulsificante presentada en los diferentes tratamientos de lactosuero dulce.	58
Figura 9	Estabilidad de la emulsión en los diferentes tratamientos de lactosuero dulce.	60

RESUMEN

En la región de Tulancingo existe una gran producción de lácteos, por lo que se requieren nuevas alternativas de aprovechamiento de lactosuero, pudiendo ser utilizado como emulsificante y encapsulante en productos alimenticios por sus propiedades funcionales y nutritivas.

El lactosuero fue tratado por pasteurización, pasteurización filtrado, esterilización, esterilización filtrado, microfiltración, lactosuero crudo y lactosuero crudo filtrado; se evaluaron los efectos del procesamiento del lactosuero en sus propiedades microbiológicas, fisicoquímicas y funcionales.

En primer lugar se evaluó el contenido microbiológico que presentaba el lactosuero, así mismo para determinar si los tratamientos térmicos y de microfiltración fueron aplicados correctamente. Se obtuvo que el lactosuero crudo fue el único que presentó actividad microbiológica como: Bacterias Ácido Lácticas (3.6×10^6), Coliformes totales (9.8×10^3) y Mesofilos aerobios (1.8×10^6).

En los parámetros fisicoquímicos se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los diferentes tratamientos. El tratamiento que presentó las mejores características fisicoquímicas fue el lactosuero pasteurizado; en cuanto a su contenido de proteína fue de 14.41 ± 0.49 g/L, carbohidratos 47.57g/L, y lo que respecta al pH fue 6.45 y con una acidez de 15 a 25 °D (°D = Grados Dornic), en cuyo caso no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos.

En la capacidad de retención de aceite no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los valores de capacidad de retención de aceite de los tratamientos de lactosuero, los cuales presentaron un porcentaje mínimo. En cuanto a la actividad de la emulsión el lactosuero que fue tratado por pasteurización (65.33%) y el lactosuero crudo (65.2%), presentaron la mayor actividad de la emulsión ($P > 0.05$). El lactosuero microfiltrado (64.08%), crudo filtrado (63.31%) y esterilizado (62.83%) presentaron un porcentaje intermedio de actividad

emulsificante ($P>0.05$). En lo que respecta a los demás tratamientos esterilizado filtrado (61.85%) y pasteurizado filtrado (60.22%), no se encontró una diferencia significativa entre ellos ($P>0.05$) y presentaron un porcentaje mínimo en actividad de la emulsión. La estabilidad de la emulsión formada por el lactosuero pasteurizado fue de 77.75% y fue estadísticamente diferente a los demás tratamientos ($P<0.05$). Así mismo presentó una baja formación de espuma y se formó un gel en el caso de todos los tratamientos, agregando un porcentaje mínimo de 14% de proteína de lactosuero.

Como conclusión y de acuerdo a los resultados obtenidos podemos decir que el lactosuero pasteurizado presenta las mejores propiedades y de esta manera se podría aprovechar este residuo por sus propiedades funcionales de emulsificación, gelificación y formar espuma.

INTRODUCCIÓN

La fabricación de queso en Tulancingo, tanto por los sistemas tradicionales como por los modernos dan inevitablemente lugar a la producción de una gran cantidad de lactosuero. El lactosuero es la porción acuosa de la leche obtenida de una acidificación, o por medio de un calentamiento que origine una coagulación de las caseínas (Pintado *et al.*, 2001).

Resulta difícil separar el problema de la eliminación del lactosuero de la propia tecnología de la fabricación del queso, ya que la eliminación de éste se está convirtiendo en uno de los problemas de mayor importancia desde el punto de vista industrial y de la salud pública (Scott, 1991).

El lactosuero representa cerca del 85 al 95% del volumen de leche usada en la transformación de los productos lácteos y contiene la mayor parte de los compuestos solubles como lactosa, las proteínas solubles, las sales minerales soluble, grasa y una pequeña parte de los compuestos insolubles de la leche (Campos, 2007).

La funcionalidad se define como cualquier propiedad, distinta de las nutritivas que condicione su utilidad en los mismos (Fennema, 1993). Las propiedades funcionales permiten el uso de las proteínas como ingredientes en un alimento, aunque generalmente se incorporan en mezclas complejas (Badui, 2006). La mayor parte de las propiedades funcionales afectan a las características sensoriales de los alimentos (especialmente a la textura) aunque también pueden jugar un papel importante en su comportamiento físico o en el de sus ingredientes durante su preparación, procesado o almacenamiento (Fennema, 1993).

En un alimento, suelen ser evidentes varias propiedades funcionales de las proteínas (Fennema, 1993), lo ideal sería que un solo ingrediente poseyera funcionalidad múltiple debido al resultado de las interacciones entre sus proteínas constituyentes (Badui, 2006).

Las propiedades funcionales del lactosuero vienen dadas por las dos principales proteínas del lactosuero (α – lactoalbúmina, β – lactoglobulina) (Amiot, 1991). En general las proteínas del lactosuero tienen un alto valor nutricional (Santos, 2003). Y estas proteínas al igual que los demás componentes del lactosuero pueden ser aprovechados por su alto grado de solubilidad inicial para que puedan ser eficazmente utilizadas como emulsificantes o formadoras de espumas (Fennema, 1993).

La industria alimentaria se concentra en la búsqueda de alternativas de aditivos como el lactosuero que es un desecho, que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado y posean características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios (Badui, 2006).

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Definición de Lactosuero.

El lactosuero es la porción acuosa de la leche obtenida de una acidificación, o por medio de un calentamiento que origine una coagulación de las caseínas. Este es un líquido opalescente que presenta un color verde amarillento (Pintado *et al.*, 2001).

El suero representa cerca del 85 al 95% del volumen de leche usada en la transformación de los productos lácteos y contiene la mayor parte de los compuestos solubles y una pequeña parte de los compuestos insolubles de la leche, lo que representa aproximadamente la mitad de los sólidos totales presentes en ella (Campos, 2007).

1.2 Componentes del lactosuero.

1.2.1 Proteínas.

Las proteínas del lactosuero incluyen al conjunto de sustancias nitrogenadas que no floculan cuando el pH de la leche se lleva a 4.6, por lo mismo, también se les llaman proteínas solubles (Santos, 2003). Son emulsiones verdaderas en el sentido de que presentan una fuerte afinidad por el agua (Amiot, 1991).

Las principales proteínas que constituyen al lactosuero son:

-
- ✓ β – lactoglobulina,
 - ✓ α – lactoalbúmina,
 - ✓ Inmunoglobulinas,
 - ✓ Seroalbúminas,
 - ✓ Proteosa – peptona y
 - ✓ Proteínas menores.

Las proteínas del lactosuero pueden ser de síntesis mamaria, como la α - lactoalbúmina y la β - lactoglobulina, que representan conjuntamente el 70% de las proteínas del lactosuero y el 20% del total de las proteínas en la leche de vaca (Amiot, 1991), y de la lactoferrina, o bien de transferencia sanguínea, como la albúmina y las inmunoglobulinas. Las propiedades funcionales del lactosuero vienen dadas por las dos principales proteínas, α -lactoalbúmina y β - lactoglobulina. Entre ellas destacan su solubilidad, incluso a pH 4.5, si no se calientan, sus propiedades emulsionantes y espumantes y su capacidad de gelificación.

En el aspecto nutritivo, estas proteínas son más ricas en aminoácidos que las caseínas (Amiot, 1991). A diferencia de las caseínas, las proteínas del lactosuero sí contienen una gran cantidad de cisteína, además contienen cantidades considerables de lisina, leucina, triptofano y ácidos glutámico y aspártico (Cuadro 1). En general, las proteínas del lactosuero tienen un alto valor nutricional (Santos, 2003).

Con excepción de la proteosa – peptona, las proteínas del lactosuero son muy sensibles al calor. La inmunoglobulina se desnaturaliza a 70° C, la seroalbúmina a 75° C, la β – lactoglobulina a 85 ó 90° C y por último, la α – lactoalbúmina a 90 ó 95° C. A 100° C se lleva a cabo la floculación de todas las proteínas del lactosuero (Santos, 2003).

Cuadro 1. Composición de aminoácidos de las proteínas del lactosuero (g/100g de proteína).

Aminoácido	β -lactoglobulina	α -lactoalbúmina	Inmunoglobulina	Seroalbúmina	Proteosa-peptona
Ac. Aspartico	11.39	18.65	9.40	10.90	7.62
Treonina*	5.09	5.50	10.50	5.80	3.50
Serina	3.58	4.76	11.50	4.20	3.00
Ác. glutámico	19.12	12.85	12.30	16.50	7.92
Prolina	5.22	1.98	10.00	4.80	10.70
Glicina	1.24	3.21	5.20	1.80	4.05
Alanina	6.70	2.14	4.80	6.30	4.86
Cistina	3.40	6.40	3.20	6.50	5.00
Valina*	6.11	4.66	9.60	5.90	-
Metionina*	3.16	0.95	0.90	0.81	4.94
Isoleucina*	6.76	6.80	3.00	2.60	-
Leucina*	15.08	11.52	9.60	12.30	9.13
Tirosina	3.87	5.37	6.70	5.10	2.96
Fenilalanina*	3.53	4.47	3.90	6.60	3.19
Triptófano*	2.62	7.00	2.70	0.58	4.21
Lisina*	11.93	11.47	6.80	12.80	6.42
Histidina**	1.63	2.85	2.10	4.00	6.00
Arginina**	2.78	1.15	4.10	5.90	2.37

* Aminoácidos esenciales.

Fuente: (Santos, 2003)

** Aminoácidos esenciales para los niños

1.2.2 Lactosa.

La lactosa es un disacárido constituido por dos moléculas de α -D-glucosa y β -D-galactosa. La lactosa es uno de los azúcares comunes menos solubles, con una solubilidad en agua de sólo 17.8% a 25°C. La lactosa se utiliza como ingrediente alimentario debido a sus propiedades estabilizantes de proteínas y su bajo poder edulcorante (Varnam, 1995)

1.2.3 Grasa.

La grasa de la leche tiene una composición compleja y se encuentra en bajas cantidades en el lactosuero (0.1 a 0.3%). Entre los componentes predominantes los triglicéridos, que constituyen el 98% de la grasa láctea y se encuentran pequeñas cantidades de di- y monoglicéridos y ácidos grasos libres. También hay cantidades mensurables de fosfolípidos, colesterol, ésteres de colesterol y cerebrosidos (Cuadro 2). En el lactosuero esta constituida por aproximadamente 60% de ácidos grasos saturados, 38% de monoinsaturados y 2 % poliinsaturados (Silva, 1998).

Cuadro 2. Composición lipídica media de la leche

Lípido	% en peso
Triglicéridos	97-98
Di glicéridos	0,3-0,6
Monoglicéridos	0,02-0,04
Ácidos grasos libres	0,1-0,4
Esteroles libres	0,2-0,4
Esteres de esterol	solo trazas
Fosfolípidos	0,2-1,0
Hidrocarburos	solo trazas

En la leche las moléculas lipídicas se asocian para formar grandes glóbulos esféricos que están rodeados por una capa rica en fosfolípidos. El diámetro de los glóbulos grasos varia desde 1 μm hasta 12 μm , con un diámetro medio de aproximadamente 3 μm . El diámetro medio esta relacionado con el contenido graso de la leche y es mayor en la leche rica en grasa.

La membrana de los glóbulos grasos estabiliza los lípidos hidrófobos en el plasma acuoso de la leche. Aproximadamente el 60% de los fosfolípidos y el 85% del colesterol de la leche se localizan en la membrana, que también contiene

cantidades elevadas de algunas enzimas lácteas como fosfatasa alcalina y xantina oxidasa. La composición lipídica de la membrana del glóbulo graso es similar a la de la membrana plasmática, aunque la composición se modifica con el envejecimiento de la leche. Se suele considerar que la membrana recubre toda la superficie del glóbulo graso, pero puede haber áreas superficiales donde se encuentran componentes del citoplasma celular adsorbidos a la grasa antes de la secreción de la leche (Luquet, 1993).

1.2.4 Minerales.

Los minerales más abundantes que se encuentran en el lactosuero son el calcio, fósforo, hierro, zinc, sodio, potasio y cloruros (Luquet, 1993).

1.3 Tipo de lactosuero.

Según el procedimiento utilizado para separar la cuajada del queso, se obtiene diferentes tipos de lactosuero.

El lactosuero dulce es aquel que se obtiene de la coagulación enzimática de la leche, el cual contiene restos de cuajo activo y un gran número de bacterias ácido lácticas usadas durante la elaboración del queso, si las condiciones son favorables para la fermentación, la acción de estos microorganismos produce la acidificación del lactosuero dulce que tiene un pH aproximado de 6.2, el cual aún contiene restos de materia grasa y particulares de cuajada que se han separado del queso, con ácidos como finos de caseína (Amiot, 1991). Los quesos de los cuales procede este tipo de lactosuero son: quesos frescos como Panela, los quesos tipos manchego, Chihuahua, Cheddar, etc.

El lactosuero ácido se obtiene de la elaboración de quesos mediante coagulación predominantemente ácida y lenta, como los quesos Cottage, Ricota, Boursin, Oaxaca, así como la fabricación de caseína láctica. Estos lactosueros tienen un pH menor o igual a 4 (Campos, 2007).

En el cuadro 3, se muestra la composición de los dos diferentes tipos de lactosuero que se pueden producir durante la elaboración de algún tipo de queso.

Cuadro 3. Composición de los diferentes tipos de Lactosuero.

Parámetro	Suero dulce (g/L)	Suero ácido (g/L)
Lactosa	51.81	45.25
Proteínas	9.27	7.80
Grasa	5.06	0.85
Nitrógeno	1.45	1.22
Sales minerales	0.47	1.25

Fuente: (Pintado, 2000)

1.4 Lactosuero como subproducto.

La fabricación de queso, tanto por los sistemas tradicionales como por los modernos dan inevitablemente lugar a la producción de una gran cantidad de lactosuero (aproximadamente el 83% del volumen total de la leche empleada).

Resulta difícil separar el problema de la eliminación del lactosuero de la propia tecnología de la fabricación del queso, ya que la eliminación del lactosuero se está convirtiendo en uno de los problemas de mayor importancia desde el punto de vista industrial y de salud pública (Scott, 1991).

Como el lactosuero contiene nutrientes muy valiosos no debe desecharse sino aprovecharse para la alimentación humana del ganado (Scott, 1991).

Su importancia reside principalmente en los siguientes aspectos:

- a) Aprovechamiento completo efectivo de la leche como materia prima.
- b) Obtención de compuestos lácteos de alto valor para emplearlos en la industria alimentaria, en la industria farmacéutica y como alimento para ganado.
- c) Reducción de las aguas residuales conforme a lo dispuesto en las leyes de protección del medio ambiente (Spreer, 1991).

Para determinar el uso que se le puede dar al lactosuero es necesario conocer las características fisicoquímicas y microbiológicas en cada caso, el elevado contenido de agua (>93%), cuya reducción implica un gran esfuerzo energético y conlleva a elevados costos, y su fácil deterioro debido al elevado contenido microbiológico que presenta y por consiguiente el rápido desdoblamiento de los componentes (Spreer, 1991).

Cuando más fresco sea el suero que se somete al tratamiento industrial, mayor será el rendimiento y la calidad de los productos elaborados.

De acuerdo a Campos (2007), los principales procesos fisicoquímicos para el tratamiento de lactosuero son:

1. Conservación del suero líquido.
2. Producción de una harina (deshidratación).
3. Producción de proteína (WPC por sus siglas en inglés).

Como ya se mencionó anteriormente, las alternativas fisicoquímicas para el tratamiento del lactosuero son venta en fresco y frío, deshidratación del lactosuero y producción de WPC, que son materia prima para la producción de bebidas nutracéuticas de tipo lácteo, yogur para beber, la panificación de postres, helados y como ingredientes minoritarios en sopas, salsas, quesos, productos cárnicos, etc. Para estos procesos se requiere lactosuero de excelente o buena calidad, dependiendo del proceso para que sea costeable.

Ya que se ha transformado el lactosuero o se encuentre de forma natural, este puede ser utilizado en amplio campo alimentario, ya sea para humanos o animales.

El lactosuero puede formar parte de un gran número de alimentos (cuadro 4). La FDA permite utilizar el lactosuero en polvo en el pan, helados, queso, fundido, churrería y rellenos de carne, de pescado y de pollo, por su valor funcional como ingrediente alimentario, pueden modificar alguna o todas las propiedades de los alimentos: organolépticas, visuales, de hidratación, surfactantes, estructurales, de textura y reológicas resultando una mejora en la aceptación por el consumidor del producto acabado (Villalta, 2001). También se utiliza en alimentos no normalizados como caramelos dulces pasteles, entre otros (Scott, 1991).

◆-----◆

Cuadro 4. Aprovechamiento del lactosuero en diferentes industrias.

Piensos para cerdos y aves

Suplemento del valor nutritivo del pan

Inclusión en alimentos para niños y alimentos dietéticas.

Bebidas carbónicas y bebidas fermentadas

Precipitados de albúmina y globulinas como aditivos alimentarios.

Preparados de albúminas utilizados como suplemento del valor nutritivo de algunos alimentos.

Preparados cosméticos y farmacéuticos.

Fabricación de alcohol

Fabricación de lactosa

Fabricación de jarabes de galactosa / glucosa para pastelería o fabricación de cerveza.

Quesos de suero, Ziger, Urda, Ricota, entre otros.

Aislamiento de riboflavina.

Fabricación de ácido láctico para la industria general, farmacéutica o alimentaria.

Como medio de fermentación para la elaboración de antibióticos, combustibles (metano), biomasa para la producción de alimentos

Fuente: (Scott, 1991)

Una forma de utilizar el lactosuero en polvo es mezclarlo con otros ingredientes para preparar sustitutos lácteos con fines específicos. Por ejemplo se puede añadir al lactosuero proteínas de origen animal, vegetal o incluso lácteo, para conseguir una mezcla con unas propiedades funcionales determinadas según la aplicación prevista (Amiot, 1991).

1.5 Propiedades funcionales.

La funcionalidad se define como cualquier propiedad, distinta de las nutritivas que condicione su utilidad en los mismos (Fennema, 1993). Las propiedades funcionales permiten el uso de las proteínas como ingredientes en un alimento,

aunque generalmente se incorporan en mezclas complejas (Badui, 2006). La mayor parte de las propiedades funcionales afectan a las características sensoriales de los alimentos (especialmente a la textura) aunque también pueden jugar un papel importante en su comportamiento físico o en el de sus ingredientes durante su preparación, procesado o almacenamiento (Fennema, 1993).

Las propiedades funcionales de algunas proteínas en diferentes alimentos se enlistan en el cuadro 5.

Cuadro 5. Papel de las proteínas en sistemas alimenticios.

Función	Propiedad Física / Química	Alimento	Tipos de proteína
Solubilidad	Hidrofílica	Bebidas	Proteína del suero Proteínas aisladas de ajonjolí.
Viscosidad	Hidrofílica, hidrodinámica tamaño y forma.	Sopas, salsas, del postres y aderezos.	Gelatina, soya.
Absorción de agua	Hidrofílica.	Salchichas, pasteles y panes.	Proteínas musculares.
Gelación	Atrapamiento de agua, formación de redes.	Cárnicos, pasteles, panadería, quesos.	Proteínas musculares, del huevo y de la leche

Fuente: (Badui, 2006)

Continuación.

Función	Propiedad Física / Química	Alimento	Tipos de Proteína
Adhesión- Cohesión	Hidrofobicidad, interacciones iónicas y puentes de hidrógeno.	Cárnicos, salchichas, pastas, panificación.	Proteínas musculares, del huevo y del suero.
Elasticidad	Interacciones hidrofóbicas, puentes disulfuro.	Panadería, cárnicos.	Proteínas musculares, Gluten y proteínas de cereales.
Emulsificación y espumado	Hidrofobicidad, hidrofiliidad, flexibilidad y rigidez, tamaño, estructura. Adsorción interfacial y formación de películas.	Mayonesas, aderezos. Merengues, y helados, de productos batidos.	Proteínas musculares, huevo, <u>leche</u> , soya. Aislados proteínicos de soya y ajonjolí. <u>Leche</u> y huevo.
Capacidad de ligar grasa y sabores	Interacciones hidrofobicas, atrapamiento.	Productos panadería en grasa, donas.	de <u>Proteínas lácteas</u> , de huevo, gluten y proteínas de cereales.

Fuente: (Badui, 2006)

Las propiedades funcionales de las proteínas son aquellas propiedades fisicoquímicas que le permiten contribuir a que los alimentos exhiban características deseables. En un alimento, suelen ser evidentes varias propiedades funcionales de las proteínas (Fennema, 1993); Por ejemplo, los atributos sensoriales de un pastel dependen de que ocurra gelificación, espumado

y emulsificación de los ingredientes utilizados y lo ideal sería que un sólo ingrediente poseyera funcionalidad múltiple debido al resultado de las interacciones entre sus proteínas constituyentes (Badui, 2006).

La industria alimentaria se concentra en la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado y posean características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios (Badui, 2006).

La forma más común de comercializar estas fuentes proteicas es la producción de aislado proteico que tienen diversas aplicaciones como ingredientes y aditivos alimentarios y cuyas propiedades dependen del número y tipo de proteínas presentes.

La relación entre la composición de aminoácidos, las propiedades funcionales y fisicoquímicas se puede visualizar como una serie de eventos que están interrelacionados. A partir de la composición y de su secuencia de aminoácidos se pueden deducir propiedades fisicoquímicas como hidrofobicidad, hidrofiliidad, tamaño, forma, carga neta y distribución de la carga, actividad superficial y viscosidad, que a su vez determinan las propiedades funcionales, como espumado, gelificación, formación de películas, capacidad para ligar agua o aceite, emulsificación, entre otras (Badui, 2006).

Empíricamente las propiedades funcionales de las proteínas son una manifestación de dos aspectos moleculares de las proteínas: a) las propiedades hidrodinámicas, y b) las propiedades de las proteínas relacionadas con su superficie. Las propiedades funcionales como la viscosidad, gelación y texturización se relacionan con las primeras, que dependen del tamaño, forma y flexibilidad molecular. Las propiedades funcionales, como la humectabilidad, dispersabilidad, solubilidad, espumado, emulsificación y unión a sabores se relacionan con las propiedades de superficie de la proteína (Fennema, 1993).

Las propiedades funcionales de las proteínas se pueden clasificar en tres grandes grupos:

- a) Propiedades de hidratación (dependientes de las interacciones proteína-agua).
- b) Propiedades relacionadas con las interacciones proteína-proteína.
- c) Propiedades de superficie.

Al primer grupo pertenecen propiedades tales como la absorción y retención de agua, la humectabilidad, el hinchamiento, la adhesión, la dispersabilidad, la solubilidad y la viscosidad. Las propiedades del segundo grupo participan en procesos tales como la precipitación y la formación de geles, entre otras estructuras (por ejemplo, masas y fibras proteicas). El tercer grupo de propiedades está relacionado fundamentalmente con la tensión superficial, la emulsificación y las características espumantes de la proteína. Estos tres grupos no son totalmente independientes, por ejemplo, la formación de geles no solo implica interacciones proteína-proteína, si no también interacciones proteína-agua y la viscosidad y la solubilidad dependen de las interacciones proteína-agua y proteína-proteína (Fennema, 1993).

1.6 Propiedades de hidratación.

El agua es un elemento esencial de los alimentos y modifica las propiedades fisicoquímicas de las proteínas (Badui, 2006).

La mayoría de los alimentos son sistemas sólidos hidratados y el comportamiento fisicoquímico y reológico de las proteínas y otros componentes de los alimentos se

ve notablemente influido, no solo por la presencia de agua, sino también por la actividad de la misma, los concentrados y purificados proteicos deben hidratarse antes de ser usados; de ahí que las propiedades de hidratación y rehidratación de las proteínas que constituyen los alimentos sean de gran interés práctico (Fennema, 1993).

La dispersabilidad, absorción de agua, la humectabilidad, el hinchamiento, la solubilidad, el espesamiento o aumento en viscosidad, la capacidad de atrapamiento de agua, la gelificación, la coagulación, la emulsificación y el espumado, dependen de todas las interacciones proteína-agua. Las moléculas de agua se unen a diferentes grupos en las proteínas (Badui, 2007; Fennema, 1993).

1.6.1 Capacidad para ligar agua.

La capacidad para ligar agua de las proteínas se expresa como los gramos de agua por gramo de proteína. Se relaciona con la composición de aminoácidos: si hay una mayor concentración de aminoácidos cargados la capacidad de hidratación es mayor.

Los factores ambientales como pH, fuerza iónica, tipo de sales, temperatura y conformación de la proteína, influyen sobre la capacidad de ligar agua de las proteínas. Las proteínas presentan la menor capacidad de hidratación en su punto isoeléctrico, en las que predominan las interacciones proteína-proteína.

En una baja concentración de sales (<0.2M) se incrementa la capacidad de ligar agua y cuando hay altas concentraciones de sales, gran parte del agua existente se liga a los iones de la sal y se deshidratan las proteínas. Una proteína desnaturalizada suele unir 10% más de agua que su equivalente en estado nativo, aunado al hecho de que incrementa el área superficial de las proteínas (Badui, 2006).

La capacidad de los ingredientes proteicos de absorber agua y retener agua juega un importante papel en la textura de los diversos alimentos. La absorción de agua por las proteínas no disueltas conduce al hinchamiento (expansión) e imparte características tales como cuerpo, viscosidad y adhesión (Fennema, 1993).

1.6.2 Solubilidad.

El comportamiento de la solubilidad proporciona un índice de las posibles aplicaciones de los ingredientes proteicos, porque el grado de insolubilidad es, la medida más práctica de la desnaturalización más la agregación de la proteína (Fennema, 1993). Las propiedades funcionales a menudo se ven afectadas por la solubilidad de la proteína, especialmente en el caso de hinchamiento, espumado, emulsificado y gelificación (Badui, 2006).

Las proteínas insolubles tienen un uso muy limitado en alimentos. La solubilidad de una proteína es la manifestación termodinámica del equilibrio entre las interacciones proteína-proteína y solvente-proteína, que a la vez dependen de la hidrofobicidad y la naturaleza iónica de las mismas (Badui, 2006).

Las interacciones hidrofóbicas promueven las interacciones proteína-proteína que inciden en una disminución de la solubilidad, mientras que las interacciones iónicas promueven la relación proteína-agua que provoca un aumento de la solubilidad.

Las proteínas del lactosuero, al igual que otras, tienen que tener un alto grado de solubilidad inicial para que puedan ser eficazmente utilizadas como emulgentes, formadoras de espumas o emulsificantes. La principal ventaja de una alta solubilidad inicial quizá sea la de permitir una alta y rápida dispersión de las partículas o moléculas proteicas, lo que permite formar sistemas coloidales finamente dispersos con estructuras macroscópicas homogénea y una textura fina (Fennema, 1993).

1.7 Propiedades relacionadas con las interacciones proteína-proteína.

1.7.1 Formación de geles.

Cuando las proteínas desnaturalizadas se agregan para formar una red proteica ordenada, al proceso se le denomina gelificación.

La gelificación es una propiedad funcional muy importante de algunas proteínas. Juega un papel fundamental en la preparación de numerosos alimentos, entre ellos diversos productos lácteos, clara de huevo coagulada, geles de gelatina, varios productos de carne o pescados triturados y calentados, geles de proteína de soya, proteínas vegetales texturizadas por extrusión o hilado y masa panaria. La gelificación de las proteínas se utiliza, no sólo para formar geles sólidos viscoelásticos, sino también para mejorar la absorción de agua, los efectos espesantes, la fijación de partículas (adhesión) y para estabilizar emulsiones y espumas.

En la mayoría de los casos, la formación de gel requiere el tratamiento térmico, con frecuencia, seguido de un enfriamiento y puede verse favorecida por una ligera acidificación; a veces puede ser necesaria la adición de sales, especialmente iones calcio; en otros casos, no es imprescindible, pero acelera la gelificación o la fuerza del gel (proteínas de soya, proteínas del lactosuero, Serolabúmina). Sin embargo, algunas proteínas pueden formar geles sin ser sometidas a tratamiento térmico, bajo el efecto de una hidrólisis enzimática muy limitada, la simple adición de iones calcio a la alcalinización seguida de ajuste del pH a valores neutros o al punto isoelectrico (Fennema, 1993).

La formación de redes proteicas se considera el resultado de un balance entre las interacciones proteína-proteína y proteína-disolvente (agua) y entre las fuerzas repulsivas y atractivas entre cadenas polipéptidas adyacentes. Entre las fuerzas atractivas implicadas se encuentran las interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, los puentes de hidrógeno y los enlaces disulfuro. Su contribución

relativa depende de la naturaleza de la proteína, de las condiciones ambientales y de la etapa del proceso de gelificación. Las repulsiones electrostáticas (especialmente a valores de pH alejados del punto isoeléctrico) y las interacciones proteína-agua tienden a mantener separadas las cadenas polipeptídicas. Las elevadas concentraciones de proteína facilitan la atracción intermolecular (de las proteínas) y la gelificación, porque incrementan los contactos intermoleculares. A concentraciones proteicas altas, la gelificación puede tener lugar incluso en condiciones ambientales no especialmente favorables a la agregación (Fennema, 1993).

Si se parte de una disolución de proteína en agua, las primeras etapas en la formación de geles por calentamiento suelen ser las siguientes:

- A. Disociación reversible de la estructura cuaternaria en subunidades o monómeros (también puede darse, como etapa inicial la desnaturalización).
- B. Desnaturalización irreversible de las estructuras secundarias y terciarias (el desplegamiento es sólo parcial).

Aunque el estado final del gel se corresponde con agregados de moléculas proteicas parcialmente desnaturalizadas no está claro por cual vía llegará al mismo; floculación ó coagulación brusca.

Cuando más lenta sea la etapa de agregación, comparada con la desnaturalización, mejor pueden orientarse, antes de la agregación, los polímeros parcialmente desplegados, lo que a su vez, favorece la formación de un gel ordenado, homogéneo, de consistencia suave, muy expandido (abierto) y elástico, transparente y estable frente a la sinéresis y exudación (Fennema, 1993).

1.8 Propiedades de superficie

Varios alimentos son subproductos tipo espuma o tipo emulsiones (leche, nata, helados, mantequilla, mayonesa, queso fundido, carnes picadas), jugando con frecuencia las proteínas un papel fundamental en la estabilización de estos sistemas (Fennema, 1993).

La proteína se adsorbe en la interfase gotas de aceite (fase dispersa) /disolución acuosa (fase continua) y contribuye a las propiedades físicas y reológicas (espesor, viscosidad y elasticidad-rigidez).

1.8.1 Propiedades emulsificantes

1.8.2 Emulsiones

Una emulsión se describe generalmente como un sistema que contiene dos fases líquidas inmiscibles (usualmente agua y aceite), dispersas una en otra, en forma de pequeñas gotas. La fase constituida por pequeñas gotitas se denomina fase interna o dispersa, y la matriz en la que están disueltas se denomina fase externa o continua (Fennema, 1993).

Las emulsiones pueden ser clasificadas de acuerdo a la distribución de la fase del aceite y de la fase acuosa. Un sistema que consiste de gotas de aceite dispersas en una fase acuosa es llamada como emulsión aceite en agua (O/W) (por sus siglas en inglés) ejemplos: mayonesa, leche, cremas, sopas y salsas. Un sistema que consiste de gotas de agua dispersas en una fase de aceite es llamada emulsión agua en aceite (W/O) ejemplos: margarina, mantequilla y panes. Es también posible preparar emulsiones múltiples de aceite-en-agua-en-aceite (O/W/O) o emulsiones agua-en-aceite-en-agua (W/O/W). Por ejemplo, una emulsión W/O/W consiste en gotas de agua dispersas dentro de gotas grandes de

aceite, las cuales están dispersas en una fase acuosa continua (McClements, 1999). El proceso de convertir dos líquidos inmiscibles en una emulsión, o de reducir el tamaño de las gotas en una emulsión, es conocido como homogenización.

Es posible formar una emulsión por homogenización de aceite y agua puros, pero las dos fases se separarían rápidamente en un sistema el cual consistiría de una capa de aceite (baja densidad) y en la superficie una capa de agua (alta densidad). Esto es porque las gotas tienden a unirse con sus próximas cuando chocan, lo cual lleva a una completa separación de las fases.

Es posible formar emulsiones que son cinéticamente estables por un período razonable de tiempo (días, semanas, meses y años) incluyendo sustancias conocidas como emulsificantes y agentes espesantes antes de la homogenización. Los emulsificantes son moléculas de superficie activa el cual se adsorbe de la superficie de las gotas formadas recientemente de la homogenización, formando una membrana protectora la cual previene un estado de agregación de las gotas. Los emulsificantes mas usados son moléculas anfifílicas (tienen regiones polares y no polares en la misma molécula) y por lo regular son proteínas anfifílicas. Los agentes espesantes son ingredientes los cuales son usados para incrementar la viscosidad de la fase continua de la emulsión, y con ellos aumenta la estabilidad de la emulsión por que se disminuye el movimiento de las gotas (McClements, 1999).

1.8.3 Constituyentes de una emulsión.

Las emulsiones son materiales con una composición compleja los cuales contiene una amplia variedad de constituyentes químicos diferentes (Cuadro 6). La composición de una emulsión puede ser clasificada de diversas formas: por su concentración de átomos específicos, concentración de moléculas específicas (agua, amilosa, entre otras), concentración de grupos de moléculas (proteínas,

◆-----◆
lípidos, carbohidratos, minerales) y concentración de ingredientes específicos (harina, leche, sal, huevos).

Cuadro 6. Componentes típicos encontrados en emulsiones.

Macrocomponentes	Microcomponentes
Agua	Emulsificantes
Lípidos	Minerales
Proteínas	Gomas
Carbohidratos	Sabores
	Colores
	Conservadores
	Vitaminas

Fuente: (McClements, 1999)

Las grasas y aceites influyen en las propiedades nutricionales, organolépticas y fisicoquímicas de las emulsiones alimentarias.

Si se adiciona una cantidad de ácidos grasos libres habrá más actividad en la superficie en comparación con los triglicéridos y por consiguiente se acumularán en la interfase aceite-agua o aire-agua, lo cual incrementa la susceptibilidad a que se presente una oxidación y puede incrementar la tendencia de las gotas de la emulsión a una coalescencia.

Por otra parte el agua es de gran importancia en la determinación en los cambios fisicoquímicos y propiedades organolépticas de las emulsiones. Su forma molecular y sus propiedades estructurales determinan la solubilidad, conformación e interacción de los otros componentes en la fase acuosa.

Las interacciones entre los constituyentes del agua y las moléculas de agua determinan la solubilidad, conformación y reacciones químicas de algunos ingredientes alimentarios (McClements, 1999).

1.8.4 Mecanismos de inestabilidad de emulsiones.

El término estabilidad de la emulsión es ampliamente usado para describir la capacidad de una emulsión a resistir los cambios en sus propiedades con el tiempo. Sin embargo, hay una variedad de mecanismos fisicoquímicos que pueden ser responsables de las alteraciones en las propiedades de la emulsión. Los cambios fisicoquímicos más importantes responsables de la inestabilidad de las emulsiones se muestran en la figura 1. El cremado y la sedimentación son formas de separación gravitacional. El cremado describe el movimiento ascendente de las gotas debido a que tienen una baja densidad en comparación con el líquido que las circunda, la sedimentación describe el movimiento descendente de las gotas debido a que tienen una alta densidad en comparación con el líquido que las rodea. La floculación y la coalescencia son tipos de agregación de gotas. La floculación ocurre cuando dos o más gotas están unidas formando un agregado en el cual las gotas retienen su integridad individual, considerando que la coalescencia es el proceso donde dos o más gotas se unen para formar una gota grande. La fase de inversión es el proceso en el cual una emulsión aceite en agua es convertida en una emulsión en agua en aceite o viceversa (McClements, 1999).

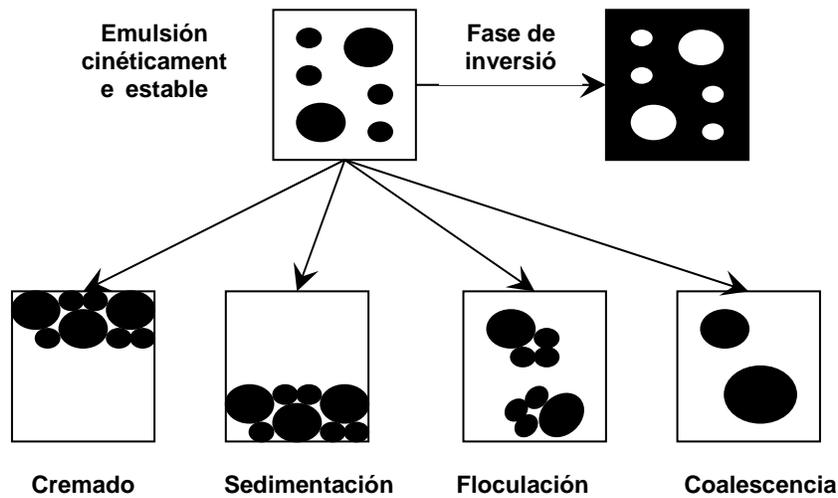


Figura 1. Las emulsiones pueden ser inestables debido a varios mecanismos físicos, incluyendo el cremado, sedimentación, floculación, coalescencia y fase de inversión (McClements, 1999).

La mayoría de las emulsiones pueden consistir en tres regiones las cuales tienen diferentes propiedades fisicoquímicas: el interior de las gotas, la fase continua y la interfase (figura 2). Las moléculas en una emulsión se distribuyen en esas tres regiones de acuerdo a su concentración y polaridad. Las moléculas no polares tienden a localizarse en la fase de aceite, las moléculas polares en la fase acuosa y las moléculas anfifílicas en la interfase.

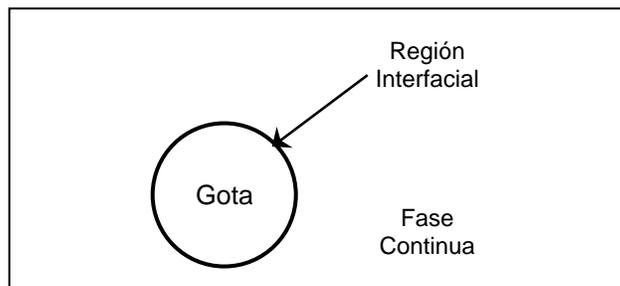


Figura 2. Regiones que forman una emulsión (McClements, 1999).

Para formular una emulsión se requiere: aceite, agua, un emulsificante y energía, generalmente mecánica. Las proteínas como surfactantes son las preferidas para formular emulsiones alimenticias (aceite-agua), debido a que su superficie es activa y favorece la resistencia a la coalescencia (Badui, 2006).

Las emulsiones estabilizadas por proteínas se ven afectadas tanto por las propias características moleculares de la proteína como por factores intrínsecos: como el pH, fuerza iónica, temperatura, presencia de surfactantes, azúcares, volumen de la fase oleosa, tipo de proteína, el punto de fusión del aceite empleado, así como los factores intrínsecos, como el tipo de equipo utilizado para formar la emulsión, velocidad de incorporación de aceite y el nivel de agitación (Badui,2006; Fennema, 1993).

El pH influye de diversas formas sobre la capacidad de emulsificación de las proteínas; algunas son escasamente solubles a sus puntos isoeléctricos, lo que disminuye su capacidad de emulsificación. En estas circunstancias, las proteínas tampoco pueden contribuir a estabilizar la emulsión, mediante el aporte de cargas del mismo signo en la superficie de las gotitas de la fase dispersa. Además, al punto isoeléctrico, o a ciertas fuerzas iónicas, las proteínas adoptan estructuras compactas dotadas de una gran viscoelasticidad. Esto puede tanto impedir el desplegamiento y la extensión en superficie (lo que dificulta la formación de la emulsión) como estabilizar contra la extensión o desorción superficiales de una película de proteína adsorbida. Este último efecto favorece la estabilidad de la emulsión, puesto que la desestabilización de la emulsión va precedida de la deformación o la desorción de una película proteica interfacial. Además al punto isoeléctrico de las proteínas se favorece la interacción hidrofóbica entre los lípidos y las proteínas. Algunas proteínas tienen propiedades emulsificantes óptimas a su punto isoeléctrico (la gelatina y las claras de huevo) en tanto que otras operan mejor como emulsificantes a valores de pH alejados de su punto isoeléctrico (proteínas de soya, caseínas, proteínas del lactosuero) (Fennema, 1993).

1.9 Propiedades espumantes.

Las espumas alimenticias suelen ser dispersiones de burbujas de gas en una fase continua (acuosa), líquida o semisólida, que contiene un agente con actividad de superficie, soluble. Entre los alimentos existen numerosas espumas, con texturas muy diversas, como los merengues, los pasteles, bombones y otras confituras, los mousses, la espuma de cerveza y el pan. En muchos casos es aire (y en ocasiones dióxido de carbono) la fase dispersa y la fase continua una disolución o suspensión acuosa de proteínas (Fennema, 1993).

Las propiedades de textura son únicas debido a la dispersión de numerosas burbujas de aire pequeñas y a la formación de una película delgada en la interfase líquido-gas llamada frecuentemente lamela o laminillas (Badui, 2006). La interfase gas-líquido puede medir 1 m^2 por mL de líquido. Al igual que ocurre con las emulsiones, para formar esta interfase se necesita energía y protegerla contra la coalescencia de las burbujas de gas que requiere de la presencia de sustancias con actividad de superficie que rebajen la tensión interfacial y formen, entre las burbujas de gas, una barrera elástica. Algunas proteínas forman películas proteicas dotadas de efecto protector y como estabilizante, impermeable al aire, gruesa, elástica, cohesiva y continúa en torno cada burbuja, adsorbiéndose en la interfase.

Las burbujas de gas de la espuma pueden diferir sustancialmente en volumen, con diámetros que oscilan entre $1 \mu\text{m}$ y varios centímetros, dependiendo de numerosos factores, tales como la tensión superficial, la viscosidad de la fase líquida y la cantidad de energía. Una distribución uniforme de burbujas pequeñas suele conferir cuerpo, suavidad y ligereza al alimento y aumentar la dispersión y la perceptibilidad de los aromas (Fennema, 1993).

Las proteínas son los principales agentes con actividad superficial que ayudan a la formación y estabilización de la fase gaseosa dispersa, generalmente las

espumas estabilizadas por proteínas se forman por burbujeo, batido, o agitación de una solución proteica (Badui, 2006). La emulsión gaseosa inicial se rompe, por ascenso de las burbujas y drenaje de la fase acuosa, y se separa una capa superior de espuma verdadera que tiene un gran volumen disperso, con burbujas distorsionadas por compresión, que ofrece formas poliédricas. Si se introduce una gran cantidad de gas, puede convertirse en espuma la totalidad del líquido y obtenerse volúmenes muy grandes de espuma, incluso a partir de disoluciones proteicas muy diluidas (Fennema, 1993).

La solubilidad de las proteínas se maneja como adecuada para una buena capacidad de formación de espuma y una alta actividad estabilizante, parece que también pueden ejercer una acción beneficiosa las partículas de proteínas insolubles probablemente por aumentar la viscosidad superficial. Aunque el incremento porcentual del volumen de la espuma no sea generalmente mayor al punto isoeléctrico de la proteína, la estabilidad suele ser buena. Con ciertas proteínas se observa un incremento de la estabilidad de la espuma a pH's extremos, posiblemente por el aumento de la viscosidad.

A medida que la concentración proteica crece dentro de un rango amplio (hasta el 10%) aumenta la estabilidad, más que el volumen de la espuma. El incremento porcentual del volumen máximo se suele alcanzar cuando la concentración proteica en el líquido inicial se allá entre el 2 y el 8%. Aparentemente, así se obtiene una viscosidad de la fase líquida favorable y un grosor adecuado de la película adsorbida. Un aumento en la concentración proteica conduce a burbujas más pequeñas y espumas más rígidas. El envejecimiento de las disoluciones proteicas antes de la formación de espuma puede resultar beneficioso para la estabilidad, probablemente porque las interacciones proteína-proteína se aumentan y se formen películas adsorbidas más gruesas.

Para formar una espuma adecuada, debe utilizarse un tiempo y una intensidad de batido que permitan un desplegamiento y una adsorción de la proteína apropiada;

una agitación excesiva puede disminuir tanto el incremento porcentual del volumen como la estabilidad de la espuma (Fennema, 1993).

Una diferencia esencial entre las emulsiones y las espumas es de hecho de que, en las espumas, la fracción de volumen ocupada por la fase dispersa (el gas) oscila dentro de límites mucho más amplios que en las emulsiones.

1.10 Propiedades interfaciales de las proteínas.

Estos sistemas dispersos son inestables a menos que estén presentes sustancias anfifílicas en la interfase. Las proteínas al ser moléculas anfifílicas, pueden llevar cabo la estabilización al migrar espontáneamente a la interfase aire-agua o la interfase agua-aceite, en las cuales las proteínas forman películas altamente viscosas y confieren resistencia a la coalescencia de las partículas de la emulsión durante el almacenamiento y el manejo, lo que no puede lograrse cuando se emplean surfactantes de bajo peso molecular; por esta razón las proteínas son ampliamente utilizadas para este propósito (Badui, 2006).

Las proteínas presentan en su superficie activa tres atributos deseables: a) capacidad para absorberse rápidamente en una interfase, b) capacidad para desplegarse rápidamente y reorientarse en una interfase y c) capacidad aún en la interfase para interactuar con moléculas vecinas y formar películas viscoelásticas.

Para estabilizar una emulsión, los dominios hidrofóbicos de la proteína deben orientarse hacia la fase oleosa. La facilidad con que la proteína se despliegue para exponer sus dominios hidrofóbicos afectará sus propiedades emulsificantes.

En una interfase, las cadenas polipeptídicas asumen una o más de las tres diferentes configuraciones siguientes: lineal, lazos y colas. Las lineales están en contacto directo con la interfase, en tanto que colas y lazos están suspendidos u orientados hacia la fase acuosa (Badui, 2006).

La fuerza mecánica de una película de proteína en una interfase depende de las interacciones de cohesividad intermolecular, que pueden ser interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. Si ocurre polimerización interfacial de proteínas adsorbidas vía reacciones de intercambio de disulfuro-sulfhidrilo pueden aumentar las propiedades viscoelásticas. Se requiere de un balance adecuado de las fuerzas de atracción, repulsión e hidratación para formar películas viscoelásticas estables (Badui, 2006).

1. 11 Efecto del tratamiento térmico en los componentes de la leche y lactosuero.

Las propiedades funcionales de las proteínas de la leche dependen de la estructura molecular y consecuentemente de cada factor el cual puede modificar la estructura molecular, incluyendo el origen de la leche, el tipo de proteína (caseínas y proteínas del suero) y los procesos utilizados para la preparación o aislamiento de las proteínas. Se ha sugerido que cada una de las etapas en el procesamiento de productos de leche es importante, directa o indirectamente, en las propiedades finales de las proteínas de la leche. El procesamiento de las principales medidas que se han notificado que afectan a las propiedades funcionales de las principales proteínas de la leche son mencionadas en el cuadro 7 (Huir, 1992).

Cuadro7. Procesamiento de las variables que pueden afectar a las propiedades funcionales de la caseína y las proteínas de suero de leche y sus productos.

Variables de procesamiento	Efecto en funcionalidad			
	Caseínas		Proteínas del suero	
	Directo (a)	Indirecto (b)	Directo (a)	Indirecto (b)
Tratamiento térmico				
Previo	+	+	+	+
Pasterización de leche	-	-	+	+
Esterilización de leche	+	+	+	+
Evaporación, concentración	-	+	+	+
Deshidratación	-	-	+	+

a: Conformación directa de la proteína o efecto de desnaturalización.

(Fuente; Huir, 1992)

b: Efecto indirecto de la proteína o efecto en factores de composición.

+: variables que tuvieron efecto; -: Variables que no tuvieron efecto.

El procesamiento térmico es considerado uno de los factores más importantes que influyen en la funcionalidad, más particularmente, en la funcionalidad de las proteínas del lactosuero. Sin embargo, el tratamiento térmico induce a un desdoblamiento y agregación de las proteínas globulares del lactosuero. La cinética de esta reacción es controlada por las condiciones de calentamiento (temperatura, valor de calentamiento y tiempo de retención) y por el medio químico que este contenga (pH, fuerza iónica, iones de calcio, lactosa y concentración de proteínas) (Huir, 1992; Britten, 1993). Los tratamientos térmicos alteran la solubilidad, propiedades de formar espuma y la temperatura de gelificación de las proteínas del lactosuero (Britten, 1994; Giroux, 1993).

1.11.1 Efecto de la temperatura en la caseína.

Las caseínas en forma micellar, y especialmente los caseinatos de sodio, son excepcionalmente termoestable, típicamente, la leche resiste un calentamiento a 140°C a un pH de 6.7 por un tiempo de 20 minutos antes de ocurra la coagulación y los caseinatos de sodio durante el calentamiento a 140° C por al menos 60 minutos. La estabilidad de las caseínas a altas temperaturas es principalmente debido a los bajos niveles de estructuras terciarias y secundarias (Huir, 1992).

En el calentamiento, la β -caseína soluble se reasociada con las micelas y el tiempo de coagulación se reduce. Además los tratamientos térmicos en un rango de 80-150° C, como el precalientamiento de la leche, induce cambios en las caseínas como desfosforilación, proteolisis, formación de enlaces covalentes y cambios en la estructura micelar de las caseínas (cuadro 8), el cual difiere en la proporción y no en la naturaleza (Huir, 1992).

Cuadro 8. Cambios inducidos por el calentamiento a una temperatura de 80 a 150 °C en las proteínas de la leche.

Tipo de proteína o estructura	Modificaciones
Caseínas	Desfosforilación Proteolisis Formación de enlaces covalentes
Estructuras micelares	Cambios de hidratación Asociación – Disociación
Proteínas de lactosuero	Desdoble – Agregación Intercambio disulfuro

La caseína es completamente desfosforilada en 5 horas a 120° C y aproximadamente el 50% de desfosforilación ocurre en 1 hora. La desfosforilación, la cual reduce la cantidad de proteína, podría esperarse como un efecto en la estabilidad de la leche al calor.

Si bien la naturaleza de los productos de la proteólisis formados durante el calentamiento no ha sido estudiado a fondo, pero algunos autores han reportado la presencia de glicopéptidos en leche con un tratamiento térmico a temperaturas >50° C y de péptidos similares a los glicomacropéptidos después de un tratamiento a 120° C por 20 minutos.

Durante el tratamiento térmico de las proteínas, las reacciones pueden ocurrir en la fracción activa de la cadena de algunos aminoácidos, como la lisina y cisteína y otros aminoácidos, carbohidratos o lípidos. El oscurecimiento ocurre cuando la leche es calentada a temperaturas mayores de 100° C, este oscurecimiento es conocido como Reacción de Maillard que ocurre entre un grupo carbonilo de la lactosa y el ϵ -amino de la lisina (Britten, 1994).

El calentamiento de la leche causa un gran número de cambios en las micelas de caseínas como es la agregación de estas durante la esterilización UHT. El incremento en el tamaño de la micela de caseína probablemente resulta de ³⁵ combinación de efectos de la desnaturalización por calor de las proteínas del lactosuero y su reposición en la superficie micelar y desde el incremento en el calcio micelar el cual puede llevar a la formación de puentes de calcio entre micelas. La estabilidad de calentamiento de la leche, la cual es considerada de importancia económica, puede influir varios factores como es el pH (Huir, 1992).

1.11.2 Efecto de la temperatura en las proteínas del lactosuero.

El calentamiento de las proteínas globulares originan un desdoble y este desdoblamiento es acompañado por un efecto térmico.

1.- β - Lactoglobulina. Con una temperatura de desnaturalización de 78° C, la β -lactoglobulina es la más estable de las proteínas del lactosuero. Un segundo cambio térmico se presenta cerca de 140° C causado por la ruptura de un enlace disulfuro y un desdoble adicional de la molécula.

La desnaturalización por calor de β - lactoglobulina depende del pH. Después de un tratamiento térmico en un medio ácido (pH 2.5, 90° C, 10 a 15 minutos) la β -lactoglobulina es aún soluble. Dos especies de moléculas están presentes, una (60%) es soluble a un pH de 4.5 y es idéntica a la proteína nativa; la otra (40%) es insoluble a un pH de 4.5, ha sido desnaturalizada irreversiblemente pero sin agregación, probablemente debido a las repulsiones electrostáticas a este pH. El calentamiento a pH de 4.5 da como resultado una β -lactoglobulina desnaturalizada insoluble por el rango de pH. Y las proteínas son agregadas debido a la formación de enlaces intermoleculares disulfuro. En un tratamiento térmico a pH neutros también han sido analizados: a 80° C, pH de 6.8 a 7.5, la β -lactoglobulina es parcialmente desnaturalizada sin formar un estado de agregación y sin pérdida de solubilidad (Huir, 1992).

2.- La α -lactoalbúmina la cual presenta una temperatura de desnaturalización de 62° C, es la menos estable de las proteínas del lactosuero, pero requiere mas calor por gramo para su desdoble. Por esto ha sido sumido que la α -lactoalbúmina era la proteína más estable del suero debido a su reversibilidad de la desnaturalización por calor a pH 6. Estudios recientes han mostrado claramente que la desnaturalización reversible de la α -lactoalbúmina es debido a la disociación del ion calcio y la reasociación de la proteína la cual es una metaloproteína de calcio. Estudios acerca de la solubilidad en proteínas de suero

como función del pH y temperatura muestran que la α -lactoalbúmina es insoluble a pH de 6.5 a 5. La mínima solubilidad es obtenida a pH 2 el cual corresponde al punto isoeléctrico de la α -lactoalbúmina.

Una gran variedad de tratamientos térmicos has sido estudiada para el aumento de la utilización de las proteínas de lactosuero también como el impacto de tratamiento térmico esenciales para el procesamiento de la leche como es la pasteurización. Cada tratamiento térmico moderado como es un pasterización estándar se ha mostrado que tiene efecto en la funcionalidad en los concentrados de proteínas de suero (Huir, 1992).

2. JUSTIFICACIÓN

En el valle de Tulancingo se encuentran una gran cantidad de productores de quesos. El lactosuero dulce es un subproducto que se obtiene de la coagulación enzimática de la leche, el cual contiene restos de cuajo activo y un gran número de bacterias ácido láctico usado durante la elaboración del queso. Los quesos de los cuales procede este tipo de lactosuero en el valle son: quesos frescos como Panela (González, 1996).

Durante muchos años nunca se tuvo en cuenta en la elaboración del queso el tratamiento o la utilización del lactosuero. El lactosuero puede ser procesado o transformado en productos valiosos, dependiendo del contenido de proteína y de la calidad microbiológica (Spreer, 1991).

Debido a su contenido en proteínas el lactosuero puede tener propiedades funcionales para su aplicación en la elaboración de diversos alimentos como es en la elaboración de quesos de suero, bebidas fermentadas, galletas, panadería, entre otros, con el fin de obtener efectos deseables en las propiedades de los mismos. Las propiedades funcionales más importantes de las proteínas del lactosuero de interés alimentario son: emulsionantes, espumantes, gelificación, capacidad de retención de agua y solubilidad.

En el valle de Tulancingo, el lactosuero arrojado tiene una mala calidad microbiológica, por lo que es necesario llevar a cabo un tratamiento para eliminar las bacterias patógenas y poderlo reusar, sin embargo es necesario evaluar el efecto de los tratamientos para eliminar tales bacterias en las propiedades funcionales del lactosuero.

Además de aportar un elevado valor nutritivo al alimento, las propiedades funcionales del lactosuero podrían permitir el desarrollo de nuevos productos y la mejora de los ya existentes con un considerable ahorro en los costos de formulación al sustituir total o parcialmente a otros ingredientes más caros (Walstra *et. al.*, 1987).

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis.

El lactosuero proveniente de la elaboración de queso tipo Panela en el valle de Tulancingo cumple con las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas para aprovecharlo como un alimento funcional.

Los tratamientos microbiológicos para eliminar bacterias patógenas influyen en las propiedades funcionales del lactosuero.

3.2 Objetivos.

3.2.1 Objetivo general.

Evaluar el efecto del procesamiento térmico, filtración y microfiltrado del lactosuero en sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y funcionales como emulsificación, capacidad de retención de aceite, espumado y gelificación. Para poder aprovecharlo como aditivo en alimentos.

3.2.2 Objetivos particulares.

1. Caracterizar fisicoquímica y microbiológicamente el lactosuero dulce proveniente de la elaboración de queso panela, para poder aprovechar sus componentes por sus propiedades funcionales.
2. Evaluar el efecto del procesamiento térmico, filtración y microfiltrado del lactosuero en sus propiedades funcionales como emulsificación, capacidad de retención de aceite, espumadas y gelificación.

4. MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1 Localización del área de estudio.

El presente trabajo se realizó en los laboratorios del Centro de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y en el Laboratorio de Aprovechamiento Agroalimentario Integral pertenecientes al Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, en Tulancingo, Hidalgo.

4.2 Descripción de la materia prima.

Se utilizó lactosuero proveniente de la elaboración de queso tipo Panela de la planta de quesos Productora Universitaria de Lácteos (PROUNILAC) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tulancingo Hidalgo. Para evitar que se presentara un crecimiento microbiano indeseable, se transportó en garrafas estériles, prosiguiendo al congelamiento del lote para evitar que se produjera una acidificación.

4.3 Establecimiento del experimento.

El trabajo experimental consistió en realizar la caracterización fisicoquímica, microbiológica y funcional del lactosuero proveniente de la elaboración de queso Panela.

La realización de los tratamientos consistió en tomar como control el lactosuero tal y como se obtuvo de la elaboración de queso panela, una muestra del lote anterior se pasteurizó a 72° C por 15 segundos, seguido rápidamente de un enfriamiento a una temperatura de $4 \pm 2^{\circ}$ C. Un tratamiento realizado a una muestra de

◆-----◆
lactosuero del lote control, consistió en una esterilización a una temperatura de 115° C por 15 minutos a 15 libras de presión y por ultimo tratamiento, se realizó una microfiltración con un filtro de Acetato de celulosa (TITAN2) de 0.45µm de diámetro de poro.

Para poder evaluar si los finos de caseína tenían algún efecto en los diferentes tratamientos, se les realizó una filtración por medio de una papel filtro (Whatman 41, 90mm, No 1441 090, Inglaterra) observados en el cuadro 9.

Cuadro 9. Tratamientos aplicados.

Tratamiento 1	Lactosuero crudo
Tratamiento 2	Lactosuero crudo filtrado
Tratamiento 3	Lactosuero esterilizado
Tratamiento 4	Lactosuero esterilizado filtrado
Tratamiento 5	Lactosuero pasteurizado
Tratamiento 6	Lactosuero pasteurizado filtrado
Tratamiento 7	Lactosuero microfiltrado

4.4 Análisis microbiológicos.

4.4.1 Preparaciones de muestras y diluciones.

Se tomó 1mL de muestra la cual se diluyó en 9mL de una solución de fosfato de potasio monobásico estéril (KH_2PO_4) y se realizaron las diluciones pertinentes, de las cuales se inoculó 1mL de las muestras en cajas petri estériles desechables.

4.4.2 Cuantificación de mesófilos aerobios.

Se realizó mediante la metodología propuesta por la NOM-092-SSA1-1994, utilizando Agar para Métodos Estándar (BIOXON, México), el cual se disolvió 11.75 gr. en 500 mL de agua destilada, posteriormente se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. A las cajas que contenían 1 mL de inóculo se les adicionó de 15 a 20 mL de medio de cultivo a 40-45°C, se homogenizaron las muestras con movimientos circulares y se incubaron a 35 ± 2°C, durante 48 horas, la cuantificación se realizó, contando el número de unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL).

4.4.3 Cuantificación de coliformes totales.

Se realizó utilizando Agar de Mac Conkey (BIOXON, México), el cual se disolvió 25 gr. de agar en 500 mL de agua destilada, posteriormente se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. A las cajas que contenían 1 mL de inóculo se adicionaron de 15 a 20 mL de medio de cultivo a 40-45°C, se homogenizaron las muestras con movimientos circulares y se incubaron a 35 ± 2°C, durante 48 horas, la cuantificación se realizó, contando el número de UFC/mL (NOM-092-SSA1-1994).

4.4.4 Cuantificación de bacterias ácido lácticas

Se utilizó Agar MRS (DIFCO), el cuál 27.5 gr. fueron disueltos en 500 mL de agua destilada, posteriormente se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. A las cajas que contenían 1 mL de inóculo se adicionó de 15 a 20 mL, de medio de cultivo a 40-45°C, se homogenizaron las muestras con movimientos circulares y se incubaran a 35 ± 2°C, durante 48 horas, la cuantificación se realizó, contando el número de unidades UFC/mL (NOM-092-SSA1-1994).

4.5 Análisis físicoquímicos.

4.5.1 Determinación de azúcares totales mediante el reactivo de Antrona.

Se realizó mediante el método colorimétrico de Trevelyan y Harrison (1952), conocido como el método de antrona, en el cual se aplicó una dilución de 1:1000 de lactosuero. En tubos de ensaye, se adicionó 1 mL de la muestra diluída y 2 mL de reactivo de Antrona (SIGMA). Se agitaron los tubos vigorosamente usando un agitador de tubos vortex (VORTEX GENIE 2, Scientific Industries, G-560), posteriormente, los tubos se colocaron en un baño María en ebullición durante 10 minutos, los tubos se enfriaron a temperatura ambiente (20-25°C) y se cuantificó la intensidad de color por medio de un espectrofotómetro (Varian Cary 100 BIO, Modelo EL04083749) a 625nm, frente a un testigo usando únicamente agua destilada como muestra.

Para calcular la concentración de azúcares totales presentes en la muestra se preparó una curva patrón con soluciones diluidas de D-glucosa-monohidratada, a concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L (Cuadro 10 y la figura 3).

Cuadro 10. Datos para realizar curva patrón

Concentración (mg/L)	Dextrosa (mL)	Agua (mL)
0	0	1
10	0.2	0.8
20	0.4	0.6
30	0.6	0.4
40	0.8	0.2
50	1	0

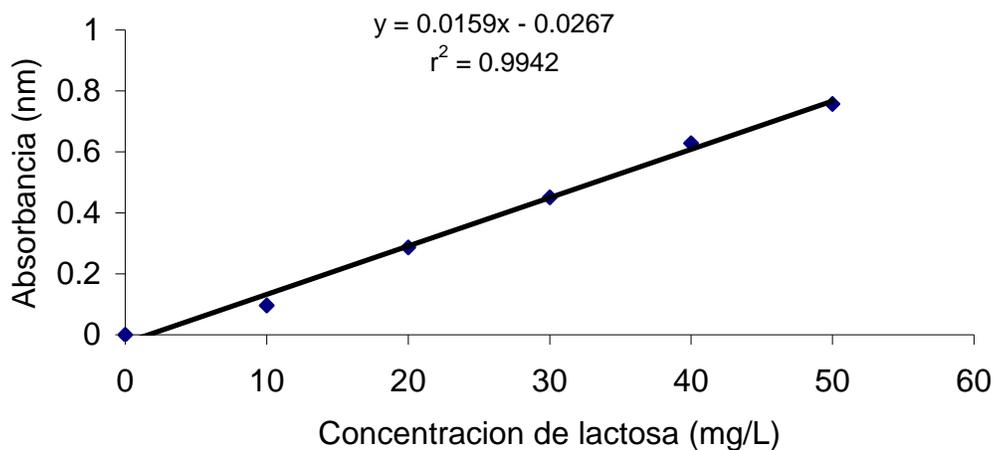


Figura 3. Curva patrón, azúcares totales (método de antrona).

4.5.2 Determinación de proteínas por el método de Lowry.

Para determinar la curva patrón por medio del reactivo de Fenol Folin (Hycel de México, 2790), se realizó de acuerdo a las concentraciones que se presentan en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Elaboración de curva patrón.

Seroalbúmina Bovina (mL)	Agua destilada (mL)	Concentración mg/L
0	1	0
0.2	0.8	60
0.4	0.6	120
0.6	0.4	180
0.8	0.2	240
1	0	300

Para determinar la concentración de proteína en la muestra se colocó en cada tubo:

Se agrego en un tubo de ensayo 1mL de los tratamientos y se le adicionó 0.1mL del reactivo NaOH 10N y se agitaron en un vortex, se calentaron en baño Maria por 30 minutos.

Se dejaron enfriar y después se le agregaron 5 mL de la solución D a cada tubo, se agitaron con la ayuda de un vortex y se dejó reposar por 30 minutos en la oscuridad. Transcurrido este tiempo se le agrego 1mL del reactivo de Folin, se agitaron y se dejó reposar por 2 horas en la oscuridad.

Se leyeron las muestras en un espectrofotómetro (Varian, Cary) a una absorbancia de 750 nm y se obtuvo una curva patrón como se puede ver en la figura 4.

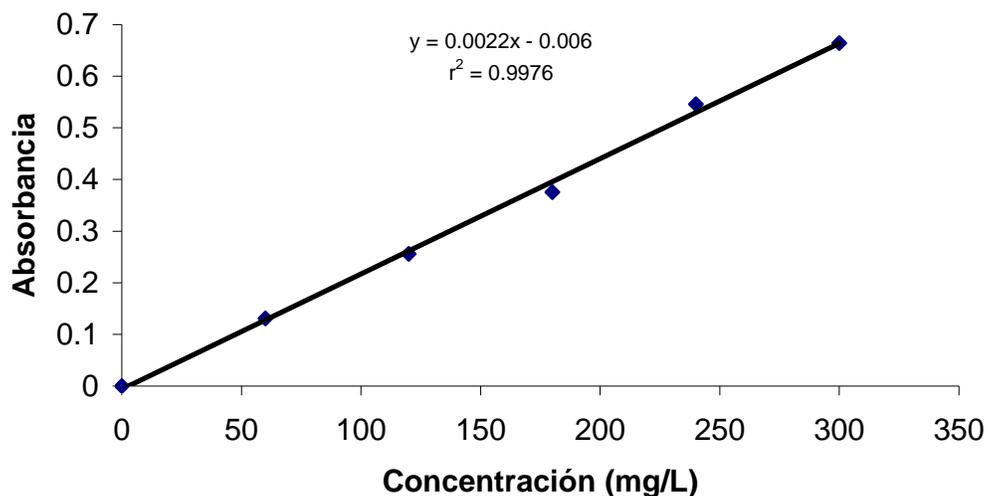


Figura 4. Curva patrón, de proteína por el Método de Lowry.

Preparación de soluciones:

Solución A: Se diluyo 10g de Na_2CO_3 en 500 mL de NaOH 0.1N.

Solución B: Se diluyo 1g de CuSO_4 en 100mL de H_2O destilada.

Solución C: Se diluyó 2g de tartrato de Na y K en 100mL de H₂O destilada.

Solución D: se agregaron 2 mL de la solución B y 2 mL de la solución C, en 100 mL de la solución A. (Lowry, 1951).

4.5.3 Determinación de pH por medio de un método potenciómetro convencional.

Se realizó utilizando un potenciómetro (HANNA Instruments, PH301, Italia), el cual fue calibrado con soluciones buffer (pH 7 y 4, respectivamente), posteriormente se tomó la lectura con un electrodo y se registró un pH medido por el mismo (NMX-F-099-1970).

4.5.4 Determinación de grasa por el método de Gerber.

La determinación de grasa se realizó mediante la metodología mencionada NOM-035-SSA1-1993.

Se colocó en butirómetros gerber (Sichler) para lactosuero de 1% de grasa, 10 mL de ácido sulfúrico con una densidad de 1,82-1,83 al 90%, se prosiguió con la colocación de 11mL de la muestra (lactosuero) tratando que fuera por las paredes y despacio, para evitar que la muestra se quemara por la adición rápida del ácido. A continuación se agregó 1 mL de alcohol isoamílico.

Se agitó hasta que se mezcló, y para que fuera una muestra más homogénea, se colocó el butirómetro de forma invertida en forma consecutiva.

Se colocó en baño maría a $65 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 10 minutos, colocando el butirómetro de tal forma que el tapón quedara en la parte inferior y que toda la columna de grasa estuviera sumergida.

Se utilizó una centrifuga gerber (Dr. N. Gerber, M80A, Suiza) por un tiempo de 5 minutos.

Se colocó en baño maría por 5 minutos más y se tomó la lectura del porcentaje que se observó de grasa.

4.5.5 Determinación de Densidad.

La densidad se determinó por medio de un picnómetro, esta técnica consistió en una diferencia de peso. Se pesó el picnómetro sin muestra y con muestra, la muestra estuvo a 20°C cuando ésta se pesó.

$$\text{Densidad} = \frac{\text{Peso Total} - \text{Peso del Picnómetro}}{\text{Volúmen del Picnómetro}}$$

4.5.6 Determinación de Acidez titulable.

En un matraz Erlenmeyer se depositaron 9mL de cada tratamiento de lactosuero, a continuación se le agregó a cada muestra de 2 a 3 gotas de solución de fenoftaleina. Se tituló inmediatamente con NaOH 0.1N hasta la obtención de un ligero color rosa que permaneciera por un lapso de 30 segundos (AOAC 947.05, 1999).

4.6 Propiedades funcionales.

4.6.1 Actividad emulsificante.

Se midió 5mL de la muestra y se homogenizó (homogeneizador Handishear 210746) a 1100rpm por 30 segundos, en seguida se adicionaron 5mL de aceite de maíz (Patrona), se prosiguió con una homogenización por un minuto más, por último, se centrifugó (Centrífuga Hettich, EBA 20, Alemania) a 1600rpm durante 5

minutos, en tubos de centrifuga de vidrio con una capacidad de 10 mL. Se midió el volumen de la emulsión formada (Chau *et al.*, 1997).

Para calcular la actividad emulsificante se utilizó la siguiente formula:

$$\% \text{ Actividad emulsificante} = \frac{\text{Volumen de la capa emulsificada formada (mL)}}{\text{Volumen de toda la emulsión formada (mL)}} \times 100$$

4.6.2 Estabilidad de la emulsión.

Se midió 5 mL de la muestra, se homogenizó a 11000 rpm por 30 segundos, posteriormente se adicionó 5mL de aceite de maíz (Patrona), se homogenizó por un minuto más. Se calentó a baño María a 80°C por 30 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente, por último se centrifugó a 1600 rpm durante 5 minutos, en tubos de centrífuga graduados. Se midió el volumen de la emulsión formada (Chau *et al.*, 1997).

$$\% \text{ Estabilidad de emulsión} = \frac{\text{Volumen de la capa emulsificante remanente (mL)}}{\text{Volumen de la emulsión original (mL)}} \times 100$$

4.6.3 Capacidad de retención de aceite (Cra).

Se adicionaron 10mL de aceite de maíz (Patrona) a 1mL de lactosuero, en un tubo para centrífuga, se agitó durante 1 minuto empleando un magneto y una placa de agitación (velocidad 6).

Posteriormente se centrifugó a 4,500 rpm por un tiempo de 30 minutos. Se midió el volumen del sobrenadante. La capacidad de retención de aceite se expresó como los gramos de aceite retenidos por gramos de muestra (Chau *et al.*, 1997).

$$\text{Cra} = \frac{\text{mL de aceite retenido}}{\text{gr de muestra}}$$

4.6.4 Capacidad de formar espuma (CFE) y estabilidad de la espuma (EE)

La capacidad espumante y la estabilidad de la espuma se determinaron por los métodos reportados por Canella (1978) y Kabirullah – Wills (1982).

Se preparó una suspensión con 1 gr de albúmina de huevo en polvo como testigo (campeón Reg. SSA No. 96663 A, México) con 50mL de agua destilada. A los tratamientos de lactosuero se les agregó concentrado de proteína de suero (WPC), para que éstos pudieran completar una concentración de 1 gr/50mL de proteína, como se puede ver en el cuadro 12.

Cuadro 12. Adición de concentrado proteico de suero a los tratamientos de lactosuero para poder observar su capacidad de formar espuma.

Tratamiento	Contenido real de proteína (g/ 50 mL)	WPC adicionada (gr/ 50mL)
Lactosuero crudo	0.7	0.3
Lactosuero crudo filtrado	0.604	0.396
Lactosuero pasteurizado	0.72	0.27
Lactosuero pasteurizado filtrado	0.592	0.408
Lactosuero esterilizado	0.65	0.34
Lactosuero esterilizado filtrado	0.635	0.37
Lactosuero microfiltrado	0.604	0.396

WPC (Concentrado Proteico de lactosuero): por sus siglas en inglés concentrado proteico de lactosuero.

Se sometió la suspensión a una agitación con una batidora manual (Sunbeam, modelo 2476) durante 5 minutos a alta velocidad.

Se transfirió la mezcla incluyendo toda la espuma a una probeta de vidrio de 250mL. Se midió inmediatamente el volumen del líquido drenado.

$$\%CFE = \frac{(A - B)}{B} \times 100$$

Donde :

%CFE.- Capacidad de formación de espuma

A.- Volumen total después de la agitación.

B.- Volumen total antes de la agitación.

Se dejó la mezcla en reposo durante 30 minutos, 2, 4, 24 horas y se midió en cada intervalo de tiempo el volumen total de la probeta y el líquido drenado.

Los resultados obtenidos se expresan como:

$$\%E.E. = \frac{(A - C)}{B} \times 100$$

Donde:

%E.E. .- Estabilidad de la Espuma

A.- Volumen total de espuma más líquido drenado a cada intervalo de reposo.

B.- Volumen total de la espuma formado a tiempo cero.

C.- Volumen de líquido drenado en cada intervalo de tiempo.

4.6.5 Capacidad de gelificación

Esta determinación se llevó a cabo por el método de Coffmann y García modificado (1977).

Se preparó en tubos de ensayo, suspensiones al 2, 6, 10 y 14% de proteína en 5mL de agua destilada. Para los tratamientos del lactosuero se agregó concentrado de Proteína de Suero (WPC), para que se obtuvieran las concentraciones deseadas.

Se colocaron los tubos en baño María a ebullición (92 – 94° C) durante 1 hora. Se prosiguió a enfriar los tubos rápidamente en un baño de hielo y se colocaron en refrigeración durante dos horas a 4° C.

La interpretación de resultados, se reporta como positivo cuando se observa a una concentración de proteína la formación de gel.

4.7 Análisis de resultados

Se utilizó un diseño completamente al azar con 7 tratamientos con tres repeticiones (n=3). Se analizaron los resultados con análisis de varianza cuando existieron diferencias significativas ($P < 0.05$), se utilizó una técnica de comparación de medias (Tukey).

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Análisis Microbiológicos.

El objetivo del tratamiento térmico consiste en la destrucción de los microorganismos patógenos, y de los microorganismos y enzimas perjudiciales para el proceso de elaboración y que puedan llegar a las personas (Frazier, 2003).

El tratamiento térmico viene determinado por dos factores: uno es la temperatura de calentamiento y el otro es el tiempo de mantenimiento (Holding time). Este tiempo de mantenimiento es un factor esencial para la eficacia del tratamiento térmico ya que no todos los microorganismos o enzimas no deseados se destruyen instantáneamente al alcanzar la temperatura de tratamiento. Algunas bacterias pueden tan solo sufrir un shock térmico momentáneo del que más tarde pueden recuperarse (Scott, 1991).

La contaminación presente en el lactosuero antes del tratamiento térmico depende de la eficacia de las medidas higiénicas aplicadas durante la producción del queso, así como las condiciones de su transporte y almacenamiento (Scott, 1991).

La presencia de bacterias ácido lácticas en el lactosuero crudo fue de 3.6×10^6 ufc/mL (Cuadro 13), lo cual puede revelar la utilización de cultivos iniciadores en la elaboración del queso. Las bacterias más comunes en el grupo de bacterias ácido lácticas son *Lactobacillus* y *Streptococcus* debido a su aplicación en una gran variedad de quesos. Las bacterias ácido lácticas soportan una temperatura inferior a 42 °C. Por lo tanto éstas fueron inhibidas en los tratamientos de pasteurización, esterilización y microfiltración (Anderson, 2000).

Cuadro 13. Composición microbiológica del lactosuero dulce.

Tratamiento	BAL	CT	MA
	(UFC/mL)		
Esterilizado	0	0	0
Pasteurizado	0	0	0
Crudo	3.6×10^3	9.8×10^3	1.80×10^6
Microfiltrado	0	0	0

BAL = Bacterias Ácido Lácticas

CT = Coliformes Totales

MA = Mesófilos Aerobios

El recuento de bacterias coliformes es uno de los medios más significativos para la apreciación de la calidad higiénica de la leche y de la eficacia del saneamiento al que se le somete (Alais, 2001). Estas bacterias son perjudiciales para los quesos frescos en curso de desuerado, ya que provocan el hinchamiento de la pasta (Alais, 2001). De acuerdo a Jay (2002), el contenido de coliformes que debe tener la leche pasteurizada es de no más de 1×10^1 ufc/mL, y de acuerdo a la NOM-121-SSA1-1994 el límite máximo permitido es 1×10^2 ufc/mL, se pudo observar el lactosuero crudo, el cual se obtuvo de la elaboración de queso panela sobrepasa el límite establecido por la NOM, la leche que utilizó para la elaboración del queso panela lleva proceso de pasteurización, la presencia de coliformes en el lactosuero indica la higiene en que se maneja la leche después del tratamiento térmico y durante su procesamiento (Jay, 2002). El lactosuero tratado con pasteurización y esterilización no se presentó crecimiento de coliformes, debido a que las temperaturas elevadas usadas son las adecuadas para que estos microorganismos se reduzcan entre un 90 y 99% (Frazier, 2003).

El recuento de microorganismos mesófilos aerobios refleja la calidad sanitaria de los productos analizados indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima y la forma de cómo fueron manipulados durante su elaboración. Anderson (2000), establece que un número superior a $10^6 - 10^7$ ufc/g suelen ser inicio de descomposición. De acuerdo a la NOM-091-SSA1-1994, el nivel máximo

permisible de mesófilos aerobios es de 3×10^4 ufc/mL en leche que deber ser empleada para la elaboración de quesos, lo cual la cantidad de mesófilos encontrado en la lactosuero crudo es mayor al que establece la NOM. Pero la presencia de microorganismos mesófilos en el lactosuero crudo no precisamente indican un mal manejo sanitario, sino la utilización de cultivos iniciadores en la elaboración del queso, entre los más frecuentes son *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*.

Con respecto al tratamiento microfiltrado el tamaño del poro es de $0.45 \mu\text{m}$ por lo tanto las bacterias que tienen un tamaño aproximado de 0.3 a $10 \mu\text{m}$ (Alais, 2001) son retenidas en este poro micrométrico, y por lo tanto son eliminadas del lactosuero.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el lactosuero crudo presenta una gran carga microbiana la cual sobrepasa los límites permisibles de acuerdo a varios autores, lo recomendable es que se le aplique al lactosuero un tratamiento ya sea de esterilización o pasteurización, igual se obtendrían buenos resultados aplicando una microfiltración pero no sería recomendable ya que su aplicación podría ser costosa.

5.2 Caracterización fisicoquímica.

5.2.1 Carbohidratos.

En la figura 5 se muestran las concentraciones de carbohidratos (CHO's) obtenidas para los 7 tratamientos de lactosuero. De acuerdo a Varnam (1995), la concentración de CHO's en el lactosuero varía entre un 4.2 a 5 % (42-50 g/L). Los resultados que fueron obtenidos en los tratamientos se mantuvieron en el rango que establece la literatura mencionada.

Los tratamientos pasteurizado filtrado, crudo filtrado fueron los que presentaron menor concentración de carbohidratos y presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a los tratamientos esterilizado filtrado, crudo y pasteurizado, y en lo que respecta a los tratamientos de esterilizado y microfiltrado no fueron estadísticamente diferentes ($P > 0.05$) a todos los tratamientos. De acuerdo a estos resultados podemos ver que la aplicación de una microfiltración no tiene efecto estadísticamente en el contenido de carbohidratos del lactosuero, así mismo por la aplicación de un tratamiento térmico, solo se observó un cambio en la coloración del lactosuero esterilizado debido a que a altas temperaturas se aceleran considerablemente todos los cambios que sufren los monosacáridos en condiciones tanto ácidas como alcalinas, pero a pH neutro canalizan las reacciones de caramelización y de oscurecimiento no enzimático, lo cual en el tratamiento esterilizado se pudo observar que por las condiciones de temperatura a la que fue sometida se pudo presentar un reacción de oscurecimiento (Babui, 2001). Por lo tanto el tratamiento que sería aconsejable utilizar es el pasteurizado, ya que no presentó una alteración de oscurecimiento por el tratamiento térmico que se le aplicó.

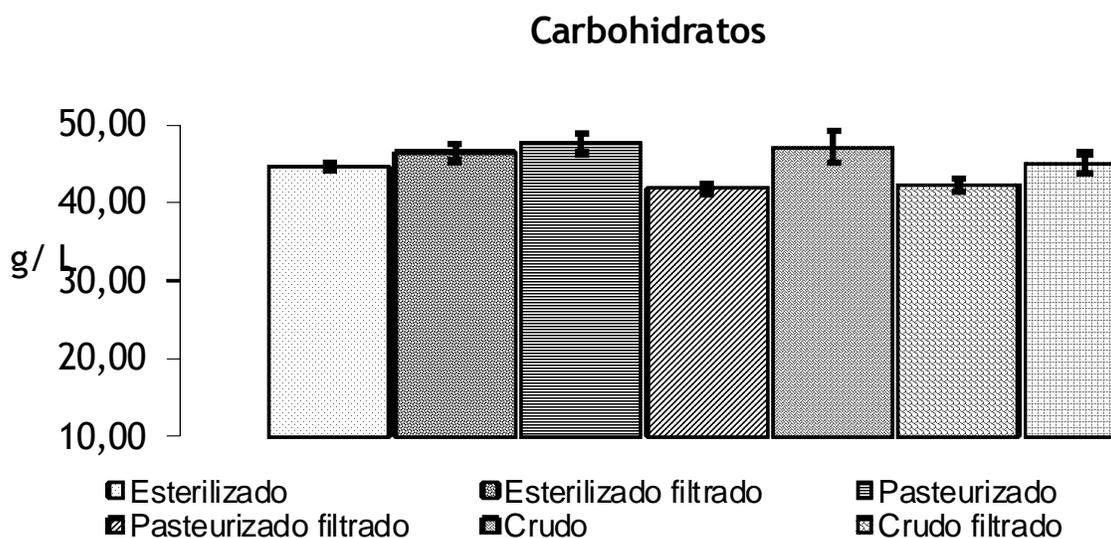


Figura 5. Contenido de carbohidratos en lactosuero dulce.

5.2.2 Proteínas.

Las principales proteínas que están presentes en el lactosuero son β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, inmunoglobulinas, seroalbúminas, fracción proteosa – peptona y glicoproteínas y una pequeña porción de caseínas que no son retenidas en la cuajada y se presentan en forma de finos (Santos, 2003).

El tratamiento térmico origina la desnaturalización de las proteínas del suero a una temperatura mayor de 56 °C. El efecto varía dependiendo de la severidad del calentamiento desde la desnaturalización parcial durante la pasteurización hasta la total en la esterilización. Las inmunoglobulinas son las más lábiles y en orden decreciente de estabilidad se encuentran, la albúmina sérica, β - lactoglobulina y α - lactoalbúmina (Varnam, 1995).

Esta desnaturalización se traduce por una destabilización y activación de los grupos sulfhídricos. El calentamiento provoca la agitación de las moléculas de proteína que tienen una forma globular. Esta agitación que aumenta con la temperatura, rompe los enlaces secundarios que unen las cadenas polipeptídicas que intervienen en la constitución de la molécula. Ciertos grupos polares, en principio dirigidos al interior de la molécula, se encuentran en posición externa. Todos estos fenómenos conducen a una disminución de la solubilidad de la proteína (Veisser, 1998), por lo tanto el tratamiento de lactosuero que fue sometido a una temperatura de esterilización (121 °C por 15 min.) presentó un contenido medio de proteínas (13.11 \pm 0.52g/L) y no presentó diferencia significativa ($P < 0.05$) con el lactosuero pasteurizado (14.41 \pm 0.49) (figura 6), los tratamientos presentan una concentración similar (9 a 14 g/L) a lo reportado por diversos autores (Spreer, 1991; Madrid, 1999).

La desnaturalización es tanto más importante cuando más alta sea la temperatura. Puede constatarse que una pasteurización realizada en condiciones óptimas no

ocasiona una desnaturalización apreciable; a una temperatura de 70 °C durante 30 minutos se desnaturaliza solamente el 6% de la α - lactoalbúmina, el 32% de la β -lactoglobulina, 52% de las seroalbúminas y el 89% de las inmunoglobulinas, a un calentamiento a 72 °C por 15 seg. la desnaturalización de las proteínas es despreciable. La fracción proteosa – peptona no sufre un alteración durante el calentamiento (Veissegre, 1998; Alais, 1997). Comparada con la esterilización en autoclave, se provoca la máxima desnaturalización (Cuadro 14). De acuerdo a Fachin *et al.* (2004), en estudios realizados en concentrado proteico de lactosuero a diferentes niveles de pH, las propiedades funcionales fueron notablemente beneficiadas en u rango de pH de 6 a 7, los mejores resultados fueron detectados en pH 7 con un tratamiento térmico a 70° C por 2 mi n. El efecto del tratamiento térmico en las propiedades de emulsificación depende del valor del pH. Con un pH cercano a 7, el tratamiento térmico excesivo afecta las propiedades de emulsificación, probablemente debido a la excesiva desnaturalización de las proteínas.

Cuadro 14. Desnaturalización de las proteínas solubles por diversos tratamientos térmicos.

Condiciones de calentamiento	Procedimiento	Importancia de la desnaturalización (% de las proteínas solubles desnaturalizadas)
63 °C - 30 min.	Pasterización baja	Despreciable
72 °C – 15 a 20 seg.	Pasterización HTST	Despreciable
80 °C – 1 min.	–	20 %
145 °C – 1 a 2 seg.	Calentamiento UHT	60%
80 °C – 30 min.	–	90%
90 °C – 5 min.	–	100%
115 °C - 15 mn	Esterilización	100%

Fuente: (Veissegre, 1998)

Como ya se mencionó anteriormente entre los tratamientos esterilizado y pasteurizado no se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$), pero el tratamiento al cuál se le aplicó una pasteurización, en esta temperatura no ocurren cambios significativos en las proteínas, que en comparación con la esterilización los cambios en proteínas son mayores (Santos, 2003). En el contenido de proteína en el lactosuero pasteurizado (14.40 g/L) y el lactosuero crudo (14.76 \pm 0.24) no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$), en cambio, podemos ver que fueron estadísticamente diferentes con respecto al lactosuero esterilizado y a los demás tratamientos del lactosuero. El tratamiento termico disminuye algunas propiedades funcionales esto puede ser debido a una excesiva desnaturalización, resultando una reducción en los residuos hidrofobicos aprovechables para algunas interacción con la fase oleosa en el caso de la formación de una emulsión (Fachin, 2004). De acuerdo a esto podemos ver que el lactosuero pasteurizado presenta un mayor contenido de proteínas sin desnaturalizar y menor contenido microbiológico en comparación con el lactosuero crudo y por lo tanto podemos decir que el mejor tratamiento es el lactosuero pasteurizado. En lo que respecta a los tratamientos filtrados (crudo filtrado; 12.08 \pm 0.61 g/L, pasteurizado filtrado; 11.84 \pm 0.40 g/L, esterilizado filtrado; 12.70 \pm 0.71 g/L y microfiltrado; 12.51 \pm 0.75 g/L), presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a los tratamientos que no fueron filtrados (Esterilizado, pasteurizado y crudo). Éstos presentaron un contenido menor en proteínas, por la retención de los finos de caseína en el lactosuero.

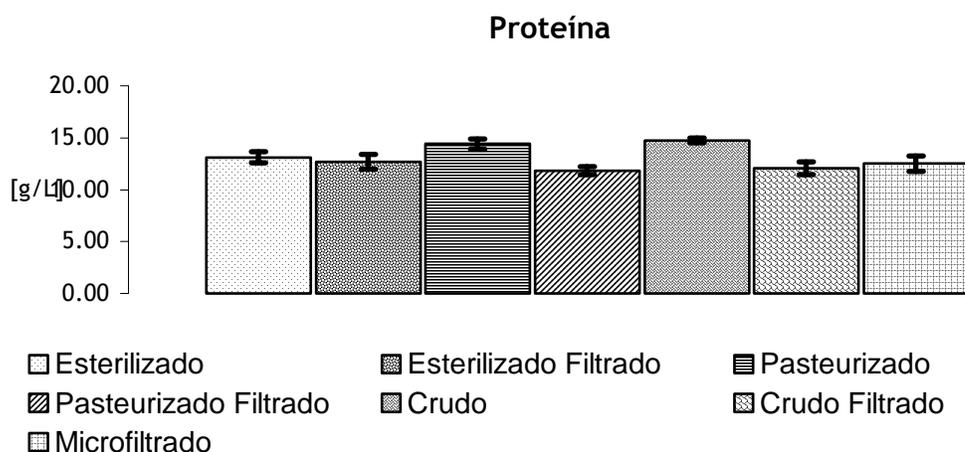


Figura 6. Contenido de proteína en lactosuero dulce

5.2.3 Grasa, pH, Dornic y densidad.

La materia grasa es poco sensible a los tratamientos térmicos moderados, es preciso alcanzar temperaturas muy superiores a 100 °C o realizar un calentamiento prolongado durante varias horas a 70 a 80 °C para detectar una degradación de los glicéridos (Veissegre, 1998), como se muestra en el cuadro 15, el contenido de grasa que se presenta en los tratamientos del lactosuero fue similar al reportado (0.4 – 0.6 %) por Madrid (1999), y esta concentración se mantuvo constante debido a que los triglicéridos fueron expuestos a un calentamiento pero no por tiempos prolongados, hasta los cuales pudiera presentarse una degradación de ellos (Veissegre, 1998).

Como se observa en el cuadro 15, lo que respecta al pH es similar al que presenta Madrid, (1999) con un valor cercano al 6.45 y el cual es un parámetro importante para poder clasificar a los diferentes tipos de lactosueros. El lactosuero dulce cuya acidez varía de 15 a 25 °D (°D = Grados Dornic) (Campos, 2007), En los

tratamientos se presentó un valor menor al citado, debido a que se pudo presentar una degradación de la lactosa (Alais, 1997).

El lactosuero presenta una densidad con un rango de 1.025 a 1.027 g/mL (Alais, 1997), la cual se puede ver influida por la temperatura y la composición, los resultados obtenidos en todos los tratamientos presentan una densidad similar con la mencionada anteriormente.

Cuadro 15. Propiedades del lactosuero

Tratamiento	Grasa			
	(%)	pH	° Dornic	Densidad
Esterilizado	0.6	6,20	9 ± 1	1,03
Esterilizado Filtrado	0.6	6,17	9.33 ± 0.57	1,02
Pasteurizado	0.5	6,45	8.66 ± 0.57	1,02
Pasteurizado Filtrado	0.6	6,48	8.86 ± 0.57	1,02
Crudo	0.5	6,23	8.33 ± 0.57	1,02
Crudo Filtrado	0.6	6,33	8.67 ± 0.57	1,02
Microfiltrado	0.6	6,51	1.67 ± 0.57	1,06

5.3 Propiedades funcionales

5.3.1 Capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de aceite es producto del atrapamiento físico de las grasas por parte de las proteínas, a través de estructuras denominadas micelas. La capacidad de retención de aceite está determinada por la estructura de la matriz proteica, la disposición de los aminoácidos dentro de la estructura proteica, que a su vez determina las interacciones hidrofóbicas proteína – grasa, por el tipo de aceite (Granito, 2004).

No se observaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los valores de capacidad de retención de aceite de los tratamientos de lactosuero, los cuales presentaron un porcentaje mínimo (Figura 7) y por lo tanto se puede decir que el lactosuero no tiene suficiente concentración de proteína y no presenta una buena capacidad de retención de aceite en ningún tratamiento. En algunos otros alimentos como es en la cáscara de naranja y otras frutas se han reportado una capacidad de retención de aceite de 1.29 a 2 % (Fenema *et al.*, 1997) y para algunos granos y semillas hasta del 5 % (Granito, 2004).

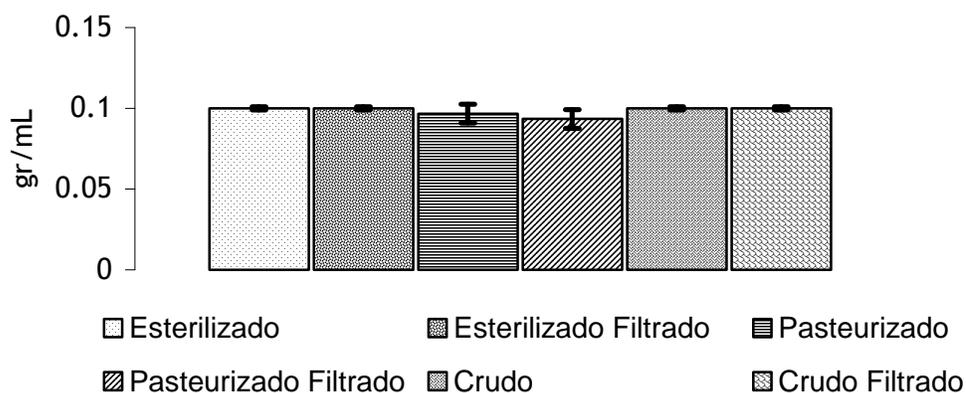


Figura 7. Capacidad de retención de aceite en el lactosuero dulce.

5.3.2 Actividad emulsificante

La actividad emulsificante mide la capacidad de las proteínas para permanecer en la interfase agua/aceite tras la formación de la emulsión (Vieira, 2006)

De acuerdo a Badui (2006), las proteínas mayoritarias del lactosuero presentan una buena actividad emulsificante, ya que estas proteínas son capaces de hacer

contacto con las dos fases, aceite-agua, modificando su conformación rápidamente para quedar colocada en la interfase.

Las proteínas del lactosuero son sensibles al calor y muestran una gran desnaturalización a temperaturas arriba de 70 °C (Britten, 1991).

La desnaturalización de las proteínas indica que la estructuración se aleja de la forma nativa debido a un importante cambio en su conformación tridimensional, producido por movimiento de los diferentes dominios de la proteína. Este cambio conformacional trae como consecuencia pérdidas en la estructura secundaria, terciaria o cuaternaria, pero no en la estructura primaria. Es común relacionar la desnaturalización con daños a la proteína, ya que pueden perderse funciones fisiológicas, actividad enzimática, o bien, modificarse sus propiedades funcionales al ocurrir agregación o insolubilización. O también puede servir para mejorar la funcionalidad, como cuando se aumentan sus propiedades de espumado y emulsificación por el desdoblamiento de las moléculas que favorece la estabilización en interfases al lograr la exposición de sitios hidrofóbicos que interaccionan con la fase hidrofóbica de una emulsión (Badui, 2006).

Debido a todos estos cambios ocurridos en las proteínas del lactosuero, como se puede observar en la figura 8, el lactosuero que fue tratado por pasteurización (65.33%) y el lactosuero crudo (65.2%), presentaron la mayor actividad de la emulsión ($P > 0.05$). El lactosuero microfiltrado (64.08%), crudo filtrado (63.31%) y esterilizado (62.83%) presenta un porcentaje intermedio de actividad emulsificante ($P > 0.05$). En lo que respecta a los demás tratamientos esterilizado filtrado (61.85%) y pasteurizado filtrado (60.22%), no se encontró una diferencia significativa entre ellos ($P > 0.05$) y presentaron un porcentaje mínimo en actividad de la emulsión. McClements [1999], considera a la actividad emulsificante como muy buena, cuando la emulsión es superior al 94% y pobre a los valores menores al 50%. De acuerdo a esto, se puede apreciar que el tratamiento que presenta una actividad emulsificante mayor fue el lactosuero tratado con pasteurización en

comparación con los demás tratamientos debido a que el tratamiento térmico solo desnaturizó parcialmente la proteína y por ello se logró una mejora en esta propiedad, debido a que se incrementa la flexibilidad molecular al igual que pudo variar probablemente por el tamaño del glóbulo graso, la cristalización de la grasa y quizás por la composición de la membrana del glóbulo graso. A una concentración mayor de grasa utilizada en la formación de la emulsión se va a presentar una mejor actividad emulsificante.

Es conocido que los tratamientos térmicos a altas temperaturas (en particular a temperaturas > 60° C) inducen la agregación y desnaturalización de proteínas de lactosuero (Vasbinder, Alting, Visschers & de Kruif, 2003), mejorando su adsorción en la interfase y dando lugar a la formación de una delgada capa como gel (Kiokias, Dimakou & Oreopoulou, 2007).

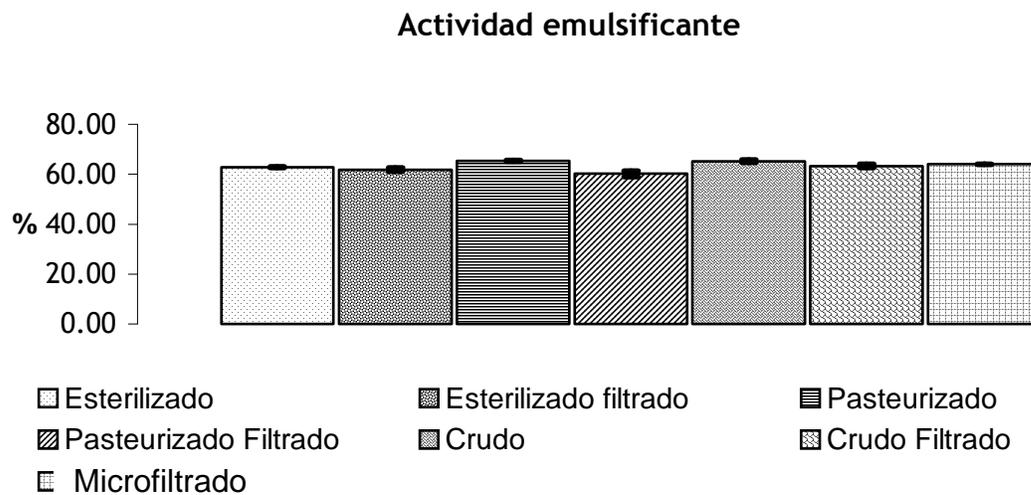


Figura 8. Actividad emulsificante presentada en los diferentes tratamientos de lactosuero dulce.

5.3.3 Estabilidad de la emulsión.

Una de las propiedades más importantes de una emulsión es su estabilidad. El término estabilidad no solo incluye los aspectos físicos que controlan principalmente la separación de fases, sino también químicos (oxidación, hidrólisis) y microbiológicos (Muñoz, 2007).

La estabilidad física de una emulsión está condicionada por el resultado de un balance complejo de fuerzas de atracción y repulsión entre las gotas de la fase dispersa, condicionado por las condiciones fisicoquímicas del medio continuo (Muñoz, 2007).

La capacidad de las proteínas para estabilizar las emulsiones depende de su capacidad para absorber en la interfase, formando una barrera protectora que dificulte la coalescencia. Como todas las proteínas son anfifílicas, pueden llevar a cabo la estabilización al migrar espontáneamente a la interfase agua – aceite (Vieira, 2006; Badui, 2006). Esto depende del patrón de distribución de las zonas hidrofóbicas e hidrofílicas en la superficie; si el número de zonas hidrofóbicas es alto y están distribuidas como parches con suficiente energía para interactuar, la absorción espontánea hacia la interfase será más probable (Badui, 2006).

Para estabilizar una emulsión, los dominios hidrofóbicos de la proteína deben orientarse hacia la fase oleosa. La facilidad con la que la proteína se despliegue, ocasiona que sus dominios hidrofóbicos queden expuestos y así lograr una estabilidad mayor de la emulsión (Badui, 2006), como se puede observar en la Figura 9 el lactosuero que fue filtrado y tratado con pasteurización presentó la mayor estabilidad ($P < 0.05$) con respecto a los demás tratamientos con un porcentaje de 77.75 %, los tratamientos que tuvieron una estabilidad intermedia fueron el lactosuero pasteurizado (71.56 %), lactosuero crudo (70.16 %), crudo filtrado (68.98 %) y microfiltrado (66.78 %), y no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellos. En cambio los tratamientos que presentaron la

menor estabilidad ($P < 0.05$) fue el lactosuero esterilizado (56.16 %) y esterilizado filtrado (52.56 %), esto pudo deberse a el tratamiento térmico que se le aplicó, ya que la aplicación de tratamientos térmicos por encima de la temperatura de desnaturalización de las proteínas globulares puede producir cambios en las propiedades de las emulsiones en días. La desnaturalización superficial de un buen número de proteínas globulares implica la exposición de grupos hidrófobos no sólo hacia el medio oleoso sino también hacia la fase acuosa, lo cual puede favorecer interacciones atractivas entre proteínas absorbidas en gotas cercanas, mediante interacciones hidrófobas y puentes disulfuro (Muñoz, 2007). De acuerdo a Britten, (1992), estudios realizados en emulsiones con mezclas de caseína, se tiene una estabilidad de la emulsión del 55%, después de 4 meses de almacenamiento, y en comparación con los resultado que obtuvimos, los datos reportados por Britten (1994), se encuentran en un rango menor que los tratamientos realizados al lactosuero.

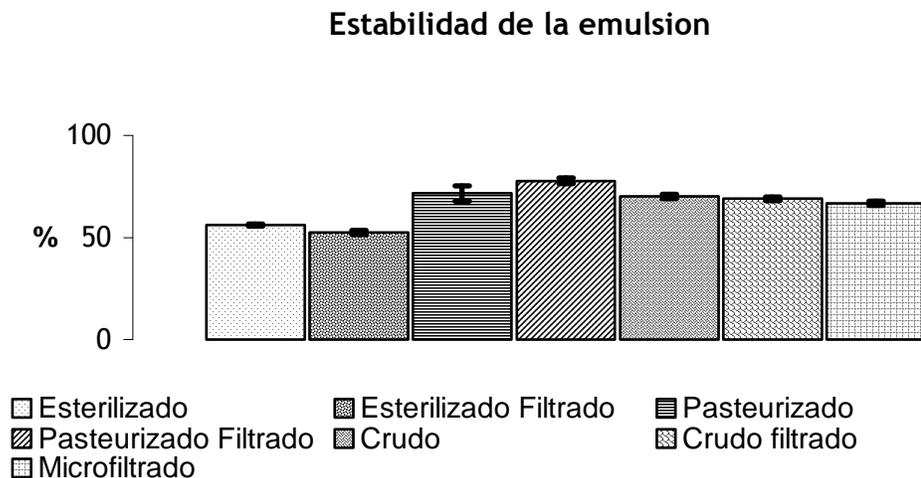


Figura 9. Estabilidad de la emulsión en los diferentes tratamientos de lactosuero dulce.

Entre la solubilidad de las proteínas, su capacidad de emulsificación y la estabilidad de la emulsión formada se suele dar una correlación positiva (Fennema, 1993). La solubilidad incide en las propiedades emulsificantes, pero no

se requiere una solubilización total de la proteína para lograr la emulsificación: se puede tener buenos resultados en un rango de solubilidad desde un 25 hasta un 80 %. Y también las partículas de proteína insolubles pueden jugar, a veces, un papel en la estabilización de emulsiones ya formadas (Fennema, 1993), y las proteínas del lactosuero son solubles (Sebelien, 1885).

Las emulsiones estabilizadas por proteínas globulares son particularmente sensibles a los tratamientos térmicos, debido a que estas proteínas son desdobladas cuando la temperatura excede los valores críticos de exposición reaccionando los grupos (no polares, grupos sulfhídrico) localizados en su interior. Estos grupos reactivos incrementan la interacción entre las proteínas que son absorbidas en sus gotas o diferentes gotas, en relación a esta alteración la susceptibilidad de la emulsión a que sus gotas floculen o colapsen. La β – lactoglobulina estabiliza la emulsión a pH 7 y es estable a la floculación en ausencia de sal, mientras que una temperatura menor a lo 65 °C las gotas floculan esto es debido a la desnaturalización de las proteínas globulares después de su absorción (McClements, 2004). El tratamiento térmico como se pudo observar en el lactosuero que fue tratado con pasteurización, puede reducir el cremado y la coalescencia pero induce una leve sedimentación, el cremado o sedimentación de las gotas de una emulsión es causado por las diferencia de densidades entre las gotas y la fase continua, si las gotas son de aceite estas generalmente suben (que es el cremado) mientras que en una emulsión agua en aceite las gotas son mas densas que la fase oleosa y tienden a hundirse por la gravedad, es por eso que este tratamiento presento una mejor estabilidad de la emulsión. El cremado y la sedimentación son observadas visualmente cuando las gotas de tamaño pequeño son distribuidas o movidas formando grandes agregados. La coalescencia de dos gotas de una emulsión en una gota grande ocurre cuando en ambas gotas sus fuerzas de atracción son débiles para contrarrestar las fuerzas de Van der Waals, la coalescencia en puede ocurrir antes de que se presente la ruptura de la emulsión (Robins, 2000). Las emulsiones de proteínas de lactosuero al ser utilizadas para estabilizar una emulsión muestran una no coalescencia pero

considerablemente la destabilización por cremado en almacenamiento (Britten, 1991).

En estudios realizados por Britten, (1994), un índice de inestabilidad de la emulsión (coalescencia) fue determinada en función de la composición de la proteína. Las emulsiones que fueron hechas con soluciones de proteínas a las cuales se no les dio un tratamiento térmico mostraron un índice máximo de coalescencia, o una estabilidad mínima. Esta estabilidad mínima la relacionan con la cantidad mínima asignada de proteína que participa en una emulsión. Por lo tanto podemos ver que el lactosuero filtrado y tratado con pasterización debido al tratamiento térmico que se aplicó el cual no fue muy severo, desdoblo a las proteínas a un grado que no fueran completamente desnaturalizadas y así logro exponer sitios hidrófobos e hidrofílicos para poder presentar una buena estabilidad de la emulsión (77.75 %) y tambien su pudo obtener una buena estabilidad debido al contenido de proteína que se encuentra en el lactosuero.

5.3.4 Capacidad para formar espuma

La formación de espuma puede ser considerada como un concentrado de emulsión, de aire en agua (por sus siglas en ingles Air in Water A/W). La capacidad espumante de una proteína se refiere a la cantidad de área interfacial que puede ser creada por la proteína (Badui, 2006).

Si se aplica un tratamiento térmico moderado antes de proceder a la formación de la espuma puede mejorar algunas propiedades espumantes de la proteína de soya (70 – 80 °C), del lactosuero (40 – 60 °C), de la clara de huevo (ovoalbúmina y lisozima). Estos tratamientos térmicos aumentan el incremento porcentual del volumen, pero pueden disminuir la estabilidad de la espuma. Tratamientos térmicos más intensos perjudican la capacidad de formación de espuma. El

◆-----◆

calentamiento de la espuma provoca la expansión del aire, disminuye la viscosidad y conduce al colapso de las burbujas (Fennema, 1993). En el cuadro 16, se puede observar la capacidad de formar espuma de los tratamientos que fueron aplicados para el lactosuero, en los cuales, los tratamientos que no tuvieron capacidad de formar espuma fueron lactosuero esterilizado, esterilizado filtrado, pasteurizado filtrado,, crudo filtrado y microfiltrado y no se presentaron diferencias significativas entre ellos. El lactosuero pasteurizado y crudo presentaron una formación mínima de espuma notable 2 y 4 % respectivamente, ya que su contenido de proteína (14.75 y 14.40 g/L) les permitió estabilizar la espuma contra la gravitación y el estrés mecánico (Badui, 2006). Si se le agregara una mayor concentración de proteína daría firmeza a la espuma. Esta firmeza se logra con un tamaño menor de burbuja, una textura fina y una mayor viscosidad. Al aumentar la viscosidad se facilita la formación de multicapas cohesivas de la película de proteína en la interfase. Las proteínas desnaturalizadas pierden la habilidad para difundirse rápidamente en la interfase y de reorientarse para la formación de una película viscosa. Sin embargo pueden retardar soltar agua en las espumas y afecta positivamente la formación y retarda la rotura de las espumas.

De acuerdo a Badui (2006), la mayoría de las proteínas presentan capacidad de espumado en un rango de concentración del 2 al 8%, y el aislado proteico de lactosuero se encuentra en un rango de 2 a 3%, por lo que podemos ver que el lactosuero pasteurizado se encuentra dentro de este rango mencionado, pero en comparación con la albúmina de huevo, que esta presenta un 98% de capacidad de espumado, el lactosuero completo no es un buen agente para formar espumas (Villalta, 2001).

Cuadro 16. Capacidad de formar espuma y estabilidad de la espuma.

Tratamiento	Capacidad Espumante (%)	Estabilidad de la Espuma (%)
Lactosuero Esterilizado	0	0
Lactosuero Esterilizado Filtrado	0	0
Lactosuero Pasteurizado	2	2
Lactosuero Pasteurizado Filtrado	0	0
Lactosuero Crudo	1,5	4
Lactosuero Crudo Filtrado	0	0
Microfiltrado	0	0

La estabilización de la espuma involucra un mecanismo de resistencia a la deformación de la red de las células de aire circundante. En espumas lácteas, la adsorción de las proteínas es importante en el en la red de las células de aire, pero un periodo largo de estabilidad generalmente no es alcanzado por adsorción de proteínas en las películas sola pero en una red en parte agregando glóbulos de grasa o asociados de moléculas de polisacáridos de goma (Huir, 1992).

5.3.5 Capacidad de gelificación.

La realización de un gel se compone por diferentes etapas: modificación del sistema proteico de la estructura cuaternaria, agregación de las moléculas de proteína parcialmente desnaturalizadas y asociación de agregados (Clark, 1998; Zdzislaw, 2007).

La estructura de los geles depende de los componentes y los parámetros de proceso (Zdzislaw, 2007).

En el Cuadro 17 se puede observar que todos los tratamientos de lactosuero fueron positivos en la capacidad de gelificación agregando un 14 % de Concentrado proteico de lactosuero (WPC), ya que a concentraciones menores no se presentaba la formación del gel y a partir de esta concentración se formó una

gelificación. Los geles formados en todos los casos fueron opacos y frágiles. El tratamiento térmico en realidad no tubo influencia en la elaboración de geles, ya que la formación de geles se observó igual en los tratamientos de lactosuero que fueron tratados con esterilización y pasteurización que con el lactosuero crudo.

La concentración proteica es importante en la formación y en la firmeza del gel y una alta proporción de proteínas globulares puede contribuir a este proceso. La gelificación de las proteínas se ve afectada también por diversos factores ambientales como el pH, las sales y otros aditivos. El pH óptimo para la formación de geles ésta entre 7 y 8 para la mayor parte de las proteínas (Otegui *et al.*, 1997).

De acuerdo a experimentos realizados con otros alimentos, de acuerdo a Otegui *et al.* (1997), quienes observaron que en aislado proteicos de *Vicia faba L* el porcentaje mínimo de gelificación fue de un 14% al igual que para el frijol, y de un 12% para harinas de diferentes tipos de frijoles entre otros autores. Con respecto a esta literatura encontrada podemos ver que el lactosuero presenta un porcentaje igual a este alimento, y siendo el lactosuero un residuo industrial podría ser utilizado por esta propiedad que presenta.

Cuadro 17. Capacidad de Gelificación.

Tratamiento	Lactosuero con 14% WPC
Lactosuero Esterilizado	+
Lactosuero Esterilizado Filtrado	+
Lactosuero Pasteurizado	+
Lactosuero Pasteurizado Filtrado	+
Lactosuero Crudo	+
Lactosuero Crudo Filtrado	+
Microfiltrado	+

+, Positivo

-, Negativo

6. CONCLUSIONES

El lactosuero crudo proveniente de la elaboración del queso Panel, presenta una mala calidad microbiológica, teniendo un elevado contenido de coliformes totales 9.8×10^3 ufc/mL y no cumple con el límite máximo (1×10^2 ufc/mL) establecido por la NOM-121-SSA1-1994. Mientras que los tratamientos del lactosuero esterilizado, pasteurizado y microfiltrado, no presentaron crecimiento microbiológico.

El tratamiento de lactosuero que presentó las mejores características en sus propiedades fisicoquímicas fue el lactosuero pasteurizado, debido a que no sufrió daño en sus componentes por la temperatura que fue aplicada.

De acuerdo a el efecto del procesamiento en los tratamientos de lactosuero, podemos ver que el lactosuero tratado con pasterización es el que presentó mejores propiedades funcionales, además de quitar los microorganismos patógenos, ya que las proteínas no se sometieron a una temperatura drástica la cual pudiera afectar sus diferentes interacciones, y así influir en sus propiedades funcionales y de esta se puede aprovechar en la industria alimentaria este residuo contaminante como un aditivo para mejorar las propiedades de los alimentos formulados por sus propiedades funcionales de emulsificación, gelificación y formar espuma.

RECOMENDACIONES

Realizar con diferentes porcentajes de grasa, concentración de proteína, y aplicar diferentes valores de pH para poder ver el efecto que tendría en sus propiedades funcionales.

Contar con lactosuero que contenga diferentes concentraciones de proteína para evaluar el efecto que tendría en la formulación de emulsiones simples y múltiples.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Amiot J. (1991). Ciencia y tecnología de la leche. Editorial Acribia. España. Pp. 31-33.
- Anderson P. M. R., Calderón V. (2000). Microbiología alimentaria, metodología analítica para alimentos y bebidas. Editorial Diaz Santos. 2^{da} ed. España. Pp. 13 – 18.
- Alais Charles. (2001). Ciencia de la leche, principios de técnica lechero. Editorial Continental. México. Pp. 550-555.
- AOAC. (1999). Official methods of analysis. Association of official analytical chemist. Washington DC.
- Badui D. S. (2006). Química de los alimentos. Editorial Pearson. 4^aed. México. Pp. 187-199.
- Britten M., Goroux H. J. (1994). Effect of pH during heat processing of partially hydrolyzed whey protein. Journal of dairy science. 676:686.
- Bylund G. (1996). Manual de industrias lácteas. Ediciones A Madrid Vicent. Tetra-Pack. Madrid.
- Campos M. R. G. (2007). Alternativas para el tratamiento de lactosuero para un desarrollo sostenible en el valle de Tulancingo, Hidalgo. Editado por Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo, México. Pp. 24-40.

Clark A. H. (1998). Gelation of Globular Proteins, en Hill SE., Ledward DA., Mitchell JR. (Ed.) *Functional Properties of Food Macromolecules*, 2nd Ed. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg. Pp. 77-142.

Coffmann CW, Garcia V. V. (1977). Funtional properties and aminoacid content of a protein isolate from mung bean flour. *J. Food Tech* 1. **(12)**, 473 - 484.

Fachin L., Bohiíto W.H. (2004). Effect pf pH and treatment of cheese mhey on solubility and emulsifying properties of whey protein concentrate produced by ultrafiltration. *Elsevier International Dairy Jouenal*. **(15)**, 325 – 332.

Fennema O. R. (1993). *Química de los alimentos*. Editorial Acribia. España. Pp. 315 -351.

Frazier W. C., Westhoff D. C. (2003). *Microbiología de los alimentos*. Editorial Acribia. 4ª edición. España. Pp. 376.

González, S. A. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey. A review. *Bioresource Technolog*. Pp. 1-11.

Granito M., Guerra M., Torres A., Guinand J. (2004). Efecto del procesamiento sobre las propiedades funcionales de *Vigna sinensis*. *Red de revistas científicas de América latina y el caribe, España y Portugal*, Vol 29, No. 9. Pp. 521-526.

Huir Y. H. (1992). *Dairy science and technology handbook, principles and properties*. VCH. Pp. 324: 329.

Jay J. M. (2002). *Microbiología moderna de los alimentos*. Editorial Acribia. 4ª edición. España. Pp. 368.

Kiokias, S., Dimakou, C., & Oreopoulou, V. (2007). Effect of heat treatment and droplet size on the oxidative stability of whey protein emulsions. *Food Chemistry*. **(105)**, 94-100.

Madrid, A. (1994). *Nuevo manual de tecnología quesera*. Ediciones AMV, España. Pp. 23.

Luquet, F.M. (1993). *Leche y productos lácteos*. Editorial Acribia. España. Pp. 36

McClements D. J. (2004). Protein stabilized emulsions. *Current opinion colloid and interface science*. **(9)**, 305 – 313.

McClements D. J. (1999). *Food emulsions, principles, practice and techniques*. CRC. Washington, D. C. Pp. 2-5: 84-95.

Muñoz J., Alfaro M. C. y Zapata I. (2007). Avances en la formulación de emulsiones. *Grasa y aceites*, **(58)**, 64 – 73.

[NMX-F-099] Norma Mexicana. (1970). *Determinación de pH en leche y productos lácteos*.

Otegui I., Fernández Quintela A., De Diego A. (1997). Properties of spray-dried and freeze-dried faba bean protein concentrates. *Int. J. Food Sct. Techn.* **(32)**, 439 – 443.

Pascual A. M. R., Calderon V. (2000). Microbiología alimentaria, metodología analítica para alimentos y bebidas. Editorial Dias de Santos. 2ª edición. España. Pp. 13.

Pérez-Alonso C.; Báez-González J. G.; Beristain C. I.; Vernon-Carter E. J. y Vizcarra-Mendoza M. G. (2003). Estimation of the activation energy of carbohydrate polymers as selection criteria for the use as wall material for spray-dried microcapsules. *Carbohydrate Polymers*. **(53)**, 197-203.

Pintado M. E. Macedo A. C. Malcata F. X. (2001). Technology, chemistry and microbiology of whey cheeses. *Food science and technology international*. 105:116.

Ré M. I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*. **(16)**, 1195 – 1236.

Renner, E.; Abd El-Salam, M. H. (1991). Application of ultrafiltration in the dairy industry. Elsevier Applied Science. London.

Robins M. M. (2000). Lipid emulsions. *Grasas y Aceites*. Vol 51. Frasc 1 – 2, 26 34.

Sánchez, G. B. S. (2005). Caracterización fisicoquímica y funcional de la fibra dietética del fruto del níspero (*Eriobotrya japonica*) y de la cáscara de mango obo (*Mangifera indica* L). Tesis de Licenciatura. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Oaxaca. México.

Santos Moreno A. (2003). Leche y sus derivados. Editorial Trillas. 88-93.

Scott. (1991). Fabricación de queso. España. Pp. 313-320.

-
- Shahidi F. y Han X. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Review Food Science Nutrition*. **(33)**, 501 – 547.
- Spreer E. (1991). Lactología industrial. Editorial Acribia. España. Pp. 528-542.
- Trevelyan W. E. and Harrinson J. S. (1992). Fractionation and microdetermination of cell carbohydrates of Biochemistry. 50:298.
- Varnam H. A.; Sutherland J. P. (1995). Leche y productos lácteos, tecnología, química y microbiología. Editorial Acribia. España. Pp. 23 - 24.
- Vasbinder, A. J., Alting, A. C., Visschers R. W., & de Kruif, C.G. (2003). Texture of acid milk gels: formation of disulfide cross-links during acidification. *International Dairy Journal*, 13, 29-38.
- Veissgre R. (1998). Lactología técnica. Composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche. Editorial Acribia. España. Pp. 97-105.
- Vieira C. R., Biasutti E. A. B., Capobiango M., Afonso W. O., Silvestre M. P. C. (2006). Efecto de la sal sobre la solubilidad y las propiedades amulsionantes de la caseína y sus hidrolizados trópicos. *Ars Pharm* 47 **(3)**, 281 – 292.
- Villalta J., Monferrer A. (2001). Propiedades funcionales del lactosuero y sus propiedades. *BDN, boletín N° 29*. Barcelona.
- Walstra P. y Janness R. (1987). Química y física lactológica. Editorial Acribia. Zaragoza España. Pp 23- 30

Zdzislaw E. S. (2007). Chemical and Funtional properties of food components.
CRC press. Pp. 13 – 18.

Anexo 1. Análisis estadístico con la prueba Tukey para los resultados obtenidos en el contenido de proteína en los tratamientos de lactosuero.

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: C3	6	22.67816	3.779694	12.02	0.000080*	0.999888
S(A)	14	4.404133	0.3145809			
Total (Adjusted)	20	27.08229				
Total	21					

* Term significant at alpha = 0.05

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C4
Term A: C3

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=0.3145809 Critical Value=4.828989

Group	Count	Mean	Different From Groups	Donde:
4	3	11.84	3, 5	1: Esterilizado
6	3	12.08333	3, 5	2: Esterilizado filtrado
7	3	12.51667	3, 5	3: Pasteurizado
2	3	12.70333	3, 5	4: Pasteurizado filtrado
1	3	13.11	5	5: Crudo
3	3	14.40667	4, 6, 7, 2	6: Crudo filtrado
5	3	14.75667	4, 6, 7, 2, 1	7: Microfiltrado

Anexo 2. Análisis estadístico con la prueba Tukey para los resultados obtenidos en el contenido de carbohidratos en los tratamientos de lactosuero.

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: C3	6	91.8577	15.30962	10.60	0.000159*	0.999541
S(A)	14	20.21973	1.444266			
Total (Adjusted)	20	112.0774				
Total	21					

* Term significant at alpha = 0.05

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C4
Term A: C3

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=1.444266 Critical Value=4.828989

Group	Count	Mean	Different From Groups	Donde:
4	3	41.86	2, 5, 3	1: Esterilizado
6	3	42.26667	2, 5, 3	2: Esterilizado filtrado
1	3	44.54597		3: Pasteurizado
7	3	44.99		4: Pasteurizado filtrado
2	3	46.45	4, 6	5: Crudo
5	3	47.09333	4, 6	6: Crudo filtrado
3	3	47.57	4, 6	7: Microfiltrado

Anexo 3. Análisis estadístico con la prueba Tukey para los resultados obtenidos en Capacidad de retención de aceite en los tratamientos de lactosuero.

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: C3	6	2.498095E-02	4.163492E-03	437.17	0.000000*	1.000000
S(A)	14	1.333333E-04	9.523809E-06			
Total (Adjusted)	20	2.511428E-02				
Total	21					

* Term significant at alpha = 0.05

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C4
Term A: C3

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=9.523809E-06 Critical Value=4.828989

Group	Count	Mean	Different From Groups	Donde:
7	3	0	6, 5, 2, 1, 3, 4	
6	3	9.333333E-02	7	1: Esterilizado
5	3	9.666666E-02	7	2: Esterilizado filtrado
2	3	0.1	7	3: Pasteurizado
1	3	0.1	7	4: Pasteurizado filtrado
3	3	0.1	7	5: Crudo
4	3	0.1	7	6: Crudo filtrado
				7: Microfiltrado

Anexo 4. Análisis estadístico con la prueba Tukey para los resultados obtenidos en la actividad de la emulsión para los tratamientos de lactosuero.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: C3	6	60.34036	10.05673	8.74	0.000443*	0.997285
S	14	16.11207	1.150862			
Total (Adjusted)	20	76.45243				
Total	21					

* Term significant at alpha = 0.05

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C4
Term A: C3

Alpha=0.050 Error Term=S DF=14 MSE=1.150862 Critical Value=4.828989

Group	Count	Mean	Different From Groups	Donde:
4	3	60.22333	6, 7, 5, 3	
2	3	61.85667	5, 3	1: Esterilizado
1	3	62.83		2: Esterilizado filtrado
6	3	63.31667	4	3: Pasteurizado
7	3	64.08	4	4: Pasteurizado filtrado
5	3	65.2	4, 2	5: Crudo
3	3	65.33334	4, 2	6: Crudo filtrado
				7: Microfiltrado

Anexo 5. Análisis estadístico con la prueba Tukey para los resultados obtenidos en la estabilidad de la emulsión para los tratamientos de lactosuero.

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: C3	6	1418.517	236.4195	77.79	0.000000*	1.000000
S(A)	14	42.5498	3.039271			
Total (Adjusted)	20	1461.067				
Total	21					

* Term significant at alpha = 0.05

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C4

Term A: C3

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=3.039271 Critical Value=4.828989

Group	Count	Mean	Different From Groups	Donde:
2	3	52.56	7, 6, 5, 3, 4	1: Esterilizado
1	3	56.16333	7, 6, 5, 3, 4	2: Esterilizado filtrado
7	3	66.78333	2, 1, 4	3: Pasteurizado
6	3	68.98333	2, 1, 4	4: Pasteurizado filtrado
5	3	70.16666	2, 1, 4	5: Crudo
3	3	71.56667	2, 1, 4	6: Crudo filtrado
4	3	77.75333	2, 1, 7, 6, 5, 3	7: Microfiltrado

Anexo 6. Análisis estadístico con la prueba Tukey para los resultados obtenidos en la capacidad de formar espuma para los tratamientos de lactosuero.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: C3	6	29.71428	4.952381			
S(A)	7	0	0			
Total (Adjusted)	13	29.71428				
Total	14					

* Term significant at alpha = 0.05

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C4

Term A: C3

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=7 MSE=0 Critical Value=5.605764

Group	Count	Mean	Different From Groups	Donde:
1	2	0		1: Esterilizado
2	2	0		2: Esterilizado filtrado
4	2	0		3: Pasteurizado
7	2	0		4: Pasteurizado filtrado
6	2	0		5: Crudo
5	2	2		6: Crudo filtrado
3				7: Microfiltrado

Anexo 7. Artículo en libro En: Romero D. R. J. (ed.), La Ingeniería Química en México, 2008. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, AMIDIQ, ISBN 978-968-878-6. 6:117-125.

Efecto del procesamiento del lactosuero en sus propiedades fisicoquímicas, emulsificantes y encapsulantes

Estrada Fernández A. G.^a, Campos Montiel R. G.^a, Pimentel González D. J.^{a,b*},
Báez González J. G.^b, Pérez Alonso C.^c, Vernon Carter E. J.^b

^a CICYTA, ICAP-Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Rancho Universitario S/N Km. 1, C. P. 43600 Tulancingo, Hgo., México.

^b Departamento de Biotecnología, Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. San Rafael Atlixco 186 Col. Vicentina. C. P. 09340 México, D. F., México, 5558044934.

^c Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado De México, Paseo Colón esq. Paseo Tollocan s/n, Toluca, Estado de México.

e-mail:dianajpg@gmail.com

Resumen:

En la región de Tulancingo existe una gran producción de lácteos, por lo se requieren nuevas alternativas de aprovechamiento de lactosuero, pudiendo ser utilizado como emulsificante y encapsulante en productos alimenticios por sus propiedades funcionales y nutritivas. El lactosuero fue tratado por pasteurización, esterilización y microfiltración; el lactosuero sin ningún tratamiento fue utilizado como control; se evaluaron los efectos en sus propiedades fisicoquímicas, en la actividad emulsificante, en la estabilidad de la emulsión y se estimó la energía de activación del lactosuero secado isotérmicamente para determinar su uso como agente encapsulante. En los parámetros fisicoquímicos no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los diferentes tratamientos. En la actividad de la emulsión se encontró que el lactosuero tratado con pasteurización y esterilización tuvo la mayor actividad emulsificante (65.33%) y fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) del lactosuero microfiltrado y del control (50%). La estabilidad de la emulsión formada con los lactosueros tratados térmicamente fue del 85 % y la energía de activación fue de 24.15 kJ/mol, por lo que se considera que el lactosuero tratado térmicamente es un emulsificante efectivo y que podría ser usado como material de pared para formar microcápsulas con una alta retención de aceite.

INTRODUCCIÓN

La fabricación de queso, tanto por los sistemas tradicionales como por los modernos dan inevitablemente lugar a la producción de una gran cantidad de lactosuero. El lactosuero es la porción acuosa de la leche obtenida de una acidificación, o por medio de un calentamiento que origine una coagulación de las caseínas [Pintado y col., 2001].

Resulta difícil separar el problema de la eliminación del lactosuero de la propia tecnología de la fabricación del queso, ya que la eliminación de éste se está convirtiendo en uno de los problemas de mayor importancia desde el punto de vista industrial y de la salud pública [Scott, 1991].

El lactosuero representa cerca del 85 al 95% del volumen de leche usada en la transformación de los productos lácteos y contiene la mayor parte de los compuestos solubles como lactosa, las proteínas solubles, las sales minerales soluble, grasa y una pequeña parte de los compuestos insolubles de la leche [Campos, 2007].

Las propiedades funcionales de las proteínas son aquellas propiedades fisicoquímicas que le permiten contribuir a que los alimentos exhiban características deseables, distintas de las nutritivas que condicione su utilidad de los mismos. En un alimento, suelen ser evidentes varias propiedades funcionales de las proteínas [Fennema, 1993], lo ideal sería que un solo ingrediente poseyera funcionalidad múltiple debido al resultado de las interacciones entre sus proteínas constituyentes [Badui, 2006].

Las propiedades funcionales del lactosuero vienen dadas por las dos principales proteínas del lactosuero (α – lactoalbúmina, β – lactoglobulina) [Amiot,1991]. En general las proteínas del lactosuero tienen un alto valor nutricional [Santos, 2003]. Así mismo estas proteínas deben tener un alto grado de solubilidad inicial para que puedan ser eficazmente utilizadas como emulsificantes o formadoras de espumas [Fennema, 1993].

La industria alimentaria se concentra en la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado y posean características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios [Badui, 2006].

Estudios demuestran que el lactosuero en combinación con los carbohidratos puede ser usado como material de pared en microencapsulamiento [Young y col., 1993]. De acuerdo a Wit [1997], el lactosuero presenta buenas propiedades funcionales, las cuales ellos aprovechan para complementar la calidad nutricional de diferentes alimentos.

En este trabajo se determinó el efecto del procesamiento del lactosuero en sus propiedades fisicoquímicas, emulsificantes y encapsulantes.

Preparación de muestras

El lactosuero proveniente de la elaboración de queso tipo Panela de la región del Valle de Tulancingo, Hidalgo, fue tratado por pasteurización (72 °C por 15 segundos, seguido de un enfriamiento a 4 °C, esterilización (121 °C por 15 minutos) y microfiltración (con un filtro de acetato de celulosa de 0.45µm, TITAN2), y el lactosuero sin ningún tratamiento fue utilizado como control.

Análisis fisicoquímicos

La determinación de azúcares totales se realizó mediante el método colorimétrico de Trevelyan y Harrison [1952], conocido como el método de antrona, se prosiguió a un calentamiento en baño maría a una temperatura de ebullición de las muestras por 10 minutos. Se cuantificó la intensidad de color por medio de un espectrofotómetro modelo EL04083749 (Varían, Cary) a 625nm, frente a un testigo usando únicamente agua destilada como muestra. La determinación de proteína soluble se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Lowry [1951] Se cuantificó la intensidad de color por medio de un espectrofotómetro a 750nm. La medición de pH se realizó utilizando un potenciómetro PH301 (HANNA Instruments), el cual fue calibrado con soluciones buffer pH 7 y 4, respectivamente [NMX-F-099-1970]. La determinación de grasa se realizó por el método de Gerber se realizó mediante la metodología mencionada en la NOM-035-SSA1 [1993]. La densidad se determinó por medio de un picnómetro, esta técnica consistió en una diferencia de peso y la determinación de la acidez titulable se realizó de acuerdo a la AOAC 947.05 [1999].

Propiedades emulsificantes

Para determinar la actividad de la emulsión, de acuerdo a Chau y col. [1997], se midieron 5mL de la muestra y se homogenizó en un homogeneizador 210746, (Virtis) a 1100 rpm por 30 segundos, en seguida se adicionaron 5mL de aceite de maíz (Patrona), se prosiguió con una homogeneización por un minuto más, por último se centrifugó (Centrífuga EBA 20, Hettich) a 1600 rpm durante 5 minutos, en tubos de centrifuga de vidrio con una capacidad de 10 mL. Se midió el volumen de la emulsión formada.

En la determinación de la estabilidad de la emulsión, 5 mL de la muestra, se homogenizaron a 11000 rpm por 30 segundos, posteriormente se adicionó 5mL de aceite de maíz (Patrona), se homogenizó por un minuto más. Se calentó a baño maría a 80 °C por 30 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente, por último

se centrifugó a 1600rpm durante 5 minutos, en tubos de centrifuga graduados. Se midió el volumen de la emulsión estable formada [Chau y col., 1997].

Propiedades encapsulantes

El secado isotérmico se realizó mediante un analizador termogravimétrico TA instruments modelo TGA 2950 (New Castle, DE, EUA) fue usado para obtener las curvas de secado del lactosuero. De 10 a 20 mg de lactosuero al 30% se colocaron en el horno del equipo y se secaron las soluciones a 50, 60, 70 y 80° C durante 90 min, usando aire como gas de purga (con una humedad relativa de 0.008 Kg H₂O/Kg a. s.) y una velocidad de flujo de 100cm³/min.

Los coeficientes de difusividad efectiva (D_{eff}) y la energía de activación (E_a) se determinaron de acuerdo al método propuesto por Pérez-Alonso y col. [2003] considerando el encogimiento del material durante su deshidratación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se muestran los datos obtenidos de las propiedades fisicoquímicas del lactosuero. De acuerdo a Varnam [1995], la concentración de azúcares en el lactosuero varía entre un 4.2 a 5 % (42-50 g/L). Los resultados que fueron obtenidos en los tratamientos se mantuvieron en el rango. No se encontró una diferencia significativa ($P>0.05$), entre los tratamientos.

Las principales proteínas que están presentes en el lactosuero son β – lactoglobulina, α – lactoalbúmina, inmunoglobulinas, seroalbúminas, fracción proteosa – peptona y glicoproteínas y una pequeña porción de caseínas que no son retenidas en la cuajada y se presentan en forma de finos [Santos, 2003]. La cantidad de proteína soluble que reportan algunos autores [Spreer, 1991; Madrid, 1994] es muy similar a la que se encuentra en los tratamientos de lactosuero que fueron analizadas (13.06 g/L) y no se presentó diferencia significativa ($P>0.05$) en comparación con el control. Ya que las condiciones de temperatura a las cuales fueron sometidos los tratamientos de lactosuero no ocurren cambios en las proteínas que puedan afectar su solubilidad [Santos, 2003], más no en su configuración.

Tabla 1. Composición fisicoquímica del lactosuero proveniente de la elaboración de queso tipo Panela de la región del Valle de Tulancingo, Hidalgo.

PARÁMETRO	CONCENTRACIÓN
Carbohidratos	44.96 g/L
Proteína	13.06 g/L
° Dornic	9.19
PH	6.34
Densidad	1.1 g/mL
Lípidos	0.60%

Con lo que respecta a la materia grasa, ésta es poco sensible a los tratamientos térmicos moderados, es preciso alcanzar temperaturas muy superiores a 100 °C o realizar un calentamiento prolongado durante varias horas a 70 a 80 °C para detectar una degradación de los glicéridos [Veissegre, 1998], como se muestra en la tabla 1 el contenido de grasa que se presentó en el lactosuero fue similar al reportado por Madrid [1994].

El pH es cercano al neutro por lo que se puede clasificar como lactosuero de tipo dulce. El lactosuero dulce cuya acidez varía de 15 a 25 °D (°D = Grados Dornic) según Campos [2007], se puede observar en la tabla 1 que presentó un valor menor al citado, debido probablemente a la separación de la caseína en el proceso de elaboración de queso [Alais, 1997]. El lactosuero presenta una densidad con un rango de 1.025 a 1.027 g/mL, la cual se puede ver influida por la temperatura y la composición [Madrid, 1994].

En la figura 1 se puede observar la actividad emulsificante que se presentó en los tratamientos del lactosuero. La actividad emulsificante se refiere al volumen de aceite emulsificado antes de que la fase de inversión o colapso de la emulsión ocurra. Esta característica tiene influencia en la interacción que se pueda presentar entre proteínas, polisacáridos y demás compuestos involucrados en la emulsión [McClements, 1999; Peraza et al., 2001]

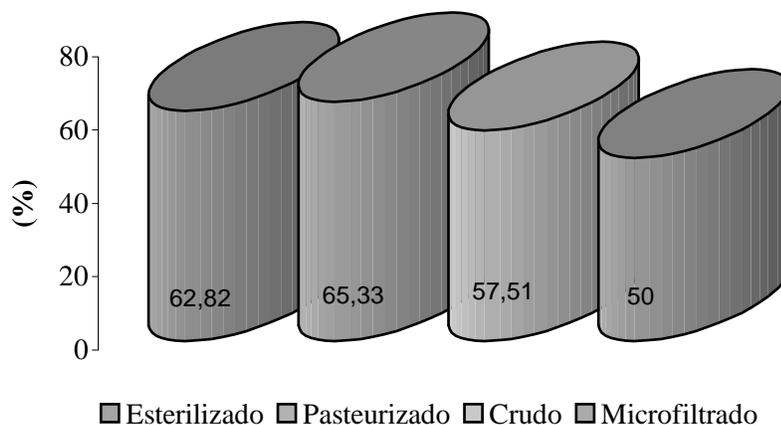


Figura 1. Actividad emulsificante presentada en lactosuero

Se puede apreciar que el lactosuero tratado con pasterización y esterilización tuvieron la mayor actividad emulsificante (65.33 y 62.82 % respectivamente) y

fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) del lactosuero microfiltrado y del control (50 y 57.51 % respectivamente). McClements [1999], considera a la actividad emulsificante como muy buena, cuando la emulsión es superior al 94% y pobre a los valores menores al 50%. De acuerdo a esto, se puede apreciar que el tratamiento que presenta una actividad emulsificante significativamente mayor fue el lactosuero tratado con pasteurización en comparación con los demás tratamientos y con el control que presentó el nivel inferior en actividad de la emulsión, esto pudo variar probablemente por el tamaño del glóbulo graso, la cristalización de la grasa y quizás por la composición de la membrana del glóbulo graso. A una concentración mayor de grasa utilizada en la formación de la emulsión se va a presentar una mejor actividad emulsificante [McClements, 1999].

El término estabilidad de la emulsión es ampliamente usado para describir la capacidad de una emulsión a resistir los cambios en sus propiedades con el tiempo. La emulsión más estable es la que no presenta cambios en sus propiedades durante un tiempo largo. Los lactosueros que fueron tratados térmicamente presentaron una estabilidad de la emulsión del 85 %. Una estabilidad física resulta de una alteración en la distribución espacial u organización estructural de las moléculas, sin embargo la inestabilidad química resulta de una alteración en la estructura química de las moléculas. El cremado, sedimentación, floculación, coalescencia, y fase de inversión son ejemplos de inestabilidad física y la oxidación e hidrólisis son ejemplos de inestabilidad química [McClements, 1999].

Por otra parte, un parámetro importante en el proceso de secado por aspersion es la energía de activación que indica la energía necesaria que se requiere para evaporar una masa de agua del material a secar [Pérez-Alonso y col., 2004]. En la figura 2, se muestra una gráfica del contenido de humedad contra la difusividad efectiva para el lactosuero concentrado al 30%. Las curvas exhibieron un comportamiento no lineal, donde se aprecia una región con un contenido de humedad alto (2.1 – 1.0 KgH₂O / Kg. s.s.), donde los coeficientes de difusividad efectiva en un principio tienen valores bajos al inicio del proceso de secado debido a un proceso inicial del calentamiento del material donde la superficie se establece un equilibrio con el medio desecante; una región intermedia de contenido de humedad (0.8 – 0.3 KgH₂O / Kg. s.s.), donde la difusividad efectiva permanece casi constante y presenta valores más altos y una región con un contenido de humedad bajo (0.2 – 0.1 KgH₂O / Kg. s.s.) en la cuál se puede observar que la difusividad efectiva disminuye en forma gradual con la disminución del contenido de humedad y es donde se alcanza el máximo encogimiento del material. Con lo que respecta en las diferentes temperaturas, los valores de difusividad efectiva se incrementan al aumentar la temperatura cuando el contenido de humedad es aproximadamente inferior a 2.2 KgH₂O / Kg. s.s., arriba de este nivel de humedad no hay dependencia de la difusividad con la temperatura, de tal manera que la energía de activación a este nivel alto de humedad es cero. Estos altos contenidos de humedad corresponden a la etapa inicial del proceso de secado.

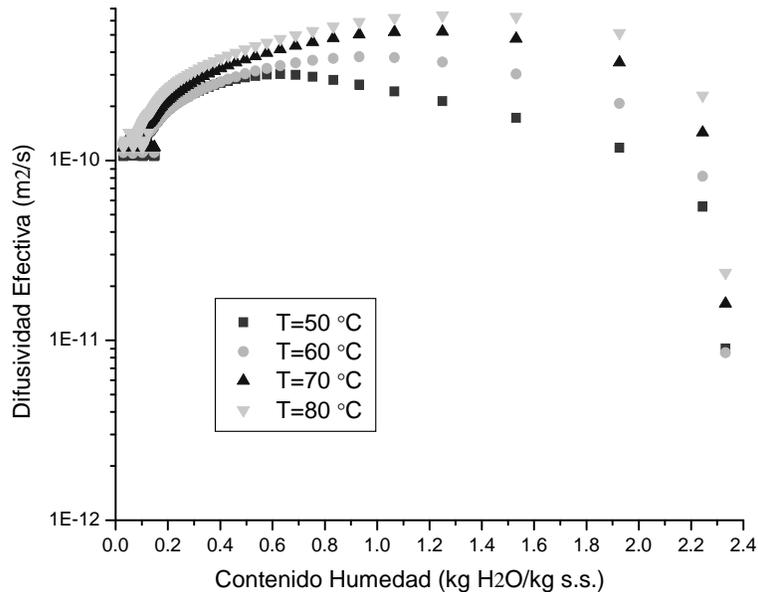


Figura 2. Difusividad efectiva del lactosuero

Pérez-Alonso y col. [2004] determinaron la energía de activación de tres polímeros (concentrado de suero de leche comercial=SL, goma de mezquite=GM y maltodextrina=MD) y sus mezclas de éstos en diferentes proporciones, en los cuales los rangos fueron desde 5.73 para la mezcla SL66-GM17-MD17 hasta la que presentó mejor energía de activación que fue una mezcla de SL17-GM17-MD66 de 40.97 KJ/mol. El SL 100 tuvo una Ea de 13.74 contra el lactosuero aquí reportado que presentó una energía de activación de 24.15 KJ/mol similar a la obtenida con GM= 24.5. La microencapsulación por secado por aspersión es una técnica que se emplea ampliamente en la industria alimentaria para proteger alimentos o ingredientes alimenticios contra factores deteriorativos. Un factor importante para lograr encapsulados altamente funcionales es la selección del agente encapsulante (material de barrera) ya que este influirá en la estabilidad de la emulsión y durabilidad durante y después del secado de la microcápsula. Para lo cual, Pérez-Alonso y col. [2004] sugieren que la Ea sea alta para evitar deterioros oxidativos de lípidos encapsulados.

CONCLUSIONES

El lactosuero tratado térmicamente conserva sus propiedades fisicoquímicas, así como sus propiedades funcionales, y muestra un beneficio contra la carga microbiana que éste pudiera presentar antes de ser tratado térmicamente, y presenta una aceptable energía de activación para ser utilizado como agente encapsulante para formar microcápsulas obtenidas por secado por aspersión.

REFERENCIAS

- Alais C. (2001). Ciencia de la leche, principios de técnica lechera. Editorial continental. México. pp. 720.
- Amiot J. (1991). Ciencia y tecnología de la leche. Editorial Acribia. España. pp. 31-33.
- AOAC. (1999). Official methods of analysis. Association of official analytical chemists. Washington DC.
- Badui D. S. (2006). Química de los alimentos. Editorial Pearson. 4ªed. México. pp. 187-199.
- Campos M. R. G. (2007). Alternativas para el tratamiento de lactosuero para un desarrollo sostenible en el valle de Tulancingo, Hidalgo. Editado por Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo, México. pp. 24-40.
- Chau C. F., Cheung K. y Wong Y. S. (1997). Functional properties of protein concentrates from three Chinese indigenous legume seeds. Journal Agricultural Food Chemistry.(45) 2500 – 2503.
- Fennema Owen R. (1993). Química de los alimentos. Editorial Acribia. España. pp. 515 -351.
- Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L. y Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. Missouri. J. Biol. Chem. (193), 265-275.
- Madrid A. (1994). Nuevo manual de tecnología quesera. Ediciones AMV. España.
- McClements D. J. (1999). Food emulsions, principles, practice and techniques. CRC. Washington, D. C. pp. 84-95.
- [NMX-F-099] Norma Mexicana. (1970). Determinación de pH en leche y productos lácteos.
- NOM-035-SSA1-1993 Norma Oficial Mexicana, 1993, Bienes y Servicios, Quesos de suero, Especificaciones sanitarias.

Peraza G.; Moguel O.; Fuertes S. Y Betancur A. D. (2001). Caracterización de los residuos de *Canavalia ensiformis* L. y *Phaseolus lunatus* L. y su incorporación a un producto alimenticio. *Revista Cubana de Farmacia*.

Pérez-Alonso C.; Báez-González J. G.; Beristain C. I.; Vernon-Carter E. J. y Vizcarra-Mendoza M. G. (2003). Estimation of the activation energy of carbohydrate polymers as selection criteria for the use as wall material for spray-dried microcapsules. *Carbohydrate Polimers*. **(53)** 197-203.

Pérez-Alonso C., Cruz-Olivares J., Barrera-Pichardo J., Báez-González J. y Vernon-Carter E. J. (2004) Energía de activación de mezclas de biopolímeros como criterio de selección para ser empleado como materiales de barrera en la microencapsulación por secado por aspersion de colorantes naturales. *Academia mexicana de investigación y docencia en ingeniería química*. 164 – 171.

Pintado M. E. Macedo A. C. Malcata F. X. (2001). *Tecnology, chemistry and microbiology of whey cheeses*. *Food science and technology international*. 105:116.

Santos Moreno A.(2003). *Leche y sus derivados*. Editorial Trillas. pp. 88-93.

Scott R. (1991). *Fabricación de queso*. España. pp. 313-320.

Spreer E. (1991). *Lactología industrial*. Editorial Acribia. España. pp. 528-542.

Trevelyan, W. E. and Harrison, J. S. (1952). Fractionation y microdetermination of cell carbohydrates. *Journal of Biochemistry*. **(50)** 298.

Veissegre R. (1998). *Lactología técnica. Composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche*. Editorial Acribia. España. pp. 97-105.

Varnam H. A.; Sutherland J. P. (1995). *Leche y productos lácteos, tecnología, química y microbiología*. Editorial Acribia. España. 23 -24.

Wit J. N. (1997). Nutritional and Functional Characteristics of Whey Proteins in Food Products. *Journal Dairy Scientist*. **(81)** 597–608.

Young S. L.; Sarda X. And Rosenberg M. (1993). Microencapsulating properties of whey proteins. *Journal Dairy Scientist*. **(76)** 2878 – 2885.