



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

Maestría en Ciencia de los Alimentos



“Efecto de la adición de proteína y grasa a la leche cruda entera
bovina sobre el rendimiento de obtención de nata”

TESIS

Que para obtener el grado de:
Maestro en Ciencia de los Alimentos.

Presenta:

IAL. Gilberto Dorantes Bautista

Director: Dr. Rubén Jiménez Alvarado

Codirector: Dr. Gabriel Aguirre Álvarez

Asesores: Dr. Rafael German Campos Montiel

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Tulancingo, Hidalgo, septiembre de 2020

Índice General

Capitulo	Titulo	Subtitulo	Pagina
	Agradecimientos		5
1	Resumen		6
2	Justificación		8
3	Hipótesis		9
4	Objetivos		10
4.1		General	10
4.2		Particulares	10
5	Marco teórico		11
5.1		Importancia de la nata como producto lácteo.	11
5.2		La leche materia prima de la nata.	12
5.3		La composición química de la leche	13
5.4		Lactosa	13
5.5		Proteínas de la leche	13
5.6		Lípidos de la leche	14
5.7		Procesamiento de la leche	15
5.8		Consumo de la leche	16
5.9		Estadísticas y normatividad	18
5.10		Formación de la nata	18
5.11		Aplicaciones de la nata	20
5.12		Crema de la leche	20
5.13		Aislado proteico de suero	21
5.14		Diseño de mezclas	22
5.15		Análisis de perfil de textura	23
5.16		5.16 Perfil de vida de anaquel	24
6	Materiales y métodos		25
6.1		Obtención de la materia prima	25
6.2		Obtención de la crema de leche	25
6.3		Obtención de la nata	26
6.4		Análisis de la materia prima	26

6.5	Análisis de Proteína por el método Kjeldahl	29
6.6	Análisis de tamaño de glóbulos grasos de leche	30
6.7	Microscopía de los glóbulos de leche	31
6.8	Modelo de mezclas de vértices extremos	32
6.9	Determinación de materia seca	33
6.10	Análisis de textura de la muestra	34
6.11	Análisis de perfil de vida de anaquel	35
6.12	Análisis Valores de peróxidos	36
6.13	Análisis de mesófilos aerobios	37
6.14	Análisis de coliformes totales	38
6.15	Análisis de hongos y levaduras	38
6.16	Perfil de vida de anaquel estimación	39
7	Resultados y discusiones	42
7.1	Resultados para la leche cruda bovina	41
7.2	Obtención de crema de leche	43
7.3	Composición de la nata obtenida de leche bovina	43
7.4	Análisis de partículas de la leche	43
7.5	Diseño de mezclas de leche, crema y WPI	46
7.6	Textura de la nata	51
7.7	Resultado de peróxidos	53
7.8	Resultado microbiológicos	54
7.9	Resultado perfil de vida de anaquel	55
7.10	Proceso de producción propuesto	59
7.11	Análisis de viabilidad económica	60
8	Conclusiones	62
9	Perspectivas	64
	Referencias	65

Índice de tablas

Tabla	Título	Página
1	Modelo de mezclas de vértices extremos	32
2	Esquema de perfil de vida de anaquel	36
3	Resultados de análisis del Lactoscan	42
4	Medición del tamaño de partículas	45
5	Diseño de mezclas de vértices extremos	46
6	Fracciones del modelo de mezclas de vértices extremos complementario.	47
7	Resumen de resultados de análisis de perfil de textura	51
8	Resultados de peróxidos en la nata	53
9	Resultado microbiológico de la nata natural	54
10	Resultado microbiológico de la nata optimizada.	54
11	Vida final de la nata y coeficiente de temperatura	57
12	Estimación de crecimiento de microorganismos	58
13	Comparación de costos de producción de nata	61

Índice de imágenes y gráficos.

Imagen	Título	Página
Imagen 1	Diagrama general de metodología	25
Imagen 2	Nata obtenida de leche cruda entera	26
Imagen 3	Medición de acidez	27
Imagen 4	Determinación de grasa método Gerber	29
Imagen 5	Determinación de proteína	30
Imagen 6	Glóbulos grasos a 40x	31
Imagen 7	Nata optimizada	33
Imagen 8	Análisis textural de la nata	34
Imagen 9	Análisis de peróxidos en la nata	37
Imagen 10	Análisis microbiológico de la nata	39
Imagen 11	Diagrama de producción de nata	59
Gráfico 1	Efecto del calentamiento en el tamaño de los glóbulos grasos	43
Gráfico 2	Efecto del enfriamiento en el tamaño de los glóbulos grasos	43
Gráfico 3	Gráfico de interacciones de las fracciones de crema y WPI	46
Gráfico 4	Contorno de respuesta de las fracciones de crema y WPI del primer modelo.	47
Gráfico 5	Interacción de las fracciones del segundo modelo	48
Gráfico 6	Contorno de respuesta de las fracciones de crema y WPI del segundo modelo	49
Gráfico 7	Predicción del máximo rendimiento de materia seca	49
Gráfico 8	Comportamiento del índice de peróxidos de la nata natural y nata optimizada en diferentes condiciones de almacenamiento	52
Gráfico 9	Comportamiento de la reacción de oxidación en la nata natural	55
Gráfico 10	Comportamiento de la reacción de oxidación en la nata optimizada	55
Gráfico 11	Crecimiento de mesófilos aerobios totales	56
Gráfico 12	Crecimiento de hongos y levaduras	57

Agradecimientos.

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y el Instituto de Ciencias Agropecuarias por darme un la oportunidad de desarrollar la presente investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia tecnología y Humanidades por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

A usted Doctor Rubén y a todos los doctores del cuerpo académico de posgrado, por haberme dado la oportunidad de trabajar en mi propuesta tenerme la paciencia y comprensión, apoyándome en mis deficiencias y enseñándome a realizar investigación.

A mi madre donde se encuentre en este momento por ser la persona que me dio la vida y me enseñó a la superación constante.

A mi padre por enseñarme la vida desde la perspectiva de endurecimiento del carácter y que solo hay méritos logrados a base de esfuerzo.

A mis hermanos su presencia, su dependencia, su independencia, su ausencia y su experiencia me enseñó a salir adelante por cualquier medio.

A ti Yaneli por aceptarme como soy y entregarme tu corazón, complementar la parte emocional de mi vida, además de ser la madre de mis hijos.

A mis hijos que son el motor del esfuerzo y las aspiraciones que tengo en la vida ser la perspectiva del futuro y las personas que enriquecen y dan sentido a mi vida.

A mis compañeros de generación, Toño me enseñó a pensar como un científico, Steve me enseñaste a aprender y escuchar, Andony tu compañía es el hogar que tuve lejos del mío. A pesar de ser diferentes ayudaron a mostrarme que se puede ser un gran equipo al coincidir en los puntos de vista.

A los compañeros del posgrado hermanos de las misma necesidad del conocimiento por enriquecer la diversidad de perspectivas que tiene la vida.

1. Resumen:

La nata o "piel de la leche" es una membrana gruesa que se forma en la superficie de la leche cuando se hierve y se deja enfriar durante aproximadamente 12 horas hasta que se alcanza la temperatura ambiente (Bao & Shi, 1994). Esto también se conoce como lactoderm (Ahmad & Saleem, 2019) y ha recibido muchos nombres locales en diferentes países, como "kaymak" en Turquía (Cakmakci & Hayaloglu, 2011), "nǎi pí" (también "vrurum" "ururum" o "wrum") en China (Guo, et al., 2019), "sarshir" en Irán (Hashemi, et al., 2017) o "nata" en México (Muñoz, 2012). Sin embargo, este término se confunde con frecuencia con la capa de crema que se eleva hasta la parte superior de la leche cruda entera a medida que se enfría después del ordeño. Según el CODEX STAN 288-1976, en su versión en español, el término "nata" se usa como sinónimo de "crema" ya que estos términos se usan indistintamente en España o en algunos países latinoamericanos.

Existe poca información sobre los fenómenos fisicoquímicos que ocurren durante la formación de la nata. Además, no se han informado los parámetros que influyen en el rendimiento de la producción de la nata. Algunos productores han intentado aumentar este rendimiento agregando crema a la leche entera aumentando el contenido de grasa (Akarca, 2014). Además, se ha agregado proteína de suero, aumentando la fracción de proteínas globulares en la leche, creando una piel de leche lo suficientemente fuerte como para ser utilizada como envoltura en otras preparaciones alimenticias (Fróst, 2010). El fenómeno de la formación de la piel de la leche ha sido investigado como un problema relacionado con el proceso de secado por atomización de la leche (Kentish et al. 2005; Kim et al. 2009; Both et al. 2018; Lanotte et al. 2018). En estos trabajos, la influencia de los principales componentes de la leche en la formación de la piel de la leche se ha informado sin resultados concluyentes. Otro factor importante en la producción de piel de la leche es el tratamiento térmico, que incluye altas temperaturas, hasta 100 ° C, lo que provoca la desnaturalización de parte de las proteínas del suero y el desarrollo del sabor cocido. Este tratamiento térmico promueve la pérdida de ácido ascórbico y la inactivación de la mayoría de las enzimas, excepto las proteinasas de la leche y las bacterias y sus lipasas (Walstra, et al., 2006). Por estas razones, la piel de la leche es vulnerable a la proliferación de microorganismos y al deterioro lipolítico. Hasta donde sabemos, no hay legislación en todo el mundo sobre la composición química de la nata o los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos que deben cumplirse para ser etiquetados y vendidos

como nata (o cualquiera de sus nombres locales). Esto debería deberse principalmente a la ambigüedad con el término crema.

Por lo tanto, este trabajo tuvo como objetivo conocer el efecto de la adición de grasas y proteínas a la leche entera en la producción de la piel de la leche, y en las características de textura de la piel de la leche producida, aclarando los procesos fisicoquímicos involucrados en la formación de la piel de la leche, y contribuyendo a la desambiguación de los términos "crema" y "piel de leche", en función de su procesamiento y características fisicoquímicas.

2. Justificación:

Esta investigación se justifica por buscar nuevos productos que integren un valor agregado, sean producidos con tecnología económica y garanticen una elevada tasa de recuperación de la inversión. Al ser un producto muy versátil, la leche se puede considerar como una de las principales matrices alimenticias que puede cumplir este objetivo.

La nata de leche como producto tiene un enorme potencial para ser empleado en la industria alimenticia, ya que de manera reciente se emplea como base para preparación de otros alimentos, como un sustrato de probióticos, como una fuente de ácido linolénico conjugado (CLA) o solamente para ser empaquetado y comercializado a un precio superior en el mercado respecto a otros productos lácteos..

3. Hipótesis:

Es posible incrementar el rendimiento de producción de nata de leche mediante la adición de grasa y proteína en la leche cruda bovina, conservando las características de la nata que se obtiene de manera tradicional al hervir la leche entera cruda bovina.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general:

Evaluar la modificación del contenido de proteína de leche y/o grasa en la leche cruda bovina para alcanzar una producción elevada de nata de leche manteniendo propiedades fisicoquímicas y texturales similares a la que se produce de forma tradicional.

4.2 Objetivos particulares:

- Evaluar el fenómeno de formación de nata en la leche cruda bovina, empleando cinéticas de coalescencia y medición de los cambios morfológicos en los glóbulos grasos.
- Evaluar el efecto de la adición de proteína aislada de suero de leche y/o crema fresca en la producción de nata usando un modelo de diseño de mezclas para maximizar su rendimiento de obtención.
- Analizar las propiedades texturales de la nata de leche obtenida para preservar las características similares a la que se obtiene de manera tradicional.
- Realizar un análisis de perfil de vida de anaquel basado en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la nata de leche.

5. Marco Teórico:

5.1 Importancia de la nata como producto lácteo.

Casi todos los alimentos de origen animal que se consumen en los países en desarrollo son suministrados actualmente por pequeñas explotaciones familiares, en las que a menudo se combina la ganadería con la agricultura, o por pastores. Se prevé que la notable expansión actual de la demanda de productos pecuarios para el consumo humano tendrá importantes consecuencias tecnológicas y estructurales para el sector ganadero. Será necesario aumentar considerablemente la productividad de la ganadería en los países en desarrollo para poder satisfacer la demanda de los consumidores, utilizar más eficazmente unos recursos escasos y generar ingresos para una población agrícola en aumento. (SIAP, 2018)

En la actualidad la demanda de productos lácteos en los países desarrollados se ha estado desplazando durante varios años hacia la mantequilla y la grasa láctea y lejos de los sustitutos a base de aceite vegetal. Esta tendencia se puede atribuir a una evaluación de salud más positiva de la grasa láctea y un cambio en el sabor. A medida que aumentan los ingresos y la población, aparte de que las dietas se globalizan, se espera que se consuman más productos lácteos en los países en desarrollo. Solo en los países desarrollados, se proyecta que el consumo per cápita crezca de 22.2 kg 2017 a 23.1 kg en 2027 en sólidos lácteos, en comparación con un aumento de 10.6 kg a 13.5 kg en los países en desarrollo. Sin embargo, existen importantes disparidades regionales entre los países en desarrollo, donde se consumen predominantemente productos lácteos frescos; Este contraste con los países desarrollados, donde las preferencias de los consumidores tienden a productos procesados (OECD/FAO, 2018)

La contribución de la producción, el procesamiento, el consumo de leche y productos lácteos para alcanzar los objetivos de nutrición y mejora socioeconómica es ampliamente reconocida. El sector lácteo ha sido reconocido por su papel de liderazgo en prácticas sostenibles durante varios años. Encontrar nuevas formas de reducir su impacto en el medio ambiente, gestionar los recursos de manera eficiente y aumentar sus beneficios para la biodiversidad y la bioeconomía es una parte crucial del compromiso del sector para la mejora continua (FAO, 2020)

La información más relevante que nos aporta la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura esta; la venta de la leche de las zonas rurales en los

centros urbanos permite la transferencia de fondos de los centros urbanos ricos a las comunidades agrícolas pobres. La estacionalidad de la oferta lechera limita la comercialización de productos lácteos en muchos países en desarrollo. Cerca de 82 por ciento de las exportaciones mundiales de productos lácteos proviene de los países desarrollados. Los productos lácteos más comercializados en el mercado mundial son la mantequilla, el queso y la leche en polvo. (FAO, 2020)

Este tipo de consumo ha creado nichos de mercado en cuanto a los productos lácteos, la comercialización de los excedentes de la producción lechera mejora los ingresos, genera empleo en el procesamiento, comercialización y distribución de la leche, y contribuye a la seguridad alimentaria en las zonas rurales. En los países en desarrollo, la mayor parte de la leche se comercializa a través de canales informales, esto es, sin concesión de licencias ni reglamentación. Esto se debe principalmente a que la mayoría de los consumidores prefieren elaborar ellos mismo la leche mediante prácticas simples como la cocción, en lugar de pagar por el procesamiento y el envasado formales. Como consecuencia, la diferencia entre los precios al productor y los precios al consumidor suele ser menor en el mercado informal (FAO, 2020)

Un alimento tradicional es un producto consumido frecuentemente o asociado a celebraciones y/o épocas del año específicas; normalmente es transmitido de generación en generación, elaborado con esmero de una forma concreta, según la herencia gastronómica, con poco o ningún procesado/manufacturado, diferenciado y conocido por sus propiedades sensoriales y asociado con una localidad, región o país determinado. (Villegas de Gante, et al., 2016)

5.2 La leche materia prima de la nata.

La leche se define como la secreción de las glándulas mamarias de los mamíferos, su principal la función natural es la nutrición de los jóvenes. Leche de algunos animales, especialmente vacas, búfalos, cabras y ovejas, también se utiliza para el consumo humano, ya sea como tal o en forma de una gama de productos lácteos. Generalmente, la palabra leche se utiliza para la leche "normal" de vacas sanas, a menos que se indique lo contrario (Del Castillo & Mestres, 2004)

De una forma más sencilla la FAO en 1999 define a la leche como secreción mamaria normal de los animales de ordeño obtenidos de uno o más ordeños sin adición ni extracción, destinados al consumo como leche líquida o para su posterior procesamiento.

La leche también es una dispersión coloidal compleja de glóbulos grasos, micelas de caseína, proteínas de suero en solución acuosa de lactosa, entre otros componentes menores como son minerales y vitaminas. Sus propiedades físicas y fisicoquímicas dependen de factores intrínsecos como su composición y su estructura, y factores extrínsecos como la temperatura y el manejo post ordeña (McCarthy, 2011).

5.3 La composición química de la leche

Esta determina en gran medida su valor nutricional; la medida en que los microorganismos pueden crecer en él; su sabor; y la química muchas reacciones que pueden ocurrir en la leche, estas últimas incluyen reacciones que causan sabores desagradables (Walstra, et al., 2006).

En este caso en la leche están presentes diversos grupos de componentes químicos, unos considerados macronutrientes en los cuales están presentes como son carbohidratos de los cuales el principal es la lactosa o azúcar de la leche, es un disacárido compuesto de glucosa y galactosa. Encontramos también los micronutrientes como las vitaminas que son importantes con respecto al valor nutritivo; las enzimas son proteínas catalizadoras de reacciones y algunos componentes menores que contribuyen marcadamente al gusto de la leche. Las sustancias minerales, principalmente K, Na, Ca, Mg, Cl y fosfato, que no son equivalentes a las sales, ya que la leche contiene muchos otros elementos en cantidades traza, como son las sales que principalmente solo están parcialmente ionizadas a ácidos orgánicos o iones ligados a otros elementos. El contenido total de todas las sustancias excepto el agua se llama el contenido de materia seca. Además, se distinguen los sólidos no grasos y el contenido de grasa en la materia seca (Gómez et al., 2005).

5.4 Lactosa

La lactosa es uno de los componentes principales en la composición de la leche de todas las especies. Es un disacárido reductor que en el caso de la leche bovina constituye aproximadamente el 4.8%. ya que es de baja solubilidad, tiende a cristalizarse y concentrado es altamente higroscópico, puede dar problemas en productos deshidratados, concentrados o congelados (Fox, 2011).

5.5 Proteínas en la leche.

En el caso de la leche bovina las proteínas se encuentran alrededor de un 3.5%, dependiendo de las condiciones individuales del animal (como raza, alimentación, entre otros). Principalmente las proteínas de la leche se clasifican en dos grupos principales las caseínas (proteínas insolubles a pH <4.7) y las proteínas de suero que son proteínas derivadas de las proteínas sanguíneas. Las proporciones y la composición de estas son características de cada especie de mamífero (Fox, 2011).

Las caseína bovina esta compuesta por cuatro proteínas principales la α_{s1} -, α_{s2} -, β - y κ -caseínas siendo proteínas pequeñas (20-25 kDa) con características únicas. Todas son fosforiladas, tienen un alto nivel de prolina que interrumpe las estructuras secundarias, que dan como resultado que las caseínas sean proteínas no estructuradas, abiertas, reomórficas. Esto hace que las caseínas sean muy activas en la superficie y fácilmente digeribles, lo que se ajusta a la función natural de las caseínas como fuentes de aminoácidos. Las caseínas son anfipáticas y tienen una alta actividad superficial (Fox, 2011).

Las proteínas de suero son proteínas globulares generalmente en su mayoría estructuras secundarias, terciarias y en ocasiones cuaternarias. Principalmente están la β -lactoglobulina, la α -lactoalbúmina, la albumina de suero sanguíneo (BSA) y las inmunoglobulinas (Igs); representan alrededor del 60, 20, 10, 10 por ciento del total respectivamente. Algunas de las proteínas en niveles mínimos o traza, son aquellas con función biológica como las enzimas indígenas. Las BSA no tienen alguna función biológica o tecnológica importante, en cambio las Igs son de interés biológico (Fox, 2011).

5.6 Lípidos de la leche

Los lípidos de la leche bovina se consideran uno de sus componentes más valiosos, ya que se utilizaban para producción de mantequilla y manteca y siendo muy importante a la calidad del queso, leche líquida y helado. A pesar de ser sustituidos por aceites vegetales hidrogenados (Fox, 2011)

La leche bovina contiene alrededor de un 3 hasta un 6% de lípidos, esta variación se debe a factores individuales como son la raza, salud, estado de lactación, alimentación, tipo de ordeña, entre otros. Los lípidos de la leche en su mayoría son triacilglicéridos que representan alrededor del 98% del total, en menor proporción se encuentran fosfolípidos, diglicéridos, lípidos polares, esteroides, carotenoides, vitaminas liposolubles y algunas trazas de ácidos grasos e hidrocarburos. No se sintetizan en la glándula mamaria, se

obtienen de los que se encuentran en la dieta y en la sangre. En el caso especial de los rumiantes las bacterias ruminales sintetizan el ácido β -hidroxibutanoico, que es el mayor aportador de cadenas carbonadas a los ácidos grasos siendo convertido al ácido butanoico e incorporado directamente en los triglicéridos o convertido a butanil CoA utilizado en lugar de acetil CoA en la biosíntesis de ácidos grasos. Generalmente la leche contiene niveles elevados de ácidos grasos saturados, pero también posee en niveles bajos ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's) entre los que se puede encontrar el ácido linolénico conjugado (CLA).

La mayoría de los lípidos son insolubles en el medio acuoso de la leche y por lo tanto la única forma en que son estables dentro de la emulsión es formando glóbulos grasos estabilizados por una membrana (MFGM) que consiste en lípidos polares y proteínas especiales que se integran en los mamocitos. Los glóbulos grasos tienen generalmente un diámetro de 0.1 μm hasta 20 μm , promediando el tamaño de diámetro de 3 a 4 μm ; cuando se elabora mantequilla se separa el suero el cual es rico en fosfolípidos y lípidos polares con excelentes propiedades emulsificantes.

5.7 Procesamiento de la leche.

La FAO en 1999 define a un producto lácteo como un producto obtenido por cualquier procesamiento de leche, que puede contener alimentos aditivos y otros ingredientes funcionalmente necesarios para el procesamiento.

A finales del siglo XIX fue cuando la leche que se consumía fresca empezó a industrializarse, el evento que marco esto fue cuando se inventó la separadora centrífuga por Gustav De Laval. Esto permitió una separación continua de la grasa de leche (la crema) acelerando el proceso de fabricación de mantequilla e industrializando las granjas (Fox, 2011)

Hoy en día, el tratamiento térmico de la leche es un paso integral en el procesamiento de lácteos, y casi toda la leche, independientemente de su uso final, se somete a al menos un tratamiento térmico (O'Connell & Fox, 2011)

La leche para consumo humano no se recomienda que sea cruda por lo tanto se debe someter a tratamiento térmico para eliminar patógenos, aumentar su vida de anaquel, hacerla más estable para otros procesos como la elaboración de queso o yogur, así como también para el secado de esta. (Lewis, 1994)

Encontramos distintos procesos térmicos que se aplican a la leche entre ellos destacan: La terminación que se usa generalmente para matar los microorganismos sensibles a la temperatura, por ejemplo, psicotrofos, y con ello reducir la microflora de la leche para almacenamiento a baja temperatura. También tenemos la pasteurización cuyo objetivo es matar patógenos, pero también reduce el número de agentes no patógenos microorganismos que pueden causar deterioro, estandarizando así la leche, este proceso se realiza para aprovechar la leche como materia prima para diversos productos ya que muchas enzimas indígenas, por ejemplo, las lipasas, también se inactivan, contribuyendo así a la estabilidad de la leche (Fox & McSweeney, 1998).

El proceso de precalentamiento que emplea para aumentar la estabilidad térmica de la leche para su posterior esterilización. La esterilización hace que la leche sea estable durante mucho tiempo. largos periodos, aunque los cambios de gelificación y sabor ocurren durante el almacenamiento, especialmente de leches esterilizadas por UHT (Fox & McSweeney, 1998).

5.8 Consumo de la nata.

Podemos encontrar un producto muy común de la leche que conocemos como nata. Hay información limitada sobre este, lo poco que se ha reportado tenemos como definición la cual es una membrana gruesa formada en la superficie de la leche cuando se hierve y se deja enfriar durante aproximadamente 12 horas hasta que se alcanza la temperatura ambiente (Zhao/Li, 1994). Esto se conoce como piel de leche o lactoderm (Ahmad/Saleem, 2019) y ha recibido muchos nombres locales en diferentes países, como "kaymak" en Turquía (Cakmakci/Hayaloglu, 2011), "nǎi pí" (también "vrur" "urur" o "wrum") en China (Guo, et al., 2019), "sarshir" en Irán (Hashemi, et al. 2017) o más común como " nata "en México (Muñoz, 2012)

El potencial de este producto radica en que se produce como un subproducto del tratamiento de esterilización de la leche cruda empleada para consumo humano, no requiere mucha tecnología, se aprovecha la leche para elaboración de otros productos (Park, Haenlein & Wendorff, 2017) y finalmente tiene un valor de reventa superior en el mercado a muchos productos lácteos también elaborados de forma doméstica.

Debido a la falta de legislación sobre los parámetros o los criterios de calidad que debe cumplir un producto para ser considerado como piel de leche, cada vez más se puede

encontrar en los supermercados, productos etiquetados como "kaymak", "nǎi pí" o "nata", cuyas características fisicoquímicas difieren significativamente entre sí.

En China (Mongolia Interior), es muy común que el "vrum", ya sea fermentado o fresco, se consuma directamente, se corte en tiras o en trozos pequeños, o se agregue en té con leche (Zhao, 2008). En Turquía, el "Kaymak" se consume en platos de desayuno como el "baklava", "kadayif" y "bal-kaymak", que son postres tradicionales, y también en preparaciones innovadoras como "kaymaklı lokum" y "kaymaklı şeker" (Akarça, et al. 2014).

En México, la "nata" se usa con frecuencia como ingrediente para hacer innumerables tipos de pan, galletas, pasteles y postres, además, la "nata" se puede batir con sal para hacer mantequilla. También se puede usar como complemento en guisos, frijoles, plátanos fritos o en pan para untar (Muñoz-Zurita 2012).

El método tradicional para producir nata de leche es la ebullición de la leche cruda, que se vierte en un recipiente a fuego directo. Una vez que la leche ha hervido, se deja enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente, formando una capa gruesa de piel de leche en su superficie. La piel de la leche se elimina posteriormente con la ayuda de utensilios de cocina. La fuente de la leche utilizada puede variar, dependiendo de la región del mundo, pero la mayoría de los frecuentes son graznido, yak y búfalo. Otras variaciones en el proceso tradicional de producción de nata incluyen la adición de crema a la leche de vaca antes de hervir (Batu, Çağlar & Kara, 2008), la adición de leche fresca después de hervir (Pamuk, 2017) o la agitación de la leche cuando está hirviendo (Hu & Zhao 2008).

En Turquía, la leche se filtra a través de una gasa de doble capa justo después del ordeño y se transfiere a sartenes kaymak de 2.5-3 L, hechas de acero inoxidable, aluminio o cobre estañado (Ali, Çağlar & Kara, 2008). Los recipientes se llenan hasta la mitad para evitar inundaciones y facilitar el proceso (Cakmakci & Hayaloglu, 2011). A continuación, la leche se somete a un proceso de precalentamiento hasta 70-75 ° C. Después del precalentamiento, se agrega 10% de crema fresca si la producción se realiza con leche de vaca. La adición de crema es innecesaria en el caso de usar leche de búfalo de agua (Akarça, et al. 2014). Después del proceso de precalentamiento, la leche se calienta hasta 90-95 ° C bajo agitación constante para evitar que la leche se adhiera y se queme en la sartén, y también para mejorar la evaporación del agua (Pamuk, 2017). A esta temperatura, hay un aumento en la leche llamada "engrosamiento". Mientras tanto, se

termina el calentamiento y las sartenes se sacan del fuego. Las sartenes se llevan a un lugar frío y se mantienen durante la noche con un paño que las cubre. La capa de crema formada se rasca con una aguja, y se filtra más leche recién ordeñada y se vierte en los recipientes (Pamuk, 2017). Luego, las cacerolas se colocan al fuego y se someten a un proceso de cocción suave durante 45 minutos. Cuando la nata de leche se engrosa, los recipientes se dejan enfriar, terminando el proceso (Akarça, et al. 2014).

5.9 Estadísticas y normatividad.

A nivel mundial lo más aproximado que se tiene de legislación es la que establece el Codex Alimentarius 288 estándares relacionados con la crema y productos de crema termino ambiguo de la nata de leche, y enuncia lo siguiente: la crema es el producto lácteo fluido comparativamente rico en grasa, en forma de una emulsión de leche descremada en grasa, obtenida por separación física de la leche (FAO, 1976)

La crema de leche, la grasa de leche y la mantequilla son productos grasos derivados exclusivamente de la leche y / o productos obtenidos de la leche mediante procesos que dan como resultado una eliminación casi total de agua y sólidos no grasos (FAO, 1973)

5.10 Formación de la nata.

El proceso de producción de piel de leche es un fenómeno muy complejo que involucra química coloidal, química de superficie, bioquímica y otros fenómenos químicos y físicos. Bao & Li (1994), han hecho una descripción detallada de estos fenómenos que ocurren en la leche durante la ebullición, lo que permite la formación de la nata de leche. Definen la formación como un proceso de concentración y separación de proteínas, que incluye al menos los siguientes seis fenómenos o cambios durante la formación de la piel de la leche:

- 1) Desnaturalización de las proteínas de la leche y un aumento de la concentración de ellas en la leche. superficie durante el calentamiento Las proteínas tienden a multimerizar durante la evaporación del agua, ya que las cadenas de proteínas desnaturalizadas están más cercanas entre sí.

- 2) Producción de espuma en la superficie de la leche que incluye la formación de burbujas, divisiones y cambios en las proteínas y grasas en la interfaz aire-agua de la espuma. Las proteínas tienden a multimerizar durante la evaporación del agua, ya que las cadenas de proteínas desnaturalizadas están más cercanas entre sí. Los enlaces de

hidrógeno, las interacciones hidrofóbicas y los enlaces iónicos son más activos en esta etapa.

3) Atrapamiento de glóbulos de grasa de leche por proteínas, ruptura de glóbulos de grasa de leche y acumulación de grasa durante el calentamiento.

4) Interacciones entre los glóbulos de grasa de la leche y la grasa de la leche con proteínas. Cuando las proteínas de las membranas de los glóbulos grasos se desestabilizan por el calentamiento de la leche, la grasa tiende a flocular, aumentando este efecto por el enfriamiento de la leche.

5) Interacción entre proteína y lactosa donde se forman compuestos aminados (reacción de Maillard).

6) Participación de calcio (fosfato de calcio coloidal) en todos los fenómenos descritos. Estos cambios no son independientes durante la formación de la piel de la leche y dependen de las condiciones de procesamiento.

Después de la transición sólido-gel, las gotas experimentaron diferentes tipos de inestabilidades de la nata superficial que pueden estar relacionadas con propiedades mecánicas específicas de los materiales proteicos: capa de piel de plástico frágil para proteínas de suero y capa de piel elástica dúctil para micelas de caseína. (Lanotte, 2018)

Las interacciones de todos los fenómenos que ocurren durante la formación de la nata de leche están estrechamente relacionadas, modificando las condiciones de formación y espesamiento de la crema. La formación de la película de crema reduce la evaporación y concentra más proteínas que la leche, además de ser un proceso irreversible. El número de sitios de interfaz capaces de adsorber proteínas varía según factores tales como la concentración de proteínas, el área de superficie específica de la fase y el tiempo. Esta hipótesis también explica que la leche puede formar una película de proteína más gruesa en su superficie durante el calentamiento.

Durante el calentamiento de la leche cruda a 80 ° C durante 2-20 min resultó en cambios de composición en la membrana del glóbulo graso de la leche (MFGM). El rendimiento del material proteico aumentó con la duración del calentamiento, debido a la incorporación de proteínas de la leche descremada, predominantemente / β -lactoglobulina, en la membrana. Lípidos componentes de la MFGM también se vieron afectados, con pérdidas de triacilglicérols durante el calentamiento (Houlihan, et al., 1992).

5.11 Aplicaciones de la nata

Hoy en día, como parte de la innovación de los alimentos elaborados con leche, se busca aprovechar su origen natural y revalorizar sus usos tradicionales, por lo que la piel de la leche se ha utilizado recientemente de diferentes maneras en todo el mundo.

En la gastronomía molecular, por ejemplo, la nata o piel de leche se ha utilizado en un plato llamado Milk in Textures como una envoltura de mousse elaborado con distintos ingredientes, que proporciona una textura cremosa y suave (Mielby & Frøst, 2010).

De acuerdo con las investigaciones realizadas por Guo, et al., 2019 el Vrum fermentado mongol (nata fermentada) tiene una población microbiana compuesta de levaduras y bacterias ácido lácticas, las cuales pueden tener un potencial como probióticos ya que la presencia de estos inhibe el crecimiento de bacterias entéricas patógenas.

Hashemi, et al, 2017 comprobaron su efectividad como sustrato después de la adición de *Lactobacillus plantarum*, en el sarhsir (nata Iraní) esperando un efecto probiótico. El cual fue comprobado a medir los cambios de su actividad antioxidante, actividad contra los microorganismos patógenos y los cambios en los ácidos grasos presentes.

Naveed & Saleem, 2019 Compararon la nata obtenida de leche de vaca y de búfalo, para obtener ghee y comparar su contenido de CLA, contra el que se obtiene de fundir mantequilla y el de calentar crema directamente, donde la nata aparece como una buena fuente de CLA.

5.12 Crema de la leche.

Generalmente, la crema se considera el producto lácteo fluido comparativamente rico en grasa, en forma de una emulsión de leche desnatada con grasa, obtenida por separación física de la leche cruda. La "cremosidad" resulta de la fina dispersión de los glóbulos de grasa protegidos por una membrana particular contra la separación de la emulsión.

Las cremas pueden diferir en contenido de grasa, pero también en el grado de dispersión de grasa, que se ve fuertemente afectada por la homogeneización durante el procesamiento. Aunque la crema se considera una emulsión típica de aceite en agua, un proceso simple como el batido puede cambiar este estado físico en una espuma rígida estabilizada en grasa o en una fase de grasa completamente unida y separada.

La crema o grasa de la leche es una mezcla de triacilgliceroles, con puntos de fusión muy variables desde los -40°C hasta 40°C , la grasa de la leche generalmente consiste en grasa líquida y sólida, es decir, aceite con varios cristales.

En la leche cruda, casi toda la grasa se emulsiona en pequeños glóbulos de grasa protegidos contra la fusión por una capa interfacial natural, que se origina en las membranas de las células secretoras de la glándula mamaria. Esta membrana de glóbulo graso de leche mantiene la integridad y estabilidad particular de los glóbulos los hace compatibles con su entorno acuoso. Aproximadamente 10^{10} glóbulos de grasa se dispersan en 1 ml de leche cruda, con diámetros principalmente en el rango entre 1 y 8 μm .

La separación de la crema por aceleración centrífuga incrementa el efecto natural de la gravedad en la separación de la leche cruda. La separación centrífuga se rige por la Ley de Stokes donde una diferencia en las densidades también influye la velocidad y el radio del recipiente. Esto es esencial para la formación de crema y nata, pero su tasa de separación depende principalmente del diámetro de los glóbulos de grasa y la viscosidad de la fase sérica.

Normalmente, la leche al descremarse contiene 30–40% de grasa en la crema y leche descremada obtenida tiene un nivel aproximado de 0.05% de grasa. Generalmente Después de la separación y antes del procesamiento posterior, el contenido de grasa de la crema se estandariza mediante la adición de leche descremada.

Los productos principales de la crema que se obtienen son la crema que se adiciona al café, la crema batida que se emplea en repostería, la crema agria a la cual se le adicionan cultivos lácticos que se emplea en platillos y los licores de crema donde se combina con alcohol y azúcar (Hoffmann, 2011)

5.13 Aislado proteico del suero de leche

El WPI tiene uso muy extendidos en la elaboración de suplementos nutricionales, en el área deportiva, bebidas rehidratantes y alimentos enriquecidos con proteínas (Foegeding, et al., 2011)

Para hablar sobre el aislado proteico de suero (WPI) es importante diferenciarlo de los concentrados proteicos de leche (MPC). Que son productos que pueden ser descritos como formas de leche descremada enriquecidas en proteína que generalmente se

procesan y comercializan en forma secada por aspersion. Deben su origen a la aplicación de desarrollos en ultrafiltración (UF) en el procesamiento de lácteos (Kelly, 2011).

No son un clasificados como un producto lácteo conservado, más bien son ingredientes lácteos funcionales. Por sus propiedades que son ligantes al agua, gelificantes, emulsionantes y agentes espumantes (Vardhanabhuti, 2011)

Ya que la UF facilita la concentración selectiva de componentes de mayor tamaño molecular tales como las proteínas de la leche y, por lo tanto, permite enriquecer la proteína típica en el contenido de materia seca de la leche descremada en polvo 35%, con la ayuda adicional de la diafiltración, se incrementa a más del 85% de proteína en la materia seca. En el caso de las proteínas aisladas de leche (MPI) los niveles de proteína son superiores al 90%, la retención de proteínas de suero de leche, así como el estado micelar nativo de las caseínas se distingue el MPC de los caseinatos (Kelly, 2011).

Pero como en el suero ya se removió la parte de caseína que contiene la leche. El proceso de ultrafiltración selectiva del suero de leche permite obtener proteína en concentraciones del 20 al 80%, dependiendo del contenido de grasa del suero inicial (Kelly, 2011).

Los concentrados con altos niveles de proteína deben tener la diafiltración para eliminar la lactosa y los iones libres. La primera generación de aislados proteicos de suero, se produjeron con un tratamiento de intercambio de iones y su concentración del efluente por ultrafiltración. Pero hoy en día se aplica la microfiltración de flujo cruzado (cMF) que permite eliminar la grasa floculada y suspendida previo a la ultrafiltración (Kelly, 2011).

El aislado de proteína de suero no solo se emplean en los productos alimenticios, también se emplea en la industria cosmética y farmacéutica por sus propiedades fisicoquímicas descritas (Foegeding, et al., 2011).

5.14 Diseño de mezclas

Los experimentos de mezclas son una clase especial de experimentos de superficie de respuesta en el cual el producto bajo investigación está hecho de varios componentes o ingredientes y no son independientes entre sí.

Para optimizar un proceso se requiere de una metodología apropiada, existen tres etapas fundamentales screening, escalamiento y optimización final. Este esquema se emplea en un diseño experimental donde no se conoce el punto óptimo.

Durante la primera etapa o Screening se identifican las variables que incrementan la eficiencia del proceso. Se emplean diseños factoriales y se determina la significancia de cada variable.

La etapa de escalamiento o segunda etapa experimental se emplea, cuando la etapa optima se encuentra lejos de los experimentos iniciales o para confirmar una hipótesis previa. Esta etapa consiste en escalar hacia la región optima hasta ubicarla, también llamada "región experimental de respuestas estacionarias", donde ya no se puede mejorar las respuestas.

La última etapa o etapa de optimización final los efectos cálculos de segundo orden son mayores a los calculados por el primer orden, por lo tanto, esta región se puede describir mejor por modelos matemáticos de segundo orden.

Por lo tanto, se emplean tres componentes en el espacio muestral de un triángulo cuyos vértices corresponden a formulaciones que son componentes puros. Son coordenadas tri lineales. Sus restricciones son a) la suma de sus componentes siempre es 1, b) algunas de las mezclas no pueden elaborarse con componentes al 100%.

5.15 Análisis de perfil de textura

El análisis de perfil de textura se ha aplicado ampliamente para probar alimentos sólidos y semisólidos. El procedimiento de prueba de dos compresiones se conoce como Análisis de Perfil de Textura (TPA). Si bien la TPA fue pensada como una prueba de deformación grande: para imitar la masticación, desde un punto de vista comparativo, es mejor probar un sistema que no falla durante la prueba, como si ocurriera una falla estructural grave durante la primera mordida, los datos posteriores son menos comparables. (Rosenthal, 2010)

De la salida del instrumento, uno puede medir cinco características primarias (dureza, cohesión, adhesividad, elasticidad y fragilidad, también hay varias características derivadas.

La fracturabilidad (originalmente llamada fragilidad) se define como "la fuerza en la primera ruptura significativa en la curva. "Como una ruptura es un fenómeno visible relacionado con la macroestructura de la muestra, debe identificarse como un cambio en la inflexión de la curva cuya magnitud debe definirse. La dureza o firmeza se define como "la fuerza máxima durante el primer ciclo de compresión" ("Primer bocado"). La

cohesividad se define como "la relación del área de fuerza positiva durante la segunda porción de compresión a la de la primera compresión ($\text{Área 2} / \text{Área 1}$), excluyendo las áreas bajo la porción de descompresión en cada ciclo. La adhesividad se define como "el área de fuerza negativa para la primera mordida, que representa el trabajo necesario para extraer el émbolo de la muestra de alimentos". La elasticidad (originalmente llamada elasticidad) se define como "la altura que el alimento recupera durante el tiempo que transcurre entre el final de la primera mordida y el comienzo de la segunda mordida" (Pons & Fiszman, 1996)

En algunas investigaciones, particularmente con alimentos semisólidos (como el yogur) en realidad han realizado una variante de TPA en un recipiente con un émbolo ajustado que efectivamente proporciona una medida de extrusión posterior como la muestra se comprime y se obliga a fluir a través del espacio anular entre el émbolo y el recipiente. (Rosenthal, 2010)

5.16 Perfil de vida de anaquel

El tema de la vida útil de los alimentos no es nuevo. Sin embargo, el creciente interés del consumidor en la inocuidad de los alimentos, la calidad, la frescura del producto, las presiones competitivas de los minoristas y los extensos cambios legislativos se han combinado para darle al tema un nuevo significado. La determinación correcta de la vida útil es, por supuesto, fundamental para las buenas prácticas de fabricación (BPM) para la industria de alimentos y bebidas. Los fabricantes que pretenden producir productos alimenticios seguros, saludables y atractivos "desde la primera vez" y "desde el principio" ya sabrán la importancia de una evaluación adecuada de la vida útil. La vida útil incorrecta puede acarrear graves consecuencias legales, de seguridad o financieras. Una evaluación adecuada de la vida útil debe basarse en principios científicos sólidos, respaldados por técnicas actualizadas en ciencia y tecnología de alimentos (Man & Jones, 1994)

6. Materiales y Métodos

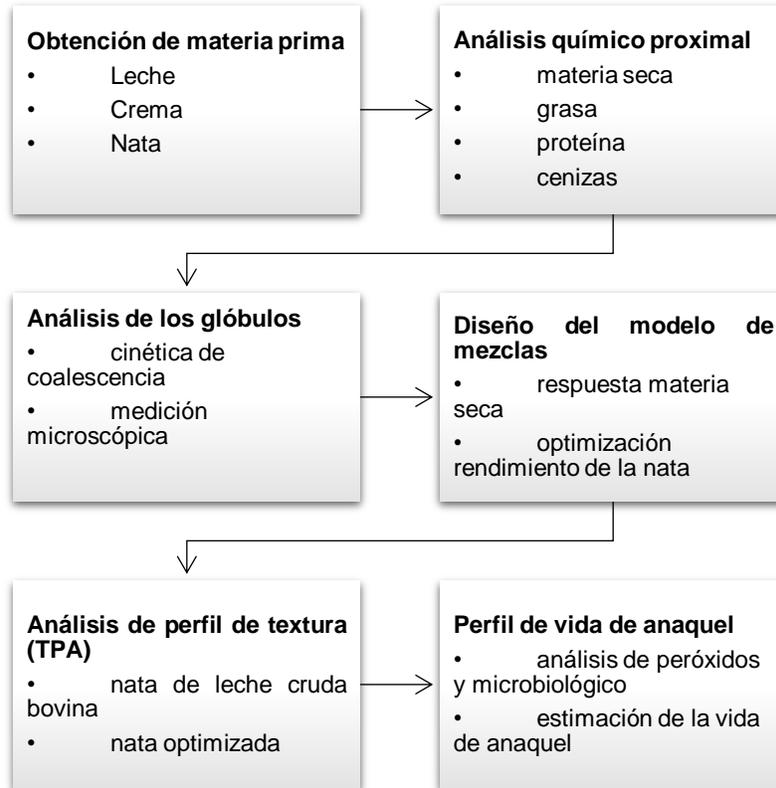


Imagen 1. Diagrama general de metodología.

6.1 Obtención de la materia prima

La leche fresca de vaca fue obtenida de un establo lechero ubicado en el municipio de Acatzingo de Hidalgo, Puebla (Altitud 2,150 msnm, Latitud 18°59'30.5" Norte, Longitud 97°44'15.5" Oeste), México. Se corroboró que este establo utiliza buenas prácticas ganaderas (BPG), minimizando el riesgo de contaminación de la leche y minimizando la influencia de las condiciones de salud y nutrición del ganado sobre la calidad de la leche. Se tomaron muestras de 500 mL directamente del tanque enfriador una vez alcanzada la temperatura de 4°C al finalizar la ordeña. Las muestras fueron transportadas y almacenadas a 4°C en el taller de lácteos del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo hasta su utilización (máximo 6 horas después de la toma de muestra).

6.2 Obtención de crema de leche

Para modificar el contenido de grasa en los experimentos, se obtuvo crema de leche haciendo uso de una descremadora (elecrem modelo 5, Francia). Brevemente, se vació en su depósito agua purificada caliente y se puso en marcha el motor, se giró la llave de control a la posición abierta. Una vez que se terminó el agua se llenó de leche fresca. Una vez terminada de separar la crema se apagó el motor, se cerró la llave de control del depósito y la crema se recuperó en un recipiente por separado y se almacenó a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su utilización.

6.3 Obtención de la nata

Se emplea leche fresca cruda de vaca se calcula su masa total, después se colocó en una fuente de fuego directo, manteniendo la agitación constante hasta alcanzar 92°C o la temperatura de ebullición. Después de mantener la ebullición con formación de espuma durante al menos cinco minutos, se retiró la leche de la fuente de calor y se deja enfriar a temperatura ambiente. Una vez que alcanzó la temperatura ambiente se refrigera al menos por 12 horas hasta que la capa superficial de nata sea lo suficientemente fuerte. Finalmente, con la ayuda de un utensilio punzocortante se desprendió la nata del recipiente donde se hirvió y con la ayuda de una tela filtrante o un colador se separa de la leche ya hervida y se dejó escurrir por 30 minutos hasta que dejó de escurrir leche líquida.



Imagen 2. Nata obtenida de leche cruda entera.

6.4 Análisis de la materia prima

Se empleó un analizador de leche Lactoscan (Milkotronic MCC50, Nova Zagora Bulgaria) para determinar los parámetros fisicoquímicos de la leche: grasa (FAT), sólidos no-Grasos (SNF), proteínas, lactosa, porcentaje de agua, temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH, punto de congelación, sólidos, conductividad y densidad. Brevemente, se realizaron dos lavados

con agua destilada a 70 °C para asegurar la limpieza de la tubería del equipo previo a la carga de la muestra. Se depositó un volumen de muestra de 15 mL equilibrada a 20°C en una celda y se insertó el tubo colector de muestra. Al mismo tiempo se colocaron otros 15 mL de muestra a 20°C en una celda en la que se insertó el electrodo para la medición de pH. Se seleccionó el tipo de leche a analizar y se inició el ciclo de análisis. Una vez terminado el ciclo de análisis se volvió a lavar con agua destilada a 70°C. Finalmente se lavó el electrodo utilizado para la medición de pH.

A la leche se le determinó acidez titulable, tomado una muestra de 9mL de leche fresca adicionando 3 gotas de fenolftaleína al 1% en etanol y se tituló con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 N. Los resultados se expresan en % de acidez considerando al ácido láctico como el ácido orgánico predominante en la leche, de acuerdo con la ecuación 1.

$$\%acidez = \frac{mL_{NaOH} * N_{NaOH} * meq_{Acido}}{mL_{Leche}} * 100 \quad (1)$$

Donde mL_{NaOH} es el volumen de hidróxido gastado expresado en mililitros; N_{NaOH} es la concentración de la solución de hidróxido de sodio expresado en miliequivalentes sobre mililitro (meq/mL) y el valor de $meq_{ácido}$ son los miliequivalentes de ácido láctico en este caso, 0.0090 g de ácido láctico por cada mL de Hidróxido de sodio y el volumen de la muestra que en este caso son 9 mL. (AOAC, 947.05)



Imagen 3. Medición de acidez

Se determinó el contenido de materia seca donde se tomó una muestra de leche de alrededor 2.5 a 3 gramos, luego se depositaron en una bandeja de aluminio de 5 cm de

diámetro previamente desecada a peso constante durante una hora, se llevó al horno de secado a una temperatura de 105°C durante 3 horas, después se retiró del horno y se colocó en un desecador durante 30 minutos, empleando la ecuación 2, se calculó el peso de la muestra:

$$\% \text{ de materia seca} = \frac{(B - A)}{\text{Peso de la muestra}} * 100 \quad (2)$$

Donde B es el peso de la bandeja con la muestra seca y A es el peso de la bandeja, con estos datos se obtuvo el contenido de materia seca (AOAC, 925.23)

Para la determinación de cenizas, en un crisol seco y a peso constante se colocaron 2 gramos de la muestra, misma que se calcinó en un mechero bunsen a llama baja durante 30 minutos o el tiempo necesario para dejar de emitir humo, luego se llevó a una mufla donde la muestra se calienta a 600 °C, durante dos horas y luego se enfría de forma progresiva hasta alcanzar los 100 °C, después se saca el crisol y se dejó enfriar durante 30 minutos en el desecador posteriormente se calculó el contenido de cenizas de la muestra con la ecuación 3.

$$\% \text{ de materia seca} = \frac{(B - A)}{\text{Peso de la muestra}} * 100 \quad (3)$$

Donde B es el peso final del crisol con la muestra y el valor de A es el peso del crisol seco (AOAC, 942.05)

Se determinó su contenido de grasa por el método ácido butirométrico Gerber para la leche y Roeder para la crema como se describe a continuación.

Se colocó en el butirómetro Gerber 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (90-91%) y se adiciona con una pipeta volumétrica 11 mL de leche de manera lenta sin mezclar con el ácido separándose ambas capas, se adiciona 1 mL de alcohol isoamílico y cerrar el butirómetro. Agitar de manera enérgica hasta disolver todas la fase proteica, centrifugar 5 minutos, luego colocar 5 minutos a baño maría a 65°C y leer, el resultado se expresa en porcentaje directo y el error es de 0.05% MG. (AOAC, 2000.18)

Para la crema se utilizó el butirómetro Roeder, para lo cual se pesaron 5 gramos de crema en la copa e introducirlo al butirómetro, empleando la pipeta volumétrica adicionar 10 mL de ácido sulfúrico concentrado 91%, con la pipeta adicionar 10 mL de agua destilada, agregar 1 mL de alcohol isoamílico, tapar el butirómetro y agitar hasta disolver

la muestra, centrifugar durante 5 minutos llevarlo a baño maría a 65°C durante 2 minutos, La lectura es directa se expresa en porcentaje de grasa en este caso las normas establecen que debe ser superior al 30%.

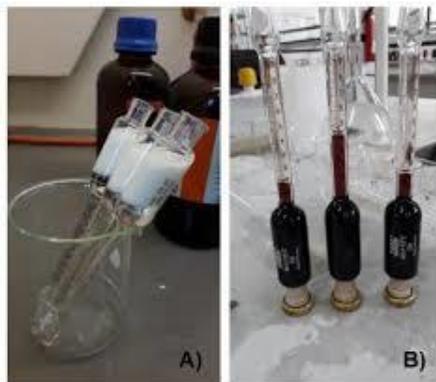


Imagen 4. Determinación de grasa método Gerber a) inicio b) final.

6.5 Análisis de Proteína por el método Kjeldahl.

En la balanza analítica, se pesaron 0.5 gramos de muestra, en este caso fue leche entera, crema y nata dentro de un tubo Büchi (digestor Kjeldahl), se añadieron 0.5 g de sulfato de cobre pentahidratado, 5 g de sulfato de sodio anhidro y 20 mL de ácido sulfúrico. Posteriormente se colocaron los tubos en el digestor y calentaron cuidadosamente a baja temperatura hasta que todo el material se carbonizó, luego se incrementó gradualmente la temperatura hasta que la disolución estuvo completamente clara y sostuvo por 30 minutos más a esa temperatura. Luego se enfriaron y añadieron 20mL de agua para disolver completamente la muestra, inmediatamente conectaron los tubos a un sistema de destilación, añadiendo solución de hidróxido de sodio 40%, 50mL por cada dosificación y luego se recuperó el destilado, el cual previamente se le colocó, en la salida del refrigerante un matraz Erlenmeyer de 250 mL que contenga 50mL de solución de ácido bórico 2% y unas gotas del reactivo, rojo o naranja de metilo, luego titular con solución de ácido sulfúrico 0.1N, el contenido de Nitrógeno se calculó con la ecuación 4.

$$\%N = \frac{(mL \text{ gastados} - mL \text{ de blanco}) * (meqN) * (N \text{ ácido})}{\text{Peso de la muestra}} * 100 \quad (4)$$

Donde el porcentaje de nitrógeno se calcula con un blanco de 0.01, miliequivalentes de 0.014, una normalidad de la solución acida de 0.0104 se multiplicó por el factor de nitrógeno proteico de lácteos que es: $\% \text{ Proteína} = \%N * 6.38$ (AOAC, 991.20)



Imagen 5. Determinación de proteína.

6.6 Análisis del tamaño de glóbulos grasos de leche

Las distribuciones de tamaño de glóbulos grasos de leche en función de la temperatura se realizaron empleando un contador de partículas Beckman Coulter Z1 que emplea el principio Coulter, en el cual la distribución de tamaño de partícula se obtiene a partir de la dispersión de la muestra en una solución electrolítica, mientras en una zona de detección eléctrica, las partículas pasan a través de un orificio generando un pulso eléctrico que es proporcional al volumen de la partícula.

La muestra se tomó de leche entera, calentándose de manera progresiva para obtener el perfil de temperaturas del ciclo de calentamiento y enfriamiento. Este perfil inicia a los 20°C de temperatura y se realiza con un calentamiento controlado con el objetivo de tener mediciones cada 10°C hasta llegar a la temperatura de ebullición, la cual se mantuvo por 5 minutos, posteriormente se disminuye la temperatura de forma controlada para tener un perfil que muestre la distribución de tamaños y lograr apreciar si el tratamiento térmico genera algún cambio en el tamaño de los glóbulos grasos.

Con la ayuda de una micropipeta se ajustó el volumen a diluir en la solución electrolítica manteniendo las condiciones de homogeneidad de la suspensión y una saturación adecuada, esta prueba se realizó con 75 µl de leche diluidos en 20 mL de solución electrolítica vaciando primero la leche y luego diluyendo en la copa de medición.

El perfil de tamaño se realizó con mediciones desde los 2 μm hasta los 7 μm de diámetro, donde se encuentra la mayor saturación de glóbulos grasos y es la medida que permite leer el sensor con un orificio de 100 μm instalado en el contador de partículas.

Al iniciar la prueba se llenó el sistema del contador de partículas con solución electrolítica y se ajustó la sonda al área de detección en una copa llena también de solución electrolítica, comprobando que no exista ninguna obstrucción de esta, una vez que terminó de llenarse el sistema se pudo iniciar la medición de cada muestra preparada *in situ*, seleccionando el tamaño y el porcentaje de filtración el cual es ajustado cada vez que se modifica el tamaño de partícula analizado.

6.7 Microscopía de los glóbulos de leche

La microscopía de contraste de fases se emplea para la visualización de los glóbulos grasos de leche ya que tiene la ventaja de mostrarnos su localización, su forma, distribución, y tamaño (López, 2010).

Se utilizó un microscopio óptico de contraste de fases para identificar cambios en los glóbulos grasos de leche de acuerdo con el cambio progresivo de temperatura. Se realizó de la siguiente manera, en un portaobjetos se coloca con la ayuda de la micropipeta una gota de muestra, después se coloca el cubreobjetos y luego se lleva a observación en el microscopio ajustando el objetivo de 40x, realizando esta acción en el perfil de temperatura medido cada 10°C, desde los 20°C temperatura ambiente hasta ebullición y el decremento de misma manera.

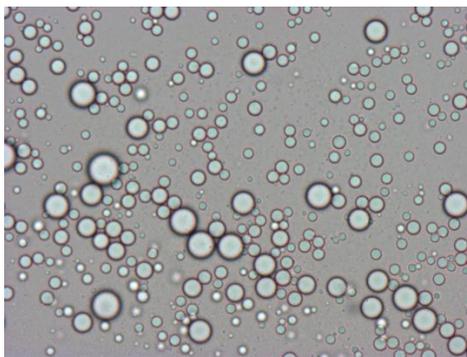


Imagen 6: Glóbulos grasos de leche a 40x

Se empleó una escala micrométrica fotografiada en 40x y se calibró la escala de medición (Pimentel-González, et al., 2009) se seleccionaron los diferentes glóbulos al azar, midiendo el diámetro de cada uno, se cuantificaron al menos 30 diferentes en el campo

visual para obtener una proporción de los diferentes diámetros en cada medición que se realiza, D_1 durante el ciclo de calentamiento y D_2 durante el enfriamiento obteniendo el perfil de temperatura empleando el software de procesamiento de imágenes Image-Pro Plus (Media Cybernetics).

6.8 Modelo de Mezclas de Vértices Extremos.

La producción de nata es una variable de respuesta en función de las diferentes proporciones de cada uno de los componentes (Elías-Peñañiel, et al., 2006) que se encuentran en la leche entera. Debido a que la variable de respuesta depende de las proporciones relativas de los mismos, se decidió emplear un diseño de superficie de respuesta de Mezclas de tres componentes donde se busca maximizar la cantidad de nata de leche producida empleando como variable de respuesta la cantidad de materia seca obtenida, y como componentes la leche, la crema, y el aislado proteico de suero de leche (WPI).

Los valores de este primer modelo se analizaron en el software Minitab 17 elaborando el diseño lineal de primer grado (solo se especificaron los bordes) (resultado de materia seca contra las fracciones de los componentes). Los análisis estadísticos realizados fueron un análisis de varianza de dos vías, para encontrar la interacción de las fracciones de crema y WPI, además de una comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia menor a 0.05.

Tabla 1. Modelo de Mezclas de vértices extremos

Fracción de Leche	Fracción de Crema	Fracción de WPI
1.00	0.00	0.00
0.98	0.00	0.02
0.80	0.20	0.00
0.78	0.20	0.02
0.99	0.00	0.01
0.90	0.10	0.00
0.79	0.20	0.01
0.88	0.10	0.02
0.89	0.10	0.01
1.00	0.00	0.00

0.98	0.00	0.02
0.80	0.20	0.00
0.78	0.20	0.02
0.99	0.00	0.01
0.90	0.10	0.00
0.79	0.20	0.01
0.88	0.10	0.02
0.89	0.10	0.01

6.9 Determinación de materia seca

La primera variable de respuesta de este modelo es el rendimiento y para ello se utilizó el análisis de materia seca en el cual se determinó de una muestra de 100 gramos cuál es su rendimiento final después de adicionar la proteína concentrada de suero y la crema de leche y en qué proporción se obtuvieron los mejores valores.

Inicialmente se pesó cada uno de los componentes de la mezcla en una balanza granataria, estos se colocaron en un vaso de precipitados, se manteniendo la agitación constante se llevan a un calentamiento rápido y controlado hasta la ebullición. Tratando de generar la mayor cantidad de espuma, se mantiene durante 5 minutos y se lleva a reposo hasta alcanzar temperatura ambiente, se lleva a refrigeración durante al menos 12 horas para tener un engrosamiento de la nata.



Imagen 7: Nata optimizada

Posteriormente la nata obtenida se desprende con la ayuda de una aguja de las paredes del recipiente se filtra con la ayuda de manta de lino durante al menos treinta minutos, para reducir el contenido de leche de la muestra. La cual se pesa y vacía en una bandeja

de aluminio previamente secada y a peso constante, durante al menos ocho horas, luego se enfrían en un desecador durante 30 minutos antes de pesar el cálculo final de rendimiento se midió con la ecuación 5.

$$\%Materia\ seca = \frac{Peso_{Nata\ fresca} - Peso_{Nata\ seca}}{Peso\ inicial\ de\ la\ muestra} * 100 \quad (5)$$

6.10 Análisis de Textura de la muestra

Al ser un alimento de propiedades viscoelásticas muy características empleando un texturómetro CT3 (Brookfield Ametek)

El procedimiento de prueba de dos compresiones se conoce como Análisis de Perfil de Textura (TPA). De la salida del instrumento, uno puede medir cinco características primarias que son dureza, cohesión, adhesividad, elasticidad y fragilidad también llamada fracturabilidad, también hay varias características derivadas. Se utilizó un modelo de sistema de gel, debido a su capacidad para soportar altos niveles de tensión sin romperse y niveles moderados de cohesión. El TPA fue pensado como una prueba de deformación grande, para imitar la masticación, desde un punto de vista comparativo, es mejor probar un sistema que no falla durante las pruebas, como si ocurriera una falla estructural grave durante la primera mordida, los datos posteriores son menos comparables. (Rosenthal, 2010)



Imagen 8. Análisis textural de la nata.

Empleando una sonda circular, realizando una compresión y midiendo los diferentes parámetros de dos ciclos únicamente son representativos para este experimento los resultados durante el primer ciclo se encontraron las características de la nata natural y de la mezclas de nata con crema y aislado de proteína de suero acondicionado.

Se utilizó una celda de extrusión posterior o pseudo compresión (Back Extrusion) con un disco de compresión de 35 mm de diámetro. Las muestras se colocan cuidadosamente en recipientes cilíndricos de 85 mm de diámetro, se trata de que la muestra de nata obtenida se distribuya de manera uniforme en el recipiente, esta muestra debe tener al menos 15 mm de espesor, evitando superficies irregulares y espacios o burbujas en el interior de esta. Una vez ajustada la muestra se inicia el ciclo de compresión, a la muestra ya inmovilizada en la base del texturómetro, se mantiene hasta que el segundo ciclo de compresión termine.

A partir de la curva resultante de fuerza-tiempo, se obtienen los valores para los diferentes atributos de textura fueron: fuerza máxima en la compresión (firmeza N), área positiva de la curva (consistencia N*s), fuerza negativa máxima que indica la resistencia a la extracción de la muestra del disco de extrusión que se levanta (cohesión N), y área negativa de la curva (adhesividad N*s) (Bortnowska, et al. 2014). Los resultados obtenidos se analizaron por medio de un análisis de varianza de una vía y una comparación de medias de Dunnet. En este caso el control es positivo y negativo y se emplea la nata formada en la leche de forma natural.

6.11 Análisis de perfil de vida de anaquel

Una vez que se obtiene una mezcla que cumple con las características más adecuadas de la nata de leche se procede a analizar su calidad en el tiempo, esto se lleva a cabo realizando un perfil de vida de anaquel en el cual se consideran los principales factores de deterioro del producto ya que al ser alto en grasa se ve afectado principalmente por la oxidación lipídica y el ataque de bacterias y mohos que aceleran su descomposición.

Con un alto contenido de grasa, la crema es más susceptible a la degradación enzimática de la lipasa, que divide los triglicéridos en ácidos grasos, mono y diglicéridos y glicerol. Esto dará como resultado casos extremos en un sabor rancio evidente en el producto final. La lipasa se inactiva en mayor medida por pasteurización. Sin embargo, como muchos microorganismos producen lipasa, esto aún puede ser un problema si la crema se maneja de manera antihigiénica después del procesamiento.

Se propuso un modelo de perfil de vida de anaquel parcialmente escalonado por triplicado, planteando las diferentes mediciones que se realizaran en el periodo de tiempo establecido y a las diferentes temperaturas.

Tabla 2. Esquema de perfil de vida de anaquel

Muestreo	día 0	día 1	día 2	día 4	día 7	día 14
temperaturas de control (7, 20, 40°C)						
Mesófilos aerobios totales	X				X	X
Coliformes totales	X				X	X
Hongos y levaduras	X				X	X
Valores de peróxidos	X	X	X	X	X	X
Índice de saponificación	X	X	X	X	X	X

6.12 Análisis de valores de peróxidos

Índice de peróxido se expresa en 0,3 miliequivalentes de oxígeno/kg de grasa de acuerdo con el Codex para productos ricos en grasas.

Pesar 2.50 ± 0.05 g de aceite o grasa en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y adicionar 12 mL de una solución de ácido acético/diclorometano (3:2), disolviendo perfectamente. Adicionar 0.5 mL de una solución saturada de yoduro de potasio, inmediatamente se agregan 10 mL de una solución 0.1 N de Ácido clorhídrico y dejar reposar en la oscuridad durante 5 minutos, medidos con cronómetro.

Añadir 15 mL de agua desionizada hervida y fría, titular lentamente con tiosulfato de sodio 0.1 N. Si se gastan menos de 3 mL, se emplea la solución titulante a 0.01 N. Agitar vigorosamente durante la titulación hasta obtener un color amarillo pálido. Adicionar 0.5 mL de solución de almidón indicador (almidón soluble al 1% en agua) y continuar la titulación hasta la desaparición del color azul por 30 segundos. El índice de peróxidos se calcula en miliequivalentes de tiosulfato utilizados en la titulación por kilogramo de muestra (Método AOAC 965.33)



Imagen 9. Análisis de peróxidos en la nata

6.14 Análisis de Mesófilos Aerobios

Se realizó con la finalidad para de identificar la presencia de los microorganismos y su fundamento consiste en contar las colonias que desarrollan en el medio de elección después de cierto tiempo y temperatura de incubación presuponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo en la muestra bajo estudio.

El medio empleado contiene extracto de carne, peptona y agar, siendo una formulación suficiente para el desarrollo de los microorganismos. El extracto de carne proporciona al medio fuente de carbohidratos, de nitrógeno y vitaminas.

Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (1.2 atm de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar en cajas de Petri estériles.

Esta técnica no pretende poner en evidencia todos los microorganismos presentes. La variedad de especies y tipos diferenciales por sus distintas necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno disponible, entre otros. Haciendo que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente (NMX-F-253)

Ya que se busca realizar un análisis de vida de anaquel en nuestra muestra a los microorganismos presentes se les debe cuantificar cual es el tiempo con el que se

reproducen y deterioran nuestro alimento esto es una variable que se requiere en el modelo de perfil de vida de anaquel.

6.15 Análisis de coliformes totales

Para realizarlo se emplea el agar MacConkey que es un medio de diferenciación selectivo para el aislamiento y la diferenciación de *Enterobacteriaceae* y diversos otros bacilos gram negativos a partir de las peptonas proporcionan los nutrientes. Cristal violeta inhibe las bacterias gram positivas, en especial los enterococos y estafilococos. La diferenciación de los microorganismos entéricos se logra mediante la combinación de lactosa y el indicador de pH rojo neutro. Se producen colonias incoloras o de color de rosa a rojo según la capacidad del aislado para fermentar carbohidratos.

Su preparación se realiza con 60 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (1.2 atm de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar de acuerdo con la técnica a seguir en cajas de Petri estériles.

6.16 Análisis de hongos y levaduras

En este análisis se emplea el agar PDA (papa dextrosa) un medio selectivo que permite el crecimiento tiene la infusión de papa como fuente de almidones y la dextrosa son la base para el crecimiento de hongos y levaduras. El bajo pH (3.5) evita el crecimiento de las bacterias. Cuando se va a usar para el recuento de hongos y levaduras, agregar al medio de cultivo una vez esterilizado y enfriado aproximadamente a 45°C, 14 ml de una solución estéril de ácido tartárico al 10% para obtener un pH aproximado de 3.5. Sembrar el medio de cultivo por estría en la superficie o adicionar la muestra para la técnica de vaciado en placa. Incubar hasta 7 días a temperatura ambiente.

Su preparación se realiza con 39 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (1.2 atm de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar de acuerdo con la técnica a seguir en cajas de Petri estériles.

La siembra de las placas se realiza por disolución de las muestras se homogeniza en caldo nutritivo 1 gramo de la muestra en 9 mililitros de caldo nutritivo. Así se obtuvo la

concentración base de 1×10^8 . Posteriormente se tomó 1 ml de la disolución base y se disuelve en 9 ml de caldo estéril para obtener la concentración 1×10^7 , sucesivamente hasta tener las concentraciones 1×10^2 . Se colocó 100 μ l de cada disolución en cada caja Petri con el agar ya frío, con la varilla de vidrio en "L" se realizó la extensión de la disolución. Se tapan, rotulan y sellan las placas y se incuban en posición invertida en la incubadora a 35°C se realiza conteo a las 24, 48 y 72 horas en el caso de hongos y levaduras. Posteriormente se promediaron los resultados obtenidos para tener la concentración indicada para las placas viables (Camacho, et al., 2009)



Imagen 10. Análisis microbiológico de la nata

6.17 Perfil de vida de anaquel estimación

Utilizado un modelo parcialmente escalonado se determina un tiempo de estudio y la periodicidad de la evaluación de las muestras que en este caso son la nata obtenida de manera natural y la nata producida por el modelo de optimización. El número de unidades estudiadas y los intervalos de tiempo en cada periodo deben ser igual. Se analizaron las muestras en los días 0, 7 y 14 con temperaturas de control de 4° , 20° y 40° centígrados. Con el objetivo de evaluar cuánto se incrementó el contenido de peróxidos y microorganismos, quedando un modelo escalonado parcial de 3×3 .

La estimación se realiza de acuerdo con el principio fundamental de la cinética química, descrita por Singh (1994) y Bravi et al. (2020). Donde a los valores que se obtuvieron se aplica el, la velocidad de cambio en la calidad de los alimentos puede expresarse en forma general como una función de la composición y los factores ambientales. Se identifican las reacciones químicas y biológicas que influyen sobre la calidad y seguridad de la nata de leche y cuál es el orden de estas reacciones.

Por lo tanto, se cuantificó el efecto de la temperatura en el incremento del contenido de peróxidos en la muestra, para ello se emplea la ecuación de Arrhenius con el objetivo de encontrar la energía de activación de la reacción química (E_a). Se emplea la ecuación (6)

$$\ln k = \ln k_0 - \left[\frac{E_a}{RT} \right] \quad (6)$$

Donde k es la constante de deterioro, k_0 es el factor pre-Arrhenius está en unidades de miliequivalentes de O_2 / kilogramo de grasa por día⁻¹, E_a es la energía de activación en unidades Joule por mol⁻¹, R la constante universal de los gases ideales Joule °K⁻¹ mol⁻¹, T es la temperatura absoluta ° kelvin. Los valores de k para una reacción de deterioro de la calidad específica (Q_e) se calcularon a diferentes temperaturas, trazando la concentración del parámetro crítico frente al tiempo. Para obtener una línea recta y una pendiente del valor k . se expresó en la ecuación (7).

$$\frac{dA}{dt} = kA^n \quad (7)$$

Donde t es el tiempo en días, A la concentración del parámetro de calidad, k la constante de deterioro, n el orden de la reacción. Una vez graficado los valores de $\ln k$ contra $1/T$ se obtiene la recta (8) y (9).

$$y = mx + b \quad (8)$$

$$m = \left(-\frac{E_a}{R} \right) \quad (9)$$

Con los valores de la energía de activación la ecuación (10), se puede estimar el coeficiente de temperatura (Q_{10}) y predecir la vida de anaquel estimada.

$$Q_{10} = \exp\left(\frac{10E_a}{RT(T+10)}\right) \quad (10)$$

Se utilizó el cálculo de vida final del producto con la ecuación (11) para la vida final (t_s), el valor de calidad final Q_f o peróxidos máximos permitidos y el contenido inicial de peróxidos Q_i .

$$t_s = \frac{\ln\left(\frac{Q_f}{Q_i}\right)}{k} \quad (11)$$

En el caso el contenido final de peróxidos permitido en México que establece la NMX-F-154-SCFI-2010 (SE, 2010) se permite un contenido de peróxidos con valores inferiores a 70 mEq O_2 /g, en el caso se empleara el contenido de 20 mEq/g que es el reportado por

Bravi, et al, (2020), de acuerdo con los autores son los producidos por las reacciones iniciales de oxidación.

Empleando esta misma fórmula se calculó los días que toma a los microorganismos alcanzar el máximo permitido. Para ello se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) y se compara el crecimiento de estas en los días 0, 7 y 14 con la finalidad de tener una expresión del crecimiento microbiano y calcular cuánto tiempo toma a los microorganismos exceder la norma oficial que garantice la inocuidad. Se empleó la fórmula de regresión exponencial simple (Lu, et al, 2020) ecuación (12), donde se estima en cuantos días le toma a la muestra exceder el límite de unidades formadoras de colonias (UFC) permitido por la Norma Oficial Mexicana.)

$$y = be^{ax} \quad (12)$$

Donde y son las unidades formadoras de colonias, x son los días que transcurrieron, b y a son constantes del incremento. Para encontrar los días transcurridos se sustituyeron los resultados en la ecuación y se calculó el valor de x ecuación (13).

$$\frac{\ln\left(\frac{y}{b}\right)}{a} = x \quad (13)$$

7. Resultados y discusiones:

7.1 Resultados para la leche cruda bovina.

El análisis fisicoquímico de la leche cruda bovina se llevó a cabo con un Lactoscan (Milkotronic MCC50, Nova Zagora Bulgaria), donde se obtuvieron los valores que se presentan en la tabla 1. Análisis similares aplicados a leche fresca reportado por (Karoui, et al., 2011). Muestran intervalos similares.

Tabla 3. Resultados del análisis del Lactoscan

Componente	Lectura
Grasa	2.22±1.10 ^b (%)
Solidos no grasos (SNG)	7.50±0.30 ^a (%)
Densidad	26.07±1.10 ^a (g/mL)
Lactosa	4.20±0.16 ^a (%)
Minerales	0.61±0.03 ^a (%)
Proteína	2.75±0.11 ^a (%)
Agua añadida	9.02±4.42 ^b (%)
Punto crioscópico	0.427±0.02 ^a (°C)
pH	6.23±0.26 ^a
Conductividad	3.85±0.46 ^a (mV)

Los parámetros medidos coinciden con los rangos de valores reportados para el contenido de proteína, grasa, minerales y lactosa (Walstra, et al., 2006).

También se realizó el análisis de la leche cruda por los métodos recomendados por la AOAC, donde se midió contenido de materia seca, cenizas, grasa y proteína de la leche entera bovina.

El contenido de materia seca en la leche cruda entera bovina es de 10.19%±0.066 y el contenido de cenizas es de 0.62%±0.085. estos datos coinciden con lo reportado por (Arif, et al., 2020)

La grasa de la leche entera se cuantifico por el método Gerber, donde el contenido que se estimo fue de 3.4%%±0.03^a. El contenido de grasa está dentro del intervalo de composición reportado (Walstra, et al., 2006).

La cuantificación de proteína de las muestra de leche muestra un contenido porcentual de 3.83 ± 0.69^a muy similar a los intervalos 3.37 ± 0.16 reportados por (Arif, et al., 2020)

7.2 Obtención de la crema de leche

De un total de 10.180 kilogramos de leche cruda entera bovina que se procesó en la descremadora (elecrem 5, Francia), se obtuvo 330 gramos de crema cruda lo cual equivale a remover 0.032 gramos de crema por cada gramo de leche entera, o un 3.2% aproximadamente.

A la leche descremada y a la crema producida fueron analizadas por el método Gerber para conocer su contenido final de grasa y poder corroborar cuanta crema se retiró en el proceso de descremado. Los valores medidos para la leche descremada de contenido de grasa $0.4\%\pm 0.03^a$, y los valores medidos de contenido de grasa para la crema producida fueron $72\%\pm 0.03^a$. A la crema obtenida también se le midió el contenido porcentual de proteína por el método Kjeldahl de la crema obtenida que fueron $6.68\%\pm 0.01^a$. Estos valores duplican el contenido para cremas comerciales recomendado de 3.33% (USDA, 2019).

7.3 Composición de la nata obtenida de leche bovina.

La nata que normalmente se obtiene del tratamiento térmico de la leche cruda bovina muestra un contenido porcentual de materia seca de: 47.42 ± 10.25^a en las muestras, Yamei, et al., en 2019 reportan valores de 44.5% para el contenido de materia seca en vrum.

El contenido cuantificado de cenizas fue de $0.69\%\pm 0.17^a$ valor que se encuentra en el intervalo reportado por Pamuk en 2017 ya que el reporta valores desde 0.25 hasta 0.90% de cenizas para el kaymak.

El contenido de proteína calculado para la nata fue de $7.54\%\pm 0.35^a$, este valor se ajusta a lo reportado en vrum y kaymak (Zhang y Li en 1996; Pamuk, 2017) , donde ellos reportan valores para el vrum de leche de vaca desde el 3 hasta el 16 por ciento de contenido de proteína.

7.4 Análisis de partículas de la leche

Se realizó el análisis de tamaño de los glóbulos de leche, donde se calculó la distribución de partículas a partir del porcentaje de concentración, la temperatura de tratamiento y el

perfil de tamaño de 2 hasta 7 micrómetros, de los glóbulos medido con el contador de partículas (Beckman Coulter Z1, EE. UU.). Posteriormente se analizaron en gráficos de tres dimensiones donde para la etapa de calentamiento se obtiene el perfil de tamaños de glóbulo en la leche. La gráfica 1 es para la etapa de calentamiento y para la etapa de enfriamiento la gráfica 2, se observa que el porcentaje de concentración de los diferentes tamaños de los glóbulos grasos, no se ve afectado por los cambios de temperatura.

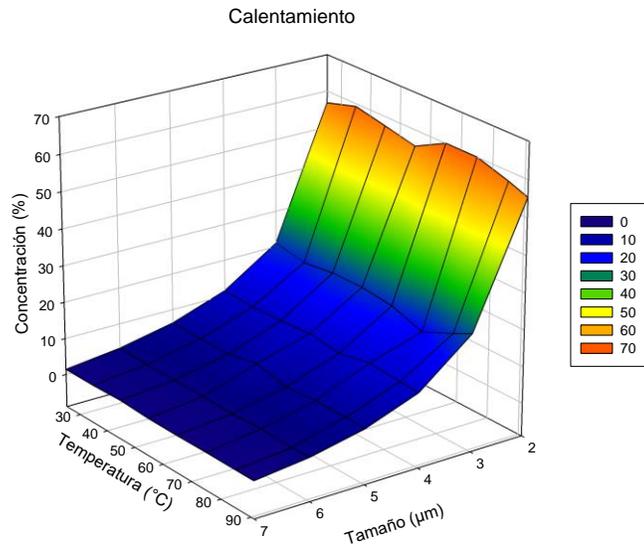


Gráfico 1. Efecto del calentamiento en el tamaño de los glóbulos grasos

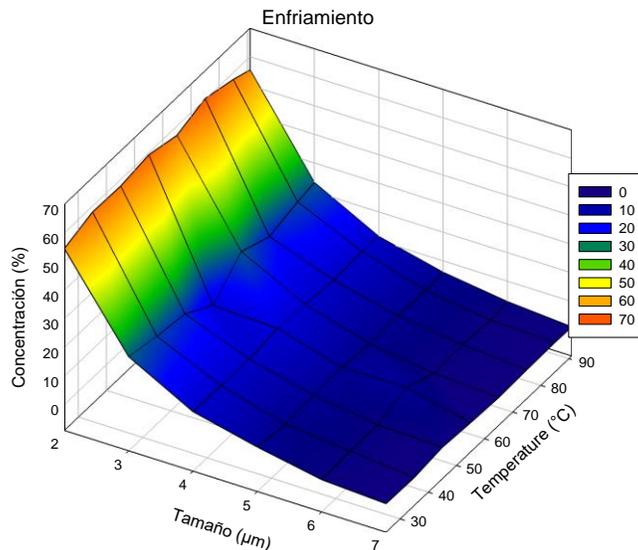


Gráfico 2. Efecto del enfriamiento en el tamaño de los glóbulos grasos

Se realizó el análisis de imagen obteniendo los siguientes resultados de cada tratamiento térmico realizado en el ciclo completo de calentamiento-enfriamiento se muestra en la tabla 2.

Tabla 4. Medición de tamaño de partículas

Temperatura (°C)	Diámetro (µm)
20	2.95±0.94 ^a
30	3.27±0.94 ^a
40	3.77±0.82 ^a
50	3.43±0.67 ^a
60	3.78±1.30 ^a
70	3.04±0.89 ^a
80	2.68±0.70 ^a
90	2.88±0.59 ^a
80	4.04±1.48 ^a
70	4.09±1.29 ^a
60	3.79±1.30 ^a
50	3.79±0.89 ^a
40	4.29±0.92 ^a
30	3.82±1.19 ^a
20	3.07±0.89 ^a

Se pudo comprobar en el proceso de tratamiento térmico de la muestra que no existe una coalescencia de los glóbulos grasos de leche durante la formación de nata, simplemente hay una aglomeración de estos en el procesos cremado. También se observó en la microscopia que puede haber cierta dilatación o contracción de los mismos glóbulos. Esto puede deberse a la pérdida de agua interior del glóbulo, pero no se apreció un cambio significativo. También se comprobó que los glóbulos aglutinados en la nata tienden a adherirse unos con otros formando un panel donde la membrana de los mismos son la unión de ellos, pero no pierden su forma ni su tamaño cuando esto ocurre.

Investigaciones anteriores ya han reportado este tipo de interacciones y están estrechamente relacionados con los estudios realizados a la membrana de los glóbulos

grasos de la leche bovina. Aunque no se ha profundizado como influye en la producción de nata.

7.5 Diseño de mezclas de leche, crema y WPI

El diseño de mezclas que se elaboró; es un diseño restringido de 3 componentes, limitado a concentraciones que parten desde el 100% de leche y como máximo un contenido del 20% para la crema y un máximo de 2% para el aislado de proteína de suero (WPI). La variable de respuesta para este diseño es la materia seca, se analizaron un total de 18 respuestas. El diseño de mezclas utilizado y sus resultados se presentan en la tabla 3.

Tabla 5. Diseño de mezclas de vértices extremos

Fracción de Leche	Fracción de Crema	Fracción de WPI	*Materia Seca
1.00	0.00	0.00	0.91±0.06
0.98	0.00	0.02	1.39±0.29
0.80	0.20	0.00	7.08±5.28
0.78	0.20	0.02	11.41±0.14
0.99	0.00	0.01	1.22±0.05
0.90	0.10	0.00	7.66±0.04
0.79	0.20	0.01	11.15±2.73
0.88	0.10	0.02	7.64±0.039
0.89	0.10	0.01	7.38±1.61

*gramos de solido seco / 100 gramos de mezcla húmeda, modelo simplificado

Cuando se analizaron los resultados obtenidos en un modelo lineal general, se obtiene la ecuación 1 del rendimiento de materia seca y cómo influye cada uno de sus componentes.

Ecuación 1:

$$\begin{aligned} \text{Materia Seca} = & 6.209 - 5.032 \text{ Fracción de Crema}_{0,00} + 1.358 \text{ Fracción de Crema}_{0,10} \\ & + 3.675 \text{ Fracción de Crema}_{0,20} + 0.988 \text{ Fracción de WPI}_{0,00} \\ & + 0.380 \text{ Fracción de WPI}_{0,01} + 0.608 \text{ Fracción de WPI}_{0,02} \end{aligned}$$

En esta ecuación se contrastaron los diferentes factores en este caso el valor más alto es la variable independiente con un valor de 6.209, los coeficientes que influyen el rendimiento de la nata. También se observó que la ausencia de crema afecta

negativamente con un coeficiente de 5.032. Otro valor que influye, pero de manera positiva es la adición de crema al 20%, con un coeficiente de 3.675. La adición de crema 10% tiene un coeficiente de 1.358.

Si no se adiciona WPI se obtiene un coeficiente de 0.988, el coeficiente para concentración de WPI al 1% es de 0.380 y por último la adición de WPI al 2% tiene un coeficiente de 0.608. Usando como referencia estos resultados buscaron las posibles interacciones de los componentes y estas se representaron en la figura 3.

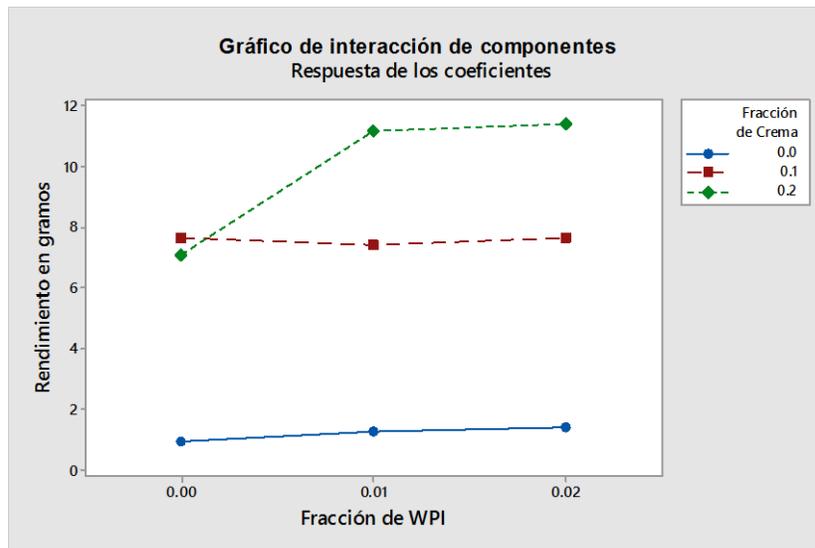


Gráfico 3. Gráfico de interacciones de las fracciones de crema y WPI

En el gráfico de interacciones se aprecia como la adición de crema a concentraciones del 10% y el 20%, aporta los valores más elevados, en rendimiento de nata. Sin embargo, el contenido de materia seca de la mezcla que contiene crema al 20% sin la adición de WPI es significativamente menor en rendimiento, que cuando se adicionó WPI al 1%.

onde se observa cómo se incrementa de manera significativa el rendimiento sobre los niveles del 10% de contenido de crema, significa que la fracción de WPI presente interacciona con la fracción de crema al 20% maximizando el rendimiento de nata en base seca. Para el WPI que se adicionó sin ninguna fracción de crema a la leche no se observa algún incremento de materia seca significativo.

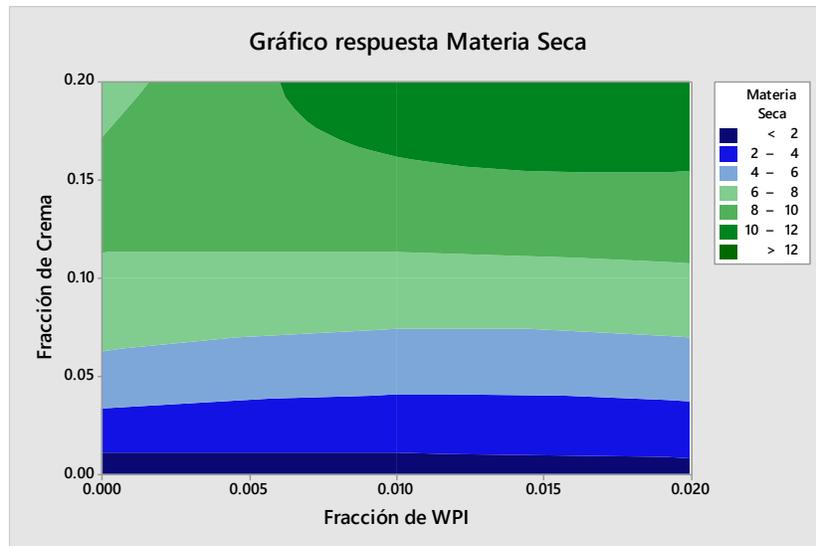


Gráfico 4. Contorno de respuesta de las fracciones de crema y WPI del primer modelo.

En el gráfico de contorno se observa el rendimiento en base seca de la interacción de los componentes de la mezcla; aunque no se define un punto central claro, por lo cual se decidió generar un nuevo modelo complementario.

Este también es un modelo de mezclas de vértices extremos, donde se ajustan los contenidos de WPI con rango del 1% y 3%; para la crema se ajusta a niveles del 15% y del 30%, donde se representan las fracciones de cada componente en la tabla 4.

Tabla 6. Fracciones del modelo de mezclas de vértices extremos complementario.

Fracción leche	Fracción crema	Fracción WPI	Materia seca *
0.84	0.15	0.01	9.83±1.12
0.82	0.15	0.03	1.80±0.71
0.69	0.30	0.01	15.06±1.20
0.67	0.30	0.03	2.43±0.93

*gramos de solido seco / 100 gramos de base húmeda, modelo simplificado.

De este segundo modelo se obtiene la ecuación 2 que representa al modelo lineal donde se observan los valores de interacción de los diferentes coeficientes.

Ecuación 2:

$$\text{Materia Seca} = 7.083 - 1.664 \text{ Fracción de Crema}_{0.15} + 1.664 \text{ Fracción de Crema}_{0.30} + 4.967 \text{ Fracción de WPI}_{0.01} - 4.967 \text{ Fracción de WPI}_{0.03}$$

Se observa claramente a la variable independiente con el valor más alto en 7.083, los coeficientes de crema son prácticamente iguales para fracciones del 15 y 30% con un valor de 1.664, aunque no son los mayores. Los coeficientes que influyen directamente en este modelo son las fracciones de WPI, que en valores del 1% nos arroja un coeficiente de 4.967 positivo mientras que en valores de del 3% se obtiene el mismo valor, pero de manera negativa, afectando significativamente el rendimiento de producción de nata, la interacción de las fracciones de crema y WPI del segundo modelo se presenta en la figura 5.

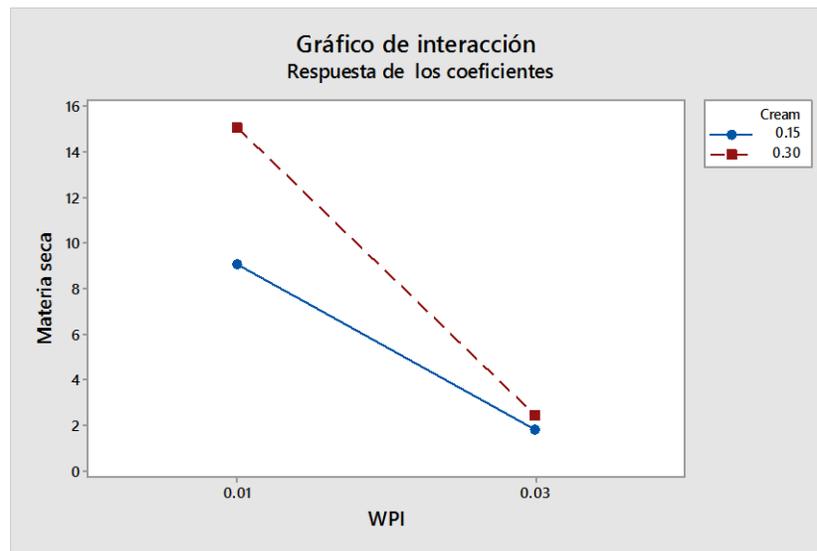


Gráfico 5. Interacción de las fracciones del segundo modelo

La respuesta en rendimiento de nata en el segundo modelo es reducida cuando la fracción de WPI está en niveles del 3% y el efecto de adición de crema en un 30% en estos niveles de concentración de WPI no favorece un incremento en el rendimiento de nata de leche, tampoco se observa en el gráfico la interacción entre las fracciones, para estos niveles de concentración.

La adición de crema al 30% y la adición de WPI es del 1%, es cuando se obtiene un mayor rendimiento de materia seca de la nata, este efecto se observa en la figura 6.

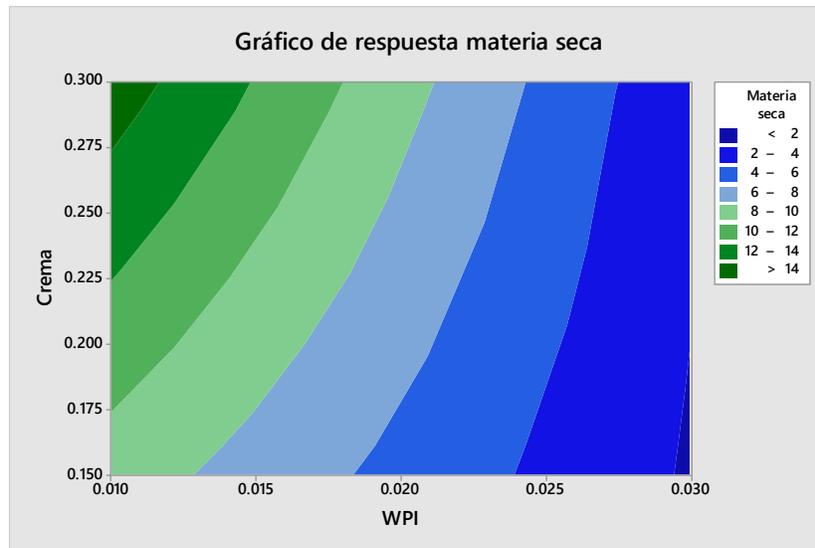


Gráfico 6: Contorno de respuesta de las fracciones de crema y WPI del segundo modelo

El modelo final optimizado se pronosticó con los resultados de la materia seca y a partir de este se calculó que el máximo rendimiento de nata se consigue con una concentración máxima del 78% de leche, un 20% de crema añadida y un 2% de WPI. Se ilustra en la figura 7.

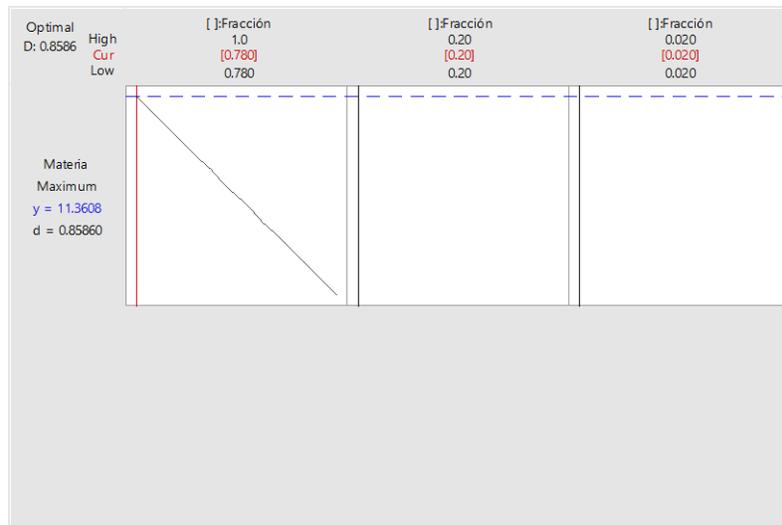


Gráfico 7. Predicción del máximo rendimiento de materia seca.

Se comprobó el rendimiento de la nata optimizada de acuerdo con el modelo predicción, se calculó el contenido de materia seca en este caso fue de 10.5756 ± 0.480 gramos de materia seca obtenidos de 100 gramos de mezcla base húmeda inicial.

Cualitativamente se observó que en las diferentes pruebas de adición de crema y de WPI a la leche, esta no tolera un contenido mayor del 2% de WPI ya que se gelifica y forma una especie de queso, también se observó que niveles mayores a un 30% de crema se modifica la viscosidad demasiado solidificándose y perdiendo las características propias la nata, formando algo parecido a una mantequilla.

Esto explica como la presencia de WPI en menor concentración, interacciona con la crema para la formación de nata; sin embargo, mencionan Singh & Ye, 2020 que: “La adición de altos niveles de proteína de suero en los productos alimenticios generalmente causa problemas excesivos de espesamiento y estabilidad durante el procesamiento”.

Además, el efecto del tratamiento térmico influye en la estructura de las proteínas del suero, las cuales al extenderse una parte de sus residuos no polares rompen la tensión interfacial de la emulsión (Singh & Ye, 2020).

Se observa en la formación de la nata que a pesar de la adición de crema esta satura la mezcla de grasa y tiene una consistencia más sólida parecida a la mantequilla. En cambio, la adición de WPI en un uno y dos por ciento crea una nata más elástica, más dura y menos fracturable, aunque se observa que esta no posee una homogeneidad ya que se encuentran más grumosa y con partículas atrapadas en su interior. La leche ante la adición de crema y WPI tiende a aumentar su viscosidad. La nata sigue siendo una matriz heterogénea, por lo tanto, la interacción del WPI y de la crema no se mantiene de manera uniforme en las diferentes concentraciones. También se observa en la nata que esta puede retener en su interior un cierto porcentaje de leche en estado líquido que influye de manera significativa en su estructura y rendimiento, esta leche a pesar de filtrar la nata permanece atrapada hasta la deshidratación total de la nata.

7.6 Textura de la nata.

De acuerdo con el análisis de perfil de textura (APT) realizado a la nata se analizan las respuestas del primer ciclo de compresión los valores obtenidos son los siguientes:

Tabla 7. Resumen de resultados de análisis de perfil de textura

Mezcla analizada	Firmeza (N)	Consistencia (N*s)	Cohesividad (N)	Adhesividad (N*s)
Leche 100%	1.559±0.016	0.0075±0.0012	0.465±0.072	0.0044±0.0008
Leche 98%	3.337±0.475	0.0188±0.0034	1.228±0.003	0.0049±0.0029

WPI 2%					
Leche	80%	5.151±1.335	0.0234±0.0004	0.965±0.548	0.0016±0.0007
crema 20%					
Leche	78%	5.121±4.338	0.0333±0.0268	1.603±0.659	0.0097±0.0012
crema 20%					
WPI 2%					
Leche	99%	5.930±1.293	0.0283±0.0037	3.013±0.675	0.1219±0.1501
WPI 1%					
Leche	90%	9.703±1.491	0.0462±0.0076	2.880±1.660	0.0168±0.0205
crema 10%					
Leche	80%	4.825±0.838	0.0221±0.0016	1.429±0.065	0.0050±0.0026
crema 20%					
WPI 1%					
Leche	88%	3.339±2.295	0.0138±0.0056	1.078±0.672	0.0040±0.0007
crema 10%					
WPI 2%					
Leche	89%	3.930±1.390	0.0184±0.0036	1.431±0.880	0.0108±0.0006
crema 10%					
WPI 1%					

En este análisis se considera como control de la muestra la nata formada de manera natural, por lo tanto, la única mezcla de nata que se analizó puede considerarse diferente a la natural que es la mezcla que posee un 1% de WPI.

Dentro de las variables que se observa en la nata en general hay una de gran importancia en este caso es el contenido de leche líquida que puede quedar atrapado en esta. Influye mucho en sus propiedades texturales, al cambiar la dispersión y distribución de sus gránulos. Esto se debe en gran medida a que durante el proceso de formación de la nata la superficie que está en contacto directo con la leche atrapa parte de la leche que no se separa por completo en la filtración de esta.

También se observa que durante la formación de la nata se forma una espuma, solo que a diferencia de una crema batida este aire escapa del interior de la nata formándose la estructura heterogénea característica. (Vélez-Ruiz & Barbosa-Cánovas, 1997)

7.7 Resultados de peróxidos.

En el gráfico 8 se aprecia el comportamiento del peróxido presente en las muestras de nata natural y de nata optimizada que se almacenó en diferentes temperaturas. En el caso de la nata natural, se encontró un mayor índice de peróxidos en el día 7 cuando se almacena a temperatura ambiente, a temperatura de refrigeración se observa una mayor actividad al día 2, cuando es almacenada en condiciones de calor la máxima concentración de peróxidos ocurre en el día 4.

Tabla 8. Resultados de peróxidos en la nata.

Muestra	Temperatura de control	Día							
		0	1	2	3	4	7	14	
Nata de leche entera	20°	0.1511 ^a	0.1551 ^a	0.6364 ^b	2.0158 ^b	2.4386 ^c	3.8608 ^c	6.1623 ^d	
	4°	0.3557 ^a	0.3935 ^a	0.8150 ^b	1.0785 ^b	3.7279 ^c	3.7823 ^c	4.1166 ^d	
	40°	0.7758 ^a	0.9176 ^a	1.0718 ^b	2.3908 ^b	2.8121 ^c	3.4383 ^c	8.5169 ^d	
Nata optimizada	20°	0.4737 ^a	0.6335 ^a	1.2704 ^b	2.2901 ^b	2.4926 ^c	3.9563 ^c	5.2373 ^d	
	4°	0.1991 ^a	0.2114 ^a	0.6471 ^b	0.7283 ^b	1.5336 ^c	1.9466 ^c	3.3295 ^d	
	40°	1.1848 ^a	1.2214 ^a	1.6449 ^b	1.6498 ^b	2.0740 ^c	3.3117 ^c	8.9778 ^d	

Resultado en miliequivalentes de O₂ sobre kilogramo de muestra.

Las muestras de nata se analizaron empleando el software IBM SPSS Statistics versión 20, por medio de un diseño factorial completamente al azar con una comparación de medias de Tukey, con una $P < 0.05$. Donde se analizaron las variables de comportamiento entre la muestra optimizada y natural, el contenido de peróxidos por días y la temperatura de almacenamiento.

En el caso la nata natural y la nata optimizada no se comportaron de manera significativamente diferente en condiciones de almacenamiento. Esto confirmó que la muestra de nata optimizada es igual que la nata obtenida de leche entera en su proceso de oxidación de las grasas.

El comportamiento diario mostró que el incremento de peróxidos, durante los días 0, 1, 2 y 3 no fue significativamente diferente, en cambio los días 4, 7 y 14 sí existió diferencia significativa y el contenido de peróxidos fue marcadamente mayor en el día 7 y 14.

En las temperaturas tampoco existió una diferencia significativa del contenido de peróxidos con respecto a la temperatura de almacenamiento. Esto demostró que la

oxidación de la grasas es uniforme independientemente si la temperatura es refrigeración, ambiente o calor. Esto se puede relacionar a el contenido de la grasa satura que contiene la crema de leche ya que esta es más resistente al proceso de oxidación (Barden, 2013).

De acuerdo con lo reportado (González, 2003) los contenidos de peróxidos en mantequillas que sean menores a 1 mEq/kg se consideran productos frescos, cuando se encuentra en valores menores a 10 mEq/kg ya altera o modifica el sabor de las grasas causando rancidez, aunque el análisis realizado a las muestras si presentan fuerte olor a rancio las muestras almacenadas a 20°.

7.8 Resultados microbiológicos

En la tabla 6 se presentan los resultados de los microorganismos presentes en la muestra de nata natural, como crecen durante un periodo de catorce días a tres temperaturas de almacenamiento diferentes.

Tabla 9. Resultado microbiológico de la nata de leche entera.

Muestreo	Temperatura de control	día 0	día 7	día 14
Mesófilos aerobios totales	4°	<100 ^{a*}	<100 ^{+a}	1.3x10 ^{3b}
	20°	<100 ^{a*}	4x10 ^{3a}	8.7x10 ^{3b}
	40°	<100 ^{a*}	6.4x10 ^{4b}	1.2x10 ^{6c}
Coliformes totales	4°	<100 ^{a*}	<100 ^{*a}	<100 ^{*a}
	20°	<100 ^{a*}	<100 ^{*a}	<100 ^{*a}
	40°	<100 ^{a*}	<100 ^{*a}	<100 ^{*a}
Hongos y levaduras	4°	<10 ^{a*}	<10 ^{*a}	<10 ^{*a}
	20°	<10 ^{a*}	<100 ^{*a}	3.1x10 ^{3b}
	40°	<10 ^{a*}	1x10 ^{2a}	3.1x10 ^{5c}

Valores expresados en UFC/ gr, *valor estimado.

Para el caso de la nata optimizada con un contenido de 20% de crema y un 2% de WPI se presenta en la tabla 7 su contenido microbiológico.

Tabla 10. Resultado microbiológico de la nata optimizada.

Muestreo	Temperatura de control	día 0	día 7	día 14
Mesófilos aerobios totales	4°	<100 ^{a*}	600 ^a	2x10 ^{4a}

	20°	<100 ^{a*}	2.4x10 ^{3a}	1.7x10 ^{5b}
	40°	<100 ^{a*}	5.1x10 ^{5b}	6x10 ^{6c}
Coliformes totales	4°	<100 ^{a*}	<100 ^{*a}	<100 ^{*a}
	20°	<100 ^{a*}	<100 ^{*a}	<100 ^{*a}
	40°	<100 ^{a*}	<100 ^{*a}	<100 ^{*a}
Hongos y levaduras	4°	<10 ^{a*}	<10 ^{*a}	<10 ^{*a}
	20°	<10 ^{a*}	100 ^a	3.2x10 ^{3b}
	40°	<10 ^{a*}	1.8x10 ^{3b}	2.1x10 ^{4b}

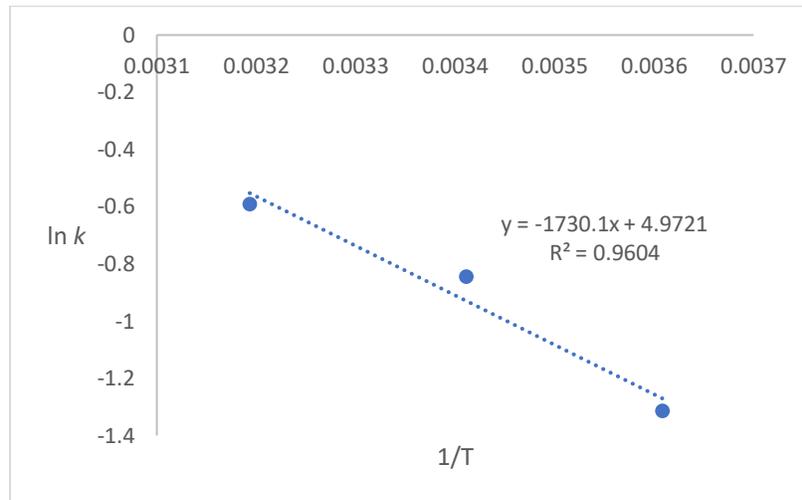
Valores expresados e UFC/gr, *valor estimado.

Comparado los contenidos de cada muestra con el contenido recomendado por la NOM 243-SSA1-2010 (SE, 2010) donde el conteo de mesófilos aerobios recomendado en productos lácteos debe ser menor a 100,000 UFC/gr. En el caso de los coliformes totales son menores a 100 UFC/gr lo cual demuestra que el tratamiento de calor los elimina durante el proceso de producción. Los valores observados en la nata natural, no se supera el conteo solo en almacenamiento a temperatura de 40°C y después de 14 días. Mientras que en la nata optimizada se observa que este valor es superado por la nata almacenada a temperatura ambiente en un periodo mayor a 14 días y sobre todo a temperaturas de 40°C el crecimiento es significativo.

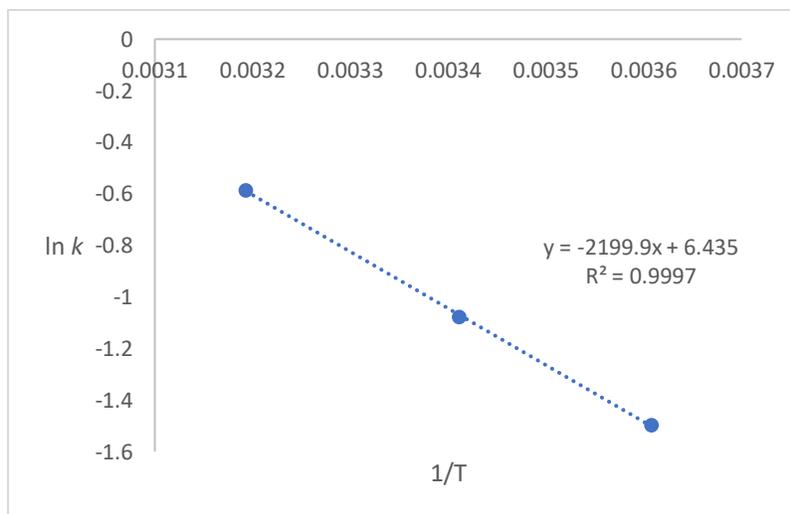
7.9 Resultado perfil de vida de anaquel

De acuerdo con los valores estimados en el análisis de peróxidos y microbiológicos se estima el tiempo de deterioro del alimento.

En la gráfica 9 se graficó el comportamiento del inverso de la temperatura absoluta (1/T en °K) y el valor de $\ln k$, para las muestras de nata natural, donde k son los valores diferenciales de concentración de peróxidos sobre la diferencia en días. Mientras que en el grafico 10 se muestran los mismos valores, pero para las muestras de nata optimizada.

Gráfico 8. Comportamiento de la reacción de oxidación en la nata natural

Influencia de la temperatura en la constante de velocidad de reacción

Gráfico 9. Comportamiento de la reacción de oxidación en la nata optimizada

Influencia de la temperatura en la constante de velocidad de reacción

Despejado en las ecuaciones de la recta el valor de energía de activación (E_a), se obtiene que para la nata natural es de -14369.90 j/mol y para la nata optimizada es de -18291.00 j/mol respectivamente. Como se observó que en ambos casos el resultado se encuentra en el eje negativo, lo cual demostró que la oxidación de los ácidos grasos de la nata es una reacción exotérmica y espontánea.

También se calculó con la ayuda de la energía de activación, el coeficiente de temperatura y la vida final del producto valores que son de suma importancia para conocer las condiciones adecuadas de almacenamiento estos se muestran en la tabla 10.

Tabla 11. Vida final de la nata y coeficiente de temperatura

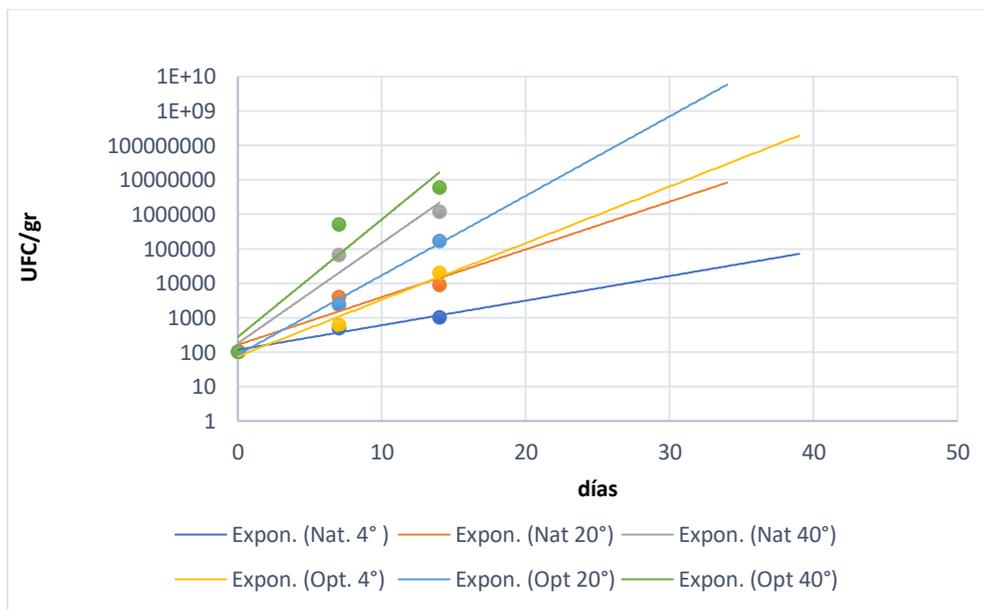
Temperatura	4°	20°	40°	Q ₁₀
Nata natural	16.04 ^a	8.94 ^a	5.83 ^a	0.8147±0.01
Nata optimizada	20.61 ^a	11.00 ^a	5.07 ^a	0.7812±0.02

Días para alcanzar los 20 mEq de O₂.

Como se observa en los resultados de la nata optimizada, no mostro ninguna diferencia significativa en su tiempo de conservación respecto a la nata natural, puede ser atribuido a que los ingredientes adicionados siguen siendo componentes de la leche.

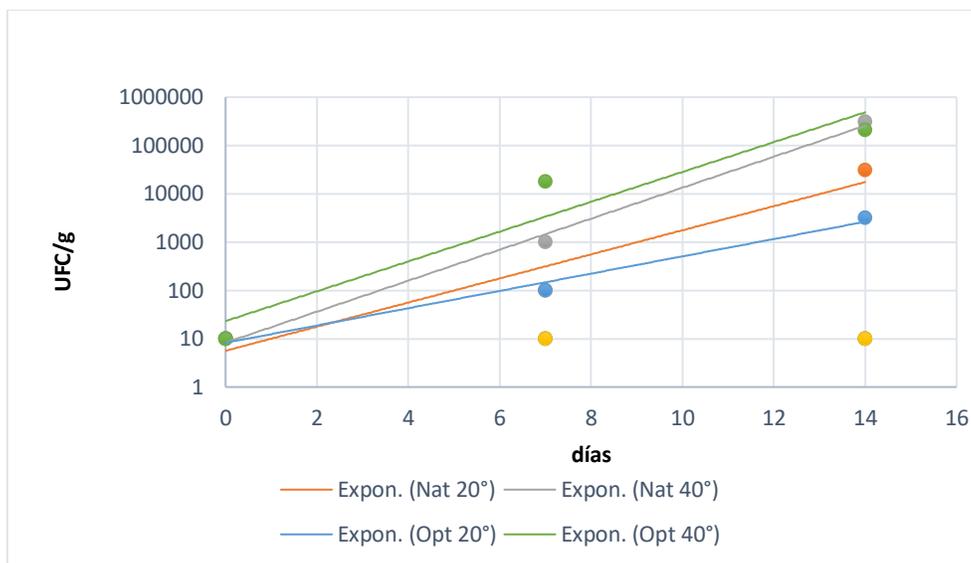
Para cuantificar el contenido de microorganismos a través de los días se representó su comportamiento en el gráfico 11 y 12, donde se extrapoló el crecimiento microbiano de mesófilos aerobios y de hongos y levaduras. Los coliformes fueron eliminados por el tratamiento térmico y no mostraron presencia en las muestras.

Gráfico 10. Crecimiento estimado de mesófilos aerobios totales



Días transcurridos

Gráfico 11. Crecimiento estimado de hongos y levaduras.



Días transcurridos contra contenido microbiano.

Los datos de los gráficos se evaluaron y se estimó el tiempo de almacenamiento en la tabla 10. Se observó que para hongos y levaduras almacenados en refrigeración no existe un crecimiento durante los 14 días de almacenamiento.

Tabla 12. Estimación de crecimiento de microorganismos

Muestra	Ecuación de regresión exponencial	R ²	Días	Temperatura de almacenamiento
Nata de leche entera mesófilos aerobios totales	$y = 116.5e^{0.1645x}$	0.9499	45.27	4°
	$y = 162.47e^{0.319x}$	0.8759	22.30	20°
	$y = 180.11e^{0.6709x}$	0.9550	10.45	40°
Nata optimizada mesófilos aerobios totales	$y = 75.141e^{0.3785x}$	0.9663	20.83	4°
	$y = 83.495e^{0.5313x}$	0.9930	14.62	20°
	$y = 275.1e^{0.7859x}$	0.9078	5.17	40°
Nata de leche entera hongos y levaduras	$y = 5.6421e^{0.5742x}$	0.9427	3.79	20°
	$y = 8.2815e^{0.7387x}$	0.9960	2.43	40°
Nata optimizada hongos y levaduras	$y = 8.2377e^{0.412x}$	0.9866	4.37	20°
	$y = 5.6421e^{0.5742x}$	0.9427	0.54	40°

Días para alcanzar en mesófilos totales las 2x10⁵ UFC/g y 50 UFC/g en hongos y levaduras.

Al revisar la calidad del producto de acuerdo con la temperatura de almacenamiento, se considera de suma importancia mantener la cadena de frío y el uso de un conservador de inhibición bacteriana puede utilizarse para prolongar la vida de anaquel.

7.10 Proceso de producción propuesto.

En la imagen 8 se plantea el proceso de elaboración de la nata a escala comercial, empleando la formulación optimizada y aplicando en la leche fresca de vaca.

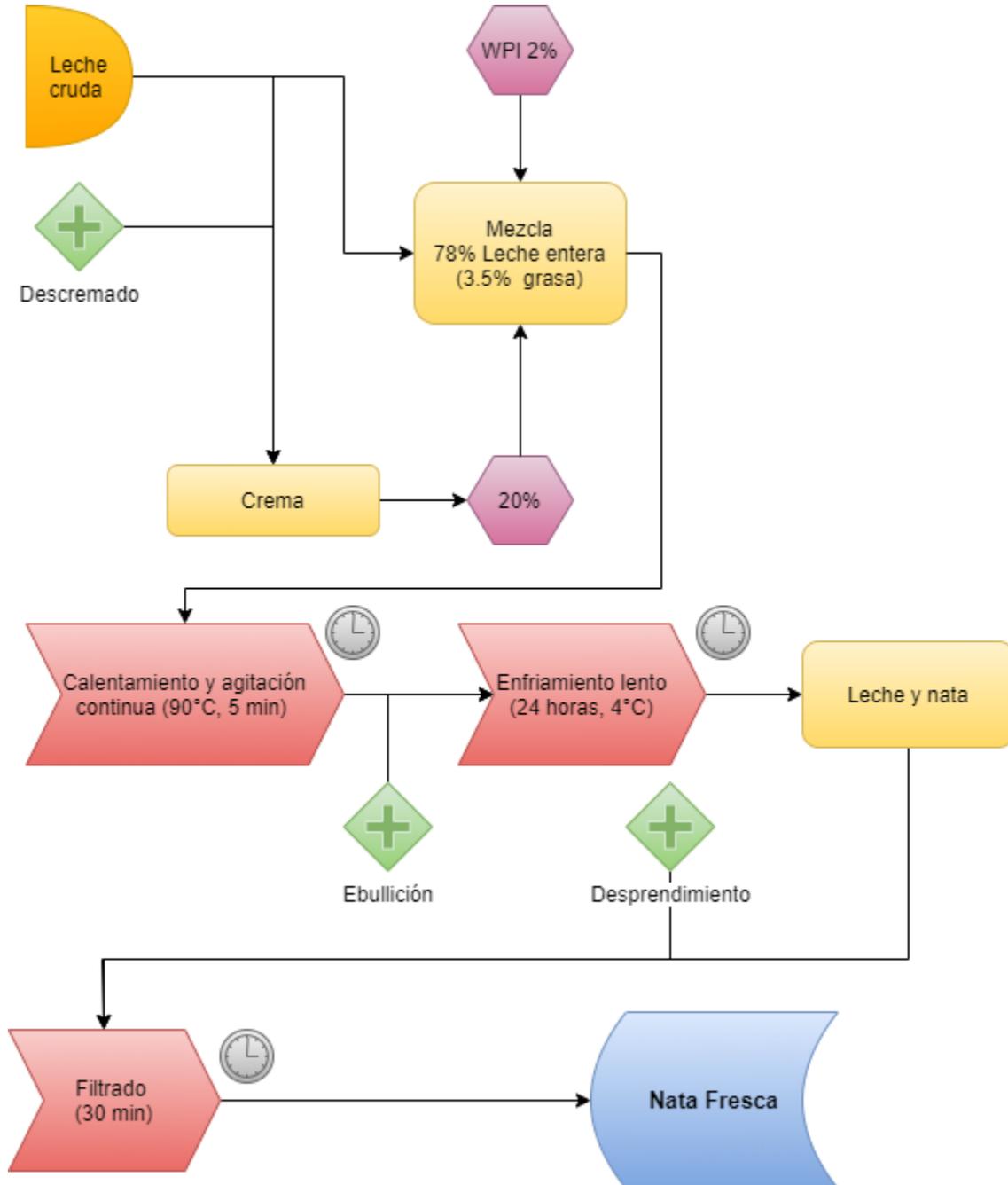


Imagen 11. Diagrama de producción de nata

7.11 Análisis de viabilidad económica

Para revisar que tan factible es realizar el proceso propuesto se consideran los costos de las materias primas, el costo del gasto energético, la merma de leche por evaporación y el valor de venta del producto final. Con los datos consultados se calculó el costo de producción de un kilogramo de nata de leche entera y el costo de producir un kilogramo de nata optimizada.

El primer apartado a evaluar es el costo de las materias primas empleadas, donde se consulta los precios reportados a nivel nacional. El precio fijado para la leche cruda de vaca a nivel nacional es de \$8.20 por cada litro (SEGALMEX, 2020), el costo comercial de la crema natural en las tiendas es de \$40.00 por kilogramo (PROFECO, 2020), el costo del aislado proteico de suero (WPI) es de \$250.00 por kilogramo.

También se calculó el costo de la energía empleada para hervir la leche, en este caso la capacidad calorífica de la leche es de 3.85 kilojoule por un kilogramo. Se emplean aproximadamente 347 kilojoule para elevar a 90 °C la leche y mantener así durante 5 minutos. El costo del gas licuado a nivel nacional \$18.50 y este tiene 46050 kilojoule por kilogramo (CRE, 2020). Por lo tanto, solo se requieren 0.007kg por cada kilogramo de leche, con un valor es de solo 13 centavos de peso.

De acuerdo con la PROFECO (2020) en las tiendas de conveniencia se encuentran marcas comerciales de nata de leche de vaca con un valor aproximado de \$200.00 por kilogramo de producto.

Normalmente en la leche entera bovina se obtiene 28.85 ± 5.14 gramos de nata por kilogramo de leche, el agua que se evapora es alrededor del 7.5%. Entonces de un kilogramo de leche entera la nata obtenida tiene un valor de \$5.77 aproximadamente, y el costo de la leche, la energía empleada y las pérdidas por evaporación son de \$9.01 pesos mexicanos.

Durante la investigación realizada se analizaron los costos de producción de nata optimizada para un kilogramo de muestra. Se emplean 0.78 kilogramos de leche entera bovina, con un valor de \$6.40. También se agregan 200 gramos de crema con un valor de \$8.00 y finalmente se añadió 20 gramos de WPI con un valor de \$5.00. sumando el gasto energético de 0.007kilogramos de gas licuado con un costo de 13¢ de peso mexicanos y pérdidas por evaporación de leche de \$1.47 pesos mexicanos. Suma un total de \$21.15 de costo de la mezcla optimizada, pero la nata obtenida pesa aproximadamente 130 ± 5.10

gramos con un valor comercial es de \$26.00 pesos mexicanos. Esto nos genera una utilidad de \$4.85 pesos por kilogramo de mezcla. La comparación de costos se muestra en la tabla 13.

Tabla 13. Comparación de costos de producción de nata

Producto	Cantidad empleada	Costos de nata de leche entera	Cantidad empleada	Costo de nata de mezcla optimizada
Leche entera bovina	1000 gramos	\$8.20	780 gramos	\$6.40
Crema cruda bovina	0 gramos	\$0.00	200 gramos	\$8.00
WPI	0 gramos	\$0.00	20 gramos	\$5.00
Gas licuado	7 gramos	\$0.13	7 gramos	\$0.13
Perdidas por evaporación	75 gramos	\$0.68	75 gramos	\$1.47
Costo final de fabricación		\$9.01		\$21.15
Valor de la nata obtenida		\$5.77		\$26.00
Utilidad neta		-\$3.24		\$4.85

Valores calculados para la nata obtenida de un kilogramo de materia prima.

Esto demuestra que hervir leche entera cruda de vaca para vender nata no es una opción rentable, claramente la leche entera de vaca se necesita aprovechar con otro producto de valor como postres o yogur que justifique las materias primas, el costo energético y el tiempo invertido. Sin embargo, la mezcla optimizada que mejora el rendimiento de la nata genera una utilidad del dieciocho por ciento del valor de esta. Tomando en cuenta que la leche que sobra se puede emplear para postres o base para helados esto incrementa más su aprovechamiento y valor. Se demostró que es rentable la producción de la nata a partir de una mezcla optimizada.

8. Conclusiones

En el caso de las cinéticas de coalescencia se comprueba que los glóbulos de grasa de la leche no sufren ningún cambio significativo de tamaño debido a los cambios de temperatura. Se observa que el fenómeno de formación de nata no está ligado a la coalescencia de los glóbulos grasos; aunque la nata sí se forma por la interacción de las proteínas suspendidas de la leche y las proteínas de la pared de los glóbulos grasos, concluyendo que la nata es formada por la red de glóbulos grasos de la leche y no es grasa floculada de la leche.

Se comprueba que la producción de nata se puede incrementar hasta en un 200% modificando los contenidos de grasa y proteína en la leche.

El componente adicionado que tiene un mayor efecto es la crema natural agregada en un 20%, pero esto solamente se puede lograr si se adiciona un 2% de WPI, ya que su presencia interacciona con la crema y estabiliza la grasa suspendida en la leche.

El diseño de mezclas comprueba cómo interaccionan estos componentes, en el segundo modelo se comprueba que la adición excesiva de crema, alrededor 30%, y la adición excesiva de WPI, cercano al 3%, no tienen un efecto favorable en la producción de nata, por el contrario, tienen un efecto negativo. En el caso de la crema, un exceso de ésta no se mezcla adecuadamente con la leche, ya que se separa de la misma. En el caso del WPI incrementa demasiado la viscosidad de la leche gelificándola y evitando la formación de nata.

En el análisis de perfil de textura se comprobó que la modificación del contenido de grasa y proteína de la leche. No tiene un efecto significativo en las propiedades de firmeza donde la una mezcla diferente es aquella donde el WPI equivale al 2% y no tiene crema adicionada.

En el caso de cohesividad se observa el mismo efecto para la mezcla de WPI al 2% y sin adición de crema. En ambos casos la nata en observación forma una película elástica en la superficie de la leche, pero no tiene un rendimiento mayor

Las propiedades de consistencia y adhesividad no tienen un cambio significativo en ninguna mezcla.

Se comprueba también que la nata optimizada se mantiene como una alternativa rentable de baja tecnología que puede incrementar su producción.

El deterioro por oxidación de las grasas es una reacción exotérmica y es de carácter espontáneo, ocurre en los primeros días y no se detiene por la refrigeración. Por lo tanto, se recomienda la adición de un antioxidante.

Con el análisis de microorganismos patógenos se comprobó que el tratamiento térmico destruye a la mayoría de éstos, pero la nata es susceptible a una contaminación rápida por ser altamente nutritiva, Favoreciendo la presencia de hongos y levaduras que se pueden considerar el mayor factor de deterioro. Se recomienda aplicar un conservador para prevenir su crecimiento e incrementar la vida de anaquel.

9. Perspectivas

La nata es una matriz heterogénea por lo tanto se encuentra en su interior todavía burbujas de aire, leche líquida y grumos de grasa. También en cantidades elevadas de grasa se puede observar presencia de aceites. Se recomienda caracterizar los diferentes ácidos grasos presentes, evaluar la estructura a nivel microscópico de la nata natural. También evaluar la superficie de contacto de la nata con la leche, describiendo la mecánica de formación de la nata y cuáles son los factores fisicoquímicos que afectan la velocidad y la eficiencia de este proceso.

Referencias:

- A.O.A.C. (2016). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemistry. 20 editions. EUA.
- Ahmad, N., & Saleem, M. (2019). Characterization of desi ghee obtained from different extraction methods using Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 223, 117311.
- Akarca, G., Tomar, O., & Çağlar, A. (2014). Production of Afyon Kaymak with Traditional and Technological Methods. *Journal of Food Science and Engineering*, 4(3).
- Ali, B. A. T. U., ÇAĞLAR, A., & KARA, H. H. (2008). Afyon kaymagının raf ömrünün uzatılmasında modifiye atmosferde paketlenme önerisi.
- Bao Fucai, & Shi Chunguang. (1994). Experimento de producción industrializada de piel de leche tradicional de Mongolia. *Food Science*, (12), 17-19.
- Bortnowska, G., Balejko, J., Schube, V., Tokarczyk, G., Krzemińska, N., & Mojka, K. (2014). Stability and physicochemical properties of model salad dressings prepared with pregelatinized potato starch. *Carbohydrate polymers*, 111, 624-632.
- Borwankar, R. P., Lobo, L. A., & Wasan, D. T. (1992). Emulsion stability—kinetics of flocculation and coalescence. *Colloids and surfaces*, 69(2-3), 135-146.
- Both, E. M., Nuzzo, M., Millqvist-Fureby, A., Boom, R. M., & Schutyser, M. A. I. (2018). Morphology development during single droplet drying of mixed component formulations and milk. *Food Research International*, 109, 448-454.
- Bravi, E., Sileoni, V., Perretti, G., & Marconi, O. (2020). Accelerated shelf-life model of gluten-free rusks by using oxidation indices. *Food Chemistry*, 126971.
- Cakmakci, S., & Hayaloglu, A. A. (2011). Evaluation of the chemical, microbiological and volatile aroma characteristics of Ispir Kaymak, a traditional Turkish dairy product. *International journal of dairy technology*, 64(3), 444-450.
- Camacho, A., M. Giles, A. Ortegón, M. Palao, B. Serrano y O. Velázquez. (2009). Cuenta en placa de bacterias. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos, 2, 1-10. 20 junio 2020, De Administrador de Manuales y Documentos (AMyD) de la Facultad de Química, UNAM Base de datos.

- Charzyński, P., Świtoniak, M., Burneika, D., & Skorupskas, R. (2015). Food Tour in South Eastern Turkey-in the search of Culinary Heritage.
- Comisión Reguladora de Energía. (2020). Consulta de precios vigentes de gas LP mediante planta de distribución reportados por los permisionarios. 20 de mayo 2020, de Gobierno de México Sitio web: <https://www.cre.gob.mx/ConsultaPrecios/GasLP/PlantaDistribucion.html?idiom=es>
- Dehkordi, A. A., Tajbakhsh, E., Tajbakhsh, F., Khamesipour, F., Shahraki, M. M., & Momeni, H. (2015). Molecular typing of staphylococcus aureus strains from Iranian raw milk and dairy products by coagulase gene polymorphisms. *Adv. Stud. Biol*, 7(4), 169-177.
- Del Castillo, S. S. & Mestres, L. J. (2004). Productos Lácteos Tecnología. España: Univ. Politècnica. de Catalunya, pp. 65
- Dezfuli, B. T., & De Seno, L. (2016). Investigation of response to selection for milk traits in dairy Buffalo of Iran based on three sale situations. *Buffalo Bulletin*, 35(3), 405-415.
- Dong, S. K., Long, R. J., & Kang, M. Y. (2003). Milking and milk processing: traditional technologies in the yak farming system of the Qinghai-Tibetan Plateau, China. *International journal of dairy technology*, 56(2), 86-93
- Elías Peñafiel, C. E., Salvá, B., & Morales, E. (2006). *Optimización por aplicación del método de superficie de respuesta en productos cárnicos* (No. Q02 E45o). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima (Peru).
- Fazlara, A., & Jolge, H. (2018). Risk of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Infection in Humans Due to Consuming Unpasteurized Dairy Products. *Int J Enteric Pathog*, 6(1), 14-17.
- Foegeding E. A., Luck P. & Vardhanabhuti B. 2011. Whey Protein Products. En *Encyclopedia of Dairy Science* (2, 873-878) Inglaterra: Academic Press
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1973) Codex standard for milkfat: products CXS 280-1973. Codex Alimentarius. 3.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1976) Standard for Cream and prepared creams: CXS 288-1976. Codex Alimentarius. 2.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations. julio 2020, de Global Dairy Platform and IFCN Dairy Research Network Sitio web: <http://www.fao.org/3/ca7500en/CA7500EN.pdf>
- Fox P. F. 2011. History of Dairy Chemistry. En *Encyclopedia of Dairy Science* (1, 18-25) EUA: Academic Press.
- Fox, P. F. & McSweeney, P. L. H. (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry: Factors that affect the fat content of bovine milk.*, Published by Blackie Academic & Professional.
- Fox, P. F., & McSweeney, P. L. (Eds.). (2007). *Advanced dairy chemistry volume 2: lipids* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- Frøst, M. B., Dijksterhuis, G., & Martens, M. (2001). Sensory perception of fat in milk. *Food Quality and Preference*, 12(5-7), 327-336.
- Ghoddusi, H., & Özer, B. (2014). Microbiology of Cream, Butter, Ice Cream and Related Products. *Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments*, 245.
- Gigli, I. (Ed.). (2016). *Milk Proteins: From Structure to Biological Properties and Health Aspects*. BoD–Books on Demand.
- Gómez, A. D., & Bedoya-Mejia, O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno., *Revista Lasallista de Investigación*, 2:1, 38-42.
- Guo, Y. S., Zhu, J. J., Xiao, F., Sun, J. P., Qian, J. P., Xu, W. L., ... & Guo, L. (2019). Investigation of physicochemical composition and microbial communities in traditionally fermented vrum from Inner Mongolia. *Journal of dairy science*, 102(10), 8745-8755.
- Hashemi, S. M. B., Mousavi Khaneghah, A., Kontominas, M. G., Eş, I., Sant'Ana, A. S., Martinez, R. R., & Drider, D. (2017). Fermentation of sarshir (kaymak) by lactic acid bacteria: antibacterial activity, antioxidant properties, lipid and protein oxidation and fatty acid profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(13), 4595-4603.
- He Yinfeng, & Shuangquan. (1996). Investigación sobre la tecnología de fabricación y el valor nutricional de la piel de la leche. *Journal of Inner Mongolia Agriculture and Animal Husbandry College*, 17 (3), 45-47.

- Herzallah, S. M., Humeid, M. A., & Al-Ismaïl, K. M. (2005). Effect of heating and processing methods of milk and dairy products on conjugated linoleic acid and trans fatty acid isomer content. *Journal of Dairy Science*, 88(4), 1301-1310.
- Hoffmann, W. (2011). CREAM ěrb1| 1 Manufacture. Academic Press.
- Hoffmann, W. 2011. Cream, Manufacture. En Encyclopedia of Dairy Science (1, 912-919) Germany: Academic Press.
- Hongxia, Z. (2007). Processing and Nutrition Analysis of Vrum and Fermented Milk Curd [J]. *Journal of Dairy Science and Technology*, 4.
- Houlihan, A. V., Goddard, P. A., Nottingham, S. M., Kitchen, B. J., & Masters, C. J. (1992). Interactions between the bovine milk fat globule membrane and skim milk components on heating whole milk. *Journal of Dairy Research*, 59(2), 187-195.
- Jang, H. D., & Swaisgood, H. E. (1990). Disulfide bond formation between thermally denatured β -lactoglobulin and κ -casein in casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 73(4), 900-904.
- Kelleher, C. M., O'Mahony, J. A., Kelly, A. L., O'Callaghan, D. J., & McCarthy, N. A. (2018). Evaluation of models for temperature-dependent viscosity changes in dairy protein beverage formulations during thermal processing. *Journal of food science*, 83(4), 937-945.
- Kelly, P. M. 2011. Milk Protein Concentrate. En Encyclopedia of Dairy Science (2, 848-854) Inglaterra: Academic Press
- Kentish, S., Davidson, M., Hassan, H., & Bloore, C. (2005). Milk skin formation during drying. *Chemical Engineering Science*, 60(3), 635-646.
- Kim, E. H. J., Chen, X. D., & Pearce, D. (2009). Surface composition of industrial spray-dried milk powders. 2. Effects of spray drying conditions on the surface composition. *Journal of Food Engineering*, 94(2), 169-181.
- Lanotte, L., Boissel, F., Schuck, P., Jeantet, R., & Le Floch-Fouéré, C. (2018). Drying-induced mechanisms of skin formation in mixtures of high protein dairy powders. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 553, 20-27.

- Lee, C. L., Liao, H. L., Lee, W. C., Hsu, C. K., Hsueh, F. C., Pan, J. Q., ... & Chen, M. J. (2018). Standards and labeling of milk fat and spread products in different countries. *Journal of food and drug analysis*, 26(2), 469-480.
- Lewis, M. J. (1994). MODERN DAIRY TECHNOLOGY. Heat Treatment of Milk. UK: 1, (1-60). SPRINGER-SCIENCE+BUSINESS MEDIA, B.V.
- Liu, S. N., Han, Y., & Zhou, Z. J. (2011). Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. *Food Research International*, 44(3), 643-651.
- Lopez, C., Madec, M. N., & Jimenez-Flores, R. (2010). Lipid rafts in the bovine milk fat globule membrane revealed by the lateral segregation of phospholipids and heterogeneous distribution of glycoproteins. *Food Chemistry*, 120(1), 22-33.
- Lopez, C., Madec, M. N., & Jimenez-Flores, R. (2010). Lipid rafts in the bovine milk fat globule membrane revealed by the lateral segregation of phospholipids and heterogeneous distribution of glycoproteins. *Food Chemistry*, 120(1), 22-33.
- Lu, K. H., Sheen, Y. J., Huang, T. P., Kao, S. H., Cheng, C. L., Hwang, C. A., ... & Sheen, L. Y. (2020). Effect of temperature on the growth of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat cooked rice with pork floss. *Food Microbiology*, 89, 103374.
- Ma, Y., & Barbano, D. M. (2000). Gravity separation of raw bovine milk: fat globule size distribution and fat content of milk fractions. *Journal of dairy science*, 83(8), 1719-1727.
- Man, C. D., & Jones, A. A. (Eds.). (1994). Shelf life evaluation of foods. Glasgow: Blackie Academic & Professional.
- Martins, C. P., Cavalcanti, R. N., Couto, S. M., Moraes, J., Esmerino, E. A., Silva, M. C., ... & Cruz, A. G. (2019). Microwave processing: current background and effects on the physicochemical and microbiological aspects of dairy products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(1), 67-83.
- McCarthy, O. J. 2011. Physical and Physico-Chemical Properties of Milk. En Encyclopedia of Dairy Sciences (3, 467-477) Nueva Zelanda: Academic Press.
- Michalski, M. C., Cariou, R., Michel, F., & Garnier, C. (2002). Native vs. damaged milk fat globules: membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2451-2461.

- Mielby, L. H., & Frøst, M. B. (2010). Expectations and surprise in a molecular gastronomic meal. *Food quality and preference*, 21(2), 213-224.
- Mielby, L. H., & Frøst, M. B. (2010). Expectations and surprise in a molecular gastronomic meal. *Food quality and preference*, 21(2), 213-224.
- Munguntuya, B. (2016). The Safety of Mongolian Dairy Production. *J Mod Soc Culture*, 63, 257-85.
- Muñoz, R. (2012). Larousse diccionario enciclopédico de la gastronomía Mexicana.
- Nabhan, M. A., Girardet, J. M., Campagna, S., Gaillard, J. L., & Le Roux, Y. (2004). Isolation and characterization of copolymers of β -lactoglobulin, α -lactalbumin, κ -casein, and α S1-casein generated by pressurization and thermal treatment of raw milk. *Journal of dairy science*, 87(11), 3614-3622.
- Narvhus, J. A., Østby, N., & Abrahamsen, R. K. (2019). Science and technology of cultured cream products: A review. *International dairy journal*.
- O'Connell J. E. & Fox P. F. 2011. Heat Stability of Milk. En Encyclopedia of Dairy Science (2, 744-749) Ireland: Academic Press
- OECD/FAO. (2018). Dairy and dairy products. 20 junio 2020, de Food and Agriculture Organization of the United Nations Sitio web: http://www.fao.org/3/CA4076EN/CA4076EN_Chapter7_Dairy.pdf
- Pamuk, Ş. (2017). Geleneksel Afyon kaymağı üretimi. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 12(1), 84-89.
- Park, Y. W., Haenlein, G. F., & Wendorff, W. L. (Eds.). (2006). *Handbook of milk of non-bovine mammals*. Ames, IA: Blackwell.
- Pimentel-González, D. J., Campos-Montiel, R. G., Lobato-Calleros, C., Pedroza-Islas, R., & Vernon-Carter, E. J. (2009). Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 42(2), 292-297.
- Pons, M., & Fiszman, S. M. (1996). Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. *Journal of texture studies*, 27(6), 597-624.

- Procuraduría Federal del Consumidor. (2020). Quién es Quién en los Precios. 20 de mayo 2020, de Gobierno de México Sitio web: <https://www.profeco.gob.mx/precios/canasta/default.aspx>
- Rosenthal, A. J. (2010). Texture profile analysis—how important are the parameters?. *Journal of texture studies*, 41(5), 672-684.
- Sadek, C., Pauchard, L., Schuck, P., Fallourd, Y., Pradeau, N., Le Floch-Fouéré, C., & Jeantet, R. (2015). Mechanical properties of milk protein skin layers after drying: Understanding the mechanisms of particle formation from whey protein isolate and native phosphocaseinate. *Food Hydrocolloids*, 48, 8-16.
- Santipanichwong, R., & Supphantharika, M. (2007). Carotenoids as colorants in reduced-fat mayonnaise containing spent brewer's yeast β -glucan as a fat replacer. *Food Hydrocolloids*, 21(4), 565-574.
- Schröder, A., Sprakel, J., Schroën, K., Spaen, J. N., & Berton-Carabin, C. C. (2018). Coalescence stability of Pickering emulsions produced with lipid particles: A microfluidic study. *Journal of food engineering*, 234, 63-72.
- Seçkin, A. K., Gursoy, O., Kinik, O., & Akbulut, N. (2005). Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish dairy products. *LWT-Food Science and Technology*, 38(8), 909-915.
- Secretaría de Economía. (2010). NORMA MEXICANA NMX-F-154-SCFI-2010. Diario Oficial de la Federación , 1, 1-12. 20 junio 2020, De Catalogo de Normas Base de datos.
- Seguridad Alimentaria Mexicana. (2020). programa Precios de Garantía a lecheros. 20 mayo 2020, de Gobierno de México Sitio web: <https://www.gob.mx/segalmex/articulos/presenta-segalmex-programa-precios-de-garantia-a-lecheros>.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (06 de marzo de 2018). La ganadería: símbolo de fortaleza del campo mexicano. 20 diciembre 2019, de Gobierno de México Sitio web: <https://www.gob.mx/siap/articulos/la-ganaderia-simbolo-de-fortaleza-del-campo-mexicano>

- Singh, H., & Ye, A. (2014). Chapter 12—Interactions and Functionality of Milk Proteins in Food Emulsions. *Milk Proteins (Second edition). From Expression to Food. A volume in Food Science and Technology*, 359-386.
- Singh, H., & Ye, A. (2020). Interactions and functionality of milk proteins in food emulsions. In *Milk proteins* (pp. 467-497). Academic Press.
- Singh, R. P. (1994). Scientific principles of shelf life evaluation. In *Shelf life evaluation of foods* (pp. 3-26). Springer, Boston, MA.
- U.S. Department of Agriculture. (4 de enero 2019). FoodData Central Search Results. United States Recuperado de <https://ndb.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/495516/nutrients>
- Villegas de Gante A., Santos-Moreno A. & Cervantes-Escoto F. (Enero 2016). Los quesos mexicanos tradicionales. 2019, de Universidad Autónoma Chapingo Sitio web: <https://www.researchgate.net/publication/314206970>
- Walstra, P., Walstra, P., Wouters, J. T., & Geurts, T. J. (2005). *Dairy science and technology*. CRC press.
- Yong, H. U. (2008). Research on Manufacture Technology of Urum with Yak. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 1.
- Yong, H. U. (2008). Study on Production Technology of Milk Skin of Yak. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, (6), 06.
- Zhao, H. X., & Li, Y. B. (2007). Processing and nutrition analysis of Wrum and fermented milk curd in Inner Mongolia. *Food Science and Technology*, 12.
- Zhong, Z., Hou, Q., Kwok, L., Yu, Z., Zheng, Y., Sun, Z., ... & Zhang, H. (2016). Bacterial microbiota compositions of naturally fermented milk are shaped by both geographic origin and sample type. *Journal of dairy science*, 99(10), 7832-7841.