

00528
38



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO DE UN ANALOGO DE
QUESO PARA REGIMEN ESPECIAL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

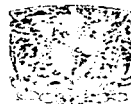
QUIMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA:

YARLA GALVEZ CRUZ



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2003



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente	Prof. (a) María Elena Cañizo Suárez
Vocal	Prof. (a) Lucía Cornejo Barrera
Secretario	Prof.(a) Amelia Ma. de Gpe. Farrés González-Saravia
Primer suplente	Prof. (a)Laura Patricia Pérez Cacep
Segundo suplente	Prof. (a) Rosa María Argote Espinosa

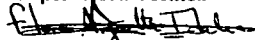
Trabajo que se desarrolló en el:

Departamento de Alimentos y Biotecnología,
Lab. 312 Conjunto "E" Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

Asesora de la Tesis


Dra. Amelia Farrés González-Saravia

Supervisora Técnica


M. en C. Idalia Ma. A. Flores Argüello

Sustentante


Yarla Gálvez Cruz

Dedicatorias

A Dios porque sin su ayuda nada en la vida sería posible.

A mis papás, Eliotli Sálviz y Laura Cruz de Sálviz, por su apoyo incondicional en todos los proyectos de mi vida y porque sin su ayuda el logro de esta Tesis no hubiera sido posible.

A mis hermanos, Oscar y Ana Laura, por lo importante que son en mi vida.

A mi esposo, Jorge Lozano, por todo su cariño y por su valioso apoyo en mi superación profesional, incluyendo la realización de esta Tesis.

A mi querido bebé, Jorgito, por el tiempo que dejé de dedicarle durante la realización de este proyecto.

A la UNAM y todos los profesores que contribuyeron a mi formación académica.

Yarla

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Amelia Farrés, por su apoyo y dedicación para alcanzar tan anhelado deseo. Gracias por su amistad y consejos durante esta etapa de mi vida.

A la M. en C. Idalia Flores, por su amistad, apoyo y contribuciones necesarias para lograr esta tesis. Muchas Gracias por todo.

Al M. en C. Luis Medina, por la realización del análisis de perfil de textura (TPA).

Al Dr. Samuel Guízar, por permitirnos acceder a la población de estudio en el Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional.

A mis compañeros del laboratorio 312 . Marisol, Patty, Rosa, Caro, Alicia, Adelfo, Ismael, Vanessa, Yazmín ,Carmen por su amistad y a las profesoras Dra. Amanda Gálvez y Dra. Ma. Carmen Quirasco por sus aportaciones a este proyecto.

D

Índice

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1 NECESIDADES NUTRIMENTALES DE LOS DIFERENTES GRUPOS DE POBLACIÓN	3
1.1.1 Alimentación y Nutrición.....	3
1.1.2 Lactantes y niños en crecimiento.....	3
1.1.3 Adolescentes.....	4
1.1.4 Adultos.....	5
1.1.4.1 Mujeres embarazadas y lactando.....	6
1.1.5 Ancianos.....	6
1.1.6 Personas con enfermedades e infecciones.....	7
1.2. ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A LA DIETA	7
1.2.1 Definiciones.....	7
1.2.2 Causas de la aterosclerosis.....	8
1.2.3 Control y prevención.....	10
1.2.4 Mortalidad por enfermedades cardiovasculares.....	11
1.3 ALTERNATIVAS DE ALIMENTOS PARA ENFERMOS CARDIACOS	12
1.3.1 Definiciones.....	12
1.3.2 Análogos de queso.....	13
1.3.2.1 Descripción y definición.....	13
1.3.2.2 Ventajas.....	14
1.3.2.3 Fórmulas existentes.....	14
1.3.2.4 Problemas que se presentan en los análogos.....	17
1.4 TEXTURA DE LOS ALIMENTOS	18
1.4.1 Definición.....	18
1.4.2 Descripción y definición de los parámetros de textura.....	18
1.4.3 Medición de la textura.....	19
1.5 REEMPLAZANTES DE GRASA	20
1.5.1 Definiciones.....	20
1.5.2 Clasificación.....	21
1.5.3 Características y propiedades.....	21
1.6 PRODUCCIÓN DE SABORES	24
1.6.1 Definición y descripción.....	24
1.6.2 Clasificación.....	24
1.6.3 Sabores obtenidos biotecnológicamente.....	25
1.6.3.1 Descripción y Definición.....	25
1.6.3.2 Reacción de hidrólisis de triglicéridos.....	26
1.6.3.3 Clasificación.....	26

1.6.3.4 Aplicaciones.....	27
1.6.3.5 Producción de lipasas microbianas.....	28
1.7 QUESOS.....	29
1.7.1 Definición.....	29
1.7.2 Clasificación.....	29
1.7.3 Proceso general de elaboración.....	31
1.7.4 Queso Manchego.....	32
1.7.4.1 Definición y Descripción.....	32
2. OBJETIVO GENERAL.....	34
2.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	34
3. METODOLOGÍA.....	35
3.1 DETERMINACIÓN DEL TIPO DE QUESO A IMITAR.....	35
3.1.1 Selección del tipo de queso a imitar con base en las preferencias de consumo de pacientes con alguna cardiopatía.....	35
3.2 DESARROLLO DE FORMULACIONES.....	36
3.2.1 Selección de los componentes de la fórmula.....	36
3.2.1.1 Análisis proximal de materia prima.....	37
3.2.1.2 Análisis microbiológico de materia prima.....	37
3.2.1.3 Formulaciones propuestas.....	38
3.3 OBTENCIÓN DEL SABOR A QUESO.....	39
3.3.1 Modificación enzimática de grasa butírica.....	39
3.3.1.1 Preparación del sustrato.....	39
3.3.1.1.1 Índice de peróxidos.....	39
3.3.1.1.2 Punto de fusión.....	40
3.3.1.1.3 Determinación de grasa.....	40
3.3.1.2 Medición de la actividad enzimática.....	40
3.3.1.3 Preparación de la emulsión.....	41
3.3.1.3.1 Determinación de la emulsión más estable.....	41
3.3.1.4 Incorporación de la enzima al sustrato e incubación.....	42
3.3.1.5 Inactivación de la enzima.....	43
3.3.1.6 Almacenamiento del lipolizado.....	43
3.3.2 Evaluación sensorial.....	43
3.4 ELABORACIÓN DEL ANÁLOGO DE QUESO.....	45
3.4.1 Proceso de elaboración.....	45
3.4.2 Análisis de perfil de textura.....	45
3.4.3 Análisis microbiológico del producto final.....	46
3.4.4 Evaluación sensorial.....	46
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
4.1 DETERMINACIÓN DEL TIPO DE QUESO A IMITAR.....	49
4.1.1 Selección del tipo de queso a imitar con base en las preferencias de consumo de cardiopatas.....	49
4.2 DESARROLLO DE FORMULACIONES.....	52
4.2.1 Selección de los componentes de la fórmula.....	52

4.2.1.1 Análisis proximal de las materias primas.....	54
4.2.1.2 Análisis microbiológico de materia prima.....	59
4.3 OBTENCIÓN DEL SABOR A QUESO.....	61
4.3.1 Modificación enzimática de grasa butírica.....	61
4.3.1.1 Preparación del sustrato.....	61
4.3.1.1.1 Índice de peróxidos.....	61
4.3.1.1.2 Punto de fusión.....	61
4.3.1.1.3 Determinación de grasa.....	62
4.3.1.2 Medición de la actividad enzimática.....	62
4.3.1.3 Preparación de la emulsión.....	62
4.3.1.3.1 Determinación de la emulsión más estable.....	62
4.3.1.4 Incorporación de la enzima al sustrato e incubación.....	63
4.3.1.5 Inactivación de la enzima.....	64
4.3.1.6 Condiciones de almacenamiento del lipolizado.....	66
4.3.2 Evaluación Sensorial.....	66
4.4 ELABORACIÓN DEL ANÁLOGO DE QUESO.....	67
4.4.1 Proceso de elaboración del análogo de queso.....	67
4.4.2 Análisis de Perfil de Textura.....	67
4.4.3 Análisis microbiológico del producto final.....	74
4.4.4 Evaluación sensorial del producto terminado.....	75
5.0 CONCLUSIONES.....	76
6.0 PERSPECTIVAS.....	78
7.0 BIBLIOGRAFÍA.....	79
APÉNDICE UNO.....	88
APÉNDICE DOS.....	91
APÉNDICE TRES.....	93

PAGINACION DISCONTINUA

RESUMEN

Durante la última década la sociedad ha incrementado su preocupación por mantener una adecuada nutrición y limitar el consumo de grasas en la dieta diaria, específicamente las saturadas, debido a que éstas tienen una relación directa con enfermedades cardiovasculares, tales como la aterosclerosis, colesterol elevado, ataque al miocardio, entre otras. Este tipo de lípidos se encuentra en los alimentos de origen animal, como son los productos cárnicos y lácteos, por lo que se planteó el presente proyecto para desarrollar un producto nutricionalmente adecuado para el consumo por personas con enfermedades coronarias.

En una encuesta aplicada a un grupo de pacientes se detectaron las limitaciones impuestas en su dieta y se encontró su deseo por romper la monotonía de la misma. Particularmente, expresaron el deseo de consumir quesos, limitados o prohibidos en sus dietas. Al conocer la posibilidad de obtener productos semejantes, en los que estuviese ausente la grasa no deseada, manifestaron su interés por adquirirlo. Dicha información llevó al desarrollo de un análogo de queso con bajo contenido de grasa saturada pero que mantiene su calidad proteínica y de calcio. Es así que en las diferentes fórmulas de este alimento para régimen especial se utilizó proteína microparticulada (Simplese ®) como sustituto de la grasa butírica que contiene un queso natural así como caseinato de calcio para formar la matriz proteínica y grasa butírica modificada enzimáticamente para aportar el sabor característico que normalmente confieren los lípidos a dicho producto lácteo. A tal fin se empleó lipasa fúngica de *Rhizopus javanicus* (170 970 UI/ g). Las condiciones en las que se obtuvieron las mejores características de sabor fue con una aplicación de enzima que produjera 3000 UI/g durante 72 horas. Por medio de una evaluación sensorial se encontró que aplicando concentraciones y tiempos menores no se desarrollaron un sabor intenso, en tanto que, a mayores dosis y tiempo de producción se presentan notas de sabor jabonoso.

Una investigación bibliográfica condujo a la evaluación de diez formulaciones con diferentes ingredientes y proporciones de los mismos. Cada una fue sometida a un Análisis de Perfil de Textura (TPA) en un texturómetro Sintech I/S ® y se obtuvieron las medidas de dureza, cohesividad, gomosidad y masticabilidad, las que se compararon contra un patrón de queso que se deseaba imitar. La composición del análogo de queso que cumplió con estas características fue la siguiente: 20% caseinato de calcio, 15% leche descremada en polvo, 50% agua, 6% grasa butírica lipolizada, 1% sales emulsificantes y 8% Simplese ®.

INTRODUCCIÓN.

La tecnología de alimentos permite el desarrollo de nuevos productos con la finalidad de incrementar la disponibilidad de alimentos en cuanto a calidad, cantidad, diversidad y costo. Las tendencias en este sentido indican que el desarrollo de alimentos debe tomar en cuenta las diferentes necesidades nutricias de la población de acuerdo a la edad, sexo, estado de salud y cultura. Éstos varían entre países y regiones, por lo que para el desarrollo de alimentos adecuados al mercado mexicano es importante tomar en cuenta los estudios realizados por entidades locales, o en su defecto, de entidades latinoamericanas, como la RIARE (Red Internacional de Alimentos para Regímenes Especiales).

En este trabajo se presenta un producto pensado para un sector de la población que requiere un tipo de alimentación especial, como son los cardiópatas, quienes se ubican en el primer lugar en cuanto a causas de mortalidad en el país.

Los alimentos lácteos se suprimen tradicionalmente de la dieta de este tipo de enfermos por su elevado contenido de grasas saturadas, que han sido consideradas colesterogénicas. Sin embargo, este tipo de alimentos constituyen un elemento apreciado por sus cualidades nutricias y sensoriales. Su eliminación constituye un elemento de dolor y molestia para los pacientes, por tanto, se propone la elaboración de un análogo de queso, esto es, un producto que conserve muchas de las características sensoriales y nutricias del queso original, pero en el que se han sustituido las grasas saturadas. Esto genera tanto un problema de sabor, que pretende ser resuelto con tecnología enzimática, como de textura, que se pretende solucionar con la aplicación de diversas materias primas. Se analiza el producto final en términos de sus características sensoriales.

I. MARCO TEÓRICO

1.1 NECESIDADES NUTRIMENTALES DE LOS DIFERENTES GRUPOS DE POBLACIÓN.

1.1.1 Alimentación y Nutrición.

La alimentación es uno de los derechos humanos, como queda estipulado en el artículo 25 inciso 1 de la Declaración Universal de los Derechos Humanos, aprobada y proclamada por la Asamblea General de las Naciones Unidas el 10 de diciembre de 1948, en la que queda de manifiesto que "Todo ser humano tiene derecho a un patrón de vida capaz de asegurar para sí y para su familia bienestar y salud, inclusive alimentación, vestuario, habitación, cuidados médicos y los servicios sociales indispensables...". La alimentación se define como "el conjunto de procesos mediante los cuales el organismo obtiene los nutrimentos". Estos procesos, junto con los de asimilación y metabolismo por parte de las células, constituyen la nutrición (Shattan J., 1985).

Una buena alimentación debe ser completa, suficiente, equilibrada e inocua. Es decir, debe contener todos los nutrimentos necesarios, en cantidades suficientes y equilibradas y no debe contener sustancias o microorganismos perjudiciales. Debe ser variada y adecuada a los hábitos y costumbres de la población (Bourges H., 1985), así como a su condición social, económica y geográfica (Delgado A., 1985).

Las necesidades nutrimentales del individuo cambian a través de las diferentes etapas de su vida (Camire M.E. et al. 2001), dependiendo de la edad, sexo y estado de salud, durante los cuales las necesidades calóricas y procesos metabólicos se ven modificados. Es por eso que la población se ha clasificado en diferentes grupos, como a continuación se presenta.

1.1.2 Lactantes y niños en crecimiento.

En los primeros meses de vida la lactancia materna es un alimento completo y ayuda en lo más posible a evitar el desarrollo de alergias. Cuando los lactantes tienen de 3 a 4 meses de edad o se acercan a 6 kg de peso, la leche ya no cubre todas sus necesidades y se deben

agregar otros alimentos como las frutas y verduras que proporcionen las cantidades necesarias de vitamina A, C y D, así como suplementos de hierro puesto que la reserva de este mineral que tenían desde su nacimiento comienza a agotarse y la leche materna es pobre en este elemento. De los 6 a los 12 meses de edad se añaden gradualmente a la dieta cereales, carne, pescado y huevo. Sin embargo, para que la dieta sea completa es muy conveniente proporcionar gran cantidad de leche durante toda su infancia (Fischer P., 1990).

Las necesidades calóricas y proteínicas de los niños dependen de su edad y, excepto en los obesos, de su peso: por lo que debe efectuarse un control regular de su altura y de su peso para compararlos con las tablas estándares nacionales a fin de detectar cualquier signo de defecto del desarrollo o excesivo adelgazamiento. A continuación se muestran las necesidades calóricas y proteínicas de este grupo de población (Lessof M.H., 1996).

Tabla 1.1. Necesidades calóricas y proteínicas por grupos de edad.

Edad (años)	Kcal/kg diarios	Proteína diaria (g/kg)
Menor de 1	100-110	1.6-2.2
1-3	100	1.2
4-10	70-90	1.0-1.1

1.1.3. Adolescentes.

Una dieta sana requiere alimentos proteínicos para permitir el crecimiento y la reconstitución tisular, hidratos de carbono y grasa para suministrar energía y alimentos que contengan cantidades adecuadas de vitaminas y minerales esenciales, los cuales tienen un importante papel en la síntesis de enzimas o cofactores que intervienen en los procesos metabólicos. Los adolescentes requieren diariamente una mayor ingesta de energía (40-55 kcal/kg) y proteína (0.8-1.0 g/kg) ya que empieza un crecimiento acelerado que se manifiesta en el aumento de estatura y fortalecimiento de músculos y huesos. Durante esta etapa, comprendida entre los 12 y los 19 años de edad, su buen apetito suele garantizar que cubran dichas necesidades (Fischer P., 1990).

1.1.4 Adultos

Tabla 1.2 Recomendación de la OMS del consumo de macronutrientes.

MACRONUTRIENTES	CANTIDAD RECOMENDADA
Grasa total (Grasa saturada)	15-30 % de la energía total (kcal) (< 10 %)
Carbohidratos (Alimentos amiláceos) (Azúcares añadidos)	45-65% de la energía total (kcal) (45-55%) (< 10 %)
Proteína	12-15%
Frutas y Hortalizas	> 400 g/día
Fibra dietética	20 g día
Sal	< 6 g/día

Cuando la proteína no es de origen animal, debe ser de una calidad suficientemente buena. Las proteínas de alto valor biológico se encuentran en el huevo, productos lácteos, el pollo, la carne o el pescado pero los que consumen dietas vegetarianas deben hacer la combinación apropiada de proteínas vegetales de manera que se obtengan las cantidades apropiadas de todos los aminoácidos indispensables. Los hidratos de carbono deben ser los complejos y sustancias amiláceas, más que azúcares sencillos. Es necesario proporcionar cierta cantidad de grasas no saturadas en forma de aceites vegetales y margarinas, y reducir las grasas de origen animal que son saturadas (Lessof M.H., 1996). Por otra parte, se recomienda una ingesta diaria (IDR) en el adulto de calcio, magnesio y oligoelementos, de acuerdo a lo señalado en la tabla 1.3 para minerales y oligoelementos, mientras que en la tabla 1.4 se presentan las recomendaciones de vitaminas.

Tabla 1.3 Ingesta diaria recomendada de minerales y oligoelementos.

Calcio	600 mg (1.200 mg en embarazo y lactancia)
Magnesio	280-350 mg
Zinc	12-15 mg
Manganeso	2-5 mg
Cobre	1.5-3 mg
Flúor	1.5-4 mg
Yodo	0.15 mg
Cromo	0.05-0.2 mg
Selenio	0.05-0.07 mg
Molibdeno	0.075-0.25 mg

Fuente: Lessof M.H., 1996

Tabla 1.4 Ingesta diaria recomendada de vitaminas en el adulto.

Vitamina A	Retinol, equivalentes	750 µg
Vitamina B	Tiamina	1-1,3 mg
	Riboflavina	1,6 mg
	Acido nicotínico	18 mg
	Folato total	300 µg
Vitamina C	Acido ascórbico	30 mg
Vitamina D	Calciferol	Ninguna, si hay adecuada exposición al sol (10 µg en invierno en niños y adultos que no salen de casa).
Vitamina E	α-tocoferol, equivalentes	8-10 mg
Vitamina K	Precusores de los factores de la coagulación	70-140 µg

1.1.4.1 Mujeres embarazadas y lactando.

La futura madre tiene que consumir suficientes proteínas, vitaminas y minerales requeridos para formar los tejidos del bebé, un alto consumo de hierro y calcio es sumamente importante para la formación de huesos y sangre. Las tabletas de vitaminas y hierro pueden ser un buen aliado para cubrir las necesidades crecientes de dichos nutrimentos. Durante la lactancia, las necesidades de la madre son aún mayores ya que ahora tendrá que alimentar a un bebé más grande. Es de especial importancia en esta etapa incluir alimentos ricos en proteínas, vitaminas y calcio, ya que el contenido nutricional de la leche producida no cambia mucho pero deficiencias dietéticas afectarán a la madre misma (Casanueva E., et al. 1995).

1.1.5. Ancianos.

Al envejecer las personas, el metabolismo basal y la actividad física disminuyen considerablemente por lo que la necesidad calórica es menor, siendo a los 75 años aproximadamente de dos terceras partes de la de un adulto; sin embargo, las necesidades de vitaminas, minerales y proteínas se mantiene constante por lo que este grupo de personas debe consumir alimentos de buena calidad que proporcionen la cantidad adecuada de nutrimentos y no debieran consumir alimentos altamente calóricos. Las personas de la tercera edad prefieren consumir alimentos suaves y fáciles de preparar y comer, especialmente si tienen buen sabor. En este grupo suelen presentarse carencias de calcio, vitamina C, D y E (Katz F., 1999).

1.1.6 Personas con enfermedades e infecciones.

Cuando una persona sufre de alguna infección requiere de una dieta con mayor contenido de proteína, vitaminas y minerales que la correspondiente a su edad, ya que la regeneración de tejido y el esfuerzo por recuperar la homeostasis corporal requieren de dichos nutrimentos y una suficiente ingesta calórica (Keusch G.T.,1986). Cuando se presenta alguna enfermedad, los pacientes se someten a un régimen especial de alimentación, el cual puede requerir uno o varios nutrimentos en mayor cantidad que la que requiere un individuo sano, como por ejemplo calcio para una persona con osteoporosis, o bien, puede ser una dieta de eliminación de nutrimentos como es el caso de la glucosa en el caso de los diabéticos o de las grasas en los individuos con enfermedades cardiovasculares (Camire M.E., et al., 2001).

1.2. ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A LA DIETA.

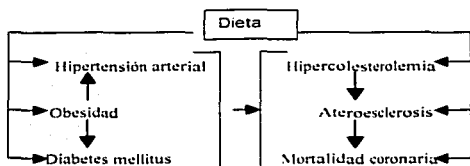
A principios del siglo XX se descubrió la existencia de las vitaminas y minerales en los alimentos y que la falta de éstos causaban enfermedades infecciosas (Linder M.C., 1991). Una vez tratadas las deficiencias alimentarias, la investigación se centró en el estudio de otros aspectos, como las enfermedades crónicas asociadas a la dieta en las que se incluyen el cáncer, la obesidad, la diabetes y enfermedades coronarias (Hasler C.M.,et al. 1995).

1.2.1 Definiciones.

La **ateroesclerosis** es una enfermedad que se caracteriza por la obstrucción de las arterias debido a la formación de ateromas, estructuras constituidas principalmente por colesterol, en la pared arterial (Bourges H, 1990a). Cuando las arterias afectadas son las del corazón y hay una lesión funcional, la enfermedad se denomina **insuficiencia coronaria** o angina de pecho y cuando se acompaña de una lesión orgánica se trata de una **cardiopatía isquémica**, también llamada enfermedad coronaria o cardiopatía, que en su fase aguda se conoce como **infarto agudo del miocardio** comúnmente llamado "ataque al corazón" (AMPAC, 1998).

1.2.2 Causas de la aterosclerosis.

Aparentemente la aterosclerosis se trata de una enfermedad propia del ser humano civilizado, ya que se relaciona con ciertas costumbres de la actualidad en la que intervienen factores de riesgo tales como la obesidad, hipercolesterolemia (concentración elevada de colesterol en la sangre), hiperlipidemia (cantidad anormalmente alta de compuestos lipídicos en la sangre), el sedentarismo, la hipertensión arterial, la diabetes mellitus y el tabaquismo. (Bruckner G., 1992). A continuación se ilustra el esquema de la forma en la que la dieta influye en la mortalidad coronaria (Bourges II., 1990a):



En la prevalencia de dichas enfermedades existen factores no modificables como la edad, el sexo y el componente genético, sin embargo, también existen factores que se pueden modificar como el hacer ejercicio, dejar de fumar y la alimentación (Wolinsky I., 2000).

La hiperlipidemia ha sido identificada como el mayor factor de riesgo en la aterosclerosis y está asociada a un elevado nivel de colesterol, ésteres de colesterol y triglicéridos circulando en la sangre. Estos son transportados en asociación con proteínas, fosfolípidos e hidratos de carbono en forma de micelas, dentro de los cuales se encuentran los quilomicrones (CM), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), de densidad intermedia (IDL), de baja densidad (LDL) y de alta densidad (HDL). Las enfermedades cardiovasculares se presentan cuando hay un aumento en las lipoproteínas de baja densidad, incremento de colesterol y triglicéridos en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (Mensink R.P., et al., 1998).

Dentro de los compuestos lipídicos, el factor más sospechoso ha sido siempre el colesterol ya que los ateromas que se depositan en las arterias están constituidos principalmente por esta sustancia, la cual pertenece a los esteroides, grupo de compuestos lipídicos cíclicos de

peso molecular relativamente alto. El colesterol es considerado un nutrimento debido a que se encuentra de forma regular en la dieta, específicamente en los alimentos de origen animal y cumple varias funciones metabólicas entre las que se encuentran la síntesis de sales biliares y de las hormonas esteroideas. Como el organismo puede sintetizarlo se considera un nutrimento dispensable en la dieta por lo que no existe requerimiento mínimo de ingestión pero sí un límite máximo de tolerancia de 300 mg/ día. Una concentración de colesterol sanguíneo de 160 mg/dl representa un riesgo bajo mientras que 200 y 275 mg/dl representan riesgos alto y muy alto para la aterosclerosis (Bourges H., 1990c) . Una de las características de la dieta con mayor influencia en la hipercolesterolemia y la aterogénesis es la cantidad y tipo de ácidos grasos. El consumo de triglicéridos de origen vegetal representa un menor riesgo por su alto contenido de ácidos grasos mono y poliinsaturados mientras que las grasas animales están constituidas predominantemente por ácidos grasos saturados, que son de alto riesgo (van het Hof K.H., et al.,1997). Una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados es al mismo tiempo una dieta predominantemente vegetal y más rica en almidón, fibra y en esteroides vegetales que por su parecido estructural con el colesterol podrían competir con él y disminuir su absorción. Los ácidos grasos saturados como el láurico (12 C) y el palmítico (16 C) son aterogénicos, no así el esteárico de (18 C) o aquellos con menos de 12 carbonos (Kantor M.A., 1990; Mensink R.P., et al., 1998). Los ácidos grasos monoinsaturados son sintetizados por el organismo humano ya que éste puede insaturar un ácido graso en cualquier carbono a partir del séptimo. Los eicosanoides tienen una doble ligadura en la posición 6 o 3 que no se pueden producir en el organismo, que se necesitan los precursores ácido linoleico (grupo n-6) y ácido linolénico (grupo n-3), por lo que son considerados ácidos grasos indispensables en la dieta (Bourges H., 1990b; Kantor M.A., 1990). El papel de la dieta no se limita a la cantidad de colesterol que se ingiere sino que además incluye los siguientes factores de la alimentación: la ingestión de energía total y la proporción que guardan entre sí las fuentes de energía, el tipo de hidratos de carbono, el tipo de proteínas, la clase de ácidos grasos y sus proporciones, los esteroides vegetales, vitaminas y minerales que influyen en el estado oxidativo de los lípidos (Bruckner G., 1992).

La ingesta excesiva de calorías lleva a la obesidad, la cual disminuye la concentración de lipoproteínas de alta densidad, disminuye la tolerancia a la glucosa, eleva los triglicéridos y colesterol en plasma y promueve la hipertensión. Además la síntesis de colesterol endógeno se incrementa en 20 mg/día por cada kg de sobrepeso corporal. Las dietas altas en carbohidratos simples son hipertriglicéridémicas, mientras que las dietas ricas en carbohidratos complejos son asociadas a un bajo riesgo. Las frutas, vegetales y cereales son ricos en vitamina C, E y carotenos los cuales disminuyen la oxidación lipídica. Aunque la ingesta total de proteína tiene poca incidencia en dicha enfermedad, el consumo de proteína animal tiene un mayor efecto aterogénico que la proteína vegetal (Bruckner G., 1992).

1.2.3 Control y prevención.

La aterogénesis comienza desde la infancia aunque tarde décadas en manifestarse clínicamente. Existen varios estudios médicos de los que se concluye que los cambios en el estilo de vida (eliminación del tabaco, disminución del estrés, práctica de ejercicio) y cambios en la alimentación reflejan diferencias en la incidencia de enfermedades cardiovasculares, incluso se demostró que es posible curar en un año las lesiones obstructivas de las coronarias formadas a través de 20 o 30 años (Martínez P.D., 1990). Se ha demostrado que la fibra en la dieta de pacientes hiperlipidémicos hace disminuir la colesterolemia, produce una menor absorción intestinal de ácidos grasos y colesterol y arrastra ácidos biliares elevando la excreción fecal de colesterol. Los nutrientes con función antioxidante, como las vitaminas C y E, los carotenos y el selenio pudieran tener algún efecto preventivo de la aterogénesis (Bourges H., 1990b). A continuación se incluye una guía general de alimentación para prevenir enfermedades cardiovasculares:

- 1.- Moderar el consumo de alimentos de origen animal y sus derivados, que son ricos en grasas saturadas, y especialmente los ricos en colesterol, como por ejemplo: el huevo, carnes, sesos, chicharrón, mariscos, hígado, quesos y embutidos.
- 2.- Preferir pescado sobre aves y carnes rojas.
- 3.- Consumir cereales integrales que aportan fibra, almidón y vitamina E.
- 4.- Incluir semillas maduras de leguminosas (frijol, garbanzo, lenteja, haba).
- 5.- Reducir las grasas animales en la preparación de alimentos y usar moderadamente los aceites vegetales.

- 6.- Aumentar el consumo de frutas y verduras que aportan fibras solubles, y vitamina C y E y carotenos.
 - 7.- Moderar ingestión de azúcar y sal.
 - 8.- Mantener peso corporal adecuado.
 - 9.- Mantenerse físicamente activo.
- (Katz F., 2000; IMSS, 1997; Camire M.E., et al., 2001)

A esto se puede agregar una serie de ideas propuestas por el Instituto Mexicano del Seguro Social para preparar y consumir alimentos bajos en grasas saturadas y colesterol, dadas a sus pacientes con cardiopatía isquémica, como son:

- 1.- Cocinar los alimentos con las técnicas de rostizado, horneado, estofado y asado para la carne, aves y pescados.
- 2.- Utilizar sartenes y ollas de teflón para cocinar con menos aceite.
- 3.- Quitar siempre la grasa visible de la carne y la piel de pollo o pavo.
- 4.- Desgrasar los caldos y consomés antes de consumirlos.
- 5.- Utilizar con moderación la margarina en lugar de mantequilla o manteca.
- 6.- Utilizar yogurt descremado en lugar de crema.
- 7.- Para aderezar las ensaladas se puede utilizar yogurt descremado, vinagre o limón.

Además se le proporciona una dieta hiposódica y una receta para preparar un jugo rico en fibra, información que se localiza en el apéndice 1 (IMSS, 1997).

1.2.4 Mortalidad por enfermedades cardiovasculares.

Tanto en México como en Estados Unidos la dieta está implicada en las siguientes causas de mortalidad: cáncer, embolia cerebral, diabetes, enfermedades del hígado y enfermedades cardiovasculares (Hasler C.M. et al, 1995; INEGI/SSA, 1999). En nuestro país las enfermedades cardiovasculares representan la primer causa de mortalidad, de un total de veinte causas definidas, como lo muestran las estadísticas del INEGI de 1995 y 1999, con una tasa de mortalidad de 70.4 y 70.6 por cada 100.000 habitantes, respectivamente, lo cual representa el 15% del global (AMPAC, 1998). De manera específica, las enfermedades isquémicas representaron una tasa de mortalidad de 43.2 en 1995 y de 44.9 por cada

100.000 habitantes en 1999 que es el último dato reportado (INEGI/SSA,1995; INEGI/SSA,1999).

1.3 ALTERNATIVAS DE ALIMENTOS PARA ENFERMOS CARDIACOS.

Debido al alarmante aumento de la mortalidad por causas asociadas a la dieta existe un creciente interés por parte de los consumidores a ingerir alimentos que ayuden a evitar la obesidad así como prevenir o ayudar en el tratamiento de enfermedades crónicas (Hasler C.M.,et al. 1995). Esta oportunidad la industria de alimentos la aprovecha al desarrollar productos bajos en grasa, bajos en calorías, productos "light", con bajo contenido de sodio, fortificados con calcio, adicionados con vitaminas, etc. (Yackel W.C.and Cox C., 1992). El constante aumento de los efectos adversos en la salud debido a la alta ingesta de grasa ha originado una proliferación en el mercado de los productos reducidos en grasa (Singer S. N. and Moser R.H.,1993; van het Hof K.H.,et al.,1997). En especial, la industria de productos lácteos ha desarrollado nuevos productos que ayuden a alcanzar metas dietéticas de reducción de grasas y calorías (Holsinger V.H.,1995). Este tipo de alimentos quedan clasificados dentro de conceptos tales como alimentos funcionales, nutraceúticos, alimentos para regímenes especiales, entre otros.

1.3.1 Definiciones.

El concepto de **alimentos funcionales** se introdujo por primera vez en Japón en la década de los 80's y se definió como "alimentos procesados que contienen ingredientes que ayudan a funciones específicas del cuerpo además de tener características nutrimentales" (Hasler C.M.,1998). Actualmente el concepto incluye alimentos naturales, ya sea de origen vegetal o animal, que son relevantes para la salud y el bienestar y/o reducción de una enfermedad (Katan M.B.,1999). En 1989 se introdujo el término **nutraceútico** refiriéndose a cualquier sustancia que sea un alimento o parte de él y que provea beneficios a la salud, incluyendo la prevención y tratamiento de enfermedades. Una gran variedad de términos han surgido desde entonces para describir alimentos con efectos benéficos en la reducción de enfermedades crónicas, entre ellos se encuentran : "farmaalimentos", "fitoalimentos", "alimentos inteligentes", "alimentos terapéuticos", etc (Hasler C.M., et al. 1995).

El término "light" ha sido usado en los Estados Unidos desde la década de 1950, para indicar el hecho de que ciertas propiedades en los productos han sido reducidos, lo que usualmente significa una reducción del 25% de un atributo o ingrediente tal como grasa, calorías o sal (Thompson M.S.,1990). En enero de 1993, la FDA definió los conceptos de "bajo en grasa", "libre de grasa" y "light" o "lite" como la reducción en los alimentos de un tercio de las calorías o la reducción de la mitad del contenido de grasa. Si el 50% de las calorías provienen de las grasas, la reducción de grasa en un producto debe ser del 50% para incluirse en esta definición. El término también puede ser usado cuando los productos bajos en grasa tienen una reducción del 50% de sodio. El concepto "bajo en grasa" se aplica e imprime en la etiqueta de los quesos cuando el contenido de grasa es menor de 3g. por porción de 100 gramos y "libre de grasa" significa sin grasa o cero grasa (Armstrong D.J. and Rainey N.H., 1995).

Por otra parte los alimentos para regímenes especiales son aquéllos que satisfacen necesidades particulares de alimentación por condiciones físicas, fisiológicas y/o enfermedades específicas. Su composición debe diferir significativamente de la de los alimentos ordinarios comparables (Codex Alimentarius, 1994).

Dentro de este amplio número de definiciones podríamos incluir a los productos denominados análogos de queso que en este proyecto en particular, se destinarán a individuos que deseen prevenir o ayudar al tratamiento de enfermedades cardiovasculares mediante la dieta.

1.3.2 Análogos de queso.

1.3.2.1 Descripción y definición.

Los análogos de productos lácteos, tales como el queso, son productos que se asemejan a los elaborados con leche y que pueden fabricarse a partir de materias primas de orígenes diversos como fuente de grasa o de proteínas y/o en combinación con leche. Reciben diferentes nombres, tales como imitación de queso, productos alternativos al queso, sustituto de queso, entre otros (Rodríguez A., 1996).

La Ley General de Salud define la existencia de quesos análogos o imitación como "aquéllos que tengan composición y características semejantes a los productos naturales que imitan, aún cuando carezcan total o parcialmente de leche y en cuya elaboración se empleen grasas vegetales o animales o materias primas distintas de las propias de la leche, que sean autorizadas por la Secretaría".

1.3.2.2 Ventajas.

Los análogos de queso se han vuelto populares debido a las ventajas de calidad y disponibilidad que ofrecen, además de competir favorablemente contra algunas desventajas intrínsecas que poseen los quesos naturales, tales como la vida de anaquel, requerimientos de refrigeración y variaciones en el sabor, textura y precio. Algunas otras ventajas que ofrecen los análogos de queso sobre los productos originales son:

- 1) No depender de la producción de leche fresca, cuya producción tiene un elevado costo además de existir escasez en algunas épocas del año.
- 2) Asegurar calidad constante todo el año.
- 3) No tener pérdidas de rendimiento en el proceso ni en el desuero.
- 4) No requerir un proceso de maduración por lo que el proceso de fabricación es más corto.
- 5) Posibilidad de emplear diversas materias primas de acuerdo a disponibilidad.

(Bozzi M.J., 1980).

1.3.2.3 Fórmulas existentes.

En general, la composición de los análogos de queso se basa en agua o suero de leche (subproducto de la elaboración de queso natural), caseinatos de sodio y/o calcio (proteína derivada de fuentes lácteas) o proteína vegetal, grasa o aceite vegetal hidrogenado, emulsificantes, saborizantes y en algunas ocasiones conservadores (Weiss T.J., 1980; DPP-Schreiber Cheese Co., 1981; Kotula K., et al. 1983; Cal A., 1986). A continuación se presenta una tabla en la cual se resumen las características generales de algunos de los análogos existentes que se han clasificado de acuerdo a su contenido de humedad en tres grupos:

Tabla 1.5 Clasificación de análogos de queso de acuerdo a su contenido de humedad.

	De Alta Humedad	De Humedad Intermedia	De Baja Humedad
% Humedad	45.0	12.0	2.0
% Grasa	25.0	17.0	59.0
% Proteína	21.0	17.0	16.0
% Carbohidratos	2.0	40.0	13.0
% Cenizas	6.0	---	9.0
pH	5.0	5.5	5.5
Ingrediente principal	Caseinatos de sodio y calcio	Harina de trigo y soya	Aceites vegetales hidrogenados
Ingredientes	Queso azul madurado, agua, sal, queso cheddar deshidratado, fosfato disódico, ácido láctico, sorbato de potasio, gomas vegetales, aceite vegetal hidrogenado, colorantes.	Aceite vegetal hidrogenado, sólidos de grasa láctea, queso azul deshidratado, suero de leche, sorbitol, agua, citrato de sodio, sabores naturales y artificiales, goma xantana.	Queso azul deshidratado, grasa láctea, aceite vegetal hidrogenado, maltodextrinas, sal, fosfato de sodio, ácido láctico, color y sabor artificial.
Características	Facilidad de rebanado, propiedades de fusión, buena palatabilidad. Con el doble contenido de calcio que el queso.	No se pueden fundir No ocurre posible fermentación por hongos, bacterias lácticas o levaduras.	Facilidad de rebanado, se puede fundir.
Aplicación	Pizzas, hamburguesas, aderezos y alimentos formulados.	Granulado o en polvo en aderezos, embutidos y alimentos congelados.	En mezclas secas y alimentos congelados.
Proceso de elaboración	Con agitación y calentamiento se disuelven ingredientes, se pasteuriza, empaqa en bloques y refrigera.	A baja temperatura se mezclan componentes homogéneamente, se pasteuriza, se estruye en cubos o granulados.	A baja temperatura se mezclan ingredientes, se tempera, comprime y estruye en trozos o rebanadas.

Dos formulaciones de análogos de queso y un método de elaboración patentados en los Estados Unidos se resumen en el siguiente cuadro:

Tabla 1.6 Ejemplos de patentes relacionadas con la elaboración de análogos de queso.

	PATENTE 5 061 504	PATENTE 5 244 687	PATENTE 4 343 817
Ingredientes	5-50% Proteína (i)	15-35% Producto coagulado de leche descremada o yogurt	Suero líquido dulce, ácido o reconstituido
	4-35% Material Graso (ii)	15-35% caseína renina (vii)	Caseína
	30-80% Agua	30-70% Agua	Ácido láctico o mineral
	0.2-4% Sabor (iii)	0.3-0.4% Saborizantes	(1) Caseinato de calcio
	0.2-3% Sales emulsificantes (iv)	1-3% Sales emulsificantes.(viii)	(2) Lecitina, mono y diglicéridos
	0.05-2% Acidulante (v)	0.3-0.4% Acidulantes (ix)	(3) Renina, pepsina, enzimas fungales
Opcional	10% Coadyuvantes (vi)	2-15% Espesante (x) 0.1-1% Humectante (xi) Sal	(4) Colorante en solución de CaCl ₂
Proceso de elaboración	Mezclar proteína, sustancia grasa, agua, sabor y adyuvantes : calentar entre 32 y 85°C y agitar 10-20 min., agregar sal emulsificante y acidulante, mezclar.	Mezclar caseína, producto coagulado de leche, emulsificantes, 80% de agua, acidulantes, almidón y saborizantes, agregar resto del agua, agitar y calentar en baño de vapor entre 71.11-93.33°C (preferible de 85 a 90.55 ° C) durante 1-6 min. obtener masa homogénea, empacar y enfriar.	Calentar suero a 73.88 °C 20 seg., agregar caseína deshidratada, acidificada con ac. láctico, ac. mineral o combinada con sales(1), añadir emulsificante(2), añadir colorante(4), pasteurizar (62.78 °C 30 min.) homogeneizar, agregar enzima coagulante(3), cortar cuajo y desuerar.

(i) 30% Queso bajo en grasa., 70% queso graso, leche, suero crema y/o proteína vegetal.

(ii) Poliglicérol y/o azúcar alcohólica poliglicérol y/o ácidos grasos y/o sustitutos de grasa de naturaleza proteínica y/o grasas vegetales o animales sólidas o semisólidas.

(iii) Sabores a queso naturales o producidos por modificación enzimática.

(iv) Hexametáfosfato de sodio, fosfato monosódico, disódico o trisódico, pirofosfato disódico, tetrasódico, tripolifosfato de sodio, aluminofosfato de sodio, trimetáfosfato de sodio, la mezcla de todos u otros.

(v) Ac. cítrico, ác. málico, ác. láctico, ác. glutámico, ác. clorhídrico, ác. glutámico, mezcla u otros.

(vi) Vitaminas, minerales, extractos frutales y vegetales, endulzantes, almidones, pectinas, gomas, suero, leche, endulzantes, ascorbato, eritorbato, glucano delta lactona, etc.

(vii) Con 0.1 a 0.3% de lactosa, tamaño de partícula aprox. malla 30, humedad mínima 6%, máximo 0.5% de grasa.

(viii) Todos los contenidos en el inciso iv, además de citratos monosódico, disódico, trisódico o sus mezclas.

(ix) Ácidos láctico, acético, cítrico, sórbico, adípico, fosfórico, propiónico, butírico y carboxílicos C1- C8.

(x) Almidón modificado de maíz. (xi) glicerina.

1.3.2.4 Problemas que se presentan en los análogos.

Las oportunidades de mercado de los análogos de queso son grandes y representan un nicho en especial crecimiento. Sin embargo, como la mayoría de los productos bajos en grasa éstos también presentan problemas de aceptación ya que una alta reducción de este nutrimento afecta negativamente las propiedades sensoriales del producto, principalmente el sabor y la textura, aunque no se altere la calidad nutrimental (Luquet F. M.,1991;White C.H., 1993; Holsinger V.H.,1995). La textura se ve afectada en los atributos de firmeza, ya que ésta depende de la proporción agua/proteína/grasa y del punto de fusión de la grasa; de adhesividad, la cual se vuelve pegajosa cuando se tiene un alto contenido de humedad y bajo nivel de grasa; de elasticidad, que se ve disminuida cuando aumenta la proporción de sólidos no grasos/grasa puesto que este atributo depende de la interacción de la superficie de los glóbulos de grasa y la matriz proteínica : de palatabilidad, disminuyendo la sensación de cremosidad en la boca, haciéndola seca y gomosa. Por tanto el producto obtenido es duro, quebradizo y con poca elasticidad (Olson N.F. and Johnson M.E.,1990; Nauth K.R.,1995).

Aunque los consumidores han decidido llevar una dieta más saludable baja en grasa, muchos de ellos no están dispuestos a sacrificar buen sabor por salud (Singer S. N. and Moser R. H., 1993). La preferencia por lo nutritivo se dará solo en el caso de que el sabor y el costo sean equivalentes a los productos tradicionales (Katz F.,2000). El problema de sabor se debe a que la grasa eliminada tiene un alto contenido de ácidos grasos de cadena corta que son sabores activos, además de solubilizar otros componentes del sabor. Sin embargo, esta pérdida de sabor relacionada con la disminución de triglicéridos puede ser reemplazada por adición de sabores y aromas (Yaackel W.C.and Cox C., 1992) dentro de los cuales están los constituidos por ácidos grasos libres producidos por la acción de lipasas. Con la reducción o eliminación de grasa también se altera la percepción de la salinidad, acidez, y dulzura del sabor propio de los quesos, además de presentarse sabores indeseables (Johnson J.A.C.,1995).

Para poder resolver dichos problemas debemos tener claros los conceptos implicados en lo que a textura y sabor se refieren por lo que a continuación se explicarán con mayor detalle estos tópicos.

1.4 TEXTURA DE LOS ALIMENTOS.

La textura es de gran importancia para determinar la calidad, identidad, aceptabilidad y valor comercial de los alimentos. A ésta se le estudia dentro de la reología, que es una rama de la física y específicamente es la ciencia que estudia la deformación y el flujo de la materia (Rosenberg M., 1996).

1.4.1 Definición.

La textura de un alimento se define como el grupo de características físicas que surgen de los elementos estructurales que lo conforman y son percibidos en la cavidad bucal, están relacionadas con la deformación del mismo bajo una fuerza aplicada y se miden objetivamente en función de la masa, tiempo y distancia (Bourne M.C., 1982).

1.4.2 Descripción y definición de los parámetros de textura.

La textura no consiste en una sola propiedad sino en varias propiedades que se muestran en la tabla 1.7

Tabla 1.7 Términos que describen atributos de textura.

Características mecánicas (parámetros primarios)	Parámetros secundarios	Términos populares
Dureza		Suave, firme, duro.
Cohesividad	Fragilidad Masticabilidad Gomosidad	Desmoronable, crujiente, frágil. Tierno, masticable, duro. Seco, harinoso, pastoso, gomoso.
Viscosidad		Ligero, viscoso.
Elasticidad		Plástico, elástico.
Adhesividad		Pegajoso, viscoso.

(Charley H., 1982)

La **dureza** es la resistencia que opone una muestra a la deformación o al corte. Una consistencia suave describe a un producto con ligera resistencia a la deformación, se dice que es firme cuando un producto, durante la masticación, expone una moderada resistencia al corte y se considera un producto como duro cuando éste opone una substancial resistencia a la deformación o al corte (Charley H., 1982).La **cohesividad** es la fuerza que une a las moléculas de un cuerpo y la **masticabilidad** que es una característica secundaria, que forma parte de ésta, se entiende como la permanencia en la boca sin que se rompa o disuelta rápidamente. La **elasticidad** es una deformación reversible tras una fuerza aplicada mientras que la **adhesividad** se define como la resistencia a despegarse de otro cuerpo (Marshall R.J.,1990). Todos estos atributos confieren **palatabilidad** que es la sensación producida en la boca durante o después de la ingestión de un alimento (Bourne M.C., 1982).

1.4.3 Medición de la textura.

La textura de los alimentos es percibida por los consumidores mediante la compresión del alimento entre la lengua y el paladar y puede ser medida subjetivamente por las personas de forma visual y con el tacto usando la "prueba de los dedos", la cual consiste en comprimir una muestra entre el dedo pulgar y el índice (Cooper H.R., 1987). Aunque este procedimiento es rápido no es exacto pues la medición depende de la apreciación de la persona involucrada . Por ello se debe contar con un método rápido, objetivo y confiable, que de preferencia sea no destructivo y en el que los resultados sean exactos y reproducibles (Botta J.R., 1991).

La determinación objetiva de la textura y que se realiza con más frecuencia y sin que la muestra sufra daños en su estructura interna, es el análisis de perfil de textura (TPA), método desarrollado por Friedman y colegas en 1963 y posteriormente se adaptó a un texturómetro universal en 1966 por Bourne y colegas. El texturómetro es un instrumento formado por partes móviles que simulan el movimiento de la mandíbula en la masticación, activadas por una fuente de poder. Un mecanismo mide y graba la fuerza y la distancia de cada "mordida" hecha por el texturómetro y con programas de cómputo especializados se genera una curva, llamada perfil de textura, de la que se obtiene directamente la

información de dureza, cohesividad, elasticidad y adhesividad (Fizman S.M. and Damásio M.H., 2000).

Con el objetivo de reestablecer las propiedades de textura que se ven afectadas con la reducción del contenido de grasa en los alimentos, la industria en este ramo ha desarrollado una nueva clase de ingredientes, los cuales se describen ampliamente en el siguiente capítulo.

1.5 REEMPLAZANTES DE GRASA.

En la actualidad existe una gran variedad de alimentos con reducido contenido de grasa, producidos ya sea por eliminación total o parcial de la grasa que los compone o mediante la reformulación, sustitución de ingredientes y la sustitución parcial de grasa, como es el caso del análogo de queso que nos interesa, siendo necesaria la adición de los compuestos denominados "reemplazantes de grasa" para que dichos alimentos presenten características lo más semejante posible a sus contrapartes con alto contenido de grasa (Yaekel and Cox, 1992; Singer S.N. and Moser R. H., 1993).

1.5.1 Definiciones.

Los **reemplazantes de grasa** son aquellos ingredientes que intentan sustituir las grasas naturales en los alimentos, que reducen sustancialmente su aporte calórico y que aportan características funcionales y sensoriales semejantes a ellas, además de tener implicaciones concernientes a la salud (Huyghebaert A., 1990). Estos pueden ser de dos tipos:

- a) los **sustitutos de grasa**, que son compuestos elaborados con sustancias lipídicas, se parecen química y físicamente a los triglicéridos y tienen la propiedad de freír
- b) los **imitadores de grasa**, los cuales son compuestos no lipídicos que tratan de imitar las propiedades y funciones de las grasas pero no pueden usarse en el freído de alimentos.

El término sustituto de grasa puede intercambiarse por reemplazante de grasa pero no así por el de imitador de grasa (Akoh C.C., 1998).

1.5.2. Clasificación.

Los reemplazantes de grasa se clasifican en las siguientes cuatro categorías de acuerdo a Klis (1990) y Giese 1996), cuyas características y propiedades se muestran en las tablas 1.8-1.12. Los imitadores de grasa pueden ser elaborados a base de hidratos de carbono, de proteínas o de una combinación de compuestos, en tanto que los sustitutos de grasa son elaborados a base de lípidos.

1.5.3 Características y propiedades.

Tabla 1.8 Imitadores de grasa elaborados a base de hidratos de carbono

Producto	Características	Efecto en alimentos	Usos	Fabricante o fuentes de obtención
Gomas (ppalmente, Carragenina, Nantana y guar)	Son coloides hidrofílicos, de cadena larga, polímeros de alto peso molecular, solubles en agua.	Efecto gelificante y espesante. Aumenta viscosidad y estabiliza emulsiones.	En productos lácteos untables. No es sustituto de grasa directo. Nivel de uso : (0.1-0.5%).	Se obtienen de algas, semillas, verduras vegetales, modificación química y microorganismos
Pectinas	Hidrocoloide, formado por ácido poligalacturónico parcialmente esterificado con grupos metilo.	Efecto sobre viscosidad y propiedades de gelificación.	En postres congelados, quesos procesados y otros productos lácteos.	Se obtiene por extracción acuosa de cascara de cítricos y manzana.
Polidextrosa	Polímero de dextrosa con sorbitol y ácido cítrico. Soluble en agua, aporta 1 cal g.	Parcial sustituto de grasa.	Dulces, Chicles, productos lácteos congelados, pudín, harinas de pastel y galletas, helados.	Pfizer Chemical Div.
Maltodextrina de almidón de maíz	Es un polímero de sacarosa no dulce, dextrinas con union α1-4, soluble en agua caliente, gel termorreversible.	Aporta sabor dulce, palatabilidad suave, textura similar a aceites hidrogenados.	Sustituto parcial de grasas y aceites en alimentos bajos en grasa como: margarina, postres congelados, crema.	Gran Processing Corporation.
Dextrinas de Tapioca (N-OilR)	Maltodextrinas usadas en solución acuosa 25-35 %. Con un aporte calorico de 1 cal g.		En aderezos, pudines, mayonesa, crema, salsa de queso y postres congelados bajos en grasa.	National Starch and Chemical Corporation
Maltodextrinas de almidón de papa	Gel termoestable con DE menor a 5.	Aporta textura similar a la grasa, suavidad y sabor dulce.	En productos cárnicos, aderezos, panadería, postres congelados, mayonesas.	Avebe America Inc.
Almidón de papa modificado (Sta-Slim tm)	Aporta 4 kcal g	Confiere Apalatabilidad y textura de grasas.	En aderezos, pastel de queso, imitación queso crema y sopas.	A.E. Staley Manufacturing Co.

(Fuyghebaert, A., 1990; Klis J.B., 1990; White C.H., 1993)

Tabla 1.9 Imitadores de grasa elaborados a base de proteínas

Producto	Características	Efecto en alimentos	Usos	Fabricante o fuentes de obtención
<p>Simplese ©</p> <p>100</p> <p>Dry 100</p>	<p>Elaborado por proceso patentado llamado microparticulación (calentamiento y homogeneización). Son esferas proteínicas de 0,1-2 m de diámetro. Se percibe en la lengua como un fluido. Aporta 1.-2 kcal/g.</p> <p>No se puede usar para freír u hornear.</p> <p>Elaborado con huevo y o leche descremada :</p> <p>GRAS por FDA-1990 en postres congelados.</p> <p>Elaborado a base de suero de leche aprobado 1991 para una extensa gama de productos. No se desnaturalizan ni cambia secuencia de aminoácidos, solo cambian forma física y no se agregan.</p> <p>Fluido viscoso</p> <p>Versión en polvo</p>	<p>Imparte sabor y textura característicos de los productos con alto contenido de grasa.</p> <p>Solubiliza los componentes del sabor para proveer sabor suave y exquisito al producto :</p> <p>provee cremosidad, palatabilidad y opacidad a los quesos. Tiene propiedades emulsificantes .</p> <p>Produce alergias en los que son alérgicos a las proteínas de huevo y leche.</p>	<p>Pasteles de queso, pasteles, pays, pudines, sopas, salsas, crema, yogurt, una gran variedad de quesos, mayonesa, aderezos, dips, entre otros.</p>	<p>Nutrasweet Co.</p>
Trailblazer ©	<p>Similar al Simplese, elaborado con albúmina de huevo y proteína de leche, con un proceso diferente.</p>			<p>Kraft General Foods</p>

(Singer S. N and Moser R. H., 1993; White C.H., 1993)

Tabla 1.10 Imitadores de grasa elaborados con productos combinados

Producto	Características	Usos	Fabricante
Prolestra™	Es políester de sacarosa y proteína.	En helados, salsas, botanas y panadería.	Reach Associates Inc.
Nutrifat™	Mezcla balanceada de almidones hidrolizados. Requiere calentamiento.	De Mismos	Reach Associates Inc.
Finesse™	Similares al Simplese.		Reach Associates Inc.
Colestra™	Similares a olestra		J. A. Wei of Food Ingredients and Innovations Co.

(Klis J.B., 1990; White C.H. 1993)

Tabla 1.11 Sustitutos de grasa a base de lípidos.

Producto	Características	Efecto en alimentos	Usos	Fabricante o fuentes de obtención
Olestra Ⓢ	Sacarosa políester de ácidos grasos (C8-C12). No absorbible. Su aporte calórico es nulo.	Apariencia, sabor, estabilidad al calor y vida de anaquel similar a las grasas. Se usa para freír y hornear.	En frituras y botanas, aderezos, quesos, postres congelados y productos untables.	Procter & Gamble Co (En 1996 aprobado por FDA)
Caprenina	Ácidos grasos libres (caprílico y caproico) y áe. Behénico.	Similar a la manteca de cacao.	En confitería para recubrir dulces, galletas, nueces, etc.	Procter & Gamble Co
Salatrim "Shot and longtriac molecule" (Benefat)	Es un triglicérido modificado con un AG de cadena larga y dos AG de cadena corta.	Proporciona características físicas de la grasa. Aporta 5 kcal/g Capacidad para freír.	En botanas y frituras.	Nabisco Foods Group. (Culter Food Science)
EPG	Glicerol propoxilado esterificado	Estructura similar a las grasas naturales. No aporta calorías.	Productos untables y de panificación, postres congelados y aderezos.	Arco Chemical Co.
DDM "Dialquil dihexadecil malonato"	Glicerina reacciona con óxido de propileno y AG.	Reduce contenido de grasa en aceites. Aporta cremosidad	Frituras de papa y tortilla, mayonesa y margarina.	Frito-lay, Inc.
FATCA	Trialcooxicitrato	Para freír.	Sustituto de aceite.	Best Foods
FAC	Trialcooxicitrato	Para freír.	Sustituto de aceite	CPC Intl.
Sorbestrim	Sorbitol con AG			Culter Food Science.
PGE	Políesteres de glicerol	Emulsificante.	Postres congelados.	Lonza, Inc.

(Giese J., 1996 a; Giese J., 1996b; Klis J.B., 1996; Akoh C.C., 1998)

No hay ningún imitador de grasa que por sí solo pueda sustituir la grasa en todos los productos y no es fácil la elección del mejor de ellos para cada ocasión. (Yackel W. C. and

Cox C., 1992, Giese J., 1996b). Aunque no sea fácil la elección del o los reemplazantes de grasa adecuados en cada producto, estos ingredientes son una buena alternativa para mejorar la textura de los análogos de queso y para restituir la pérdida de sabor pueden añadirse saborizantes.

1.6 PRODUCCIÓN DE SABORES.

1.6.1 Definición y descripción.

El sabor es definido por el Instituto Británico de Normas como "la combinación de gusto y aroma que puede estar influenciado por las sensaciones de dolor, calor, frío y tacto" (Birck O. and Lindley O.M.G., 1986). Se acepta la existencia de cuatro sabores fundamentales que el hombre es capaz de percibir y distinguir: dulce, amargo, ácido y salado, a los cuales se añadió hace unos años el gusto "umami" que es el sabor característico del glutamato monosódico. Estas sensaciones son el resultado de la respuesta del cerebro a las señales recibidas por los nervios de las células gustativas tras la detección de determinadas sustancias químicas. A diferencia del aroma, los estímulos considerados atributos de sabor son compuestos químicos no volátiles y solubles en medio acuoso, la saliva (Durán L. and Costell E., 1995).

1.6.2 Clasificación.

Los saborizantes como ingredientes en alimentos son clasificados por la Organización Internacional de la Industria del Sabor (IOFI) en las siguientes categorías:

- a) Compuestos aromáticos naturales provenientes de plantas o animales.- utilizados por sus propiedades de sabor y aroma (vegetales, frutas, especias, grasas animales).
- b) Sabores naturales.- son preparaciones concentradas obtenidas solo por procesos físicos de materiales aromáticos frescos (jugos de frutas).
- c) Sustancias saborizantes naturales.- son aquellos componentes obtenidos de productos naturales por destilación o extracción (aceites esenciales de plantas).
- d) Sustancias saborizantes artificiales.- compuestos producidos por síntesis química los cuales aún no se identifican en las fuentes naturales. Estos pueden ser:

- Sustancias saborizantes idénticas al natural.- son compuestos químicos orgánicos obtenidos por síntesis, químicamente idénticos a los que se encuentran en productos naturales, como por ejemplo, la vainillina (Heat H.B. and Reineccius G., 1986).

- Los saborizantes de origen biológico son llamados bio-saborizantes (Janssens L., 1992).

1.6.3 Sabores obtenidos biotecnológicamente.

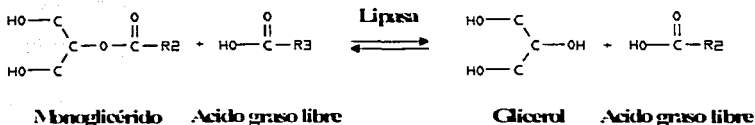
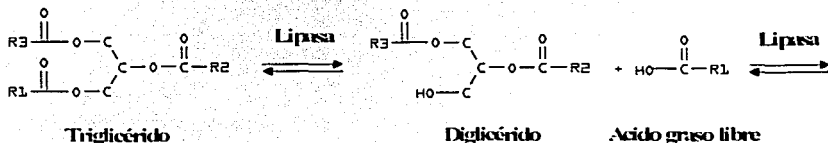
Las enzimas desempeñan un papel muy importante en la producción de sabores de una gran variedad de alimentos. El hombre de forma empírica comenzó a explotar sus beneficios en procesos tales como la fermentación de tofu, col, quesos como el Roquefort, Azul, Gorgonzola, entre otros (Gatfield I.L., 1988) y en México para la producción de pozol y bebidas tales como el pulque y el tezgüino. Las lipasas son ejemplos de enzimas utilizadas para la producción de sabores, principalmente en los productos lácteos con las notas de sabor que los caracterizan, debido a que la grasa de la leche se distingue de otras grasas por la amplia variedad de ácidos grasos de cadena corta y es la única que contiene cantidades importantes de ácido butírico (Dziezack J.D., 1989). Además son utilizadas para incrementar la formación de sustancias responsables del sabor en los quesos, sustitutos de mantequilla y de queso, así como para acelerar procesos costosos como la maduración de quesos. Durante la que ocurre la producción de sabores específicos y únicos que se dan por la transformación lenta de grasas, proteínas y carbohidratos por la acción de diversas enzimas que actúan sobre ellos (Adda J., 1986).

1.6.3.1 Descripción y Definición.

Las lipasas son enzimas que hidrolizan tri, di y monoglicéridos presentes en una interfase agua-aceite. Esta hidrólisis genera glicerol y ácidos grasos como productos finales, pero si dicha reacción no es completa entonces produce solo di y monoglicéridos. Se utilizan de forma particular para obtener saborizantes a partir de lípidos de diversos orígenes y para la maduración acelerada de quesos (Chen J. and Chang K., 1993). La característica principal de las lipasas es que su actividad es máxima solamente cuando la enzima actúa en la interfase agua aceite, propiedad que se conoce como activación interfacial. El medio de reacción en el que actúa la lipasa es heterogéneo y está constituido por el sustrato insoluble o lípido en forma de bicapas o micelas y la fase acuosa que contiene a la enzima

(Godtfredsen S.E., 1990) . Por su propiedad de catalizar reacciones de hidrólisis son definidas como hidrolasas de ésteres de glicerol y también son capaces de catalizar la reacción inversa de la lipólisis, es decir, de llevar a cabo la esterificación de los ácidos grasos con el glicerol por lo que dichas enzimas son utilizadas también para la esterificación y transesterificación de aceites y grasas para obtener grasas con características de fusión específicas y hacerlo en sustitución del proceso de hidrogenación (Mukherjee K.D., 1998).

1.6.3.2 Reacción de hidrólisis de triglicéridos.



(Kilara A., 1985)

1.6.3.3 Clasificación.

Por su origen pueden clasificarse en tres grupos. En primer lugar, pueden identificarse las lipasas de origen microbiano, que son secretadas por bacterias, hongos y levaduras; y en las cuales se encontrado que tienen su actividad máxima en un intervalo de pH de 5.6 a 8.7 y a temperaturas entre 30 y 40 °C (Malcata F., et al., 1992). El segundo grupo lo conforman las lipasas de origen vegetal, las cuales son abundantes en los tejidos de reserva de las oleaginosas, tanto en la planta como en la fruta o en la semilla; esta última es la estructura en la que se presenta una actividad lipolítica más elevada. También se ha encontrado

actividad de estas enzimas en semillas de ricino, nabo, maíz, avena, girasol y trigo. Por último, las lipasas de origen animal que se encuentran en órganos y tejidos como páncreas, corazón, cerebro, arterias, riñón tejido adiposo, sangre, orina y leche (Desnuelle P., 1975). Por su especificidad las lipasas pueden clasificarse en dos grupos: específicas y no específicas. Las específicas hidrolizan uniones ésteres complejas en la primera y tercera posición o bien solo en la segunda posición, cuando hidrolizan el primer enlace éster se trata de la unión α -éster y los hidrolizados generados contienen normalmente ácidos grasos 2-3, 1-2 diglicéridos y 2-monoglicéridos; los que migran a la posición 1 y forman 1-monoglicéridos que son más fáciles de hidrolizar por enzimas específicas a glicerol y ácidos grasos. Las lipasas no-específicas no distinguen los enlaces éster de ninguna de las tres posiciones y pueden hidrolizar por completo el sustrato (Gerhatz W., 1990).

1.6.3.4 Aplicaciones.

El campo de aplicación comercial en el que se han utilizado las lipasas con mayor amplitud es en el de los detergentes para limpieza de ropa y utensilios de cocina, en textiles y en la industria de alimentos. El 40% de las enzimas comerciales disponibles provienen de hongos filamentosos (Archer D. and Pederby J., 1994). Entre los que se encuentra el género *Rhizopus* que ha sido empleado como fuente de lipasa para diversas aplicaciones, entre ellas la modificación de grasa láctea para la obtención de sabores (Martínez P. y Farrés A., 1993). A continuación se muestra una tabla con algunas especies de este género que han sido utilizadas y que están disponibles en el mercado.

Tabla 1.12 Fuentes comerciales de lipasas de *Rhizopus* (Godtfredsen S.E., 1993)

Lipasa	Fuente	Referencia
<i>Rhizopus sp</i>	Serva	Sih (1986)
	Nagase	Andree (1980)
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Precibio (Francia)	Gargouri et al. (1984)
	Boehringer-Mannheim	Sih (1986)
	Rapidase	Gerlach et al. (1988)
<i>Rizopus delemar</i>	Gist Brocades	Gerlach et al. (1988); Thornton et al. (1988)
	Chemical Dynamics	Sih (1986)
<i>Rhizopus japonicus</i>	Tanabe	Hog et al. (1985); Mitsuda et al. (1988); Sonnet and Antonia (1988)
	Amano	Hamaguchi et al (1986)
	Nagase	Hamaguchi et al (1986)
<i>Rhizopus niveus</i>	Osaka Sanken	Hog et al. (1985)
	Amano	Sih (1986)
<i>Rhizopus oryzae</i>	Amano	Sih (1986)

Las lipasas microbianas disponibles comprenden una larga lista en constante crecimiento, dentro de los géneros que las producen se encuentran : *Aspergillus*, *Bacillus*, *Candida*, *Lactobacillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Pseudomonas*, *Saccharomyces*, *Staphylococcus* por mencionar solo algunos (Mukherjee K.D., 1998).

Algunos ejemplos de aplicación de lipasas en la industria alimentaria se ilustran en la tabla 1.13.

Tabla 1.13 Aplicación de lipasas en alimentos.

Sector Alimenticio	Efecto	Productos
Productos Lacteos	Hidrólisis de grasa (Arnold <i>et al.</i> , 1975)	Agente saborizante
	Maduración de quesos (Pepler <i>et al.</i> , 1983, Nasr, 1983)	Queso
	Modificación de grasa butírica (Kalo, 1988)	Mantequilla
Panificación	Desarrollo de sabor y aumento de la vida de anaquel	Productos panificación
Bebidas	Aportación de aroma	Bebidas
Aderezos	Aportación de calidad a los productos	Mayonesa, aderezos, toppings
Alimentos para la salud	Transesterificación	Alimentos para la salud
Carnes y pescados	Desarrollo de sabor y remoción de grasa	Productos cárnicos
Grasas y aceites	Transesterificación e Hidrólisis	Margarina, aceite de cacao, Ac. Grasos, glicerol, mono y diglicéridos.

(Godtfredsen S.E., 1993)

1.6.3.5 Producción de lipasas microbianas.

Para la producción de enzimas microbianas el primer aspecto es seleccionar el microorganismo más adecuado. Tomando en cuenta factores muy importantes como que el organismo no sea patógeno y para su uso en la industria alimentaria debe ser GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro) (Bernard I.O., et al, 1985) que los rendimientos de producción sean altos y los costos bajos, lo que implica que el microorganismo crezca rápido y con los menores requerimientos nutricionales posibles (Fellows P., 1988). La biosíntesis de diferentes enzimas hidrolíticas puede ser regulada y direccionada seleccionando el medio de cultivo y las condiciones adecuadas (Hass M.J. and Bailey D.G., 1993).

Una vez que tenemos todos los elementos para desarrollar un análogo de queso es necesario conocer bien a la contraparte que se desea imitar y para tal efecto se describen a continuación los productos de nuestro interés.

1.7 QUESOS .

1.7.1 Definición.

Los quesos son el nombre genérico de un grupo de productos fermentados (Holsinger V.H., et al. 1995), en forma simple se definen como emulsiones aceite en agua (Shimp L.A., 1985). Son productos viscoelásticos elaborados con leche de vaca, oveja o cabra, constituidos por una red proteínica tridimensional formada por la agregación de micelas de caseína, que es la proteína mayoritaria de la leche, y glóbulos de grasa láctea dispersos entre la red. Una segunda fase continua de proteínas de suero de leche llena los espacios de la matriz (Rosenberg M.,1996). Sus características dependen de la composición final, del proceso de elaboración, de la maduración cuando no es un queso fresco y del tamaño y distribución de la grasa (Lobato C.C. and Vernon C.E.J., 1998).

1.7.2 Clasificación.

Existen más de 2000 tipos de queso alrededor del mundo y pueden clasificarse en diferentes grupos y tipos basándose en variedad de aspectos y características de los quesos, tales como:

- a) Tipo de proceso de elaboración (con renina, sin renina y ácido, ácido, queso procesado).
- b) Tipo de consistencia (duro, semiduro, blando).
- c) Tipo de leche (vaca, borrego, cabra, búfalo).
- d) Composición química (contenido de humedad, grasa, materia seca, calcio).
- e) Proceso de maduración (madurados y no madurados).
- f) Tipo de formación de hoyos (chicos, medianos, grandes, irregulares, redondos, sin hoyos).
- g) Características de superficie (con hongos azules o blancos, sin hongos, con manchas).

(Walstra P., et al. 1999)

Por su contenido de grasa, Alais (1991) clasifica a los quesos de la siguiente manera: (1991)

Doble crema	≥ 60-85 %	¼ de Grasa	≥ 30 %
Crema	≥ 50 %	Semigraso	≥ 20 %
Alto en Grasa	≥ 45 %	½ de Grasa	≥ 10%
Graso	≥ 40%	Bajo en grasa	< 10%

A continuación se presenta una clasificación tomando en cuenta la consistencia, maduración, proceso de elaboración, presencia de hongos, contenido graso y de humedad.

Tabla 1.14 Clasificación de Quesos.

1.- QUESOS FRESCOS							
				Petit Suisse	76 % Humedad		
				Queso Blanco	73.5 % Humedad		
				Queso blanco	73.7 % Humedad		
				Queso crema	50 % grasa		
				Doble crema	60% grasa		
2.- QUESOS MADURADOS							
Blandos	Desuerado Espontáneo	Hongos externos		Camembert	30-50% G 54% H.		
		Superficie seca		Brie	35-50% G 56% H.		
Acelerado por corte de la cuajada.	Desuerado Acelerado por corte de la cuajada.	Hongos externos		Queso de cabra	52 % Humedad		
		Corteza Lavada		Carre de l'est	60 % Humedad		
				Munster	45-50% G 46 % H.		
				Livarot	46 % Humedad		
				Pont l'évêque	50 % Humedad		
Semiduros	Desuerado	Hongos Internos		Azul d'Auvergne	39 % Humedad		
				Azul de gex			
	Acelerado por corte			Roquefort	40 % Humedad		
				Gorgonzola	40% Humedad		
			Pasta prensada	Corteza seca	Edam	30-50 % Grasa	
					Gouda	30-50% Grasa	
			Cocido acidificado	Pasta Hílada	Mozarella	35-40% Humedad	
					Provolone	40% Humedad	
		de la cuajada		Pasta prensada	Corteza lavada	Saint Paulin	48 % Humedad
						Reblochon	39 % Humedad
			Pasta prensada molida	Corteza seca	Cheddar	45-50% G 37 % H.	
					Chester		
	Duros	Prensada	Corteza lavada		Cantal	37 % Humedad	
					Gruyere	33 % Humedad	
Cocida			Corteza seca		Comte	34 % Humedad	
					Emmental	45% G. 33 % H.	
			Parmesano	32 % Humedad			

(Eck A., 1990 ; Silva S. G., 1998)

1.7.3 Proceso general de elaboración.



Fuente: Banks J.M., 1998

La elaboración del queso se lleva a cabo en tres pasos principales : La coagulación de las proteínas, el desuerado y la maduración .

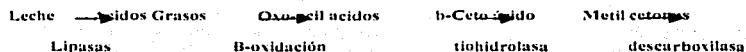
La caseína puede ser coagulada de dos formas:

- 1) Por coagulación ácida, mediante la adición de ácidos orgánicos que provocan que el complejo proteína-calcio llegue al punto isoeléctrico (pH 4.65) y se coagule, formando caseína ácida y los iones calcio liberados forman lactato de calcio.
- 3) Por coagulación enzimática debida a la adición de renina o preparaciones proteolíticas que contienen quimosina y pepsina, las que actúan sobre las micelas de caseína bajo condiciones de temperatura y pH adecuados; específicamente la quimosina actúa sobre el enlace fenilalanina-metionina de la K-caseína que son glucocomacropéptidos hidrofílicos que se encuentran en la superficie micelar, al desaparecer esta capa protectora se reduce la carga superficial y los iones calcio de las micelas comienzan a unirse provocando la agregación y precipitación de la proteína. La firmeza de la cuajada depende del contenido de proteína, del pH y del contenido de iones calcio en el medio (Spreer E., 1998). El coágulo formado recibe el nombre de cuajada y por un proceso térmico y corte de ésta se produce la sinéresis, que es la eliminación de agua en la que quedan las proteínas del suero ya que no son afectadas por estas enzimas y son solubles en ella. El prensado de los quesos también ayuda al desuerado. El contenido de humedad disminuye de un 87% inicial a un contenido final entre 20 y 56% (Banks J.M., 1998).

En el caso de los quesos madurados, las reacciones enzimáticas continúan durante el tiempo de maduración. Las proteasas residuales del cuajo (renina, quimosina y pepsina), así como las peptidasas provenientes de los cultivos lácticos iniciadores y las enzimas propias de la

leche (plasmina y catepsina D) rompen los enlaces peptídicos de la caseína liberando α , β , γ caseínas, péptidos y aminoácidos. Estos determinan en gran medida las propiedades de textura incluyendo adhesividad, elasticidad, características de fusión y emulsificación. Contribuyen también al sabor, incluyendo sabores amargos no deseados producidos por algunos péptidos y la subsecuente transformación a componentes con grupos carbonilo (aldehídos, cetoácidos), alcoholes, tioésteres, compuestos sulfurados volátiles como el sulfuro de hidrógeno, metanotiol y dimetilsulfuros. (Fox P.F., et al, 1996).

Durante la maduración también se llevan a cabo reacciones de lipólisis (capítulo 1.6.3) generando mono y diglicéridos, ácidos grasos y en tipos de queso como el azul, también ocurre la oxidación de algunos de ellos hasta metil cetonas (Adda, 1986).



Las reacciones de glicólisis llevadas a cabo por los cultivos lácticos sobre la lactosa producen ácido láctico y a partir de éste en forma de lactato se produce etanol, acetaldehído, propionato, butirato entre otros compuestos que también contribuyen a la generación de aromas y sabor (Fox P.F., 1997).

La composición final en cuanto a cantidad y tipo de hidratos de carbono, proteínas y lípidos presentes en los quesos determinará las características de la clase de queso elaborado. A continuación se describe el queso que en este proyecto se trata de imitar.

1.7.4. Queso Manchego.

1.7.4.1 Definición y Descripción.

El queso **manchego** es el queso español por excelencia, elaborado con leche de oveja y con una maduración mínima de 60 días. Está protegido por Denominación de origen y debe ser elaborado en la región de La Mancha. Es un queso duro prensado de pasta firme y compacta de color amarillento, de forma cilíndrica con dimensiones de 18 a 22 cm por 8 a 12 cm de altura, puede pesar de 2 a 3.5 kg., su corteza es dura amarillenta a pardo oscura, contiene mínimo 50% de grasa y no puede fundirse (Cenzano I., 1992).

El queso manchego "mexicano" es muy diferente al español. Es un queso semiduro, de pasta prensada semicocida, madurado, elaborado con leche de vaca y renina, de color amarillo claro, rebanable, que debe gratinar. Su composición es de 27% mínimo de grasa, 22% de proteína como mínimo y humedad máxima 46%. Su forma es cilíndrica generalmente de los siguientes pesos y dimensiones: piezas de 3 kg (diámetro de 24 cm y 6.5 cm de alto) ; piezas de 700 g. (diámetro de 13.5 cm y 4.5 cm de alto) y piezas de 400 g (10 cm de diámetro y 4.5 cm alto). Es de los quesos que más se producen en el país, se usa en muchos platillos mexicanos y tiene altos volúmenes de ventas (Silva S.G., 1998 ; Lobato C.C. and Robles M.J.C., 2001).

2. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un alimento tipo queso para cardiópatas, el cual deberá presentar características funcionales y sensoriales semejantes al queso a imitar, tener bajo contenido de grasa, mantener calidad proteínica y contenido de calcio similar a los quesos naturales.

2.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Investigar, por medio de una encuesta, el tipo de queso que prefieren consumir pacientes con enfermedades cardiovasculares.
- 2.- Elaborar diferentes formulaciones con las materias primas elegidas, previamente caracterizadas físicoquímica y microbiológicamente.
- 3.- Obtener el sabor a queso mediante la modificación enzimática de grasa láctea con lipasas producidas por Rhizopus javanicus (Amano ®)
- 4.- Evaluar cada una de las formulaciones mediante un análisis de perfil de textura (TPA) y análisis sensorial para elegir la fórmula óptima.
- 5.- Determinar la calidad físicoquímica y microbiológica de la fórmula final.

3. METODOLOGÍA.

3.1 DETERMINACIÓN DEL TIPO DE QUESO A IMITAR.

3.1.1 Selección del tipo de queso a imitar con base en las preferencias de consumo de pacientes con alguna cardiopatía.

Para elegir el tipo de queso a imitar se contactó al Dr. Samuel Guízar Flores del Hospital de Cardiología Siglo XXI del IMSS, quien autorizó entrevistar a 50 pacientes con cardiopatía isquémica: 31 del sexo masculino y 19 del sexo femenino, con edades entre 46 y 80 años (y dos personas de 29 años) convalescentes de una cirugía a corazón abierto y a quienes se les aplicó la siguiente encuesta:

Nombre: _____		
Edad: _____ años	Sexo: __ Masculino	__ Femenino
Colonia donde vive: _____		
1.- Si le ofreciéramos un sustituto de queso elaborado con productos naturales y sin grasas dañinas ¿Qué tipo de queso le gustaría que fuera?		
<input type="checkbox"/> amarillo	<input type="checkbox"/> crema	<input type="checkbox"/> chihuahua
<input type="checkbox"/> manchego	<input type="checkbox"/> oaxaca	
2.- Lo que más me gusta de ese tipo de queso es:		
<input type="checkbox"/> sabor	<input type="checkbox"/> olor	
<input type="checkbox"/> que lo puedo usar en muchos platillos	<input type="checkbox"/> textura	
<input type="checkbox"/> color	<input type="checkbox"/> textura	
3.- ¿Cómo consumiría ese tipo de queso?		
<input type="checkbox"/> en quesadillas	<input type="checkbox"/> en ensaladas	<input type="checkbox"/> en galletas
<input type="checkbox"/> sandwiches	<input type="checkbox"/> en sopas	<input type="checkbox"/> en bocadillos
<input type="checkbox"/> sinerionizadas	<input type="checkbox"/> como adrezo	<input type="checkbox"/> en chiles rellenos
<input type="checkbox"/> como botana(en trozos)	Otro platillo (especifique) _____	
4.- ¿Cada cuando lo consumiría?		
<input type="checkbox"/> veces a la semana	<input type="checkbox"/> veces al mes	
5.- Si contara con el queso mencionado ¿Estaría dispuesto a pagar un 20% más de lo que cuesta el queso comercial de su elección? (ejemplo: el kg de queso manchego cuesta \$60.00, el queso tipo manchego sin grasa dañina costaría \$72.00)		
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
6.- La cantidad de sal en el queso ¿ es una característica importante para decidir si lo come o no?		
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
7.- ¿ Por qué?		

De acuerdo a los resultados obtenidos el queso tipo manchego obtuvo una mayor frecuencia de preferencia entre los encuestados y, por lo tanto, se seleccionó para imitar sus características en el análogo de queso.

3.2 DESARROLLO DE FORMULACIONES.

3.2.1 Selección de los componentes de la fórmula.

La selección de los ingredientes utilizados en el desarrollo de las formulaciones de los análogos de queso se realizó con base en bibliografía, incluidas tres patentes norteamericanas sobre composición y elaboración de estos productos (5 061 504, 4 343 817 y 5 244 687), además de la Norma Oficial Mexicana de "Queso tipo Manchego" (NOM-F-462-1984). Se tomaron en cuenta los componentes y su proporción, así como sus características sensoriales y funcionales, pero con una reducción significativa en el contenido de grasa. El producto final no debería contener más del 8% de grasa saturada por prescripción médica (Apéndice 1).

NOM-F-462-1984 "Queso Tipo Manchego"	
Proteína	25% mín.
Grasa	25% mín.
Agua	48% máx.
Cenizas	6% máx.
Sólidos totales	52% mín. (Carbohidratos 5% mín.)

La falta de contenido graso se suplió con el reemplazante de grasa de origen proteínico denominado Simplese^{MR} y cuyos porcentajes de aplicación de acuerdo a la ficha técnica del proveedor se presentan a continuación.

Niveles de aplicación del Simplese ^{MR} Dry 100 (Ficha técnica)		
En queso natural	1-3%	Provee opacidad, cremosidad, características lácteas, textura y cohesividad.
En queso procesado	3-8%	Contribuye con opacidad, cremosidad, apariencia lisa, características lácteas y textura.
En queso crema	10-15%	Contribución a la viscosidad, opacidad y cremosidad; mejora textura y suavidad.

Con base en dicha información y la disponibilidad de los mismos se eligieron las siguientes materias primas:

- Fuente de proteína: caseinato de calcio (Dermet) y suero de leche en polvo (Helm).
- Fuente de proteína y lactosa: leche descremada (Svelty) en polvo.
- Saborizante y componente graso: grasa butírica lipolizada (New Zealand Milk Products).
- Reemplazante de grasa: Simplese® (Nutrasweet).
- Sales emulsificantes: sales de fosfatos (Vigusa).
- Adyuvantes: maltodextrinas DE 10 (Arancia), goma guar y carragenina (Premium Ingredients).
- Medio dispersante: agua purificada (Electropura).

3.2.1.1 Análisis proximal de materia prima.

El análisis proximal de cada una de las materias primas se realizó de acuerdo a los métodos establecidos por la AOAC en 1995 para las determinaciones de humedad por secado en horno (927.05), proteína por el método de Kjeldahl (930.29), lípidos por método de Roesse-Gottlieb (932.06), carbohidratos por diferencia y cenizas por incineración en mufla a 550° C (930.30).

3.2.1.2 Análisis microbiológico de materia prima.

El análisis microbiológico de las materias primas antes mencionadas se realizó de acuerdo a la metodología descrita en las Normas Oficiales Mexicanas: de mesófilos aerobios (NOM-092-SSA1-1994) y para hongos y levaduras (NOM-111-SSA1-1994). Se realizaron algunas adaptaciones según los métodos descritos en el Manual de Técnicas de Microbiología de Alimentos (Wacher, C., 1996). Las materias primas se diluyeron en agua peptonada al 0.1% (marca OXOID) y de cada dilución se inoculó 0.1 ml, el que se extendió sobre la superficie del medio de cultivo con una varilla de vidrio estéril, cada una de ellas se realizó por triplicado.

Los medios de cultivo utilizados de acuerdo al grupo de microorganismos son los siguientes:

- Agar Cuenta en Placa (marca DIFCO), incubado a 30 ° C durante 24 y 48 horas, para mesófilos aerobios.
- Agar Papa Dextrosa (marca DIFCO) acidificado con ácido tartárico (1.4% final), incubado a temperatura ambiente durante 24 y 48 horas, para determinar hongos y levaduras.

En el caso de la determinación de coliformes totales se siguió la metodología de la NOM-112-SSA1-1994 en la que se utilizaron los siguientes medios de cultivo:

- Caldo Lauril Sulfato Triptosa (marca OXOID), incubado a 37 ° C por 24 y 48 horas, para la prueba presuntiva.
- Caldo Bilis Verde Brillante (marca OXOID) para la prueba confirmativa.

3.2.1.3 Formulaciones propuestas.

Con el objetivo de elaborar un análogo de queso con características funcionales y de textura similares al queso manchego mexicano se propuso la utilización de las materias primas antes mencionadas en los porcentajes que aparecen a continuación en cada una de las 10 formulaciones propuestas.

Ingrediente/ Fórmula #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CASEINATO	30 ^g o	20 ^g o	25 ^g o	30 ^g o	25 ^g o	20 ^g o	30 ^g o	30 ^g o	20 ^g o	25 ^g o
SUERO DE LECHE	----	15 ^g o	5 ^g o	---	5 ^g o	10 ^g o	----	----	----	----
LECHE DESCREMADA	---	---	---	---	---	---	---	---	15 ^g o	10 ^g o
GRASA BUTÍRICA LIPOLIZADA	6 ^g o	6 ^g o	6 ^g o	6 ^g o	6 ^g o	6 ^g o	6 ^g o	6 ^g o	6 ^g o	6 ^g o
SALES EMULSIFICANTES	1 ^g o	1 ^g o	1 ^g o	1 ^g o	1 ^g o	1 ^g o	1 ^g o	1 ^g o	1 ^g o	1 ^g o
MALTODEXTRINAS (DE 10)	---	---	---	5	5	5	---	---	---	---
SIMPLESSE [®]	8 ^g o	8 ^g o	8 ^g o	8 ^g o	8 ^g o	8 ^g o	8 ^g o	8 ^g o	8 ^g o	8 ^g o
AGUA	55 ^g o	50 ^g o	55 ^g o	50 ^g o	45 ^g o	50 ^g o	54,5	54,5	50 ^g o	50 ^g o
GOMA GUAR	---	---	---	---	---	---	---	0,5 ^g o	---	---
CARRAGENINA	---	---	---	---	---	---	0,5 ^g o	---	---	---

**TESIS CON
FALLA DE
ORIGEN**

3.3 OBTENCIÓN DEL SABOR A QUESO.

3.3.1 Modificación enzimática de grasa butírica.

Para la obtención del sabor a queso mediante un proceso biotecnológico se aplicaron los pasos generales para el desarrollo de productos lipolizados (Moskowitz y Noelck, 1987) y son los siguientes:

- 1) Preparación del sustrato.
- 2) Estandarización de la actividad enzimática.
- 3) Homogeneización de la mezcla para la formación de una emulsión que favorezca la actividad enzimática.
- 4) Incubación del sustrato emulsificado.
- 5) Inactivación de la enzima.
- 6) Estandarización del producto final.
- 7) Empaque.

3.3.1.1 Preparación del sustrato.

El sustrato utilizado fue grasa butírica anhidra (New Zealand Milk Products R) a la cual se le realizaron tres pruebas de análisis como control de calidad: índice de peróxidos para detectar si la grasa no había sufrido oxidación, determinación del punto de fusión para comprobar que la grasa no estaba adulterada y análisis de grasa para corroborar la pureza reportada por el proveedor.

3.3.1.1.1 Índice de peróxidos.

Las grasas y aceites reaccionan con el oxígeno atmosférico formando hidroperóxidos y aunque estos compuestos no son directamente responsables del olor y sabor de las grasas rancias, su concentración, representada por el índice de peróxidos, permite establecer el grado de avance de la descomposición. Su determinación analítica consiste en que los peróxidos formados reaccionan con yoduro de potasio, luego el yodo liberado es titulado con tiosulfato de sodio, lo cual indirectamente indica cuánto peróxido se formó en la grasa evaluada y, por tanto, cuál es el grado de descomposición, si ésta existe (Egan H., 1987).

La metodología se describe a continuación:

En un tubo se pesó un gramo de grasa, se agregaron un gramo de yoduro de potasio y 20 ml de disolvente (ácido acético glacial-cloroformo 2:1). Se puso en baño maría hasta que hirvió 30 seg., la mezcla se vació a un matraz con 20 ml de solución de yoduro de potasio al 5 %, se lavó el tubo con 25 ml de agua y se tituló con una solución de tiosulfato de sodio 0.002 N, usando almidón como indicador. El índice de peróxidos se puede reportar como el número de mililitros de tiosulfato de sodio gastados por 1 g. de muestra. Si el índice se multiplica por 2 entonces corresponde a los miliequivalentes de oxígeno como miliequivalentes de peróxido por kilogramo de muestra (Egan H., 1987).

3.3.1.1.2 Punto de fusión.

Las grasas por la diferencia en el tipo y tamaño de los ácidos grasos que las constituyen, tienen puntos de fusión constantes y específicos que las caracterizan y diferencian a unas de otras. Por tal motivo su medición en productos alimenticios, comparado con tablas que indican la temperatura de fusión para cada tipo de grasa, permite detectar la pureza o adulteración de las mismas (Fennema O.R., 1996). La determinación se llevó a cabo de acuerdo al método del capilar: se colocó una pequeña muestra de grasa dentro de un capilar sujetado a un termómetro de mercurio, se colocó en un baño maría y se observó el intervalo de temperatura al cual la grasa se tornó transparente, lo cual indica la fusión completa de la misma.

3.3.1.1.3 Determinación de grasa.

La cuantificación de la grasa butírica (New Zealand Milk Products) se realizó por el método de Roese-Gottlieb (ver punto 3.2.1.1).

3.3.1.2 Medición de la actividad enzimática.

Las enzimas utilizadas fueron lipasas producidas por la especie fúngica *Rhizopus javanicus* (Amano ®), las cuales presentan una actividad óptima a una temperatura de 37° C y a un pH 7 (Boletín Técnico Amano International Enzyme Co.). La actividad enzimática de estas lipasas se determinó por la caída de pH de la siguiente manera:

1) Se colocaron 2 ml de tributurina (marca SIGMA) homogeneizada al 1% en agua desionizada con 0.01% de Tween 80 (marca CANAMEX) con 7 ml de amortiguador TRIS-HCl 5 mM (marca SIGMA) para tener un pH de 7.

2) A esta mezcla en baño maría a 37 °C, con el electrodo del potenciómetro (Beckman Φ 50) inmerso y con un agitador magnético (Corning modelo PC353) se agregó 1 ml de solución enzimática (0.001g/10 ml agua).

3) Se registró el pH cada minuto durante 30 min, y los resultados se reportan en UI (μ M de ácido butírico liberados por gramo de enzima por minuto) obtenidos al compararse con una curva patrón en la que se graficó la concentración de ácido butírico expresada en μ M de ácido butírico contra pH (Espinoza, 1990).

3.3.1.3 Preparación de la emulsión

3.3.1.3.1 Determinación de la emulsión más estable.

Debido a que las lipasas presentan una actividad máxima en la interfase de una emulsión agua/aceite (Borgstrom B. and Brockman H.L., 1984; Godtfredsen S.V., 1990) fue necesario determinar las proporciones adecuadas de agua destilada/grasa butírica para tener la emulsión mas estable posible, en la cual fuera posible llevar a cabo la modificación enzimática. Se realizó con el siguiente procedimiento:

- 1) Se pesaron 50 g de grasa butírica anhidra (New Zealand Milk Products $\text{\textcircled{B}}$) en un vaso de precipitados, se calentó con un mechero hasta el punto de fusión de la misma.
- 2) Se agregaron 6, 12 y 18 ml de agua destilada y 3 gotas de colorante rojo congo al 0.1% en etanol para observar claramente cuando las fases se separen.
- 3) Se agitó con un homogeneizador (Ultra-Turra T25 Marca IKA-Labortechnik) a 8000 rpm durante 1 minuto.
- 4) La emulsión se dejó en reposo y se registró el tiempo transcurrido hasta que las dos fases de la emulsión se separaron totalmente.

De los resultados obtenidos se fijaron como condiciones 6 ml agua + 50 g grasa butírica.

3.3.1.4 Incorporación de la enzima al sustrato e incubación.

La modificación enzimática de lipasas sobre grasa butírica se llevó a cabo de la siguiente manera:

- 1) Se colocaron 8 frascos con 50g. de grasa butírica, en un baño de agua a 37°C para mantener el sustrato fundido y se le agregaron 5ml de agua destilada y 1 ml. de solución enzimática (condiciones determinadas en el punto anterior para tener la emulsión más estable).
- 2) Se preparó la emulsión con un homogeneizador (Ultra-Turra T25 Marca IKA-Labortechnik) a 8000 rpm durante un minuto.
- 3) Se cerró cada uno de los frascos con tapa de rosca y se colocaron en la incubadora (con agitación recíprocante y temperatura controlada marca New Brunswick Scientific) a 37 °C y a una velocidad de agitación de 150 rpm.
- 4) Después de 24, 48, 72 y 96 horas de incubación y cada una por duplicado, se inactivó la enzima calentando el lipolizado en baño de agua a 65°C durante 20 min. (Determinado según procedimiento descrito en apartado 3.3.1.5).

Las unidades de actividad utilizadas para modificar el sustrato son las siguientes:

Unidades de actividad de la enzima	Tiempo de hidrólisis
1250 UI	24, 48, 72, 96 hrs.
1709 UI	24, 48, 72, 96 hrs.
3000 UI	24, 48, 72, 96 hrs.
6000 UI	24, 48, 72, 96 hrs.

5) El grado de hidrólisis producido por la lipasa se midió por acidez titulable de la siguiente manera:

- a) Se tomó un gramo de grasa butírica modificada y se disolvió con calor.
- b) Se agregaron tres gotas de fenolftaleína al 1%.
- c) Se tituló con NaOH 0.1N
- d) Se determinó el porcentaje de acidez con base en el ácido oleico utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Ácido Oleico} = \frac{(\text{ml NaOH gastados}) \cdot (0.1 \text{ miliequivalentes de ác. oleico})}{\text{g. de muestra}} \cdot 100$$

3.3.1.5 Inactivación de la enzima.

Para determinar las condiciones óptimas de temperatura y tiempo de inactivación de la enzima después de modificar el sustrato como lo indican los incisos 1, 2 y 3 del punto anterior, se sacaron de la incubadora a las 24, 48, 72 y 96 horas cuatro de los frascos con 3000 UI/ g. de lipasa y los otros cuatro frascos con actividades enzimáticas de 6000 UI en los mismos periodos de tiempo que el anterior. A cada uno de ellos se aplicaron las siguientes condiciones de inactivación: 1) 80°C /20 min., 2) 70°C/20 min., 3) 65°C /20 min., 4) 60°C /20 min.

Para observar el grado de inactivación de la enzima de cada uno de los lipolizados se midió la acidez titulable que se reporta como % de ácido oleico. Los datos obtenidos se graficaron y se eligieron 65 ° C y 20 minutos como la temperatura y tiempo adecuados para inactivar la enzima.

3.3.1.6 Almacenamiento del lipolizado.

Una vez inactivados, los lipolizados se almacenaron a temperatura de refrigeración (4°C) para utilizarlos como saborizantes en los análogos de queso.

3.3.2 Evaluación sensorial.

Para evaluar si la modificación enzimática de la grasa butírica generaba sabores agradables como el sabor a algún tipo de queso, se aplicó el método afectivo de evaluación sensorial denominado prueba de preferencia (Pedrero D.y Pangborn R.M., 1997).

Los jueces participantes fueron 10 jueces semientrenados conformados por el equipo de trabajo del laboratorio 312 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM.

Se decidió dar a probar el lipolizado sobre una base "neutra", como lo son las galletas habaneras, ya que el pobrar la grasa sola, causaba disgusto. Se les indicó que no evaluaran la textura ni color de los lipolizados y que se concentraran únicamente en el sabor. Se recomendó que probaran tres veces la galleta tras enjuagarse con agua. Las muestras se codificaron aleatoriamente y la evaluación se llevó a cabo en cuatro sesiones organizadas de la siguiente manera:

1ª Sesión código	1250 UI/24 hrs (846)	1250 UI/48 hrs (343)	1250 UI/72 hrs (128)	1250 UI/96 hrs. (747)
2ª Sesión código	1790 UI/24 hrs. (347)	1790 UI/48 hrs. (964)	1790 UI/72 hrs. (274)	1790 UI/96 hrs (176)
3ª Sesión código	3000UI/24 hrs. (865)	3000 UI/48 hrs. (486)	3000 UI/72 hrs. (678)	3000 UI/96 hrs (234)
4ª Sesión código	6000UI/24 hrs. (257)	6000 UI/48 hrs. (988)	6000 UI/72 hrs. (653)	6000 UI/96 hrs (144)

El cuestionario aplicado fue el siguiente:

Nombre: _____	Fecha: _____			
INSTRUCCIONES: Pruebe de izquierda a derecha y ordénelas según su preferencia del sabor a queso. Considerando que 1= mínimo y 4= máximo.				
Muestras	846	343	128	747
Orden	_____	_____	_____	_____
Si percibe sabor jabonoso indique en cuál _____				

El análisis de datos se llevó a cabo por medio de un "ordenamiento por rangos" con un nivel de exigencia del 95%. Y se plantearon las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula (Ho): No existe diferencia significativa entre los lipolizados.

Hipótesis alterna (H1): Si existe diferencia significativa entre los lipolizados (Pedrero D. y Pangborn R.M., 1997).

3.4 ELABORACIÓN DEL ANÁLOGO DE QUESO.

3.4.1 Proceso de elaboración.

La metodología que se siguió para elaborar cada una de las 10 formulaciones fue la siguiente:

- 1) Se colocó un vaso de precipitados de 500 ml. de acero inoxidable dentro de un baño de agua a 50° C. Se agregó el 85% del total de agua purificada requerida en cada formulación.
- 2) Se disolvieron las sales emulsificantes agitando con una espátula.
- 3) Se agregó la mitad de la cantidad total de caseinatos y se continuó agitando.
- 4) Se agregó la mitad del sustituto de grasa (Simplese MR) y sin dejar de agitar la mezcla, se añadió la grasa butírica lipolizada (saborizante) previamente fundida.
- 5) En el caso de que la fórmula requiera otros componentes sólidos (maltodextrinas, suero de leche, leche descremada en polvo, gomas) se incorporan con agitación constante con la otra mitad del sustituto de grasa.
- 6) Se añadió el 15% de agua restante así como la mitad restante del total de caseinatos en la fórmula.
- 7) Se mantuvo la agitación hasta que se formó una mezcla homogénea.
- 8) Se vació en moldes de vidrio de 200 g.
- 9) Se sumergió el molde con unas pinzas en un baño de agua a 74°C sin que el agua rebase el límite superior del mismo. Con un termómetro se midió la temperatura interna del producto y cuando ésta fue de 72° C se mantuvo el molde por 30 segundos para pasteurizar el producto.
- 10) Se sometió a un choque térmico colocando el molde en un baño de hielo, para garantizar una mayor vida de anaquel del producto. Una vez frío el producto se empacó en bolsas estériles y se almacenó a temperatura de refrigeración (4°C) durante 24 horas.

3.4.2 Análisis de perfil de textura.

A cada una de las 10 formulaciones de los análogos de queso elaboradas y usando como blanco un queso tipo manchego mexicano de la marca comercial "Noche Buena", se le realizó un Análisis de Perfil de Textura (TPA) bajo el siguiente procedimiento:

- 1) De cada una de las formulaciones se tomaron con moldes metálicos 4 muestras cilíndricas con dimensiones de 1.5 cm de altura y diámetro aproximado de 3 cm.
- 2) Debido a que los análogos se encontraban a temperatura de refrigeración las muestras se dejaron 2 hrs. a temperatura ambiente antes de realizar la evaluación de textura. El análisis se realizó a una temperatura ambiente aproximada de 22 °C.
- 3) Las determinaciones se realizaron por cuadruplicado en un texturómetro modelo Sintech 1/S de 250 lbf (1250 N) fabricado por MTS-System Corporation, con un sensor de 3 cm de diámetro, usando dos ciclos consecutivos de compresión a un 50% de su altura original y a una velocidad de descenso de 100 mm/min.
 - 4) Con el programa de cómputo Test Work, integrado al equipo, se obtuvieron los datos de dureza a la primera y segunda compresión, cohesividad, gomosidad y masticabilidad.
 - 5) Se aplicaron las pruebas estadísticas de Fischer y un análisis de varianza según Duncan con el paquete de cómputo SPSS (Statistical Program for Social Sciences versión 8) para seleccionar el análogo de queso más semejante al queso Manchego Noche Buena.

Las fórmulas que presentaron los atributos de textura más semejantes al queso Manchego Noche Buena fueron la número 1, 3 y 9; resultados que se presentan a detalle en el punto 4.4.1.

3.4.3 Análisis microbiológico del producto final.

Se hizo la determinación de mesófilos aerobios, hongos y levaduras y coliformes totales a las fórmulas 1, 3 y 9 siguiendo la misma metodología descrita en el punto 3.2.1.2.

3.4.4 Evaluación sensorial.

Se realizó una prueba de "nivel de agrado" en las formulaciones 1, 3 y 9, que fueron las que tuvieron las propiedades más semejantes al queso manchego Noche Buena según el análisis de perfil de textura realizado.

- 1) Se trabajó con 12 jueces semientrenados que forman parte del equipo de investigación del laboratorio 312 del Edificio E de la Facultad de Química de la UNAM.

2) Las muestras se codificaron aleatoriamente y se presentaron en trocitos para probar como botana. La prueba se realizó por triplicado para cada uno de los jueces asignando diferente codificación en cada caso y presentándolas en distinto orden para evitar que hubiera sesgo en la evaluación.

Codificación de las muestras:

Fórmula	1	3	9
1ª evaluación	436	048	646
2ª repetición	352	921	749
3ª repetición	871	248	803

3) El cuestionario aplicado para la primer serie fue el siguiente:

Nombre: _____	Fecha: _____		
INSTRUCCIONES: Prueba de izquierda a derecha cada una de las siguiente muestras y sin compararlas entre sí marca con una x el enunciado que mejor indique que tanto te gusta.			
Muestras	436	048	646
Gusta mucho	_____	_____	_____
Gusta poco	_____	_____	_____
Me es indiferente	_____	_____	_____
Disgusta un poco	_____	_____	_____
Disgusta mucho	_____	_____	_____

Para la 2ª y 3ª repetición se aplicó el mismo cuestionario, pero cambiando las codificaciones como se mencionó en el punto anterior y cambiando el orden de presentación de las fórmulas quedando como sigue:

2ª repetición	921	749	352
3ª repetición	803	871	248

4) Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un 95% de exigencia; en el que los valores asignados a cada punto fueron: 1=disgusta mucho, 3= disgusta un poco, 5= me es indiferente, 7 =gusta poco, 9=gusta mucho.

Las hipótesis que se plantearon son las siguientes:

Hipótesis nula (H₀): No hay diferencia significativa entre el sabor de cada una de las muestras.

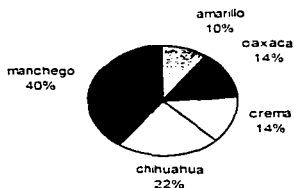
Hipótesis alterna (H₁): Si hay diferencia significativa entre el sabor de cada una de las muestras (Pedrero D. y Pangborn R.M., 1997)

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 DETERMINACIÓN DEL TIPO DE QUESO A IMITAR.

4.1.1 Selección del tipo de queso a imitar con base en las preferencias de consumo de cardiópatas.

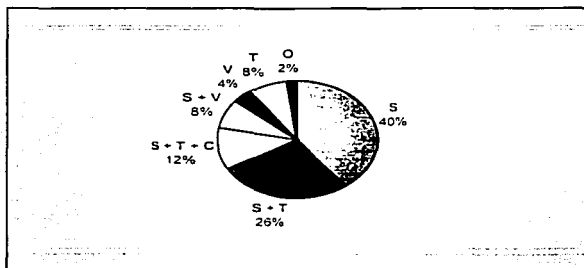
En el Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS (CMN), a los pacientes con alguna cardiopatía se les proporciona una lista de alimentos (ver Apéndice 1) que no deben consumir, en la que se incluyen la leche y sus derivados, sobre todo los quesos grasosos como Oaxaca, Manchego, Chihuahua, queso crema y amarillo. En la encuesta aplicada a los consumidores potenciales (punto 3.1.1) se les preguntó que en caso de existir un producto tipo queso con bajo contenido graso, qué tipo de queso les gustaría que éste fuera. Los resultados de la encuesta fueron los siguientes: el 10% contestó que le gustaría un tipo queso amarillo, el 14% manifestó su preferencia por un producto tipo queso Oaxaca, el mismo porcentaje contestó que le gustaría que fuera similar a un queso crema. Un 22% preferiría tipo queso Chihuahua y la mayor preferencia se mostró por el queso tipo manchego, con un 40% de las respuestas (ver la gráfica. A).



Gráfica A.- Preferencias de consumo de quesos en la población encuestada en el CMN.

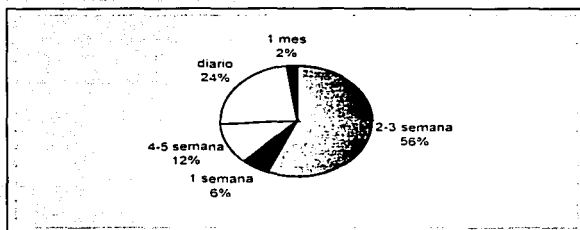
Los atributos sensoriales más importantes de un alimento son su sabor, textura y apariencia y a fin de conocer las características del queso que son importantes para la población entrevistada se les preguntó qué es lo que más les gusta del tipo de queso de su preferencia. El 40 % expresó que lo que más les gusta es el sabor, un 8% dijo que lo que más le agrada

es la textura mientras que el 26% gusta de un queso por ambas características: sabor y textura. Por otra parte, el 12% toma en cuenta estas dos características además del color, mientras que al 4% le agrada un queso por su variedad de uso y a un 8% por dicha característica junto con el sabor. El 2% mencionó que el tipo de queso que prefiere le gusta por no tener grasa ni sal y cabe mencionar que nadie determina su gusto solo por el color u olor. Si se coloca en un solo grupo a los que gustan de un queso por su sabor, sin tomar en cuenta que gusten de una característica adicional simultáneamente, se tiene que el 86% la población gusta de un queso por esta característica y en segundo término, por la textura, con un 46%.



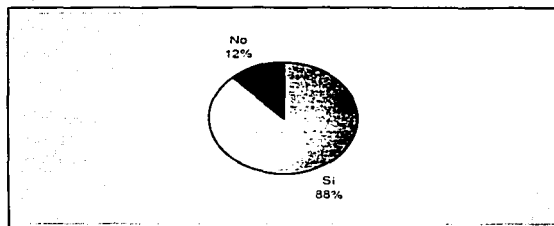
Gráfica B.- Características físicas de los quesos que determinan la preferencia del consumidor (S= sabor, T= textura, C= color, V= variedad de uso)

La gráfica C permite visualizar la frecuencia con la cual esta población está dispuesta a consumir el análogo de queso. El 6% lo consumirá solo una vez a la semana, el 56% 2 ó 3 veces por semana; el porcentaje de la población que desea consumirlo 4 ó 5 veces por semana es del 12%, mientras que los que lo comerían diario representan el 24%. Únicamente el 2% corresponde a aquellos que lo consumirían una vez al mes.



Gráfica C.- Frecuencia de consumo del análogo de queso por los pacientes.

En la gráfica D se puede ver que el 88% de la población está dispuesto a comprar el análogo de queso aún cuando su precio sea 20% más de lo que cuesta un queso tipo manchego natural.



Gráfica D.- Porcentaje de aceptación de los pacientes a comprar el análogo de queso.

Las respuestas obtenidas respecto a la forma en que consumirían el sustituto de queso son variadas: no obstante, se observa una mayor preferencia de uso en aquellos alimentos en los cuales el producto se funde como son las: quesadillas, sincronizadas, molletes, sopas de pasta y enchiladas, seguido por su presentación entera o en trozos como botana, en galletas, para rellenar chiles o calabazas, y al final se menciona su uso como producto rallado en sopes, gorditas y con frijoles.

A las últimas dos preguntas se obtuvo la respuesta uniforme de que el análogo a elaborar debe tener un bajo o nulo contenido de sal específicamente de sodio, debido a prescripciones médicas como se observa en las "indicaciones generales" propuestas en el folleto del Hospital de Cardiología Siglo XXI (Apéndice 1).

4.2 DESARROLLO DE FORMULACIONES.

4.2.1 Selección de los componentes de la fórmula.

En el punto 3.2.1 de la metodología se presentó la lista de las materias primas que se decidió usar para el desarrollo de las formulaciones del análogo de queso tipo manchego mexicano. A continuación se fundamenta el por qué de la elección de cada una de ellas.

Con base en las preferencias de consumo de los pacientes cardiopatas el queso que se va a imitar en este proyecto es el queso tipo manchego, de la manera como menciona la norma mexicana para dicho producto. Tomando en cuenta que los quesos están conformados por una red proteica de micelas de caseína, la proteína mayoritaria de la leche, así como de glóbulos de grasa láctea y proteínas de suero dispersadas a través de la ella (Rosenberg M., 1996), se eligió como FUENTE DE PROTEÍNA el caseinato de calcio, que se encuentra ampliamente disponible en el mercado, al igual que el caseinato de sodio. No se utilizó este último por la restricción de sal (cloruro de sodio) que tiene la población a la que está destinada el análogo de queso (Apéndice 1) y porque el contenido de calcio, el cual es un factor importante en la firmeza de los quesos (Spreer E., 1998), además de permitir obtener un producto con alto contenido de calcio que es una característica nutrimental deseada. El suero de leche en polvo, junto con los caseinatos, tiene propiedades funcionales importantes tales como emulsificación, gelación y viscosidad, ambos son ligantes de agua y solubles en ella (Hall G.M. and Iglesias O, 1997; Wit J.N., 1998) y posee propiedades nutrimentales, como el ser portador de vitaminas liposolubles en los productos bajos en grasa (Dairy Management, Inc.1996). Sus valores biológicos son altos, 77 y 104 respectivamente (Spreer E., 1998).

Otra FUENTE DE PROTEÍNA seleccionada fue la leche descremada en polvo, por ser un ingrediente accesible por su precio y disponibilidad, que además de tener caseína y proteínas de suero con las propiedades antes mencionadas, contiene lactosa la cual constituye aproximadamente el 54% del total de los sólidos no grasos de la leche y contribuye al sabor junto con pequeñas cantidades de glucosa y galactosa. Contiene también pequeñas cantidades de vitamina A, D, E y K (Wolinsky I., 2000).

El producto denominado Simplese[®], que es proteína microparticulada de suero de leche. Este ingrediente es un reemplazante de grasa que aporta atributos de textura y apariencia en alimentos con bajo contenido de grasa. Se eligió entre la extensa gama de sustitutos de grasa por ser un derivado de la leche y uno de los pocos que están aprobados por la FDA además de estar disponible en nuestro país a través de Nutrasweet (Klis J.B., 1990).

Como se explicó en el punto 3.2.1 el análogo de queso que interesa elaborar debe tener un bajo contenido de grasa saturada, por lo que en este caso se eligió como FUENTE DE GRASA la grasa butírica anhidra (New Zealand Milk Products) la cual es la grasa de la leche y está constituida por 97% de Triacilglicerol, 0.36% de Diacilglicerol, 0.27% de monoglicérol, 0.207% de Fosfatidilcolina, 0.310% de colesterol libre, 0.027% de ácidos grasos y trazas de varios esteroides (Christie W.W. 1987). Este ingrediente se agregó como agente saborizante (Dziezack J.D., 1989) una vez que se modificó con enzimas lipolíticas, las cuales actuaron sobre los tri. di y monoglicéridos generando compuestos responsables del sabor en los quesos (Chen and Chang, 1993).

Como ingredientes adyuvantes que ayudan a mejorar las características del producto y se agregan en pequeñas cantidades (Patente 5 061 504) se eligieron maltodextrinas, que son polímeros de dextrosa obtenidos por la hidrólisis del almidón de maíz, las cuales mejoran el cuerpo y textura, estabilizan las emulsiones, aportan palatabilidad suave, proveen sabor ligeramente dulce y son solubles en agua caliente formando geles termoreversibles (Huyghebaert, A., 1990). Se eligió con un equivalente de dextrosa (DE) de 10, ya que éstos proporcionan mayor viscosidad y cohesividad que los que tienen DE 40, además de tener

poca reacción de oscurecimiento y proveer menor dulzor que éstos (Boletín Técnico de Arancia).

Se eligieron goma guar y carragenina, que son polímeros de cadena larga y alto peso molecular y se disuelven en agua por ser coloides hidrofílicos, funcionan como espesantes y tienen efecto gelante. La carragenina interactúa directamente con la caseína de los ingredientes lácteos, interfiriendo con las asociaciones caseína-caseína ayudando a suavizar la textura. Las gomas actúan en sustitución de las grasas ocupando los espacios de la matriz proteica en la que regularmente se encuentran éstas, confiriendo una estructura menos dura (Bullens C., et al. 1994).

Las sales emulsificantes elegidas fueron una mezcla de tri, di y monofosfatos ya que en estudios previos de análogos de queso con caseinatos y grasa butírica se ha encontrado que promueven una emulsificación moderada de la grasa, lo que incrementa las propiedades de fusión y aumenta la firmeza del análogo si se usa en porcentajes de 0.5 a 1% (Cavaliere-Salou J. y Chefteil J.C., 1991) El agua es necesaria como medio dispersante de todos los componentes antes descritos y seleccionados para elaborar el análogo de queso (Patentes 5 061 504, 5 244 687).

4.2.1.1 Análisis proximal de las materias primas.

En la siguiente tabla se muestra el resultado del análisis proximal efectuado a las materias primas.

Tabla 4.1 Análisis proximal de materia prima.

COMPONENTES	GRASA BUTÍRICA	CASEINATO DE CALCIO	SUERO DE LECHE	LECHE DESCREMADA EN POLVO	SIMPLESSE MR
% Proteína (Kjeldahl)*	-----	85.86 ± 0.65	11.48 ± 0.55	36.02 ± 0.99	52.58 ± 0.32
% Grasa (Roese-Gottlieb)*	99.68 ± 0.16	0.71 ± 0.02	0.35 ± 0.03	1.27 ± 0.09	0.15 ± 0.01
% Carbohidratos (por diferencia)	-----	3.03 ± 0.10	78.18 ± 0.31	56.07 ± 1.23	37.38 ± 0.36
% Humedad (Horno)*	0.24 ± 0.01	6.63 ± 0.06	2.13 ± 0.12	4.37 ± 0.21	3.8 ± 0.12
% Cenizas (Mufla 550°C)*	0.14 ± 0.01	3.77 ± 0.01	7.86 ± 0.05	2.28 ± 0.02	6.10 ± 0.02
TOTAL	100 %	100%	100%	100%	100%

* Metodología del AOAC 1995 (16th edition)

A continuación se presentan tablas comparativas entre los resultados de análisis proximal que se obtuvieron y los datos reportados por los proveedores para cada una de las materias primas, así como con la norma para estos productos en caso de que exista.

a) GRASA BUTÍRICA (New Zealand Milk Products)

Tabla 4.2 Comparación de análisis proximal de grasa butírica con especificaciones de proveedor y normas.

Componente	Análisis proximal LAB.	Proveedor	Ley General de salud	Codex Alimentarius (Norma No A-2)
% Proteína	-----	-----	-----	-----
% Grasa	99.68 ± 0.16	99.85	99.5 mínimo	99.8 mínimo
% Carbohidratos	-----	-----	-----	-----
% Humedad	0.24 ± 0.01	0.15	0.5% máximo	0.1 máximo
% Cenizas	0.14 ± 0.00	-----	-----	-----

Los resultados comparados en este cuadro permiten comprobar que el contenido de grasa que reporta el proveedor es confiable, ya que es muy cercano al que se obtuvo en el laboratorio, además de que cumple con el reglamento de la Ley General de Salud que establece la Secretaría de Salud en México, pero no llega a cumplir con la norma para grasa de leche anhidra (Nº A-2) establecida en el Codex Alimentarius de 1994.

En cuanto al contenido de humedad, es ligeramente mayor el que se determinó en el análisis proximal realizado en el laboratorio con respecto al proveedor y aunque está dentro del límite establecido por la Ley General de Salud, no cumple con la norma internacional. Esta diferencia puede atribuirse a que el proveedor realiza los análisis a la salida de la producción de dicho ingrediente y en el presente trabajo éste ya tenía un tiempo almacenado y pudo haber absorbido humedad del ambiente. Al encontrar mayor humedad en esta materia prima se hizo necesario medir el índice de peróxidos para ver si no había sufrido oxidación y tal vez no tuviese la calidad óptima para elaborar el lipolizado. Los resultados de esta determinación se presentan en el punto 3.3.1.1.1.

b) CASEINATO DE CALCIO.

El caseinato que se analizó fue proporcionado por Dermet de México y de acuerdo a sus especificaciones de producto y la norma que existe para los caseinatos alimentarios en el Codex Alimentarius de 1994 (N° A-13) se puede ver que el contenido de proteína que se determinó en el análisis proximal está dentro de la especificación del proveedor, pero queda fuera de la especificación internacional por un 0.5% de deficiencia. Esta pequeña diferencia no necesariamente indica una mala calidad del producto ya que ésta puede deberse a un error experimental. El contenido de grasa encontrado en el ingrediente se encuentra dentro de la especificación dada por el proveedor que es la misma que plantea el Codex. El contenido de hidratos de carbono fue del 2%, 10 veces más de lo que según el proveedor debe contener su producto y 5 veces más de lo establecido en la norma, por lo que se sospecha de la adición de algún componente glúcido no reportado. Para el contenido de cenizas, la norma internacional no establece ningún parámetro por lo que solo se observa que el resultado obtenido cumple con lo establecido por el proveedor.

Para los fines de este proyecto el caseinato de calcio utilizado fue adecuado, pero sería importante considerar que éste no sería el proveedor óptimo del caseinato de calcio en caso de ser una materia prima utilizada en países que exijan el cumplimiento de las normas establecidas por Codex, por no estar dentro de los parámetros necesarios de proteína y lactosa.

Tabla 4.3 Comparación de análisis proximal de caseinato de calcio con especificaciones de proveedor y normas.

Componente	Análisis proximal	Proveedor	Codex alimentarius (Norma N° A-13)
% Proteína	86.86 ± 0.65	86% min.	88% min.
% Grasa	0.71 ± 0.02	2% máx.	2% máx.
% Carbohidratos	2.03 ± 0.102	0.2% máx. (Lactosa)	1% máx. (Lactosa)
% Humedad	6.63 ± 0.06	6% máx.	8% máx.
% Cenizas	3.77 ± 0.01	4.5% máx.	----

e) SUERO DE LECHE

El suero de leche en polvo al que se le realizó el análisis proximal fue provisto por la compañía Helm de México y todos los resultados obtenidos se encuentran dentro de las especificaciones que dicho proveedor reporta, como se observa en el siguiente cuadro junto, con la comparación del suero de leche que se utilizó en la patente norteamericana 4 343 817 ya que no existe norma para este producto.

Tabla 4.4 Comparación de análisis proximal de suero de leche con especificaciones de proveedor y normas.

Componente	Análisis Proximal	Proveedor	Patente 4 343 817
% Proteína	11.48 ± 0.55	11% mínimo	11-15%
% Grasa	0.35 ± 0.03	3% máximo	0.5-1%
% Carbohidratos	78.18 ± 0.31	70% mínimo	70-80%
% Humedad	2.13 ± 0.12	5% máximo	2- 4.5%
% Cenizas	7.86 ± 0.05	8% máximo	6-8%

Se puede concluir que el suero de leche de este proveedor es una materia prima de buena calidad que cumple con las especificaciones fisicoquímicas ofrecidas por él. Y el que su composición se encuentre dentro de los intervalos sugeridos para el suero utilizado en la

patente de análogo de queso natural (4 343 817). En este caso la Ley General de Salud no marca especificaciones físicoquímicas pero sí de carácter microbiológico.

d) LECHE DESCREMADA EN POLVO

En el siguiente cuadro comparativo se puede apreciar que el contenido de proteína determinado en el análisis proximal es 1% mayor que el reportado por el fabricante (Nestlé) y 2 % más de hidratos de carbono mientras que el contenido de grasa y cenizas es prácticamente el mismo que el reportado. Por tal motivo podemos concluir que la leche descremada en polvo marca Svelty de Nestlé sí tiene la composición que reporta en su etiqueta para informar al consumidor.

Tabla 4.5 Comparación de análisis proximal de grasa butírica con especificaciones de proveedor.

Componente	Análisis proximal	Proveedor
% Proteína	35.23 \pm 0.99	34.17
% Grasa	1.37 \pm 0.09	1.28
% Carbohidratos	55.27 \pm 1.23	52 (Lactosa)
% Humedad	5.57 \pm 0.208	No reporta
% Cenizas	2.58 \pm 0.02	2.32 (Minerales)

e) REEMPLAZANTE DE GRASA: SIMPLESSE ®

El Simplese Dry 100, presentación en polvo, que se analizó es proteína de suero de leche sometida a un proceso patentado llamado microparticulación (Singer and Moser, 1993); por lo cual contiene los mismos componentes mayoritarios que el suero de leche: proteína y lactosa, que de acuerdo a los resultados fué de 52.6 y 37.4% respectivamente. El proveedor no reportó en su boletín técnico la composición de éste y por ser un ingrediente de reciente aceptación por la FDA (White C.H. 1993) aún no existe norma que lo regule.

El análisis proximal de goma guar, carragenina y sales de fosfatos no se llevó a cabo ya que se aplican en concentraciones del 1% y menores. Las sales de fosfatos seleccionadas son una mezcla de mono, di y trifosfatos de sodio y por ser minerales su análisis proximal corresponde a casi un 100% de cenizas. Las gomas son polímeros de cadena larga y alto

peso molecular, que por su estructura química pertenecen al grupo de los carbohidratos al igual que las maltodextrinas que se obtienen por hidrólisis de almidón y que en este caso están constituidas por 2.3% de monosacáridos, 2.8% de disacáridos, 2.9% de trisacáridos, 3% de tetrasacáridos y el 98% lo constituyen polisacáridos superiores

4.2.1.2 Análisis microbiológico de materia prima.

Microorganismos	Grasa butírica	Caseinato de calcio	Leche descremada en polvo	Suero de leche en Polvo	Simplese MR	Maltodextrinas	Goma guar	Carragenina
Mesófilos aerobios (UFC/g)*	100	2000	20	1000	Menos de 10	Menos de 10	<10	Menos de 10
Coliformes Totales (UFC/g)**	50	Negativo	10	Negativo	Negativo	Negativo	Neg.	Negativo
Hongos y Levaduras (UFC/g)**	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	<10	<10	<10

Metodologías * NOM-092-SSA1-1994, **NOM-112-SSA1-1994, ***NOM-111-SSA1-1994

Para grasa butírica no existe especificación microbiológica pero tomando en cuenta en la Ley General de Salud el capítulo XII, correspondiente a mantequilla, producto que contiene un 80% de grasa láctea, se tiene que para mesófilos aerobios se permiten máximo 10 000 UFC/g, de coliformes totales no más de 100 UFC/g y menos de 20 UFC/g de hongos y levaduras se puede apreciar que los resultados microbiológicos se encuentran por debajo de estos límites, lo que indica que tiene una buena calidad microbiológica.

Con respecto al caseinato de calcio no se contó con ninguna norma microbiológica, pero considerando la especificación del proveedor (máximo 5000 UFC/g de mesófilos aerobios, negativo para coliformes totales y 50 UFC/g máximo de hongos y levaduras) se puede ver en la tabla de resultados que este ingrediente cumple con dichos parámetros por lo que se puede utilizar sin riesgos para la salud.

En el caso de la leche descremada se pueden tomar como valores de comparación los establecidos por la norma oficial mexicana de leche pasteurizada de vaca (NOM-091-

SSA1-1994) considerando que el producto de interés proviene de éste último. No obstante hay que tener en consideración que los valores establecidos en la norma son elevados por tratarse de un producto líquido, a diferencia de la leche descremada analizada que se encuentra en polvo. La NOM aprueba como máximo 30 000 UFC/g de mesófilos aerobios y 20 UFC/g de coliformes totales, valores superiores a los encontrados en el análisis.

Para el suero de leche lo único que menciona el capítulo XIV, artículo 372 de la Ley General de Salud con respecto a especificaciones microbiológicas es que no debe contener microorganismos patógenos. Comparando los resultados con la especificación que proporcionó el proveedor (mesófilos aerobios 30 000 UFC/g máximo, coliformes totales máximo 10 UFC/g y 50 UFC/g de hongos y levaduras como máximo) se concluye que el suero analizado tiene buena calidad microbiológica.

En el caso del reemplazante de grasa denominado Simplese ®, no existe reglamento para la calidad microbiológica. Dicho producto es proteína microparticulada de suero de leche por lo que se pueden tomar como valores de referencia los establecidos para el suero de leche que se reportan anteriormente. Siendo así, se concluye que dicho producto tiene buena calidad microbiológica y se sustenta esta aseveración y aplica también a las maltodextrinas, para las cuales tampoco existe norma, ya que como se observa en los resultados estas dos materias primas son las que menor cantidad de microorganismos presentaron para cada una de las determinaciones.

El análisis microbiológico de las materias primas utilizadas, de acuerdo con los valores de referencia con los que se cuenta indica que en la producción de dichos compuestos se aplicaron buenas prácticas de manufactura y de almacenamiento. Son de buena calidad y adecuadas para el consumo humano.

4.3 OBTENCIÓN DEL SABOR A QUESO

4.3.1 Modificación enzimática de grasa butírica.

La metodología que se siguió para la obtención del sabor a queso mediante un proceso biotecnológico (Moskowitz y Noelck, 1987) se describió en el punto 3.3.1 y fue muy útil para la obtención del lipolizado que se usó como saborizante en el análogo de queso elaborado. Cada uno de los pasos seguidos y los resultados obtenidos en cada uno de ellos se presentan y analizan en los puntos siguientes hasta terminar en el punto 4.3.1.6.

4.3.1.1 Preparación del sustrato.

El sustrato utilizado fue grasa butírica anhidra (New Zealand Milk Products ®) a la cual se le realizaron tres pruebas de análisis como control de calidad: índice de peróxidos, determinación del punto de fusión y cuantificación de grasa, de acuerdo a los métodos planteados en el punto 3.3.1.1.

4.3.1.1.1 Índice de peróxidos

Esta prueba se realizó con la finalidad de detectar si la grasa había sufrido oxidación o no, ya que en el análisis proximal se determinó un ligero exceso de humedad, la que es uno de los factores que junto con la temperatura, luz solar y presencia de metales aceleran la rancidez oxidante. El resultado obtenido fue de 18.5 meq de peróxido por kg de muestra, lo cual indica que no ocurrió oxidación en ella, ya que las grasas o aceites que han sufrido éste deterioro presentan de 20 a 40 meq. peróxido/kg. muestra (Egan H., 1987). Se concluye que se puede trabajar con esta materia prima para los fines establecidos.

4.3.1.1.2 Punto de fusión.

El punto de fusión medido fue de 36 a 38° C, el cual indica que la grasa analizada es grasa de origen lácteo ya que un intervalo de temperatura entre 34 y 38° C es propio de este tipo de grasa (Spreer E., 1998). No se trata de una temperatura concreta debido a que la composición de los triglicéridos, que constituyen el 98% de ésta, es tan variable como el número de ácidos grasos que existen en la naturaleza (De la Fuente M.A. y Juárez M., 1999).

4.3.1.1.3 Determinación de grasa.

La cuantificación de grasa, que se realizó por el método de Roesse-Gottlieb (3.2.1.2), como se reporta en los resultados del análisis proximal de materias primas muestra que tiene un 98% de grasa lo que indica que la concentración reportada por el proveedor es correcta y que es un sustrato con alto contenido lipídico en el que las lipasas realizarán su actividad sin que haya compuestos extraños que interfieran en su proceso. De acuerdo a los resultados obtenidos, se verificó la buena calidad de la grasa butírica marca New Zealand Milk Products, por lo tanto se procedió a la modificación enzimática de la misma para la obtención del saborizante aplicado en el análogo de queso.

4.3.1.2. Medición de la actividad enzimática.

Como se mencionó en el punto 3.3.1.2, las enzimas utilizadas fueron lipasas producidas por la especie fúngica *Rhizopus javanicus* (Amano ®), las cuales presentan una actividad óptima a una temperatura de 37 °C y pH 7. Su actividad se determinó por caída de pH contra el tiempo, obtenido así la curva patrón en que se grafica el pH contra la concentración de ácido butírico en mmoles, y la curva de actividad mostradas en el apéndice 2. La actividad enzimática obtenida fue de 170 970 UI/g la cual es mayor que la reportada para esta misma enzima sobre un sustrato que tiene bajo contenido de grasa y altos porcentajes de diversos tipos de hidratos de carbono, los cuales interfieren en la eficiencia de la enzima para realizar la lipólisis del componente graso pero no ocurre en este caso, pues el sustrato tiene una alta concentración de grasas.

4.3.1.3 Preparación de la emulsión.

4.3.1.3.1 Determinación de la emulsión más estable.

Los resultados obtenidos de la preparación de distintas emulsiones agua/aceite se muestran en el siguiente cuadro:

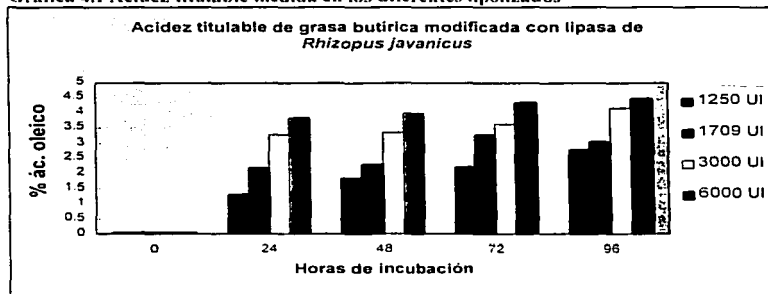
% Agua	Tiempo al que se separaron las fases
12% (6 ml agua + 50g grasa)	1hr. ± 5 min.
24% (12 ml agua + 50g grasa)	15 min. ± 35 seg.
36% (18 ml agua + 50g grasa)	1 min. ± 5 seg.

Se puede observar que la emulsión agua/grasa más estable es la que tiene una concentración del 12%, es decir, que debido a que las enzimas lipolíticas tienen una actividad máxima en la interfase de una emulsión agua/grasa (Godtfredsen, 1990), las condiciones de la emulsión para la elaboración del producto lipolizado son 6 ml de agua + 50 gramos de grasa butírica, homogeneizando a 8000 rpm durante un minuto.

4.3.1.4 Incorporación de la enzima al sustrato e incubación.

Para determinar la concentración de lipasa y tiempo de incubación más eficiente se midió la acidez presente en los lipolizados, reportada como % de ácido oleico, lo cual indica el grado de hidrólisis de la grasa butírica generada por las lipasas. Cabe mencionar que las primeras unidades de actividad enzimática que se aplicaron fueron 25.125 y 250 UI, pero al medir la acidez a los sustratos modificados bajo estas condiciones se encontró que ésta presentaba mayor acidez solo en décimas de unidad con respecto a la medida en el sustrato antes de modificar. Por lo que se procedió a aplicar mayores dosis de enzima, del orden de diez veces más, y los resultados de la acidez titulable se muestran en la siguiente gráfica para cada una de las actividades de enzima elegidas: 1250 UI, 1709 UI, 3000 UI, 6000 UI a los distintos tiempos de incubación: 24, 48, 72 y 96 horas.

Gráfica 4.1 Acidez titulable medida en los diferentes lipolizados



Cantidad de sustrato: 50 g grasa butírica anhidra, Volumen de agua: 5 ml.
 Volumen de solución enzimática: 1 ml.
 Preparación de la emulsión: 8000 rpm / 1 min. / 37° C
 Condiciones de incubación: 37 °C / 150rpm con agitación recíprocante
 Determinaciones por triplicado

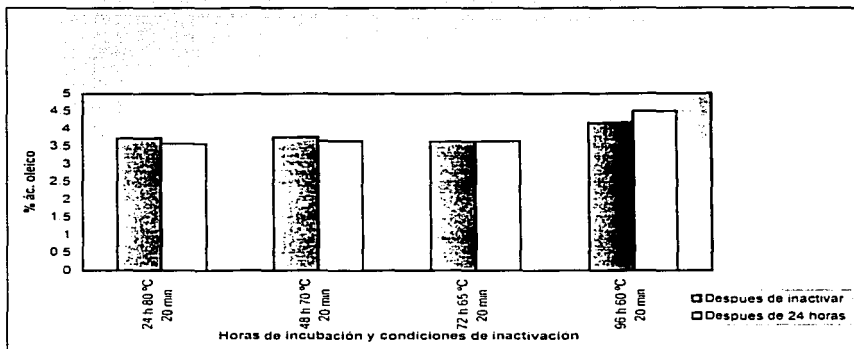
Como se observa en la gráfica, la mayor acidez fue producida a las 96 horas de incubación aplicando 6000 UI de actividad enzimática la cual, además, es muy similar a la acidez producida por esta misma dosis de enzima pero a las 72 horas de modificación lipolítica. Para la elección del lipolizado a emplear en el análogo de queso como saborizante es necesario considerar el aspecto costo-beneficio con respecto a las dosis de enzima a utilizar, el gasto de tiempo y energía empleados en la incubación y evaluar el sabor del lipolizado, ya que una mayor producción de ácidos grasos libres no tiene relación directa con un mejor sabor a queso, debido a que el aroma y sabor de un queso estará dado principalmente por ácidos grasos libres de cadena corta (C4-C8) mientras que un exceso de ácidos grasos de cadena larga (C10-C18) provee notas jabonosas no deseadas al lipolizado (Fox P.F. et al., 1997)

4.3.1.5 Inactivación de la enzima

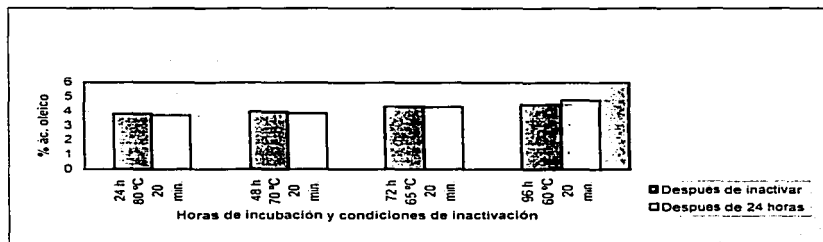
Los resultados obtenidos de las condiciones de inactivación aplicadas: 80°C/20 min., 70°C/20 min., 65°C/20 min., 60°C/20 min. a los lipolizados con mayor actividad de lipasa : 3000 y 6000 UI/g.

A continuación se exponen las gráficas que presentan la acidez titulable reportada como % de ácido oleico al momento de inactivar y después de 24 horas de que se aplicó dicho proceso.

Gráfica 4.2 Acidez titulable. Tratamiento enzimático: 3000 UI/g. Inactivación bajo diferentes condiciones



Gráfica 4.3 Acidez titulable Tratamiento enzimático: 6000 UI/g. Inactivación bajo diferentes condiciones



Se observa en ambas gráficas que la producción de ácido oleico se mantiene constante después de 24 horas de la inactivación para las temperaturas de 80, 70 y 65° C. lo que

indica que la enzima fue inactivada. No sucede así en la aplicación de 60 °C en la que después de 24 horas todavía se observa actividad enzimática. De estos resultados se concluye que la condición óptima para inactivar la enzima es de 65°C durante 20 minutos, ya que es más fácil el trabajar a menor temperatura y se tiene un menor gasto de energía, y que las condiciones de inactivación no dependen de la dosis de enzima aplicada ni del tiempo de incubación de los lipolizados.

4.3.1.6. Condiciones de almacenamiento del lipolizado.

Una vez inactivada la enzima en los lipolizados, la temperatura que se determinó para el almacenamiento del mismo, fue la de refrigeración : 4° C como promedio. Se tomó como parámetro el establecido por la Ley General de Salud de México, en el capítulo XII artículo 370 inciso IV, para la mantequilla que es un productos lácteo con alto contenido de grasa (80%), característica similar al producto en cuestión.

4.3.2 Evaluación Sensorial

De la prueba de preferencia aplicada se encontró que los jueces no tuvieron preferencia significativa por ninguno de los lipolizados elaborados con dosis de 1250, 1790 y 6000 UI; ni por los de 3000 UI incubados por 24 y 48 horas. Las dos primeras series fueron caracterizadas por tener poca intensidad de sabor y la tercera serie por presentar notas jabonosas desagradables según lo manifestaron a manera de comentario en el cuestionario. Estos resultados descartan el uso de éstos como saborizantes en las fórmulas de análogo de queso desarrolladas.

Se encontró que los jueces tuvieron preferencia significativa para los lipolizados elaborados con 3000 UI por 72 y 96 horas con una diferencia de 3.45 y 1.10 respectivamente. Con base en estos resultados se eligió el lipolizado elaborado con 3000 UI de lipasa e incubado por 72 horas ya que presenta una preferencia significativamente mayor, además de que se tiene un tiempo de incubación menor.

Recordando que las hipótesis planteadas fueron las siguientes:

Hipótesis nula (H₀): No existe diferencia significativa entre los lipolizados.

Hipótesis alterna (H1): Sí existe diferencia significativa entre los lipolizados.

La hipótesis nula se confirma para el caso de la serie 1, 2 y 4, mientras que para la serie 3 se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna.

4.4 ELABORACIÓN DEL ANÁLOGO DE QUESO.

4.4.1 Proceso de elaboración del análogo de queso.

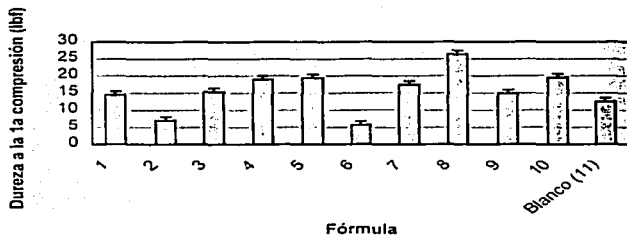
El proceso de elaboración permitió la obtención de un producto homogéneo ya que los componentes de la fórmula, todos ellos en forma de polvo excepto la grasa butírica, se adicionaron de acuerdo a su solubilidad en agua. Los ingredientes que se utilizaron en pequeñas proporciones se agregaron en una premezcla, lo que ayudó a una mejor dispersión de los mismos. La incorporación del caseinato en dos partes ayudó a la mejor integración de los demás componentes ya que éste tiene una gran capacidad de hidratación lo que hace que además de formar una estructura rígida al disolverse e impedir la distribución homogénea de los demás componentes de la fórmula, también hubiera dejado menos agua para solubilizarlos.

4.4.2 Análisis de Perfil de Textura.

Antes de presentar los resultados es de importancia mencionar que inicialmente se consideró tomar como blanco los dos quesos tipo manchego de las marcas comerciales más vendidas en México: Chambourey de Nestlé y Noche Buena, de acuerdo a lo que informaron las vendedoras del departamento de salchichonería de cuatro cadenas de tiendas de autoservicio. Sin embargo este primero no pudo utilizarse para tales fines ya que por su consistencia se adhería a la superficie del sensor del texturómetro, impidiendo la medición de sus parámetros de textura. Los resultados obtenidos de dureza a la primera y segunda compresión, cohesividad, masticabilidad y gomosidad se muestran en las gráficas 4.4.1 a 4.4.5, respectivamente

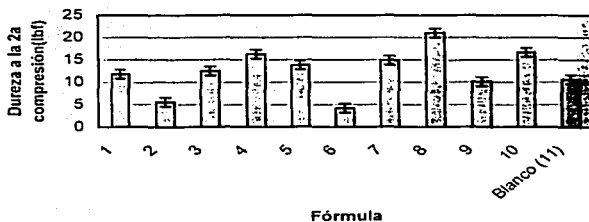
En la gráfica 4.4.1 se puede ver de forma comparativa la dureza a la primera compresión de cada una de las muestras y del blanco. Se observa que las fórmulas 1, 3 y 9 son las más parecidas al modelo comercial.

Gráfica 4.4.1 Medición de atributo de dureza a la primera compresión.



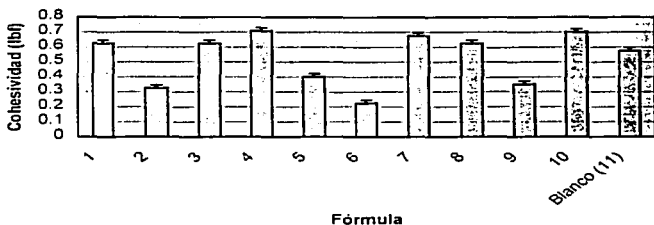
La gráfica 4.4.2 muestra que las fórmulas 1, 3 y 9 son también las más semejantes al blanco en cuanto a la dureza a la segunda compresión se refiere.

A

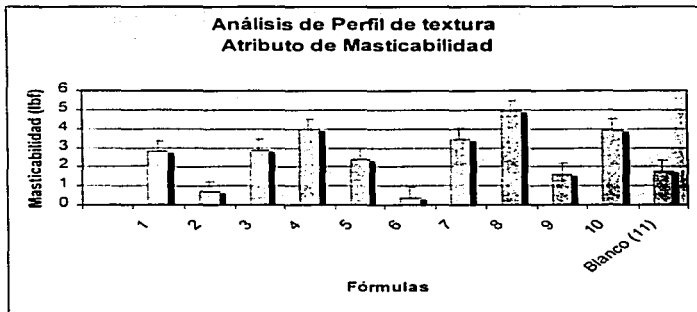


Gráfica 4.4.2 Dureza a la segunda compresión.

En la gráfica 4.4.3 se observa que las muestras semejantes al blanco en cohesividad son las fórmulas 1, 3 y 8 mientras que solo la fórmula 9 es similar al blanco en cuanto a masticabilidad (ver gráfica 4.4.4).

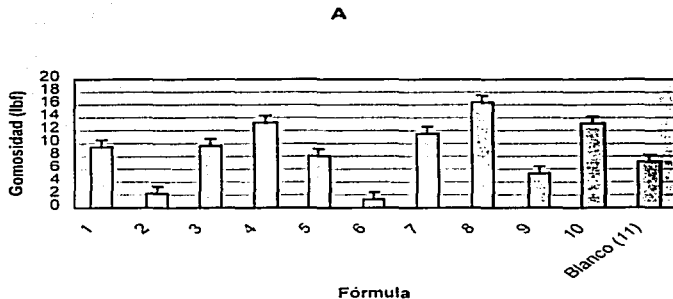


Gráfica 4.4.3.- Medición del atributo de cohesividad



Gráfica 4.4.4.- Medición del atributo de masticabilidad.

La gráfica 5 muestra que la fórmula 5 y 9 se asemejan al blanco por su gomosidad.



Gráfica 4.4 5.- Medición del atributo de gomosidad.

Tabla 4.4 Resultados del análisis estadístico con la prueba de Fischer del TPA.

Formulas	Dureza 1	Dureza 2	Cohesividad	Masticabilidad	Gomosidad
1	14.4175 ±0.988	11.7800 ± 1.4918	0.6250 ± 0.0957	2.7908 ±0.4968	9.4325 ± 1.6033
2	7.0300 ±0.2874	05.5500 ± 0.2599	0.3250 ±0.0500	0.6650 ±0.0751	2.2175±0.2538
3	15.3350 ± 1.2563	12.4775 ± 1.0963	0.6250 ±0.0500	2.8855 ±0.3112	9.6125±1.0323
4	18.9800 ± 1.0342	16.2575 ± 1.0283	0.7000 ±0.0000	3.9698 ± 0.2574	13.2200±0.8486
5	19.4025 ± 0.6973	13.7800 ± 0.8980	0.4000 ±0.0000	2.4138 ±0.2062	8.0375±0.6876
6	05.6550 ± 0.6186	04.2125 ±0.4018	0.2250 ±0.0500	0.3940 ±0.0743	1.3125±0.2461
7	17.4375 ± 1.0457	14.8875 ± 0.6697	0.6750 ±0.0500	3.4470 ±0.1439	11.4950±0.4694
8	26.3200 ± 2.4451	20.9975 ± 2.7492	0.6250 ±0.0957	4.9123 ±0.6368	16.3925±2.1223
9	14.8850 ± 2.4517	10.1300 ± 2.6561	0.3500 ±0.0577	1.6000 ±0.3855	5.3300±1.2826
10	19.5150 ± 0.3670	16.6550 ±0.3147	0.7000 ± 0.0000	3.9283 ±0.0884	13.1000±0.3003
Blanco (11)	12.4250 ± 1.3219	10.6275 ± 1.3350	0.5750 ± 0.0957	1.7538 ± 0.3717	7.1625±1.5507
FISHER	Fcalc. 77.4402	Fcalc. 46.5316	Fcalc. 31.4939	Fcalc. 79.9757	Fcalc. 69.6272
α 0.05	*	*	*	*	*
α 0.01	**	**	**	**	**

Ftablas (g.l. error 33 g. l. muestra 10) α 0.05 = 2.14 / α 0.01 = 2.94

Ftablas < Fcalc. NO SIGNIFICATIVO

Ftablas > Fcalc. α 0.05 * SIGNIFICATIVO

α 0.01 ** ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

Del análisis estadístico con la prueba de Fisher se encontró a un nivel de significancia de 0.01 que existe diferencia altamente significativa en cada uno de los parámetros de textura evaluados ya que en todos los casos la F calculada fue mucho mayor que la F de tablas (grados de libertad de la muestra= 10, grados de libertad del error = 32).

De estos resultados se puede afirmar que a un nivel de significancia de 0.05% existe diferencia significativa entre las muestras para todos y cada uno de los atributos de textura evaluados y a un nivel de 0.01% de significancia, la diferencia fue altamente significativa, ya que en ambos niveles de exigencia, la F calculada fue mucho mayor que la F de tablas obtenida con grados de libertad de la muestra= 10, grados de libertad del error = 32.

Se concluye que las diferencias en composición de cada una de las 10 fórmulas propuestas incide en la obtención de atributos de textura con variaciones entre cada una de ellas, ya que cada ingrediente tiene una propiedad funcional distinta y varía de acuerdo a la concentración utilizada y a la interacción con los demás ingredientes de la fórmula.

Con el análisis de varianza por Rangos de Duncan a un nivel de exigencia del 99.9 % de exigencia y del 99.5% se agruparon las fórmulas y el blanco de acuerdo a la semejanza que presentan entre sí para el atributo de textura señalado. Por lo tanto se corrobora estadísticamente lo que se observó en las gráficas anteriores. La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos, en la que F11 equivale al Blanco y se marcó en "negritas" el grupo de fórmulas en el que éste se encuentra y que por lo tanto fueron las más semejantes a él, en cada uno de los atributos evaluados.

Tabla 4.5 Resultados del análisis estadístico de Duncan aplicado al TPA.

	DUREZA 1	DUREZA 2	COHESIVIDAD	MASTICABILIDAD	GOMOSIDAD
DUNCAN α 0.01	GPO.1 F6	GPO.1 F6	GPO.1 F6	GPO.1 F6	GPO.1 F6
	F2	F2	GPO.2 F2	F2	F2
	GPO.2 F11	GPO.2 F9	F9	GPO.2 F9	GPO.2 F9
	GPO.3 F1	F11	F5	F11	GPO.3 F11
	F9	F1	GPO.3 F11	GPO.3 F5	F5
	F3	GPO.3F11	F1	F1	GPO.4 F5
	GPO.4 F7	F1	F3	F3	F1
	F4	F3	F8	GPO.4 F7	F3
	F5	GPO.4 F1	GPO.4 F1	GPO.5 F10	GPO.5 F7
	F10	F3	F3	F4	F10
	GPO.5 F8	F5	F8	GPO.6 F8	GPO.6 F10
		GPO.5 F5	F7		F4
		F7	F4		GPO. 7 F8
		GPO.6 F7	F10		
	F4				
	F10				
	GPO.7 F8				
α 0.05	GPO.1 F6	GPO.1 F6	GPO.1 F6	GPO.1 F6	GPO.1 F6
	F2	F2	F2	F2	F2
	GPO.2 F11	GPO.2 F9	GPO.2 F2	GPO.2 F9	GPO.2 F9
	F1	F11	F9	F11	F11
	F9	F1	F5	GPO.3 F5	GPO.3 F11
	GPO.3 F1	F3	GPO.3 F11	F1	F5
	F9	GPO.3 F1	F8	F3	GPO.4 F5
	F3	F3	F3	GPO.4 F1	F1
	GPO.4 F9	F5	F1	F3	F3
	F3	GPO.4 F3	F7	F7	GPO.5 F1
	F7	F5		GPO.5 F7	F3
	GPO.5 F7	F7		F10	GPO.6 F7
	F4	GPO.5 F5		F4	F7
	F5	F7		GPO.6 F8	F10
F10	F4			F4	
GPO.6 F8	F10			GPO. F8	
	GPO.6 F8				

NOTA.- F11 corresponde al Blanco (Queso tipo manchego "Noche Buena")

Los resultados del análisis estadístico de Duncan para el TPA a un nivel de exigencia del 95%, que es el que generalmente se aplica a los estudios con alimentos, indica que la fórmula 9 es la que presenta atributos de dureza a la primera y segunda compresión, masticabilidad y

gomosidad más semejantes al blanco, aunque no así en cuanto a la cohesividad se refiere. No obstante ésta es la fórmula final del análogo de queso, objetivo de este proyecto.

Dicha fórmula presentó capacidad de fundido, característica deseable en este producto puesto que el queso tipo manchego la posee. El resultado se puede apreciar en el apéndice 3.

4.4.3 Análisis microbiológico del producto final

Debido a que aún no existe una norma para análogos de queso y el capítulo XXIV de Imitación de quesos en la Ley General de Salud no contempla parámetros microbiológicos, se comparan a continuación los resultados de los análisis microbiológicos aplicados a tres fórmulas de análogo de queso, con los valores establecidos en la Norma Oficial Mexicana de Quesos frescos, madurados y procesados (NOM-121-SSA1-1994).

Tabla 4.6 Resultados del análisis microbiológico del producto final.

Microorganismo	Análogo Fórmula 1	Análogo Fórmula 3	Análogo Fórmula 9	Queso Fresco	Queso madurado	Queso Procesado
1.-Mesófilos aerobios (UFC/g)	20	Menos de 10	Menos de 10	----	----	----
2.-Coliformes Totales (UFC/g)	Negativo	Negativo	Negativo	100 máx.	50 máx.	50 máx.
3.-Hongos y Levaduras (UFC/g)	15	Menos de 10	Menos de 10	500 máx.	500 máx.	100 máx.

Metodologías 1.- NOM-092-SSA1-1994, 2.-NOM-112-SSA1-1994, 3.-NOM-111-SSA1-1994

Como se puede observar, las tres fórmulas de análogo de queso cubren los requerimientos microbiológicos de la contraparte que imitan, lo que indica que se partió del uso de materias primas con buena calidad microbiológica, que el proceso de elaboración se realizó de acuerdo a las buenas prácticas de manufactura y que el proceso de pasteurización del producto fue efectivo, excepto en la fórmula 1 en que se encontró mayor carga microbiana.

4.4.4 Evaluación sensorial del producto terminado

A continuación se muestran los resultados obtenidos del análisis de varianza realizado para la prueba de nivel de agrado que se aplicó para evaluar las formulaciones 1, 3 y 9.

Tabla 4.7 ANOVA de la prueba de nivel de agrado.

CUADRO DE ANALISIS DE VARIANZA					
Fuente de la variación	g.l.	SC	CM	Fcalculado	Ftablas
Muestras	2	4.96	2.48	2.028	19.5
Jueces	11	28.7	28.70	2.135	2.4
Error	94	115.04	115.04		
Total	107	148.74	148.74		

La F de tablas se buscó con un nivel de exigencia del 95%

Debido a que la F de tablas es mayor que la F calculada, no hay diferencia significativa entre las fórmulas de análogo de queso evaluadas. Por lo que se confirma la hipótesis nula que versa así:

Hipótesis nula (H₀): No hay diferencia significativa entre el sabor de cada una de las muestras.

Estos resultados indican que los jueces no percibieron diferencia entre los análogos de queso que evaluaron y al observar la tabla de resultados, se tiene que las calificaciones asignadas variaron entre 3, 5 y 7 de la escala no estructurada. Las cuales corresponden a las expresiones : disgusta un poco, me es indiferente y gusta poco. Los datos que indican que el sabor en el análogo no es el óptimo, por lo que debe trabajarse aún más en el mejoramiento de éste y en algún momento los jueces caliñquen el producto con la calificación más alta que sería : gusta mucho.

5.0 CONCLUSIONES

- ❖ El modelo de trabajo seleccionado fue el queso tipo manchego, puesto que una encuesta realizada con enfermos cardiacos indicó que un 40% lo prefería sobre otros quesos de consumo frecuente en el mercado mexicano.
- ❖ Se llevó a cabo una evaluación sensorial y de textura para diez formulaciones base de análogo de queso. La elegida para experimentación posterior fue:

20% caseinato de calcio
 15% leche descremada en polvo
 6% grasa butírica lipolizada.
 1% sales emulsificantes
 8% proteína microparticulada (Simplese MIR)
 50% agua

- ❖ Las características relevantes de la formulación de interés en relación al queso manchego comercial de referencias son:

Atributo Medido	Fórmula elegida (# 9)	Blanco (Queso manchego Noche Buena)
Dureza a la primer compresión	14.88 lbf.	12.43 lbf.
Dureza a la segunda compresión	10.13 lbf.	10.63 lbf.
Gomosidad	5.33 lbf.	7.16 lbf.
Masticabilidad	1.60 lbf.	1.75 lbf.

(95% exigencia, Duncan)

❖ El sabor obtenido por la acción lipolítica aplicada sobre la grasa butírica (3000 UI, 72 h de incubación a 37 °C), permitió la obtención de un sabor aceptable, de acuerdo a una prueba de preferencia, con una diferencia significativa de 3.45 por sobre los lipolizados elaborados con dosis menores, más elevadas o a diferentes tiempos de incubación. (1250, 1790 y 6000 UI, tiempos de incubación de 24, 48, 72 y 96 horas).

❖ Los resultados de la prueba de nivel de agrado realizada con las fórmulas 1, 3 y 9 de análogos de queso mostraron que no existió diferencia significativa entre el sabor de las mismas. La calificación máxima dada por los jueces correspondió a la expresión "gusta poco", por lo que si bien el sabor del lipolizado fue aceptable, no se alcanzó a obtener el perfil deseado en el producto final.

6.0 PERSPECTIVAS

- ❖ El producto desarrollado en el presente trabajo cumple con algunas de las expectativas generadas: tiene menor contenido de grasa saturada, tiene textura aceptable, puede fundirse para emplearse en platillos mexicanos. Sin embargo, las características de sabor deben ser mejoradas. Con el fin de obtener un sabor más aceptable, más redondeado, pueden explorarse diversas opciones, como adicionar proteasas y bacterias lácticas para completar las notas lácteas.

- ❖ Entre las consideraciones que deben hacerse para mejorar la fórmula de análogo de queso seleccionada está determinar y controlar el contenido de sodio, puesto a que este producto intenta formar parte de la alimentación especial de personas con cardiopatía, a quienes se les limita el consumo de dicho mineral a 1 g. por día. Se propone realizar un análisis específico del contenido de éste en la fórmula final, con el objetivo de que el nivel no exceda la recomendación médica, así como para que se reporte en el empaque de acuerdo a la normatividad requerida para los alimentos funcionales, a los cuales pertenece este desarrollo.

7.0 Bibliografía.

1. Adda J. 1986. Flavour of Dairy Products. Elsevier Applied Science. UK. p.151-172.
2. Akoh C.C. 1998. Lipid-based Synthetic fat Substitutes .in Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology Akoh C.C. and Min D.B (Ed.). Marcel Dekker, Inc. USA. p. 559-588
3. Altshul A.M. 1993. Low-Calorie Food Handbook. Nagodawithana T.1993. Enzymes in Food Processing. Academic Press, Inc. USA. 205-216.
4. AMPAC (Asociación Mexicana para la prevención de aterosclerosis).1998. <http://cpesa.com.mx/ampac/i2.htm>
5. Andres C.1986. Cheese substitute from concentrated skim milk. Food Processing. March 24-25.
6. AOAC. 1995 . Official methods of Analysis of AOAC International. 16 th edition Vol II. Arlington. USA.
7. Archer D.and Pederby J.. 1997. The molecular Biology of Secreted Enzyme Production by Fungi. Critical Reviews in Biotechnology 17(4): 273-306.
8. Armstrong D.J. and Rainey N.H. 1995. Reduced-fat cheese: regulations and definitions. in Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese. Malin E.L. and Tunick M.H.(Ed.) Plenum Press. New York. p. 367-371
9. Banks J.M.. 1998. Cheese in The technology of dairy products. Early Ralph (Ed.). Blackie Academic & Professional. UK., p. 81-103.
10. Bernard L.O., Weil C.S., Woods L.A. and Brenard B.K., 1985 . GRAS substances. Special Report. IFT, Chicago.USA.
11. Birch G.G. and Lindley M.G.. 1986. Developments in Food Flavours. Elsevier Applied Science Publishers LTD. UK. p. 1-19.
12. Borgstrom. B. and Brockman, H. L. 1984. Lipases. Elsevier . U.S.A.
13. Botta J.R., 1991. Instrument for Nondestructive Texture Measurement of Raw Atlantic Cod (*Gadus Morhua*) Fillets. Journal Food Science 56(4): 962-968.
14. Bourges H. Alimentación correcta. Memorias del Seminario El consumidor y la Alimentación, editado por Academia Mexicana de Derechos Humanos e Instituto Nacional del Consumidor. México. p.38-40.

15. Bourges R. H. 1990. Alto a la aterosclerosis . Cuadernos de Nutrición 13(6):33-38
16. Bourges R. H. 1990. La aterosclerosis y sus causas (1ª parte) . Cuadernos de Nutrición 13(5):18-32
17. Bourges R. H. 1990. La aterosclerosis y sus causas (2ª parte) . Cuadernos de Nutrición 13(6):17-32
18. Bozzi M.J. 1980. Cheese analog advantages range beyond economical aspects. Food Product Development. 14(6):42-44.
19. Brandsma R.L., Mistry V.V., Anderson D.L., Baldwin K.A. 1993. Reduced Fat Cheddar Cheese from Condensed Milk. Journal of Dairy Science 77:897-906.
20. Bruckner G.. 1992. Fatty acids and Cardiovascular Diseases in Fatty Acids in Foods and their Health Implications. Kuang C.C.(Ed.), Marcel Dekker, Inc. p.735-751.
21. Bruhn, C.M. 1992 . Consumer attitudes and Market potencial for dairy products utilizing fat substitutes. Journal of Dairy Science 75 (9): 2569-257 .
22. Bullens C., Krawczyk G. and Geithman L. 1994. Reduced-Fat Cheese Products Using Carrageenan and Microcrystalline Cellulose. Food Technology January:79-90.
23. Cal A. 1986. Cheese substitute from concentrated skim milk . Food Processing . 5:24-25.
24. Camire M.E. et al. 2001. Diet and Health Research Needs . Food Technology 5(5) : 189-191.
25. Cavalier-Salou C. and Chefel J.C. 1991. Emulsifying Salts Influence on Characteristics of Cheese Analogs from Calcium Caseinate. Journal Food Science 56(6):1542-1547.
26. Cenzano I. 1992. Los quesos. AMV Ediciones. España., p. 43-55.
27. Cooper H.R. 1987. Texture in Dairy Products and its Sensory Evaluation in Food Texture Instrumental and Sensory Measurement Ed. Moskowitz H.R. Marcel Dekker, Inc. USA. p. 230-235.
28. Chen J. and Chang K. 1993. Lipase-catalyzed hydrolysis of milk fat in lecithin reverse micelles. Journal Fermentation Bioengineering 76 (2):98-104.

29. Christie W.W. 1987. The Analysis of Lipids with Special Reference to Milk Fat in Hamilton R.J. & Bhati A. Recent advances in Chemistry and Technology of Fat and Oils. Elsevier Applied Science . UK. p. 57-59
30. Dairy Management Inc. 1996. Wheying the Opportunities for Milk Proteins. Dairy Research Focus.2(2):1-5.
31. De la Fuente M. A. y Juárez M. 1999. Revisión: Aplicación de las técnicas cromatográficas al estudio de triglicéridos y esteroides de la grasa de leche. Food Science Technology International 5(2):103-119.
32. Delahunty C.M., Piggott J.R., Conner J.M. and Paterson A. 1996. Journal of Science Food and Agriculture. 71:273-281.
33. Delgado A. 1985. El Derecho a la alimentación y el INCO. Memorias del Seminario El consumidor y la Alimentación. Editado por Academia Mexicana de Derechos Humanos e Instituto Nacional del Consumidor. México p.52-54.
34. Desnuelle P., 1975. The Lipases in The enzymes VII . Boyer Academic Press. 575-617.
35. DPP-Schreiber Cheese Co., 1981. Cheese Substitutes . Food Processing Industry. November. (11): 48-53.
36. Drake M. A., Herrett W., Boylston T.D. and Swanson B.G. 1995. Sensory Evaluation of Reduced Fat Cheeses. Journal of Food Science 60(5):898-905.
37. Durán L. and Costell E., 1995. Review: Perception of taste. Physicochemical and psychophysical aspects. Food Science Technology International. 5 (4) : 299-309.
38. Dziezaek J.D., 1989. Fats oils and Fat Substitutes. Food Technology -43(7):66-74.
39. Eck A., 1983. El queso. Omega .España., p. 200-202.
40. Egan, H. 1987. Análisis químico de alimentos de Pearson.CECSA.México. p. 545-547.
41. Espinosa E. 1990. Mejoramiento de las condiciones de producción de lipasa de *Rhizopus delemar*, destinada a la modificación de un sustrato lácteo. Tesis para obtener el grado de Maestría en Biotecnología UACP y P, CCH. Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM. México.
42. Fellows P. 1988. Food processing technology. Principle and practice. VCH Publishers . p.172-184.

43. Fennema O.R. 1996. Food Chemistry. 3th edition . Marcel Dekker. Inc. USA p.386.
44. Fisher P. y Bender A. 1990. Valor Nutritivo de los Alimentos. Editorial Limusa, México. p.11,12 .
45. Fiszman S.M. and Damásio M.H. 2000. Suitability of Single-Compression and TPA Tests to determine adhesiveness in adhesiveness in solid and Semi-solid foods. *Journal of Texture Studies* 31 : 55-68.
46. Fox P.F. Singh T.K. and Wallace J.M. 1997. Formation of Flavor Compounds in Cheese in *Advances in Applied Microbiology* Vol. 45. Academic Press. USA p.17-54.
47. Fox P.F., et al.,1996. Cheese: Physical, Biochemical and Nutritional Aspects in *Advances in Food and Nutrition Research* Vol. 39. Taylor S.L.(Ed.) Academic Press. USA p. 209-245.
48. Gatfield I.L. 1988. Production of Flavor and Aroma Compounds by Biotechnology. *Food Technology* 42 (10): 111-122.
49. Gerhartz W. 1990. Enzymes in industry. Productions and applications.VCH Publishers. 33-50.
50. Giese J.,1996. Olestra: Properties, Regulatory Concerns and Application . *Food Technology*. March :130-131.
51. Giese J.1996. Fats, Oils and Fat Replacers. *Food Technology* April : 78-83.
52. Godfredsen S.E. 1990. Microbial enzymes and biotechnology in *Microbial Lipases* .Fogarty M.W.(Ed.). Elsevier Applied Science p. 255-274.
53. Haas M.J. and Bailey D.G.,1993. Glycerol as Carbon Source for Lipase Production by the fungus *rhizopus delemar*. *Food Biotechnology* 7 (1):49-73.
54. Hall G.M. and Iglesias O.1997. Functional properties of dried milk whey. *Food Science and Technology International* 3(5): 381-383.
55. Hasler C.M. 1998 Functional Foods: Their role in disease prevention and health promotion. *Food Technology* 52(11):63-68.
56. Heat H.B. and Reineccius G., 1986. *Flavor Chemistry and Technology*. Van Nostrand Reinhold Company. USA. p. 394-395.
57. Hoban T.J. 1998. Improving the Success of New Product Development. *Food Technology* 52(1):46-49.

58. Holsinger V.H.1995. Nutritional Aspects of Reduced Fat Cheese in Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese Malin E.L.and Tunick M.H. (Ed.) Plenum Press. New York. p. 339-343.
59. Huyghebaert, A. 1990. Fat substitutes in Proceedings of the XXIII International Dairy Congress October 8-12. Montreal Canada .Vol.3. p. 1987-1993
60. IMSS. 1997. Folleto elaborado por el departamento de nutrición y dietética del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. México D.F.
61. INEGI/SSA .1995. <http://www.ssa.gob.mx/estadis/vital95/vital/cuadro4.htm>
62. INEGI/SSA.1999. [.http://www.ssa.gob.mx/unidades/dgred/sns/vitales/cuadro04.htm](http://www.ssa.gob.mx/unidades/dgred/sns/vitales/cuadro04.htm)
63. Ink S.L. and Hurt H.D.1987. Nutritional Implications of Gums. Food Technology 41(1):77-82.
64. Janssens L., De Pooter H.L., Schamp N.M. and Vandamme E.J.. 1992. Production of Flavours by Microorganisms. Process Biochemistry 27:195-215.
65. Johnson J.A.C., Etzel M.R., Chen C.M. and Johnson M.E.1995. Accelerated Ripening of Reduced-Fat Cheddar Cheese Using Four Attenuated Lactobacillus helveticus CNRZ-32 Adjuncts. Journal of Dairy Science 78:769-776.
66. Kantor M.A..1990. Light Dairy Products: The Need and Consequences. Food Technology October:81-84.
67. Katz F. 1999. How Nutritious? Meets How Convenient?. Food Technology 53(10):44-50.
68. Katz F. 2000. How food Technologists React to the New Dietary Guidelines for Americans. Food Technology 54(8): 64-68.
69. Kilara A.. 1985. Enzyme-Modified Lipid Food ingredients. Process Biochem. (abril) :35-45
70. Kjaergaard J. G., Ipsen R.H., Illsoe C. 1987. Functionality and Application of Dairy Ingredients in Dairy Products. Food Technology Junio : 66-71.
71. Klis J.B. 1990. Fat Substitute Update. Food Technology 44(3):92-97.
72. Klis J.B. 1996. FDA Approves Fat Substitute, Olestra. Food Technology. February p.124
73. Kotula, K.,Nikazy J.,McGinnis,N. and Briggs G. 1983.Cheeddar Cheese vs Fabricated Cheddar Cheese . Journal of Food Science: (48) 1674-1677. 1704.

74. Llesof M.H. 1996. Alergia e intolerancia a los alimentos. Editorial Acribia. España p. 3-7.13-15.171-175.
75. Linder M.C. 1991. Nutritional Biochemistry and metabolism. 2a edición. Prentice-Hall Internacional. EUA p. 115, 116, 118, 119, 122, 143, 153, 161, 167,176.
76. Lobato-Calleros C. and Vernon-Carter E.J. 1998. Microstructure and Texture of Cheese Analogs Containing Different Types of Fat. *Journal of Texture Studies* 29:569-586.
77. Lobato-Calleros C., Robles-Martínez J.C., Caballero-Pérez J.F. and Aguirre - Mandujano E. 2001. Fat Replacers in Low-Fat Mexican Manchego Cheese. *Journal of Texture Studies* 32:1-14.
78. Lobato-Calleros C., Vernon-Carter E.J., Guerrero-Legarreta I., Soriano-Santos J. and Escalona-Beundia H. 1997. Use of Fat Blends in Cheese Analogs: Influence on Sensory and Instrumental Textural Characteristics. *Journal of Texture Studies* 28:619-632.
79. Luquet, F. M. 1991. La Leche, de la mama a la lechería . Editorial Acribia. España p. 352
80. Malcata F., Reyes R., García H.S., Hill C.G. and Anudson C.H.. 1992. Kinetics and Mechanism of Reactions Catalyzed by Immobilized Lipases. *Enzyme Microbiology. Technology.* 14:426-445.
81. Martínez P., Christen P. and Farrés A.. 1993. Medium optimization by a fractional design for lipase production by *Rhizopus delemar*. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 76(2):94-97.
82. Martínez P.D. 1990. ¿Un cambio en el estilo de vida puede curar las lesiones de las arterias del corazón? *Cuadernos de Nutrición* 13:5 p.40-43
83. Mensink R.P., Temme E.H.M. and Plat J. 1998. Dietary Fats and Coronary Heart Disease in Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology Akoh C.C. and Min D.B. (Ed.) Marcel Dekker, Inc. USA. p.507-535
84. Metzger L.E. and Mistry V.V. 1994. A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of reduced Fat Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science* 77:3506-3515.

85. Milner J.A. 1998. Do Functional Foods Offer Opportunities to Optimize Nutrition and Health? *Food Technology* 52(11):24
86. Morr C.V. and Foegeding E.A. 1990. Composition and Functionality of Commercial Whey and Milk Protein Concentrates and Isolates: A Status Report . *Food Technology* April :100-112.
87. Moskowitz G. and S. Noelck.1987. Enzyme modified cheese technology. *Journal of Dairy Science* 70 : 1761 .
88. Mukherjee K.D. 1998. Lipid Biotechnology in Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology Edited by Akoh C.C. and Min D.B. Marcel Dekker, Inc. USA. p. 589-629
89. Nauth K.R. and Ruffie D. 1995. Microbiology and biochemistry of reduced -fat cheese.in *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese* Malin E.L.and Tunick M.H. (Ed.) Plenum Press. New York. p. 345-357
90. NOM-091-SSA-1994. Bienes y servicios. Leche pasteurizada de vaca. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
91. NOM-111-SSA1-1994 .Bienes y Servicios. Métodos para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
92. NOM-112-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnicas del número más probable.
93. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.
94. Olson N.F. AND Johnson M.E. 1990.Light Cheese products: Characteristic and Economics.
95. PATENTE 4,343,817 (Ago. 10,1982) Análogo de queso natural. USA.
96. PATENTE 5,061,504 (Oct. 29,1991)Análogo de queso con bajo contenido de grasas animales y calorías USA.
97. PATENTE 5,244,687 (Sep. 14, 1993) Proceso de elaboración de un análogo de queso sin grasa que contiene caseína renina. USA.
98. Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. Capítulo XII Mantequilla.

- Capítulo XIII Grasa Butírica. Capítulo XIV Sueros. Capítulo XXI Imitaciones de Productos y Derivados de Leche.
99. Rodríguez A. 1996. Los quesos análogos o imitación: una alternativa económica y nutritiva. *Tecnología de alimentos* 31:3 p. 28-29
 100. Rosenberg M. 1996. Applications for Selected Milkfat Fractions in Enhancing Textural Characteristics of Lowfat Cheese. *California Dairy Beat* 4(1):6-8.
 102. Schirle-Keller J.P., Chang H.H. and Reineccius G.A. 1992. Interactions of Flavors Compounds with Microparticulated Proteins. *Journal of Food Science*. 57(6):1448-1451.
 102. Shank F.R. and Carson K.L. 1990. Light Dairy Products: Regulatory Issues. *Food Technology* October:88-92.
 103. Shattan J. 1985. El Derecho a la Alimentación. Memorias del Seminario El consumidor y la Alimentación Editado por Academia Mexicana de Derechos Humanos e Instituto Nacional del Consumidor. México. p.35-38.
 104. Shimp L.A. 1985. Process Cheese Principles. *Food Technology* May.63-69.
 105. Silva S.G. 1998. Memorias del 13º Curso Nacional de Fabricación de Quesos Naturales. Tulancingo Hgo. México. p. 148, 177, 178.
 106. Singer S. N and Moser R. H. 1993. Microparticulated Proteins as Fat Substitutes in Low Calorie Foods Handbook. Altschul A.M. (Ed.) Marcel Dekker Inc. USA. p.171-179.
 107. Song J.C. and Park H.J. 1986. Microstructural And Melting Characteristics of Imitation Cheese Analog. *Korean Journal Food Science Technol.* 18(1):11-15.
 108. Spreer E., 1998. Milk and Dairy Product Technology. Marcel Dekker, Inc. USA. p.245-259, 291.
 109. Thompson M.S., 1990. Light Dairy Products: Issues and Objectives. *Food Technology* October:78-84.
 110. van het Hof K.H., Weststrate J.A., van den Berg H., Velthuis-te Wierik E.J.M., de Graaf C., Zimmermanns N.J.H., Westerterp K.R., Westerterp-Platenga M.S. and Verboeket-van de Venne. 1997. A long-term study on the effect of spontaneous consumption of reduced fat products as part of a normal diet on indicators of health. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 48(1):19-29.

111. Wachter R.M.C.. 1996. Manual de Técnicas de Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Facultad de Química.UNAM.Cd. de México.
- 112.Walstra P., Geurts T.J. et al. 1999. Dairy Technology : Principles of Milk Properties and Processes. Marcel Dekker Inc. USA p. 659-708.
113. Weiss T.J. 1990.Imitation Dairy Products in Food Oils and Their Uses. AVI & Ellis Horwood Ltd Publishers: England p. 295-301 Falta año y un autor
- 114.White C.H. 1993. Low-fat Dairy Products in Low-Calorie Foods Handbook Altschul A.M.(Ed.) Marcel Dekker, Inc., USA p.253-265
- 115.Wit de, J.N. 1998.Nutritional and Functional Characteristics of Whey Proteins in Food Products. Journal of Dairy Science 81 :597-608.
- 116.Wolinsky I. 2000. Handbook of Dairy Foods and Nutrition. CRC Press. USA. 1-64.
- 117.Yackel W.C. and Cox C. 1992. Application of Starch-Based Fat Replacers. Food Technology Junio : 146-148.

Apéndice Uno**I.M.S.S.****HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI****DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA****LISTA DE ALIMENTOS PROHIBIDOS**

- LECHE Y DERIVADOS :** Quesos grasosos como : Oaxaca, Manchego, Chihuahua, queso crema, amarillo, cantidades que excedan la ración indicada de leche.
- CARNES :** Bacalao,cecina, charales, jamón, salchicha, queso de puerco, tocino, sesos, todo tipo de embutidos, carne de cerdo, ostiones y mariscos.
- HUEVO :** En cantidades que rebacen lo recomendado yema más de dos veces por semana.
- VEGETALES :** Cantidades excesivas de espinacas, berros, acelgas, espárragos, coliflor, apio, betabel. Solo podrán utilizarse como condimento.
- CEREALES, HARINAS Y PASTAS :** Bolillo en general, todo el pan elaborado con royal o bicarbonato de sodio.
- BEBIDAS :** Refrescos embotellados, agua mineral, cerveza, bebidas alcohólicas, malteadas.
- GRASAS :** Manteca de cerdo y vegetal.
- VARIOS :** Alimentos enlatados, sales laxantes, consomé o sales sintéticas , chocolates y mayonesa.

INDICACIONES GENERALES

1. Establecer un horario fijo para consumir sus alimento.
2. No consumir alimentos entre comidas.
3. Mastique bien sus alimentos.
4. Si usted toma anticoagulantes evite los alimentos que contengan vitamina K (consulte con su dentista).
5. No consuma agua al tiempo de sus alimentos, tómelas antes o al final.
6. Tiene permitido 1 gramo de sal al día, el cual será medido con 1 cápsula. Si usted presenta retención de líquidos no podrá tomarla.

OTRAS SUGERENCIAS

- 1.- Mantén los alimentos fuera de tu vista "EVITA TENTACIONES"
- 2.- Si vas de compras al mercado o super, hazlo después de comer.
- 3.- Evita comprar alimentos "INDESEABLES"
- 4.- Limita los lugares o reuniones donde se come.
- 5.- Levántate de la mesa al terminar de comer. " NO HAGAS SOBREMESA"
- 6.- Elabora tu plan de "EMERGENCIA" (para casos de apetito desesperado) como por ejemplo: salir a dar una caminata, ir al deportivo, renta de película para ver en video, ir a nadar, etc.

DIETA HIPOSÓDICA MODERADA DE 1800 CALORÍAS.**DESAYUNO:**

Leche	200 ml (puede sustituirse por 100 g. Queso cottage o 30 g. de queso panela)
Carne	50 g.
Fruta	200 g.
Vegetales	150 g.
Pan o sustitutos	40 g.
Azúcar	20 g.

COMIDA:

Carne	75 g
Fruta	250 g
Vegetales	200 g
Pan o sustitutos	40 g
Aceite	25 ml
Azúcar	20 g

CENA:

Leche	200 ml
Carne	50 g
Fruta	200 g
Vegetales	150 g
Pan o sustitutos	40 g
Azúcar	20 g

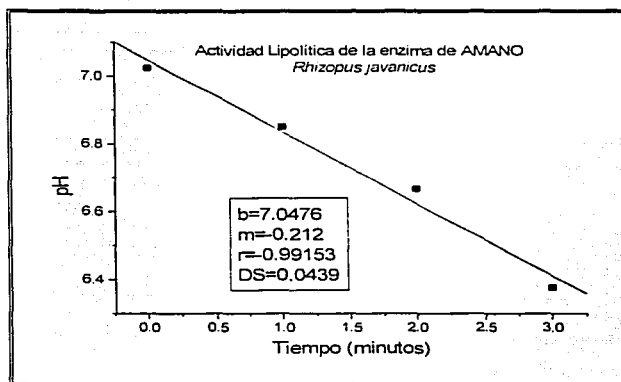
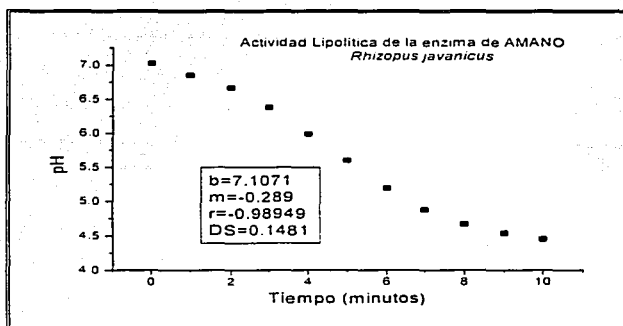
LICUADO CON ALTO CONTENIDO EN FIBRA

½	Pza. de nopal crudo.
1/3	Pza. de chayote sin espinas. crudo.
1/3	Pza. de pepino con cáscara.
2	Pzas. de naranja (el jugo).
100	gramos de piña natural.

Preparación:

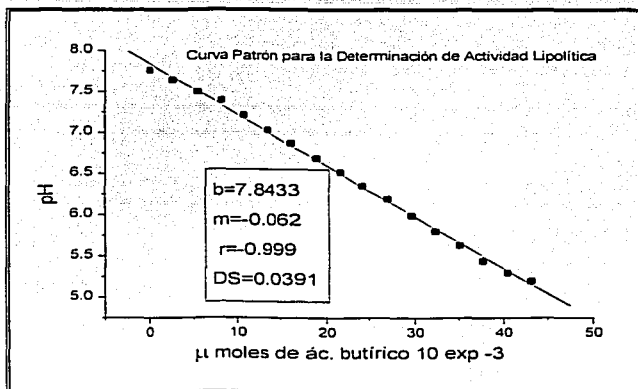
- Licuar todos los ingredientes perfectamente.
- Tómelo sin colar diariamente en ayunas.
- Beba suficiente agua, mínimo 2 lts. Diarios.

Apéndice Dos.



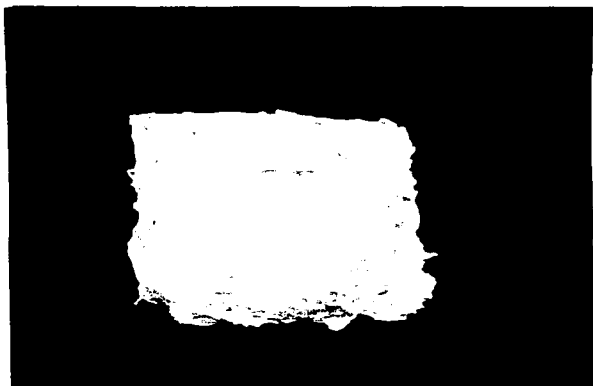
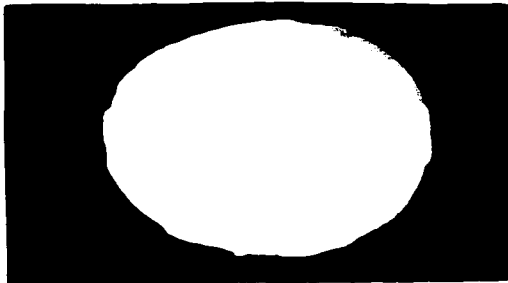
Concentración de la solución enzimática = 0.02 mg/ ml

ACTIVIDAD LIPOLITICA = 170 970 UI/g



Tiempo (min)	pH	micromoles ác. butírico $10 \text{ exp } -3$
0	7.76	0
1	7.64	2.7
2	7.50	5.4
3	7.39	8.1
4	7.21	10.8
5	7.03	13.5
6	6.87	16.2
7	6.69	18.9
8	6.52	21.6
9	6.35	24.3
10	6.19	27.0
11	5.99	29.7
12	5.80	32.4
13	5.63	35.1
14	5.44	37.8
15	5.30	40.5
16	5.20	43.2

Apéndice Tres.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN