



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS
DE OBTENCIÓN DE REQUESÓN A PARTIR LACTOSUERO
DULCE Y ÁCIDO DE GANADO BOVINO Y CAPRINO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A

ILSE DEL CARMEN HERNÁNDEZ MEDINA



MÉXICO D.F.

2014



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: M. en C. María de los Ángeles Valdivia López

VOCAL: QFB Agustín Reyo Herrera

SECRETARIO: Dr. Aurora Hilda Ramírez Pérez

1er SUPLENTE: Bertha Julieta Sandoval Guillen

2º SUPLENTE: M. en C. Juan Carlos Ramírez Orejel

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Depto. Nutrición Animal y Bioquímica. Laboratorio de Toxicología.

ASESOR DEL TEMA

Dr. Aurora Hilda Ramírez-Pérez

ASESOR TÉCNICO

M en C Juan Carlos Ramírez Orejel

SUSTENTANTE

Ilse del Carmen Hernández Medina



Este trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT IT 201013 “Elaboración de bebidas para el consumo humano a base de lactosuero de leche, que contribuyen a mejorar la alimentación y disminuyendo el impacto ambiental causado por la eliminación del lactosuero” bajo la responsabilidad de la Dr. Aurora Hilda Ramírez-Pérez.



Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber.

Albert Einstein



ÍNDICE TEMÁTICO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
JUSTIFICACIÓN	5
OBJETIVO GENERAL	7
OBJETIVOS PARTICULARES	7
HIPÓTESIS	8
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES	9
1.1 Lactosuero.....	9
1.2 Composición y tipos de lactosuero	10
1.3 Impacto ambiental del lactosuero	12
1.4 Proteínas del suero	13
1.4.1 β -lactoglobulina (β -LG).....	14
1.4.2 α -lactoalbúmina (α -LA).....	15
1.4.3 Proteínas menores.....	16
1.5 Requesón	17
1.5.1 Descripción de Requesón o queso de suero	17
1.6 Investigaciones previas en producción de requesón	18
1.7 Alternativas de uso del lactosuero	20
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA	25
2.1 Esquema general de trabajo.....	25
2.2 Recolección de Materia Prima.....	26
2.3 Elaboración de Requesón	26
2.4 Materiales y Métodos	27
2.5 Análisis estadístico	28
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	29
3.1 Análisis fisicoquímico de lactosueros dulces y ácidos de bovino y caprino	29
3.2 Optimización de las condiciones experimentales: tiempo, temperatura y pH durante la elaboración de requesón.....	34
3.3 Elaboración de requesones con lactosuero dulce y ácido de origen bovino y caprino	35
3.3.1 Evaluación de la composición fisicoquímica de requesones elaborados con lactosuero dulce de bovino	36
3.3.2 Evaluación de la composición fisicoquímica de requesones elaborados con lactosuero ácido bovino	42
3.3.3 Evaluación de rendimiento proteínico de requesones elaborados con lactosueros dulce y ácido de bovino	44



3.3.4 Evaluación de la composición fisicoquímica de quesos elaborados con lactosuero dulce de caprino	46
3.3.5 Evaluación de la composición fisicoquímica de quesos elaborados con lactosuero ácido caprino.....	49
3.3.6 Evaluación de rendimiento proteínico de quesos elaborados con lactosueros dulce y ácido de caprino	52
3.3.7 Evaluación de la composición fisicoquímica de quesos elaborados con lactosueros dulces, bovino caprino.....	54
3.3.8 Evaluación de la composición fisicoquímica de quesos elaborados con lactosueros ácidos, bovino caprino.....	55
3.4 Recuperación y caracterización de lactosueros residuales de origen bovino y caprino.	56
3.5 Balances de materia	60
3.5.1 Balance de materia lactosuero, queso y lactosuero residual dulce bovino	61
3.5.2 Balance de materia de lactosuero, queso y lactosuero residual de bovino ácido.....	63
3.6 Sabor, color y textura de quesos experimentales.....	65
CONCLUSIONES	67
SUGERENCIAS.....	69
ANEXOS	71
ANEXO 1. Cálculos de balances de materia	71
ANEXO 2. Balances de materia quesos y lactosueros residuales de origen caprino.....	72
ANEXO 3. Rendimiento proteínico	76
BIBLIOGRAFIA	79



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Diferencias de lactosuero dulce y ácido.	11
Cuadro 2. Clasificación y origen de los lactosueros recolectados en el CEPIPSA	26
Cuadro 3. Métodos utilizados en el análisis fisicoquímico del lactosuero y requesón	27
Cuadro 4. Propiedades fisicoquímicas de las proteínas más abundantes del lactosuero (Thompson, 2009)	35
Cuadro 5. Evaluación sensorial de requesones a diferentes pruebas de pH... ..	66



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Obtención y tipos de lactosueros (modificada). Fuente (Madureira et al., 2007)	11
Figura 2. Relación de la estructura de la β -lactoglobulina con el pH	15
Figura 3. Tratamientos generales del lactosuero y productos que pueden obtenerse	22
Figura 4. Efecto de la concentración de sólidos del lactosuero a temperatura constante (90 °C) con respecto al tiempo de evaporación	34
Figura 5. Requesones de lactosuero bovino dulce obtenidos a: a) pH 4 b) pH 5 y c) pH 6.....	36
Figura 6. Requesones de lactosuero bovino ácido obtenidos a: a) pH 4, b) pH 5 y c) pH 6.....	42
Figura 7. Efecto del pH sobre rendimiento proteínico en requesones elaborados con lactosuero dulce y ácido de origen bovino.....	44
Figura 8. Rendimiento proteínico de requesones dulces y ácidos respecto al pH.	45
Figura 9. Requesones de lactosuero caprino dulce obtenidos a: a) pH 4, b) pH 5 y c) pH 6.....	47
Figura 10. Requesones de lactosuero caprino ácido obtenidos a: a) pH 4, b) pH 5 y c) pH6.....	50
Figura 11. Efecto del pH sobre rendimiento proteínico en requesones elaborados con lactosuero dulce y ácido de origen caprino.....	52
Figura 12. Rendimiento proteínico de requesones dulces y ácidos respecto al pH.	53
Figura 13. Tratamiento de lactosuero y recuperación de lactosuero residual. .	58



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de los lactosueros pasteurizados dulces y ácidos (g/100ml). (PROY-NMX-F-721-2012).	10
Tabla 2. Composición química del lactosuero dulce caprino (Sanmartín <i>et al.</i> , 2012).....	12
Tabla 3. Demanda Bioquímica de Oxígeno para distintos efluentes	13
Tabla 4. Composición fisicoquímica de lactosuero dulce y ácido de origen bovino y caprino	29
Tabla 5 Composición fisicoquímica de requesones (RQ) elaborados con lactosuero dulce de origen bovino.....	36
Tabla 6. Composición fisicoquímica de requesones (RQ) elaborados con lactosuero ácido de origen bovino.....	42
Tabla 7. Composición fisicoquímica de requesones (RQ) elaborados con lactosuero dulce de origen caprino.	46
Tabla 8. Composición fisicoquímica de requesones (RQ) elaborados con lactosuero ácido de origen caprino.	49
Tabla 9. Composición fisicoquímica de requesones (RQ) elaborados con lactosuero dulce bovino y caprino	54
Tabla 10. Composición fisicoquímica de requesones (RQ) elaborados con lactosuero ácido de origen bovino y caprino.	55
Tabla 11. Características fisicoquímicas de lactosueros residuales obtenidos a partir de la elaboración de requesón con lactosuero ácido y dulce de origen bovino	57
Tabla 12. Características fisicoquímicas de lactosueros residuales obtenidos a partir de la elaboración de requesón con lactosuero ácido y dulce de origen caprino	57
Tabla 13. Balance de materia en lactosuero dulce bovino	61
Tabla 14. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual bovino a	62
Tabla 15. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual bovino a pH 5	62
Tabla 16. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual bovino a pH 6	62
Tabla 17. Balance de materia en lactosuero ácido bovino	63
Tabla 18. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual bovino a	64
Tabla 19. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual bovino a	64
Tabla 20. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual bovino a pH 6	64
Tabla 21. Balance de materia en lactosuero dulce caprino.....	72
Tabla 22. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual caprino a pH 4	73
Tabla 23. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual caprino a pH 5	73
Tabla 24. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual caprino a pH 6	73
Tabla 25. Balance de materia en lactosuero ácido caprino.....	74



Tabla 26. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual caprino a pH 4	74
Tabla 27. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual caprino a pH 5	75
Tabla 28. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual caprino a pH 6	75



RESUMEN

Se entiende por suero de leche o lactosuero la parte líquida de la leche que se obtiene después de la separación de la cuajada durante la elaboración del queso y/o la caseína. Su composición varía en función de la leche utilizada, el tipo de queso del cual proviene, del método de coagulación y de los procesos a los que es sometido para obtener propiedades funcionales específicas. Puede ser dulce o ácido según el pH que presente. Uno de los usos más antiguos del lactosuero es la obtención de requesón; sin embargo, el problema al que se enfrentan pequeñas y grandes empresas queseras es el bajo rendimiento que se obtiene de este producto y el costo elevado de su producción. Hoy en día la producción de requesón se ha convertido en un reto para los tecnólogos en alimentos, por lo tanto la finalidad de la presente investigación consistió en establecer las condiciones que favorezcan la obtención de requesón con alto rendimiento y la mayor precipitación de proteínas séricas, a partir de lactosuero bovino y caprino, dulce y ácido. En el presente trabajo se llevaron a cabo diferentes pruebas experimentales usando lactosuero dulce bovino y caprino proveniente de la producción de queso Panela, lactosuero bovino ácido de queso Oaxaca y lactosuero caprino ácido de queso Crottin, sometiendo a calentamiento volúmenes de 2 litros de cada lactosuero y realizando un ajuste del pH inicial a un intervalo de pH final de 4, 5 y 6.

Con el fin de lograr la precipitación de proteínas y la obtención de requesón se evaporaron los diferentes lactosueros a una temperatura controlada de 90 °C durante un periodo aproximado de 150 min (2.5 horas). Posteriormente, se realizó la caracterización fisicoquímica por triplicado de los productos obtenidos mediante un Análisis Químico Proximal (AQP) siguiendo las metodologías oficiales avaladas por *The Association of Official Analytical Chemist Inc.* (AOAC) obteniendo resultados con un coeficiente de variación menor al 5% para un posterior Análisis de Varianza de un solo factor (ANOVA) con un valor de significancia del 0.05% en el cual la fuente de variación se representa con cambio de pH en los componentes de los dos tipos de lactosuero de ambas especies.



Los datos analizados estadísticamente mostraron que existe diferencia significativa en el contenido de proteína presente en el requesón obtenido en los diferentes tratamientos de ambas especies, dicho resultado era esperado debido a la influencia del pH sobre la estabilidad y precipitación de las proteínas del lactosuero, sin embargo, la máxima precipitación no garantiza la obtención de un producto adecuado con las características propias de un requesón ya que se deben considerar características sensoriales como la textura y sabor de los mismos. Se concluyó que, además de realizar un ajuste inicial de pH en las muestras, es necesario alcanzar temperaturas mayores a la de desnaturalización de las proteínas presentes en el lactosuero, logrando la concentración de sólidos y agregación de proteínas, factores que en conjunto contribuyeron a una mejor textura del producto final (requesón).



INTRODUCCIÓN

El lactosuero es la fase acuosa que se separa de la cuajada en el proceso de elaboración de quesos (Smithers, 2008); su composición varía en función de la leche utilizada, el tipo de queso del cual proviene, del método de coagulación y de los procesos a los que es sometido para obtener propiedades funcionales específicas. Puede ser dulce o ácido según el pH que presente (PROY-NMX-F-721-2012). Existen dos tipos de lactosuero, el proveniente de la precipitación enzimática de las proteínas llamado lactosuero dulce, y el obtenido mediante la precipitación ácida de las proteínas conocido como lactosuero ácido.

Debido al incremento en la producción de diversos quesos, la generación del lactosuero ha ido en aumento lo que representa más del 80% de la leche utilizada en la industria láctea. Por ello, se han buscado alternativas para el aprovechamiento de este subproducto, logrando al mismo tiempo disminuir la contaminación del agua, ya que actualmente es eliminado al desagüe impactando negativamente en la flora y fauna de los ecosistemas debido a su elevada Demanda Biológica de Oxígeno (DBO). DBO se define como la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua, (NMX-AA-028-SCFI-2001) que para lactosuero oscila entre 30 y 45 g/litro, (Valencia *et al.*, 2009). El lactosuero está constituido por componentes de alto valor nutricional, demostrando que no es un desecho, sino un subproducto derivado de la industria láctea cuya composición aproximada representa la mitad de los sólidos totales de la leche (lactosa 4.00-5.00 %, proteínas 0.90-1.40 %, grasa 0-5-1.0% y cenizas 0.40-0.60) (Smithers, 2008).

Las proteínas presentes en mayor cantidad son la β -Lactoglobulina (β -LG) y la α -Lactoalbúmina (α -LA) ricas en aminoácidos esenciales como lisina (Lys), treonina (Tre) y leucina (Leu), así como aminoácidos de cadena ramificada, valina (Val) e isoleucina (Ile) que además de poseer excelentes propiedades funcionales son importantes para la regulación del metabolismo en la homeostasis de proteínas y glucosa así como en el metabolismo de lípidos



(Smilowitz *et al.*, 2005) además poseen un rol antioxidante a nivel celular ya que por su elevada concentración de aminoácidos como Cys y Glu permiten la síntesis de glutatión, un importante antioxidante celular (Madureira *et al.*, 2007).

Como constituyentes menores se encuentran la lactoferrina, lactoperoxidasa, inmunoglobulinas y la parte polar de la κ -caseína llamada casein-macropéptido (CMP) o glicomacropéptido (Alvarado-Carrasco *et al.*, 2010).

Las proteínas de suero han sido empleadas extensamente como ingredientes y aditivos alimenticios, debido a sus propiedades organolépticas y funcionales como emulsificante, capacidad de retención de agua, gelificante, textura, viscosidad, etc. sobre todo por su elevado valor nutrimental, por ejemplo, su uso en alimentos para ganado, bebidas funcionales, carnes procesadas, fórmulas lácteas, helados y comida infantil (Ramos *et al.*, 2012).



JUSTIFICACIÓN

El lactosuero es uno de los subproductos más contaminantes de la industria láctea, que muchas veces es considerado como un desecho industrial y vertido al drenaje sin aprovechar las características biológicas y químicas que presenta este líquido remanente de la elaboración de quesos. En los últimos años la producción de lactosuero en México ha ido en aumento, hoy en día se producen aproximadamente 1 millón de toneladas métricas de lactosuero, este volumen representa 50 mil toneladas de lactosa y cerca de 5 mil toneladas de proteína las cuales no son aprovechadas, generando un impacto negativo en los ecosistemas fluviales donde desembocan estos desechos industriales. Por lo tanto una de las formas de abatir este problema es buscar alternativas para el aprovechamiento de este subproducto de la industria láctea; en este contexto, se llevó a cabo esta investigación para establecer las condiciones necesarias para la producción de requesón aprovechando el lactosuero generado en la planta quesera ubicada en el Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal CEIPSA, que forma parte de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de México.

La importancia de producir requesón con base en suero lácteo va más allá de obtener un beneficio económico de la venta del producto final; esta investigación se trata de un proyecto sostenible/sustentable con el ambiente que ofrecerá un bien social al CEIPSA. Es importante que ambos beneficios puedan mantenerse a través del tiempo al generar un concepto de sustentabilidad socio-ambiental, caracterizado por la importancia de ahorro en un recurso que es generalmente eliminado, pero que cuenta con potencial del aprovechamiento en beneficio del CEIPSA, además de que se busca que el producto se elabore en forma permanente y sostenible con el tiempo, gracias a la producción de quesos en la planta de CEIPSA, el beneficio económico podrá ser reflejado ya que el producto obtenido bajo las condiciones establecidas en este trabajo, podrá ser distribuido en establecimientos de Puma Gourmet. Los resultados obtenidos en ésta investigación proporcionaran



las condiciones para la elaboración de requesón en esta planta, y en un futuro poder llegar a los otros Centros de enseñanza de la UNAM donde se elaboran productos lácteos y así poder evitar el desperdicio de los lactosueros provenientes de las diferentes especies animales con las que se producen quesos.

Con el fin de ampliar la investigación sobre el comportamiento de las proteínas séricas, este trabajo experimental se dirigió también hacia el aprovechamiento de lactosuero de origen caprino y su comportamiento en condiciones de elaboración de requesón el cual es típicamente producido a base de lactosuero bovino, mediante un proceso de análisis y búsqueda de datos.

El lactosuero caprino ha sido estudiado y explotado en menor proporción que el de origen bovino debido a su principal característica sensorial referente al sabor particular de productos obtenidos de leche de cabra, por lo tanto el uso de este lactosuero generara ventajas, ya que no se dará uso solamente al lactosuero bovino, también se implementará el uso de lactosuero caprino en la elaboración de un producto generalmente elaborado con lactosuero de origen bovino, disminuyendo su desecho y ampliando la variedad de productos lácteos de origen caprino en el mercado, pudiendo ser una alternativa para el consumidor.

Por último es importante mencionar que dichas condiciones para la elaboración de requesón están diseñadas para la producción de requesón en plantas piloto o de manera artesanal y no a nivel industrial, debido a que la infraestructura que de la planta quesera del CEPIPSA es limitada; si se quisiera extrapolar este trabajo a plantas industriales se tendrían que realizar ensayos en mayor volumen y con otra infraestructura, haciendo uso de equipos de mayor capacidad y eficiencia, ya que las condiciones establecidas se realizaron a nivel laboratorio y con volúmenes pequeños con el fin de visualizar el efecto de los diferentes factores intrínsecos como el pH, temperatura y tiempo de evaporación, que se traducen en rendimiento del producto final.



OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto que tiene el pH, temperatura y tiempo de evaporación del lactosuero, sobre la composición del requesón y específicamente en el rendimiento de la precipitación de las proteínas séricas.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar el análisis químico proximal de lactosuero dulce y ácido de origen bovino y caprino para conocer su composición química, establecer las diferencias de ambos lactosueros y determinar si es posible su uso para la elaboración de requesón.
- Establecer las condiciones que permitan la obtención de requesón con un alto rendimiento de proteínas a partir de lactosuero bovino y caprino modificando valores de pH y temperaturas cercanas al punto de fusión de las proteínas séricas.
- Realizar balances de materia para conocer la cantidad presente de cada componente (sólidos totales, proteína, carbohidratos, lípidos y cenizas) así como sus rendimientos en requesones y lactosueros residuales de las diferentes pruebas experimentales.
- Disminuir el impacto ambiental causado por este subproducto evitando su desecho en el Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal CEIPSA, empleando el lactosuero para la elaboración de requesón.



HIPÓTESIS

- Si la desnaturalización de proteínas está relacionada con el punto de fusión y punto isoeléctrico, entonces al alcanzar temperaturas cercanas o mayores a las de desnaturalización y modificar el pH del lactosuero se obtendrán diferentes rendimientos y características en el producto final.
- Si la composición química del lactosuero depende de la especie animal, entonces al emplear lactosuero bovino y caprino en la producción de requesón se encontrarán diferencias en el análisis químico proximal de los mismos.
- Si la elaboración de requesón se basa en la precipitación de sólidos presentes en el lactosuero inicial, entonces la cantidad final de sólidos en el lactosuero residual será mayor debido al efecto de concentración de los sólidos.
- Si el requesón es elaborado bajo condiciones experimentales óptimas, entonces se obtendrá un producto con características propias a un requesón.
- Si el lactosuero es un subproducto industrial con alto poder contaminante al ser desechado, entonces su uso y aprovechamiento reducirá a largo plazo la contaminación generada por el CEPIPSA.



CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Lactosuero

El suero de leche mejor conocido como lactosuero es un producto derivado de la elaboración de quesos (precipitación de caseínas) en la industria láctea. Después de la coagulación de las caseínas presentes en la leche por la acción de la enzima Quimosina o por la adición de un ácido orgánico (ácido láctico o acético) el líquido remanente se le conoce como lactosuero, el cual posee un color amarillo o verdoso dependiendo de la calidad y tipo de leche empleada. El lactosuero puede provenir de cualquier tipo de leche, el de origen bovino es el más popular alrededor del mundo. Sin embargo, pueden emplearse otras especies para la elaboración de productos lácteos como oveja, cabra, búfala e incluso en algunas partes de África se emplea la camella como productor de leche (Smithers, 2008), lo que genera su correspondiente lactosuero, que en principio tiene de manera general la misma composición química y puede ser aprovechado con los mismos fines prácticos.

La producción del lactosuero ha ido en aumento, en el año 2013 México logró una producción de leche de 10,965,725 litros y 53 mil 994 toneladas de queso (SAGARPA, 2013) que se traduce en aproximadamente 1 millón de toneladas métricas de lactosuero, lo que representa más del 80% de la leche utilizada en la industria láctea (Montero *et al.*, 2009) por lo cual se han buscado alternativas para el aprovechamiento de este subproducto lácteo las cuales se citan en la Sección 1.7, reduciendo su desagüe y así la contaminación de aguas. Hoy en día las recientes investigaciones han demostrado que el lactosuero tiene un valor agregado por el alto contenido de proteínas con una actividad biológica y vitaminas solubles en el (Ramos *et al.*, 2012).

El lactosuero es el mayor subproducto de las industrias modernas queseras, en promedio a nivel mundial el volumen de este producto ha incrementado con la misma relación que el volumen de leche empleada en la producción de quesos (FAO, 2014). En general los lactosueros presentan un gran porcentaje de agua,



superior a 90% (Montero *et al.*, 2009). La característica principal de este líquido es que contiene cerca del 50% de los sólidos de la leche (Abaigar, 2009).

1.2 Composición y tipos de lactosuero

Existen dos tipos de lactosueros (Figura 1) dependiendo de la forma de coagulación de la caseína en la elaboración de quesos y de sus propiedades fisicoquímicas; el primero denominado dulce, basado en la coagulación de la caseína por la adición de una enzima (quimosina/renina) a un pH aproximado de 6.5 en la fabricación de quesos de pasta cocida y prensada (Parra, 2009). El segundo llamado ácido, resulta del proceso de fermentación por la flora nativa de la leche, por la adición de ácidos orgánicos entre los más empleados se encuentran el ácido láctico y ácido acético, o la adición de inóculos de microorganismos como *Lactococcus lactis ssp*, *Lactobacillus lactis*, *Streptococcus salivarius*, etc. utilizados en la producción de quesos frescos de pasta blanda, a partir de leche de vaca y/o cabra. (Callejas *et al.*, 2012). En el lactosuero ácido la lactosa se ha transformado en ácido láctico y su pH es menor a 4.5, además de ser un suero muy mineralizado pues contiene cerca del 80% de los minerales presentes en la leche de partida. En la Tabla 1 se presentan las características químicas de ambos lactosueros.

Tabla 1. Composición química de los lactosueros pasteurizados dulces y ácidos (g/100ml). (PROY-NMX-F-721-2012).

Parámetro	Lactosuero Dulce	Lactosuero Ácido
Materia Seca (%)	5.5-7.5	5.5-6.5
Lactosa (%)	4.0-5.0	4.0-5.0
Lípidos (%)	0.50 max	0.50 max
Proteína cruda (%)	0.72-1.4	0.70-1.20
Cenizas (%)	0.40-0.60	0.60-0.80
pH	6.0-6.7	<6.0

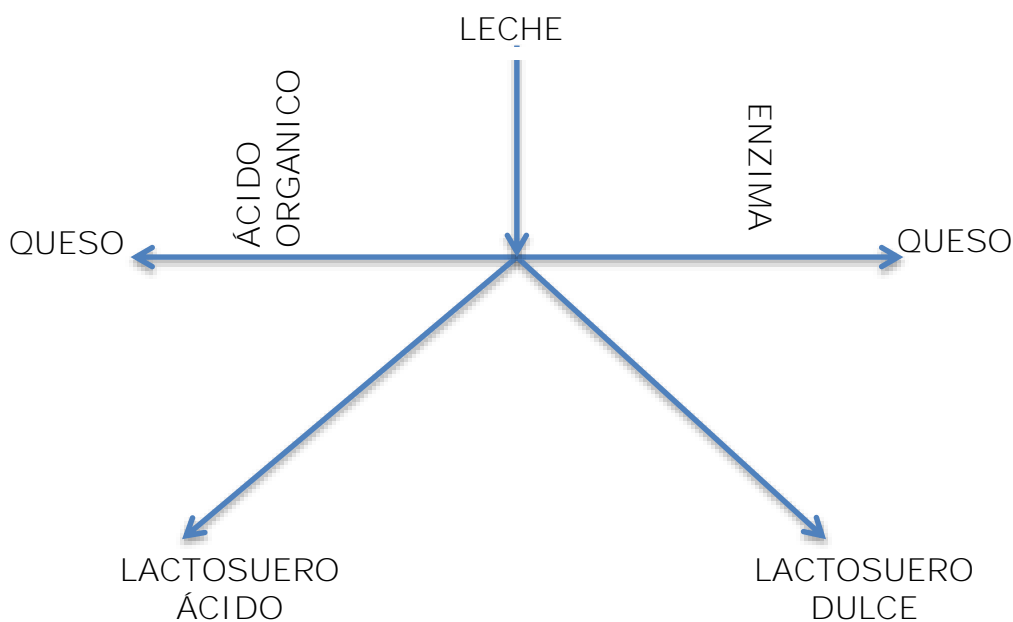


Figura 1. Obtención y tipos de lactosueros (modificada). Fuente (Madureira et al., 2007)

Cuadro 1. Diferencias de lactosuero dulce y ácido.

Lactosuero ácido	Lactosuero dulce
Obtenido por la precipitación isoelectrica debida a la adición de ácidos orgánicos o microorganismos fermentadores de lactosa	Obtenido por coagulación enzimática (renina/quimosina)
pH < 5	pH (5.6-6.7)
Mayor concentración de sales de calcio, magnesio, fósforo, lactato y citratos	Mayor concentración de lactosa y proteína
Poca o nula caseína	Restos K-caseína (glicomacropéptido)
Mayor astringencia	Menor astringencia , resabio graso



El lactosuero de cabra es por lo general descartado para su uso y algunas veces no es aceptado por muchas de las industrias procesadoras de lactosuero (Bordenave-Juchereau *et al.*, 2005) debido a que no existe suficiente información acerca de su transformación y posibles usos (Sanmartín *et al.*, 2012). Sin embargo, se han hecho esfuerzos por retomar interés en las características de lactosuero caprino como una posible alternativa para aquellas personas que presentan alguna intolerancia hacia leche de vaca y subproductos, por ejemplo la alergia a ciertas proteínas de la leche de vaca, donde la leche de cabra resulta una alternativa debido a que esta tiene menor cantidad de α -caseína₁ la cual es la principal causante de alergias en infantes, por el ende el lactosuero de esta especie puede considerarse como alternativa para este sector de la población.

Principalmente se han hecho estudios al lactosuero dulce de cabra mientras que lactosueros ácidos, aún no han sido estudiados, ni aprovechados correctamente, prefiriendo su desecho sin considerar la riqueza en proteínas, lactosa y vitaminas solubles que están presentes en él.

Tabla 2. Composición química del lactosuero dulce caprino (Sanmartín *et al.*, 2012)

Componente	g/100 ml
Materia Seca (%)	7.10±0.09
Lípidos (%)	0.84±0.18
Proteína (%)	0.63±0.03
Cenizas (%)	0.57±0.01
Lactosa (%)	5.02±0.24
pH	6.34±0.29
Acidez (%)	0.04±0.01

1.3 Impacto ambiental del lactosuero

El lactosuero es uno de los subproductos más contaminantes que existe en la industria alimentaria. Presenta una Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) entre 30 y 45 g/L, el agua resultante contaminada es equivalente a aguas residuales producidas en un día por 450 personas (Gómez, 2015). Esto



convierte a la producción de queso uno de los procesos industriales más contaminantes, por el alto contenido de sólidos y materia orgánica en el lactosuero. El alto contenido de lactosa, la cantidad de grasa y proteína son los responsables de la contaminación orgánica (Prazeres *et al.*, 2012). El desecho del lactosuero afecta a la estructura física y química del suelo, generando disminución en cultivos y su rendimiento, mientras que en ecosistemas fluviales reduce la vida acuática por el agotamiento o baja cantidad disponible de oxígeno disuelto (Panesar *et al.*, 2007). En la Tabla 3, se muestra información del lactosuero y otros efluentes con el fin de comparar la magnitud contaminante del este subproducto.

Tabla 3. Demanda Bioquímica de Oxígeno para distintos efluentes

Efluente	DBO (g Oxígeno/L)
Agua de río limpia	1×10^{-3} - 4×10^{-3}
Agua residual depurada	1-2.5
Agua residual domestica	1.5-3.0
Agua de lavado industria láctea	20-30
Lactosuero	35-50

Fuente: Almécija (2007).

1.4 Proteínas del suero

El lactosuero ha sido reconocido como una excelente fuente de proteínas de alto grado y valor biológico, las principales proteínas séricas son la β -lactoglobulina (β -LG) y α -lactoalbúmina (α -LA) que constituyen cerca del 50% y 20% respectivamente del total de las proteínas solubles presentes en el lactosuero. El 30% restante es representada por proteínas en menor proporción, inmunoglobulinas, albúmina sérica bovina, lactoferrina, lactoperoxidasa y proteosomas-peptonas (Ramos *et al.*, 2012).

Las proteínas de suero no constituyen la fracción de sólidos más abundante, pero ésta es la más interesante en los terrenos económico y nutricional, ya que representa una rica y variada mezcla de proteínas que poseen un amplio rango de propiedades químicas, físicas y funcionales (Parra, 2009).



A diferencia de las caseínas, las proteínas del suero son compactas, globulares, con un peso molecular que varía entre 14,000 y 18,000 kDa (Lucena *et al.*, 2007) y son solubles en un intervalo de pH muy amplio (incluso a pH ácidos, siempre y cuando no se hayan desnaturizado por calor). En estado natural no se asocian con las caseínas, pero en las leches tratadas térmicamente y homogenizadas, hay una fracción que sí lo hace (Badui, 2006). El tratamiento térmico altera su estructura e induce reacciones entre proteínas incluyendo enlaces disulfuro intermoleculares cuando dos residuos de Cys se aproximan o bien, reacciones de intercambio sulfhidril/disulfuro. En general son muy sensibles a las temperaturas altas y en menor grado a pH ácido (situación contraria a lo que sucede con las caseínas) debido a que están muy hidratadas y no poseen carga eléctrica externa. Contienen la mayoría de los aminoácidos y presentan un mejor balance de estos que las caseínas, por lo que su valor nutritivo es superior.

Las proteínas β -lactoglobulina (β -LG) y α -lactoalbúmina (α -LA) presentan carga negativa neta al pH de la leche (6.5) debido a que se pliegan intramolecularmente para alojar en su interior la mayoría de sus residuos hidrófobos para evitar autoasociaciones o interacciones con otras proteínas (Fennema, 2010).

1.4.1 β -lactoglobulina (β -LG)

La β -lactoalbúmina es una proteína globular con 162 residuos de aminoácidos con un peso molecular cerca de 18.40 kDa (Schmitt *et al.*, 2011). Su estructura secundaria está compuesta por láminas β , tiene un punto isoeléctrico de 5.2. Suma aproximadamente el 45% del total de las proteínas del suero y existe como dímero unido no covalentemente en el pH normal de la leche. La estructura cuaternaria y las interacciones de β -LG dependen del pH del medio, los cambios de pH provocan cambios conformacionales, en donde a un pH por abajo de 3.5 el dímero se disocia en dos monómeros, en pH de 3.5-5.2 el



dímero se tetrameriza formando un octámero, mientras que a pH mayor a 7.5 el dímero se disocia mediante una reacción reversible originando los monómeros correspondientes (Figura 2). Además, su estabilidad está fuertemente relacionada con la temperatura, ya que a temperaturas elevadas empleadas en la mayoría de los procesos a los que se somete la leche la β -LG experimenta cambios estructurales irreversibles. La β -Lactoglobulina es una proteína termolábil que se desnaturaliza y precipita aproximadamente a los 73°C. Sus grupos disulfuro le imparten características de estructura terciaria y el sulfhidrilo libre la hace muy reactiva responsable de su agregación térmica irreversible y su propiedad gelificante, además de reaccionar y formar enlaces disulfuro con la caseína.

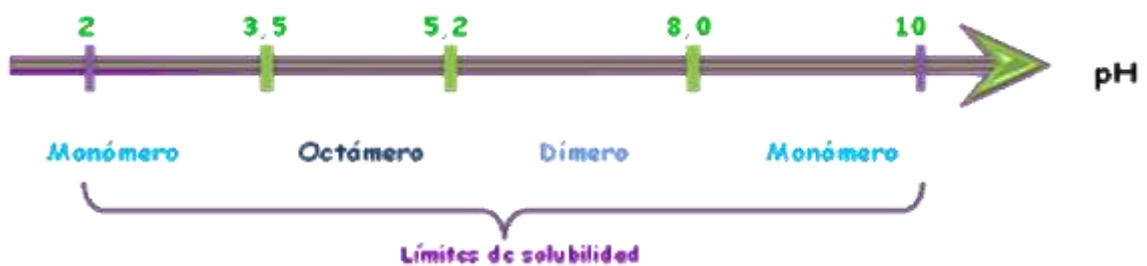


Figura 2. Relación de la estructura de la β -lactoglobulina con el pH

Fuente: (Bonnaillie y Tomasula, 2008; Sullivan et al., 2008)

La β -lactoglobulina juega un papel importante en la regulación del sistema inmune sobretodo del recién nacido, además de ser fuente de aminoácidos esenciales como la cisteína (Cys) para la síntesis del glutatión. Otra función de esta proteína que ya ha sido estudiada es la capacidad de unión de pequeñas moléculas hidrofóbicas como retinol, ácidos grasos, triacilgliceroles, compuestos aromáticos, Vitamina D, colesterol, etc. (Madureira *et al.*, 2007).

1.4.2 α -lactoalbúmina (α -LA)

La α -Lactoalbúmina es la segunda proteína del suero más importante, tiene actividad biológica, ya que es parte constitutiva del sistema enzimático requerido para la síntesis de la lactosa. Es una metaloproteína con un sitio de unión al Ca^{2+} , no tiene grupos sulfhidrilo libres por lo cual su agregación



térmica es lenta y limitada (Schmitt *et al.*, 2011). Sin embargo, tiene cuatro disulfuros provenientes de cistinas, lo que la hace tener 2.5 veces más azufre que las caseínas. Entre sus características se cuentan su bajo peso molecular (14.174 kDa) contiene 123 residuos de aminoácidos, su punto isoeléctrico se encuentra entre 4.2 y 4.5 y posee un alto contenido en triptófano. Además de ser la más estable de las proteínas del suero al calor. Tiene una estructura globular compacta con cuatro disulfuros y se desnaturaliza a 63 °C, pero vuelve a su estado natural con el enfriamiento (Badui, 2006), excepto a temperaturas muy elevadas. A diferencia de la β -lactoglobulina, la α -lactoalbúmina termodesnaturalizada es reversible a condiciones de procesamientos térmicos típicos de la leche como la pasteurización.

1.4.3 Proteínas menores

Esta fracción proteínica incluye inmunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidasa, casein-macropéptido y proteosa-peptonas. Las inmunoglobulinas son un grupo complejo de glicoproteínas que suman cerca del 10% de las proteínas totales del lactosuero, provienen de fluidos biológicos del animal como la sangre y poseen una actividad biológica de anticuerpos por su elevada concentración de aminoácidos azufrados. La lactoferrina es también una glicoproteína capaz de transportar y unir hierro (Fe^{3+}) (Park *et al.*, 2006). Tanto la lactoferrina como la lactoperoxidasa se encuentran en fluidos biológicos y su actividad y concentración depende de diversos factores como la especie, el estado de lactación de la hembra y el tipo de alimentación.

El casein-macropéptido es un fragmento C-terminal resultante de la acción proteolítica de la enzima quimosina sobre la κ -caseína en los enlaces Phe₁₀₅-Met₁₀₆, el resultante es un polipéptido polar que se difunde hacia la fase acuosa en la elaboración de quesos, permaneciendo soluble en el lactosuero. Por último, pero no menos importantes están las proteosa-peptonas, las cuales son glicoproteínas termoestables que son solubles en medios ácidos y se cree que provienen de la proteólisis de la β -caseína o bien también se pueden incluir la proteína soluble presente que rodean la membrana en el glóbulo de grasa de la leche (Selvaggi *et al.*, 2014).



1.5 Requesón

Para la obtención del requesón se utiliza el lactosuero generado en la producción de quesos que tiene diferentes grados de acidez y pH. Esto se debe a que en la elaboración del producto se llevan a cabo ajustes de pH según el tipo de queso a fabricar (Vázquez et. al., 2010). El empleo de tratamientos térmicos para la precipitación de proteínas del lactosuero es el proceso más antiguo utilizado para su recuperación (Prazeres *et al.*, 2012), siguiendo esta tradición los productores llevan el líquido a temperaturas de ebullición para precipitar las proteínas sin hacer ningún ajuste en la acidez y sin establecer condiciones de temperatura y tiempo, lo que trae como consecuencia que se obtengan bajos y diferentes rendimientos en los contenidos de proteína coagulada. En la mayoría de los casos genera que el suero sea desechado por no ser conveniente para la producción de requesón, debido a la elevada inversión económica en su producción, sin llegar a ser realmente redituable.

1.5.1 Descripción de Requesón o queso de suero

De acuerdo al Codex Alimentarius (CODEX STAN 284-1971) se entiende por queso de suero o requesón a los productos sólidos, semisólidos o blandos obtenidos principalmente por medio de uno de los siguientes procesos:

1. La concentración de suero y el moldeo del suero concentrado.
2. La coagulación térmica del suero con o sin la adición de ácido.

El proceso puede también incluir la adición de leche, nata u otras materias primas de origen lácteo previo a la concentración o coagulación o después de las mismas. El producto obtenido por medio de la coagulación del suero podrá estar o no madurado. Es un queso de textura blanda unttable con una humedad máxima de 80% y un contenido de grasa de 0.5%.

El queso de suero obtenido por medio de la concentración del suero se produce por la evaporación térmica del suero o una mezcla de suero de leche,



nata u otras materias de origen lácteo a una concentración que permita al queso acabado adquirir una forma estable. Debido al contenido relativamente alto de lactosa, el color de estos quesos va típicamente de amarillento a marrón, los quesos poseen un sabor dulce, cocido o caramelizado.

Por otro lado, el queso de suero obtenido por coagulación de éste último se produce por precipitación térmica del suero o de una mezcla de suero y leche, con la adición de ácido o sin ella. Estos quesos de suero o requesones tienen un contenido relativamente bajo de lactosa y un color que va de blanco a amarillento.

1.6 Investigaciones previas en producción de requesón

El requesón es probablemente el queso de suero más tradicional, en el cual las proteínas son recuperadas por precipitación térmica. Este tipo de queso es suave elaborado de lactosuero de vaca, cabra u oveja, incluso se puede llegar a usar una mezcla de ellos para su máximo aprovechamiento (Pizzillo *et al.*, 2005) y contiene cerca del 60% de la materia seca contenida en el lactosuero original (Carvalho *et al.*, 2013). Al hablar de desnaturalización térmica en procesos de elaboración de requesón, se debe estar consiente a los posibles efectos de la desnaturalización inducida por los cambios de pH (Castro, 2010).

Como lo señalan Pizzillo *et al.*, (2005), la calidad de este queso está determinada por su sabor, propiedades reológicas, apariencia visual y sus características nutricionales donde particularmente el sabor juega un rol importante en la preferencia del consumidor. En su estudio de requesón hace énfasis en la calidad y sabor de este producto de origen caprino, donde menciona, que estos quesos presentan un sabor y olor característico a cabra conferido principalmente por el ácido caproico, ya que la fracción butírica del queso es importante para la percepción y el desarrollo del sabor.

El requesón es preparado usando un proceso que involucra la aplicación de calor (90 °C) y algunas veces la adición de un ácido orgánico para



desnaturalizar y precipitar las proteínas (ej. ácido cítrico, acético o láctico) y/o una sal mineral (ej. calcio) al lactosuero (Rojas-V *et al.*, 2009). Algunas veces se añade leche al lactosuero para facilitar la rápida formación de una cuajada firme e incluso en ocasiones el lactosuero es pre-concentrado por ultrafiltración antes del tratamiento térmico (Smithers, 2008). Las variedades de requesones difieren considerablemente en su composición química y propiedades sensoriales, principalmente por las variaciones en la fuente y tipo de lactosuero empleado, así como por el procedimiento con el cual se elaboró. Es decir, si existió un ajuste en pH, tiempo y temperatura de calentamiento. La elevada humedad que presentan estos quesos y su pH favorece el crecimiento microbiano y el desarrollo de notas ácidas, por lo cual este producto es catalogado como de consumo inmediato con una vida de anaquel corta.

De acuerdo a Vázquez *et al.* (2010), se concluyó que para obtener un máximo rendimiento de requesón es necesario que el lactosuero sea sometido a calentamiento a 93 °C por 30-40 min y con una acidez aproximada de 0.50%, además concluyen que cuando el suero es procesado con una acidez superior se obtienen menores rendimientos.

Otro estudio (Sanmartín, 2010) describe como regla general para la elaboración de requesón el calentamiento del suero a una temperatura mayor a 70 °C y pH por debajo de 3.9 para que las proteínas precipiten y para que esta precipitación sea completa el suero debe calentarse al menos hasta valores de 90 °C y mantenerlo a esta temperatura durante varios minutos.

Una opción para la elaboración de requesón consiste en utilizar una sal de calcio en sustitución del ácido empleado tradicionalmente. En este caso la acción del calcio sobre las proteínas lactoséricas se puede justificar por el fenómeno de desestabilización salina, el cual genera nuevos balances de los grupos polares “salting-in” y de grupos no polares “salting-out”. El calcio añadido al lactosuero interacciona con los grupos cargados eléctricamente de las proteínas obstaculizando las interacciones proteínas-agua y promoviendo la agregación de proteínas para su posterior precipitación, por la modificación del punto isoeléctrico. El requesón obtenido con este proceso puede ser menos



ácido con textura más firme y tener mayor cantidad de calcio (Carvalho *et al.*, 2013).

1.7 Alternativas de uso del lactosuero

La elaboración de requesón a partir de lactosuero es una técnica antigua que se emplea en todo el mundo generalmente siguiendo una elaboración tradicional y a pequeña escala (Pintado *et al.*, 2001).

La explotación del lactosuero se basa principalmente en la recuperación de proteínas, por lo que otras técnicas han sido empleadas para éste fin. Estas incluyen procesos de concentración, transformación, fraccionamiento de sólidos, y deshidratación. Así como, ultrafiltración y desmineralización del lactosuero para manufacturar nuevos ingredientes, como suero en polvo y emplearlo en la industria alimentaria proporcionando un valor agregado a los productos elaborados (Carvalho *et al.*, 2013, Prazeres *et al.*, 2014).

Estas técnicas de separación explotan uno o más de los componentes presentes en el lactosuero; por una selección de las propiedades fisicoquímicas de los constituyentes se puede dirigir la obtención de algún nutriente de interés. Por ejemplo las proteínas del suero pueden precipitarse en frío con diferentes agentes catiónicos o aniónicos. De esta forma las proteínas separadas están poco desnaturalizadas, conservando su solubilidad y sus propiedades funcionales (Luquet, 1998).

A gran escala, otras técnicas se han desarrollado para la recuperación de proteínas séricas; la precipitación selectiva de α -lactoalbúmina de lactosuero dulce concentrado por ultrafiltración, bajo condiciones de pH y temperatura, dejan a la β -lactoglobulina en solución, sin sufrir alteraciones en su composición química por tratamientos térmicos y de pH (Smithers, 2008). Así mismo el producto de la filtración es rico en lactosa, por lo que este se emplea como concentrado de lactosa, o bien se puede lograr una cristalización para obtener lactosa de alta pureza.



Entender el comportamiento de las proteínas y sus interacciones con otros componentes en respuesta a cambios físicos (temperatura) y químicos (pH) ha facilitado el desarrollo de productos funcionales enriquecidos con sólidos de suero como bebidas, productos de panadería y lácteos, además de que favorece la utilización del lactosuero para la obtención de los mayores componentes, lactosa, proteína y grasa.

Un uso muy común del lactosuero es la elaboración de los concentrados de proteína de suero (WPC, por sus siglas en Inglés *Whey Protein Concentrate*), es el producto más importante obtenido de las industrias procesadoras de lactosuero en donde la cantidad de proteína oscila entre un 35% hasta 80% en base seca (Lucena *et. al.*, 2007). Los WPC son elaborados por ultrafiltración que consiste de una membrana semipermeable, la cual selectivamente permite pasar materiales de bajo peso molecular como el agua, iones disueltos y lactosa, reteniendo materiales de peso molecular alto como las proteínas séricas. El retenido es concentrado y liofilizado (Jelen, 2011). Estos WPC son ampliamente usados como aditivos en una gran cantidad de alimentos por sus propiedades funcionales, por ejemplo como sustitutos de leche descremada, en la elaboración de yogurt, bebidas, helados, pasteles, formulas infantiles, bebidas etc., además tienen aplicaciones como gelificantes, emulsificantes y agentes espumantes debido a las proteínas (Muñi *et al.*, 2005)

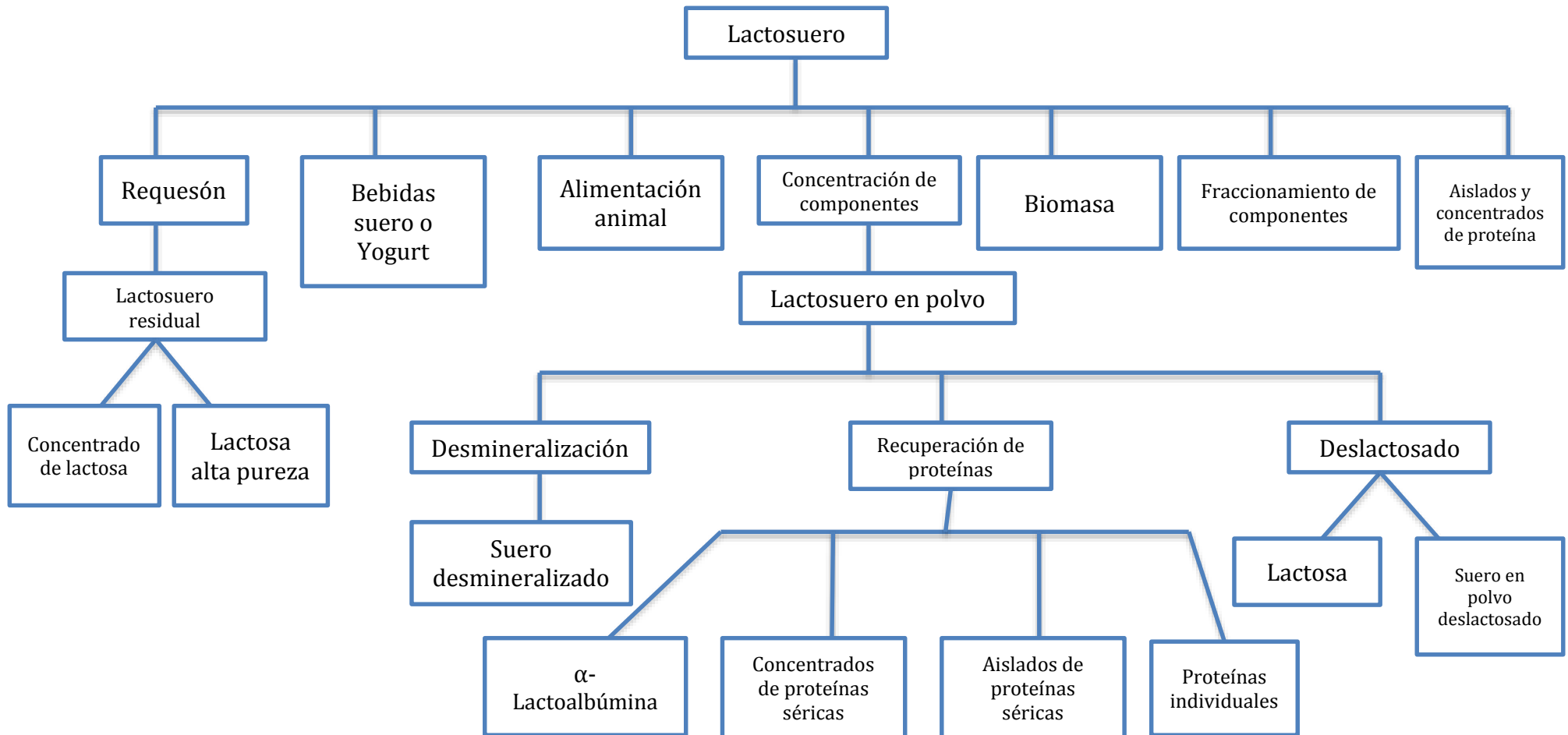


Figura 3. Tratamientos generales del lactosuero y productos que pueden obtenerse



Por otro lado también se pueden obtener los aislados de suero de leche (IWP, *Isolated Whey Protein*), cuya principal característica radica en su elevada concentración de proteínas aproximadamente un 90% y con una humedad de 4.50%-5.00% como máximo. Son obtenidos por una combinación de métodos de filtración especializada, ultrafiltración y diafiltración. Tienen una alta pureza por lo cual se han usado extensivamente en suplementación nutricional, bebidas deportivas y medicinales, además de ser empleados como proteínas de alimentos funcionales en formulaciones de alimentos, es decir como aditivos debido a sus propiedades de hidratación, gelificación, emulsificante y formación de espuma (Nicorescu *et al.*, 2009). Los aislados de proteína pueden usarse como fuente de proteína pura o pueden ser hidrolizados para obtener péptidos que conforman a estas proteínas (Lucena *et al.*, 2007).

Durante décadas, el lactosuero y su aprovechamiento ha sido objeto de estudio, desarrollando nuevos productos como las fórmulas lácteas infantiles; cuya elaboración está basada principalmente como sustituto de leche humana, en donde se mezcla leche descremada con lactosuero desmineralizado y otros componentes como vitaminas y minerales (Sinha *et al.*, 2007). Estas fórmulas han sido desarrolladas con el objetivo de satisfacer la demanda de leche, equilibrar el balance de aminoácidos mejorando la nutrición infantil y por ende propiciando un mejor desarrollo y crecimiento de este sector de la población.

Otra aplicación ha sido el desarrollo de bebidas a base de lactosuero desproteinizado y descremado y/o completo para llevar a cabo una fermentación y producir una gama de bebidas innovadoras. La ventaja que le confiere el lactosuero a este tipo de bebidas es que tiene un gran valor nutritivo, rehidrata y se pueden obtener una gama de sabores al mezclarlo con frutas y concentrados que son aceptables para el consumidor (Dragone *et al.*, 2009). Su comercialización se enfatiza en la salud y beneficios nutricionales, debido a las proteínas del lactosuero por sus propiedades nutrimentales.



Por las características del lactosuero y su gran concentración de sólidos es posible obtener subproductos, como la producción de etanol por conversión del lactosuero (Dragone *et al.*, 2009) lo que se realiza mediante la aplicación de levaduras (*Kluyveromyces fragilis* o *S. cerevisiae*) o transformación enzimática que hidrolizan la lactosa producir etanol, mediante la fermentación alcohólica.

Como medio de cultivo el lactosuero puede suministrar las fuentes de carbono y energía necesarias para el desarrollo de diferentes microorganismos (biomasa) como *Lactobacillus spp* que pueden aprovechar los monosacáridos provenientes de la hidrólisis de la lactosa, para generar metabolitos de alto valor (Kon *et al.*, 2008). La producción de ácidos orgánicos obtenidos a partir de lactosuero representa gran interés ya que pueden ser empleados como aditivos de origen natural en la misma industria láctea. A partir de lactosuero se ha obtenido ácido láctico, propiónico, acético, glucónico, succínico y cítrico (García *et al.*, 1993).

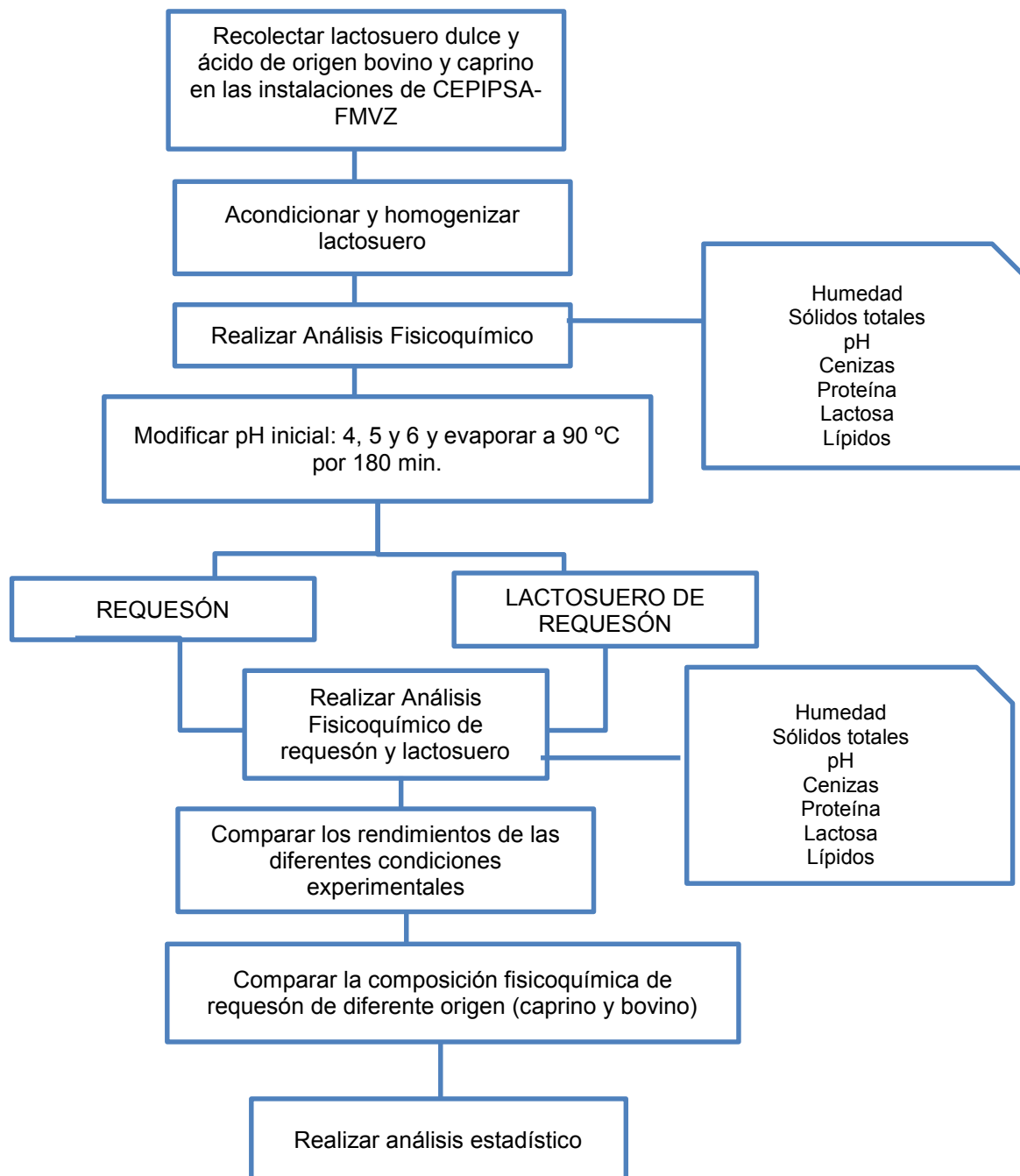
La utilización de residuos agro-industriales como sustratos para la producción de energías limpias como el biohidrogeno es una forma atractiva y eficaz de utilizar y tratar el lactosuero y residuos orgánicos para obtener un biocombustible de manera sustentable (Gómez-Romero *et al.*, 2015).

Finalmente, se menciona el aprovechamiento de la lactosa. Este proceso consiste en hidrolizar parcialmente el importante contenido de lactosa del suero para luego realizar una evaporación del suero hasta alcanzar una concentración de sólidos entre 60 y 75%. El objetivo de este proceso es obtener lactosa que no cristalice fácilmente a temperatura ambiente para ser utilizada como sustituto en los ingredientes de la fabricación de jarabe de lactosa, en panificación para obtener productos con mejores características sensoriales, o también puede ser empleado como endulzante bajo en calorías.



CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

2.1 Esquema general de trabajo





2.2 Recolección de Materia Prima

Se realizó la colecta de lactosuero bovino y caprino a partir de la elaboración de queso Panela de vaca y cabra (lactosuero dulce), Oaxaca y queso fresco de cabra Crottin (lactosuero ácido) durante los meses de agosto, septiembre, octubre y noviembre del 2013, en las instalaciones del Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) San Miguel Topilejo Delegación Tlalpan D.F.

La leche empleada para la elaboración de queso Oaxaca fue inoculada con un cultivo liofilizado de la marca Bioprox cultivo M TR2 (*Lactococcus lactis ssp lactis* y *Lactococcus ssp cremoris*) de donde se obtuvo el lactosuero ácido bovino. El cultivo empleado en la elaboración de queso Crottin con leche de cabra fue marca Bioprox cultivo M 195 (*Lactococcus lactis ssp lactis*, *Lactococcus salivarius subsp thermophilus*) obteniéndose el lactosuero ácido caprino.

Para la elaboración de queso Panela de leche de vaca y cabra y la obtención de lactosueros dulces se utilizó de enzima renina marca comercial Cuajo XXX.

Cuadro 2. Clasificación y origen de los lactosueros recolectados en el CEPIPSA

Leche de origen	Queso	Inoculo o Enzima	Lactosuero
Bovino	Panela	Cuajo XXX	Dulce
	Oaxaca	Bioprox M TR2	Ácido
Caprino	Panela	Cuajo XXX	Dulce
	Crottin	Bioprox M 195	Ácido

2.3 Elaboración de Requesón

Para la elaboración de requesón se ajustó el pH inicial de los diferentes lactosueros a pH 4, 5 y 6, con la cantidad necesaria de Bicarbonato de Sodio (NaHCO_3 JT Baker Analyzed) usando potenciómetro (Conductronic pH 120) hasta llegar al pH deseado, posteriormente se realizó la evaporación del lactosuero a



una temperatura controlada de 90 °C durante un tiempo de 2.5 horas aproximadamente (150 min).

Para la recuperación del sólido obtenido (requesón) se centrifugó el remanente de esta evaporación con el fin de separar la mayor cantidad de agua posible del sólido mediante centrifugación a 5000 rpm (Centrifuga Sorvall Biofuge primo R) durante 20 minutos.

2.4 Materiales y Métodos

Los métodos empleados experimentalmente para analizar la composición de los lactosueros, así como de los productos obtenidos, se condensan en el Cuadro 3. Se siguieron protocolos establecidos por Association of Official Analytical Chemist Inc. (AOAC).

Cuadro 3. Métodos utilizados en el análisis fisicoquímico del lactosuero y requesón

Determinación	Lactosuero	Requesón
Muestreo	Método Oficial AOAC 970.26	Método Oficial AOAC 955.30
Humedad y Sólidos Totales	Método Oficial I Gravimétrico AOAC 925.23	Método Oficial IV Secado por Estufa, AOAC 977.11
Acidez (%)	Método Oficial por Titulación AOAC 947.05	Método Oficial por Titulación, AOAC 920.124
pH	Método Oficial AOAC 924.10	Método Oficial AOAC 920.124
Cenizas totales	Método Oficial Gravimétrico AOAC 945.46	Método Oficial Gravimétrico, AOAC 935.42
Lípidos	Método Oficial Mojonier, AOAC 989.05	Método Oficial Roese-Gottlieb, AOAC 974.09
Nitrógeno Total (Proteína Cruda)*6.38	Método Oficial Kjeldahl AOAC 2001.11	Método Oficial Kjeldahl AOAC 974.09
Carbohidratos	Diferencia de la suma de componentes	Diferencia de la suma de componentes



2.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor con el software GraphPad 6.0 para cada componente de los quesos (bovino dulce, bovino ácido, caprino dulce y caprino ácido), en donde la fuente de variación es representada por el cambio de pH del lactosuero (4,5 y 6), con un valor de significancia $\alpha=0.05$.

La diferencia de medias se realizó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$



CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Análisis fisicoquímico de lactosueros dulces y ácidos de bovino y caprino

Una vez que las muestras de lactosuero se acondicionaron y se homogenizaron de acuerdo a las técnicas citadas en el Cuadro 3, se procedió a realizar el análisis composicional, los resultados obtenidos se muestran a continuación en la Tabla 4.

Tabla 4. Composición fisicoquímica de lactosuero dulce y ácido de origen bovino y caprino

Especie	Bovino		Caprino	
	Lactosuero dulce	Lactosuero ácido	Lactosuero dulce	Lactosuero ácido
Humedad (%)	92.93 ^a	91.76 ^b	92.68 ^a	93.53 ^c
Materia seca (%)	7.07	8.24	7.32	6.47
• Proteína (%)	0.81 ^b	1.11 ^a	1.10 ^a	1.22 ^c
• Lípidos (%)	1.34 ^a	2.30 ^b	1.00 ^c	0.4 ^d
• Carbohidratos(%)	4.40	4.16	4.63	3.85
• Cenizas (%)	0.52 ^a	0.67 ^b	0.59 ^c	1.00 ^d
pH	5.93	4.07	5.74	4.46
Acidez (%)	0.35 ^a	0.59 ^b	0.35 ^a	0.70 ^c

Resultados Expresados en Base Húmeda. Cada determinación mostrada en la tabla se realizó por triplicado con un Coeficiente de Variación no mayor al 3%. Los promedios con literales distintas son estadísticamente diferentes con $\alpha=0.05$ de acuerdo con la prueba de Tukey (por filas).

En la Tabla 4 se resume la composición de los cuatro lactosueros empleados, en la que se observa que la lactosa es uno de los constituyentes mayoritarios, sin embargo existen otros componentes como los lípidos y proteínas las cuales poseen un alto valor nutricional y por ende la recuperación de esta fracción de sólidos fue importante durante el diseño y desarrollo experimental de este estudio. Los valores citados por la NMX-F-721-COFOCALEC-2012 y estudios realizados por otros autores, se tomaron como referencia para el análisis de esta sección.



El porcentaje de sólidos totales presentes en las muestras de lactosuero coinciden con lo reportado en la literatura, especialmente con lo citado por Sanmartín *et al.* (2012) en suero dulce de caprino, donde el valor experimental de 7.32% es aproximado al teórico reportado (7.10%); caso contrario en el lactosuero ácido bovino que presenta un valor por encima de la media del resto de los lactosueros, sin embargo este valor se encuentra dentro del intervalo reportado por Pizillo *et al.* (2005) que va de 7.51-8.30%.

Si bien, las proteínas séricas no constituyen la fracción más abundante de los sólidos, si es la fracción de mayor importancia a nivel nutricional. Como se presenta en la Tabla 4 el porcentaje de proteína en los lactosueros oscila en un intervalo de 0.81% como mínimo a 1.22% como máximo, estos resultados se ajustan al intervalo reportado por la NMX-F-721-COFOCALEC-2012 la cual dicta que para lactosueros dulces el contenido de proteína deben de estar en valores de 0.72% como mínimo y 1.40% como valor máximo. Dicho comportamiento también se observa en lactosueros ácidos con valores de 1.11% y 1.22% en bovino y caprino respectivamente los cuales son similares a los valores de referencia citados por la norma para el contenido de proteína en lactosuero ácido (0.70%-1.20%).

Los lípidos presentes en las diferentes muestras de lactosueros presentan valores superiores a los de referencia (0.10% max) citados por la NMX-F-721-COFOCALEC-2012 (Tabla 1) además de ser no homogéneos debido a que los quesos se elaboraron con leche bronca la cual solo se pasteurizó sin recibir ningún tratamiento de homogenización o normalización del contenido de grasa, por lo que la concentración de lípidos varía en cada muestra, estos oscilan en 0.40% como mínimo para lactosuero ácido caprino y un valor máximo de 2.3% en lactosuero ácido bovino, lo que de manera general se le atribuye al origen y procesamiento inicial de la leche, pues las características de un lactosuero están íntimamente relacionadas con la especie animal, estado de lactación, calidad y procesamiento de la leche de partida.



Los carbohidratos es la fracción de los sólidos del lactosuero más representativa, ya que su contenido representa más del 50% de los sólidos totales, considerando su valor promedio por arriba del 4% (base húmeda). Los lactosueros dulces presentaron una mayor concentración de este carbohidrato debido a que este tipo de sueros no son sometidos a un proceso de fermentación de la lactosa por microorganismos en la producción de queso de procedencia (queso Panela). Es decir, que la cantidad de este carbohidrato se encuentra intacto por lo que se presenta un mayor valor en lactosueros dulces bovino y caprino (4.40% y 4.63%), caso contrario a los lactosueros ácidos que al ser fermentada la lactosa por el inóculo añadido en el proceso de producción de queso Oaxaca y Crottin se genera ácido láctico, reduciendo por ende la concentración de éste carbohidrato y el pH hacia valores ácidos (4.07% y 4.46%). De acuerdo con la NMX-F-721-COFOCALEC-2012 los valores experimentales de carbohidratos se ajustan al valor máximo permitido en lactosuero (4.70%), encontrándose valores experimentales entre 3.85% como mínimo y 4.63% como máximo.

La fracción más pequeña de los sólidos es el contenido de cenizas, este coincide con lo reportado por la NMX-F-721-COFOCALEC-2012 que van de 0.40-0.60% para lactosuero dulce, sin embargo el valor para lactosuero ácido caprino (1.00%) presenta un ligera variación a los valores permitidos en lactosuero ácido (0.60-0.80%).

Por último el pH del lactosuero es una característica importante en la clasificación ácido o dulce. Según los valores de referencia establecidos en la NMX-F-721-COFOCALEC-2012 (Tabla 1), se considera lactosuero ácido a aquel que tenga un pH menor a 5, dicho comportamiento se puede observar para los lactosueros ácidos de origen bovino y caprino, debido a que presentan valores de 4.07 y 4.46 respectivamente. Por otro lado los lactosueros dulces presentan un valor de pH por debajo a lo citado por la misma norma, la cual establece unos valores de pH de 6-6.67. Sin embargo, autores como Abaigar (2009) amplían este intervalo hasta



valores de 5.6 a 6.7, con lo cual estos lactosueros se consideraran como lactosueros dulces obteniendo valores de 5.93 y 5.74 para lactosuero dulce de origen bovino y caprino respectivamente.

Con el análisis estadístico de cada componente de los lactosueros se determinó si es que existe diferencia significativa en el contenido de los macrocomponentes analizados de cada lactosuero. Como se observa en la Tabla 4 se presentaron diferencias estadísticas en algunos casos que se muestran a continuación.

Para el contenido de humedad no se presentó diferencia estadísticamente significativa entre los lactosueros dulces de ambas especies, sin embargo los lactosueros ácidos son diferentes al resto de los lactosueros. Este comportamiento se le puede atribuir que los lactosueros ácidos al ser de diferente tipo de queso (Oaxaca y Crottin) presentaron diferencias en el contenido de sólidos debido a que en los lactosueros ácidos se hace uso de diferentes medio de cultivo para la elaboración de los quesos, caso contrario a lactosueros dulces donde solo se basa exclusivamente en la precipitación enzimática de proteínas principalmente caseínas.

El contenido de proteína no presentó diferencia estadísticamente significativa entre los lactosueros de bovino ácido y caprino dulce, no obstante los lactosueros dulce de bovino y ácido caprino son diferentes al resto pudiendo ser el origen y tipo de lactosuero los factores que determinen el contenido de proteína.

Como se mencionó anteriormente el contenido de lípidos no se ajusta a la normatividad vigente además de presentar valores que estadísticamente son diferentes entre sí, es decir, el contenido de lípidos presente en las muestras no presentan un comportamiento uniforme que pudiera traducirse en un contenidos similares, esto por posibles variaciones que se presentan directamente en la leche de partida, recordando que la leche empleada para la elaboración de quesos fue



de ordeño reciente, sin recibir ningún tratamiento de homogenización y/o estandarización en el contenido de lípidos.

Los cuatro lactosueros presentan diferencia estadísticamente significativa en el contenido de cenizas para lactosueros ácidos, se puede observar una tendencia de mayor concentración en lactosueros ácidos de origen bovino (0.67%) y caprino (1.00%)_que en lactosueros dulces de ambas especies, este resultado se comparte con el estudio realizado por Abaigar (2009) donde menciona que existe una mayor concentración de sales de calcio, magnesio, fosforo, lactatos y citratos en lactosueros ácidos, debido a que en la coagulación ácida de las proteínas el calcio coloidal contenido en las micelas de caseína es solubilizado por la acción del medio ácido y retenido en el lactosuero (Carvalho *et al.*, 2013), además de que la presencia de estas sales probablemente pueden deberse a la adición de cloruro de sodio o calcio en la producción de los quesos.

Finalmente el porcentaje de acidez en lactosueros dulces no presentó diferencia significativa, es decir, ambos valores son estadísticamente iguales (0.35% vs. 0.35%), resultado esperado ya que al tratarse de lactosueros dulces del mismo tipo de queso (Panela) pudieran tener el mismo valor de acidez. Para lactosueros ácidos es predecible que exista un mayor porcentaje de acidez, ya que la adición de un cultivo microbiano lleva a una acidificación del medio, haciendo que los valores de acidez sean mayores a los obtenidos en lactosueros dulces y un pH menor.

En los lactosueros ácidos presentan diferencias estadísticamente significativas en su porcentaje de acidez, este comportamiento se le atribuye al tipo de inóculos y la capacidad de fermentar el sustrato (lactosa) además, del tiempo de incubación a la que se sometió la leche en la elaboración de los quesos, con el fin de alcanzar el pH deseado, recordando que al elaborar queso Oaxaca y queso Crottin las condiciones de tiempo de incubación, tipos de inóculos y pH final varían.



Con lo anterior se tienen los suficientes criterios para aceptar la calidad fisicoquímica de las muestras de lactosuero, ya que se apegan a la normatividad vigente y a lo citado en la literatura, por tal se prosiguió a los ensayos de pH, temperatura y tiempo con el fin de establecer las condiciones experimentales adecuadas.

3.2 Optimización de las condiciones experimentales: tiempo, temperatura y pH durante la elaboración de requesón

Se realizó un ensayo previo de concentración de sólidos en el lactosuero, con el objetivo de establecer las condiciones de tiempo y temperatura de evaporación. La temperatura se fijó en 90°C, considerando que es una temperatura mayor a los puntos de desnaturalización de las proteínas de suero las cuales se encuentran entre 60°C–73°C (Britten *et al.*, 2011). El tiempo se estableció realizando un muestreo en intervalos de 30 min y verificando el contenido de humedad en las muestras tomadas hasta alcanzar la concentración de los sólidos deseada. (Ver figura 4).

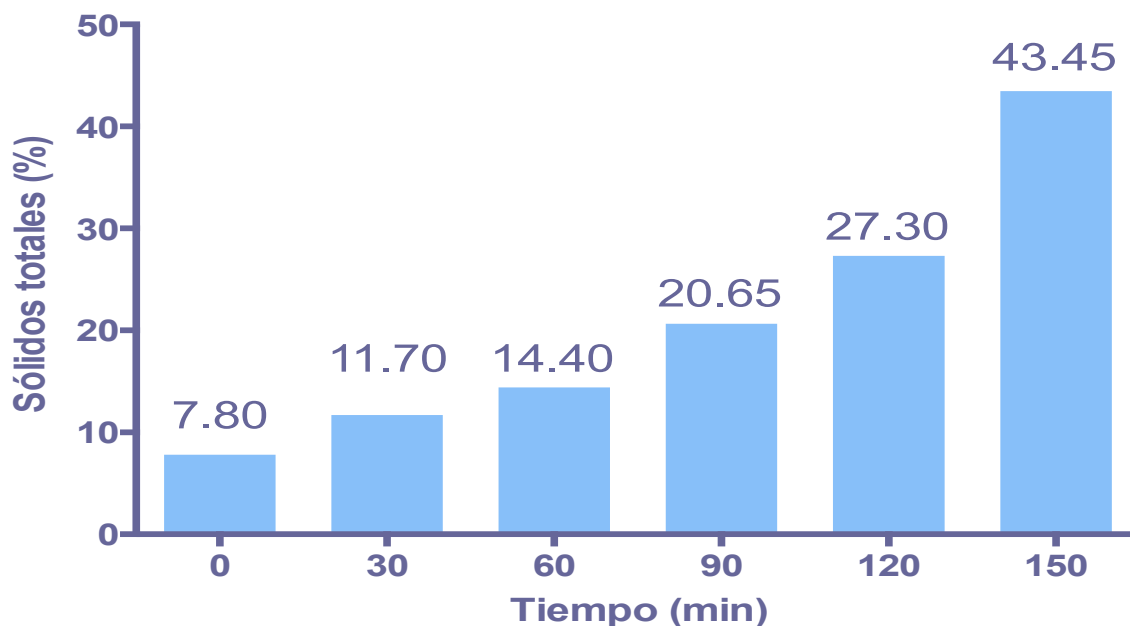


Figura 4. Efecto de la concentración de sólidos del lactosuero a temperatura constante (90 °C) con respecto al tiempo de evaporación



En el caso de pH se realizó un barrido de valores de pH (4, 5 y 6) cercanos al punto isoeléctrico de las proteínas mayoritarias presentes en el lactosuero β -lactoglobulina (β -LG) y la α -lactoalbúmina (α -LA) (Cuadro 4). Dichas condiciones de pH y temperatura se aplicaron con el objetivo de precipitar el mayor contenido posible de proteínas.

Cuadro 4. Propiedades fisicoquímicas de las proteínas más abundantes del lactosuero (Thompson, 2009)

Proteína	PI*	Temperatura de desnaturalización	Solubilidad en PI*	Proporción en masa (%)	Enlaces disulfuro/thiol
β -lactoglobulina	5.2	73 °C	Alta	60	2/1
α -lactoalbúmina	4.2-4.5	63 °C	Mínima	20	4
Inmunoglobulina	Varias isoformas	>70 °C	Mínima	10	17/1
Otras	8.95	>70 °C	Mínima	<10	17

*PI: punto isoeléctrico

3.3 Elaboración de quesones con lactosuero dulce y ácido de origen bovino y caprino

Una vez que se obtuvieron los quesones de cada lactosuero, se separó la cuajada y el suero residual obtenidos bajo las condiciones experimentales descritas en la metodología y se prosiguió con un análisis fisicoquímico de los quesones siguiendo las técnicas mencionadas en el Cuadro 3.

3.3.1 Evaluación de la composición fisicoquímica de quesones elaborados con lactosuero dulce de bovino

Los resultados obtenidos de los análisis de los quesones de lactosuero bovino dulce se muestran a continuación en la Tabla 5.

Tabla 5 Composición fisicoquímica de quesones (RQ) elaborados con lactosuero dulce de origen bovino

	Quesón pH 4	Quesón pH 5	Quesón pH 6
Humedad (%)	64.39 ^a	55.69 ^b	49.14 ^c
Materia seca (%)	35.61	44.31	50.86
• Proteína (%)	6.55 ^a	6.80 ^a	7.51 ^b
• Lípidos (%)	8.80 ^b	14.98 ^a	14.87 ^a
• Carbohidratos(%)	18.22	20.41	24.48
• Cenizas (%)	2.04 ^a	2.12 ^a	3.00 ^b
pH	4.71	5.40	5.94
Acidez (%)	1.70 ^a	1.01 ^b	0.83 ^c

Resultados Expresados en Base húmeda. Cada determinación mostrada en la tabla se realizó por triplicado con un Coeficiente de Variación no mayor al 3%. Los promedios con literales distintas son estadísticamente diferentes con $\alpha=0.05$ de acuerdo con la prueba de Tukey (por filas).

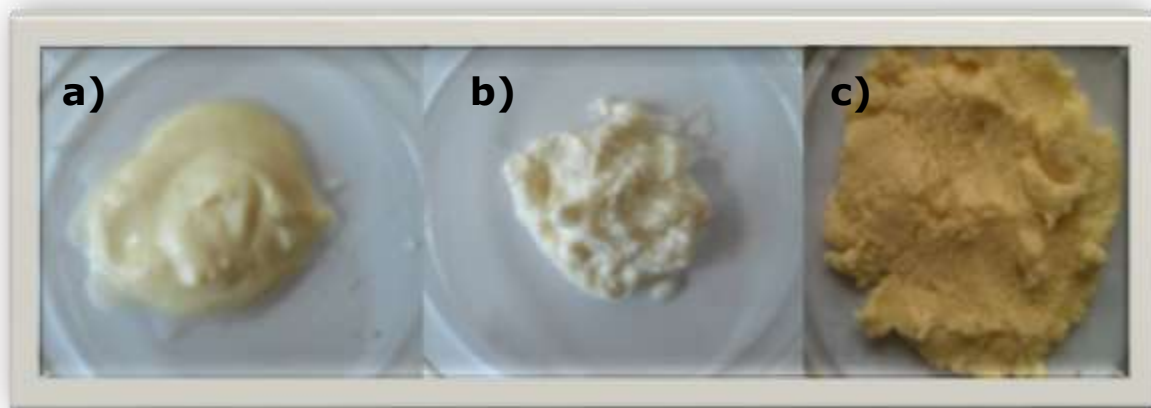


Figura 5. Quesones de lactosuero bovino dulce obtenidos a: a) pH 4 b) pH 5 y c) pH 6.

Para la elaboración de quesón no existe una Norma Oficial o Proyecto de Norma que regule la producción y características químicas de este producto lácteo, no obstante para el análisis de los productos obtenidos se tomaron como valores de referencia los resultados obtenidos en publicaciones de diferentes autores, basadas principalmente en la producción de quesón con lactosuero bovino dulce.



Cada uno de los requesones obtenidos mostró diferentes características entre ellos. En la Figura 5 se observa la diferencia en textura que presentaron los requesones (RQ) elaborados a base de lactosuero dulce bovino.

Una de las características con mayor influencia en la textura final del requesón es la cantidad de sólidos totales y por ende el contenido de humedad. Los valores experimentales en humedad no presentan similitud a lo encontrado en la literatura. Los resultados experimentales presentan valores aproximados entre 50% y 64%, sin embargo, según Jelen (2011) reporta un valor de 82.50% de humedad esto puede deberse al método de elaboración de requesón, debido a que en este trabajo experimental al tener el objetivo de obtener la mayor recuperación de sólidos por tratamiento térmico para alcanzar una elevada recuperación de proteínas, se sometió el lactosuero a condiciones de calentamiento hasta una evaporación casi total de la humedad, caso contrario a los esquemas en la elaboración de requesón presentados en la literatura ya que se somete el lactosuero a condiciones de calentamiento en promedio durante 40 minutos o hasta observar los primeros precipitados sugerentes a una desnaturalización de proteínas sin ser el objetivo la evaporación total.

Por otro lado el método de separación de la cuajada obtenida en la elaboración de requesón es diferente en ambos casos. La literatura generalmente menciona que la cuajada al ser frágil es separada por mantas que permiten el desuerado o incluso se menciona que este proceso puede llevarse a cabo mediante una separación manual, sin embargo en este trabajo experimental la separación de la cuajada se logró mediante una centrifugación, lo que permitió la mayor separación de la fase acuosa, forzando una mayor recuperación de sólidos en este proceso, que se refleja en los resultados de materia seca presentes en los requesones finales.



Estadísticamente los valores de humedad en los tres requesones presentaron diferencia significativa entre sí. Para los requesones elaborados con lactosuero dulce bovino a mayor contenido de humedad se observa un producto final con una consistencia más fluida como se aprecia en Figura 5 a) pH4.

A pH 4 se obtuvo un requesón con una consistencia más fluida respecto a las otras pruebas, debido a su contenido de humedad (64.39%) mientras para pH 6 se presentó una diferencia notable en la textura de este requesón, la cual se debe a la alta concentración de sólidos totales (50.68%) respecto a los otros requesones (pH 4 y pH 5) y su baja cantidad de humedad de 49.14% siendo ésta menor respecto al requesón elaborado a pH 4.

Generalmente la textura de los requesones también se puede ver influenciada por la solubilidad de las proteínas y su capacidad de ligar agua, así como el contenido en cada requesón. Los valores teóricos mencionan un contenido de proteína promedio de 10.35%-11.30%, como se observa en la Tabla 5, los valores experimentales son menores respecto a los de la literatura, no obstante estos valores teóricos mencionan que se adiciona leche en la producción de requesón para aumentar el contenido de proteína y por consiguiente obtener mayor cantidad de proteínas en el producto final. La adición de leche no se llevó a cabo en este protocolo experimental, entonces el contenido de proteína en los requesones es referente solamente a las proteínas propias del lactosuero y no a proteína añadida por la adición de leche (caseína).

Es importante mencionar que para realizar el ajuste de pH a valores de pH 4 se utilizó la cantidad necesaria de ácido láctico para llegar a este valor, en este valor se encuentra el punto isoeléctrico de la α -La, la cual teóricamente, por comportamiento general de las proteínas presenta una mínima solubilidad y por ende consigue cambios estructurales de su forma nativa y precipitar.



Para la prueba de pH 5 y 6 se recurrió a la adición de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), que a su vez interfiere con la fuerza iónica del medio y afecta a las proteínas. Las interacciones iónicas promueven la relación proteína-agua que provoca un aumento en la solubilidad de las mismas, sin embargo como lo menciona Carvalho (2013) en su método alternativo para la elaboración de requesón, el uso de sales como cloruro de calcio, cloruro de sodio o carbonatos, reaccionan sobre las proteínas del lactosuero por el fenómeno conocido como “Salting-out” o desestabilización salina en donde la sal añadida al lactosuero interacciona con los grupos cargados eléctricamente de las proteínas obstaculizando las interacciones proteínas-agua y promoviendo la agregación.

Estadísticamente se encontró que los valores de proteína a pH 4 y pH 5 no presentaron diferencia significativa. A pH 4 se obtuvo un valor de 6.55% cercano al encontrado a pH 5 con 6.80%, sin embargo el valor de proteína a pH 6 (7.51%) es diferente al resto de las pruebas, siendo a este pH la condición donde se presentó la mayor concentración de proteína.

Como se mencionó anteriormente el barrido de pH se llevó a cabo para evaluar el efecto del pH sobre la precipitación de las proteínas. A pH 4 la α -LA está en su punto isoeléctrico, por lo tanto al estar trabajando en este pH la proteína carecerá de solubilidad y al estar insoluble generará agregados que pueden llegar a precipitar, caso contrario a pH 5 donde la β -LG permanece soluble en su punto isoeléctrico ya que su comportamiento es el opuesto al del resto de las proteínas que siguen un comportamiento característico de una curva en forma de U, sin embargo en ambos pH el tratamiento térmico pudo favorecer la precipitación la recuperación de las mismas.

El requesón que presentó mayor concentración de proteína (7.51 %) y que es estadísticamente diferente al resto se logró a un pH 6, resultado de la desnaturalización de ambas proteínas (α -LA y β -LG). La β -lactoglobulina es una



proteína que no precipita en su punto isoeléctrico, debido a que no existe repulsión electrostática en sus moléculas y su contenido de residuos hidrofílicos en su superficie es elevado, comparado con los no polares, por lo que la proteína permanece soluble en su punto isoeléctrico. Sin embargo a pH 6 se pudo lograr la desnaturalización y precipitación, ya que está a valores por encima de su PI, además se puede hablar de una desnaturalización de esta proteína por el tratamiento térmico (90 °C) por su cambio conformacional y su desestabilización exponiendo sus grupos hidrófobos, principalmente sulfhidrilo (-SH), tendiendo a formar puentes disulfuro (S-S) los cuales son responsables de su agregación térmica irreversible por interacciones proteína-proteína, haciendo que el peso molecular de la proteína vaya en aumento por la formación de aglomerados que tienden a precipitar, recuperando así esta fracción proteínica. Estas reacciones confieren propiedades de gelificación a la proteína. Como lo cita Schmitt *et al.* (2009) bajo condiciones cercanas a pH 6 β -LG forma microgeles esféricos, ya que exhiben la característica de ser macromoléculas unidas intramolecularmente, formando una nueva molécula polimérica llamada microgel, pero que al mismo tiempo muestran una figura esférica con interfase definida. Estos microgeles resultan de una auto agregación controlada por la carga neta de la proteína y las regiones hidrófobas que se exponen durante la termodesnaturalización.

La termodesnaturalización es precedida por la desnaturalización y seguida por la coagulación y precipitación de las proteínas, entonces se puede atribuir la textura de este requesón obtenido a pH 6 a la formación de geles de la proteína más abundante del lactosuero (β -LG) y la precipitación de α -LA por la reacción que puede ocurrir con la β -LG gracias a las cisteínas libres que presenta esta última que interaccionan con los puentes disulfuro de α -LA, así mismo, puede ocurrir la formación de homo-oligómeros de α -LA- α -LA por la alta temperatura empleada, esto por una reacción de intercambio disulfuro-sulfhidril en la molécula.

El contenido de lípidos que oscila entre 9%-15% en los requesones experimentales es mucho mayor al reportado en la literatura (0.5%), esto debido



las características iniciales del lactosuero. Como se mencionó en la Sección 3.1 el lactosuero presentó una concentración mayor a lo permitido en la NMX-F-721-COFOCALEC-2012, debido a que la leche de partida no fue estandarizada en su contenido de lípidos ni homogenizada, por ende en la elaboración de requesón por formación de agregados de proteínas se pueden atrapar sólidos suspendidos en el lactosuero como lípidos debido a la exposición de grupos no polares en el proceso de desnaturalización, por lo tanto los lípidos pueden ser captados por proteínas, recordando que los lípidos le confieren cremosidad a los productos, los requesones con mayor contenido de lípidos fueron a un pH 5 y a pH 6 (aproximadamente 15%) contra pH 4 con un valor de 8.80% el cual presentó diferencia significativa en este parámetro.

La presencia de carbohidratos en los requesones oscila entre 18-25%, que al igual que los lípidos, los carbohidratos presentan un valor mayor frente al de referencia (1.50%-2.30%), esto posiblemente debido a factores, por un lado en lactosueros dulces por la acción de corte específica de la enzima renina existe la presencia de la κ -caseína la cual está altamente glicosilada, pudiendo tener un comportamiento mayor como carbohidrato que como fracción proteínica y por otro lado al someter el requesón a un proceso de centrifugación se forzó que gran parte los sólidos presentes en la fase acuosa se retuvieran en la matriz del requesón entre ellos los carbohidratos haciendo de este valor mayor que el de referencia, así mismo por esta acción mecánica pudo lograrse una saturación de lactosa logrando su cristalización y por ende una elevada concentración en los requesones experimentales.

Por último, el contenido de cenizas presentes en los requesones de lactosuero dulce incrementa al aumentar el pH, este resultado es coherente ya que al hacer el ajuste del pH se agregó bicarbonato de sodio, provocando un incremento de las cenizas cuantificadas, siendo mayores y estadísticamente diferente en el pH donde se realizó el ajuste de pH 6.

3.3.2 Evaluación de la composición fisicoquímica de quesones elaborados con lactosuero ácido bovino

Los resultados obtenidos de los análisis de los quesones de origen bovino ácido se muestran a continuación en la Tabla 6.

Tabla 6. Composición fisicoquímica de quesones (RQ) elaborados con lactosuero ácido de origen bovino

	Quesón pH 4	Quesón pH 5	Quesón pH 6
Humedad (%)	53.56 ^a	50.08 ^b	47.24 ^c
Materia seca (%)	46.44	49.92	52.76
• Proteína (%)	7.15 ^a	7.00 ^a	8.34 ^b
• Lípidos (%)	13.00 ^a	16.50 ^b	18.50 ^c
• Carbohidratos(%)	22.12	21.98	20.76
• Cenizas (%)	4.17 ^a	4.44 ^b	5.16 ^c
pH	4.05	4.79	5.80
Acidez (%)	3.17 ^a	1.48 ^b	1.32 ^c

Resultados expresados en base húmeda. Cada determinación mostrada en la tabla se realizó por triplicado con un coeficiente de variación no mayor al 3%. Los promedios con literales distintas son estadísticamente diferentes con $\alpha=0.05$ de acuerdo con la prueba de Tukey (por filas).

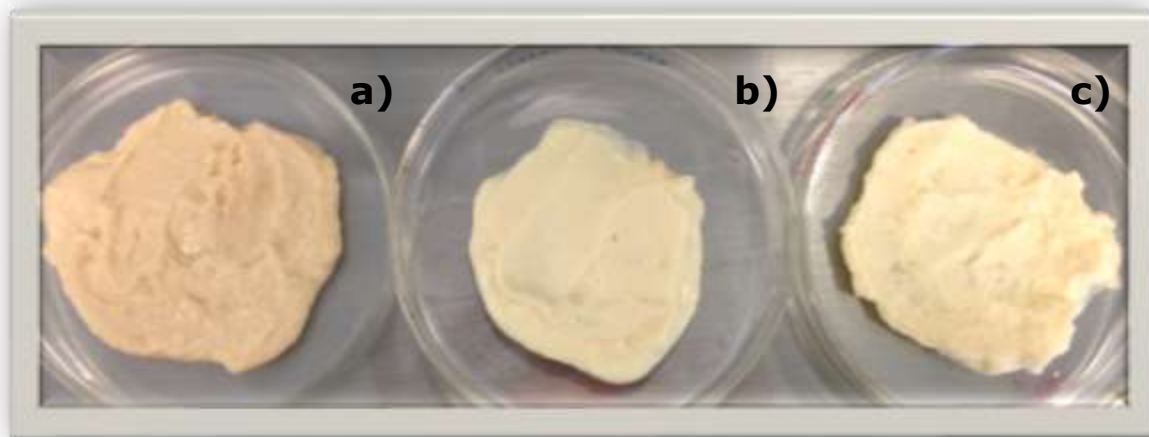


Figura 6. Quesones de lactosuero bovino ácido obtenidos a: a) pH 4, b) pH 5 y c) pH 6.

En toda la revisión bibliográfica que se realizó no se encontraron valores reportados en la literatura de quesones elaborados con lactosuero ácido, debido



a que la mayoría de los trabajos reportados utilizan lactosueros dulces, sin embargo se prosiguió con su análisis para observar los efectos que presenta el cambio de tipo de lactosuero en la producción de requesón.

Al realizar pruebas de diferencias de medias para cada pH en ambos tipos de lactosuero (dulce y ácido) es decir, pH 4, 5 y 6 bovino dulce contra pH 4, 5 y 6 bovino ácido, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los mismos, por lo tanto se espera un comportamiento similar en los requesones obtenidos con lactosuero ácido que con lo ya descrito en la Sección 3.3.1 (Requesones dulces de bovino), sugiriendo entonces que el cambio en el tipo de lactosuero no afecta las características químicas finales de los requesones.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de humedad en los requesones de bovino ácido. A pH 4 se presentó el valor mayor de humedad 53.56%, y a pH 6 el menor con 47.24%. Este comportamiento fue el mismo en requesones dulces bovinos con valores mayores de humedad a pH 4 y menor a pH 6. Como se puede observar en la Figura 6 existe cierta similitud en la textura de los requesones, no obstante no existe la suficiente evidencia estadística para ser considerados como iguales, a pesar de que en primera instancia pudieran ser similares en el contenido de humedad y materia seca.

El lactosuero dulce presentó una concentración de proteína de 0.81 %, siendo menor que el cuantificado en lactosuero ácido bovino (1.11%) encontrando diferencias estadísticamente significativas entre ellos (Ver Tabla 4). Para requesones bovinos ácidos a pH 4 y 5 no existe diferencia significativa presentando valores de 7.15% y 7.00% respectivamente, por otro lado a pH 6 se presentó diferencia significativa respecto a los otros tratamientos, con un valor de 8.34%. Este mismo comportamiento se presentó para requesones elaborados a base de lactosuero bovino dulce, donde a pH 6 se presentó diferencia significativa para este componente (proteína). De manera general el comportamiento de las proteínas del lactosuero es el mismo que el descrito en la sección anterior para



requesones bovinos dulces. En conclusión se obtiene un mayor contenido de proteína a pH 6 en requesones de ambos tipos de lactosuero, dulce y ácido, resultado del ajuste de pH fuera del punto isoeléctrico de las proteínas séricas y por el tratamiento térmico que tiene gran influencia en la desnaturalización y precipitación de las proteínas.

3.3.3 Evaluación de rendimiento proteínico de requesones elaborados con lactosueros dulce y ácido de bovino

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis fisicoquímico de los requesones elaborados con lactosuero dulce y ácido de bovino bajo las diferentes condiciones experimentales, se prosigió a calcular el rendimiento de proteína (Ver Anexo 3 para cálculos) para cada una de las pruebas.

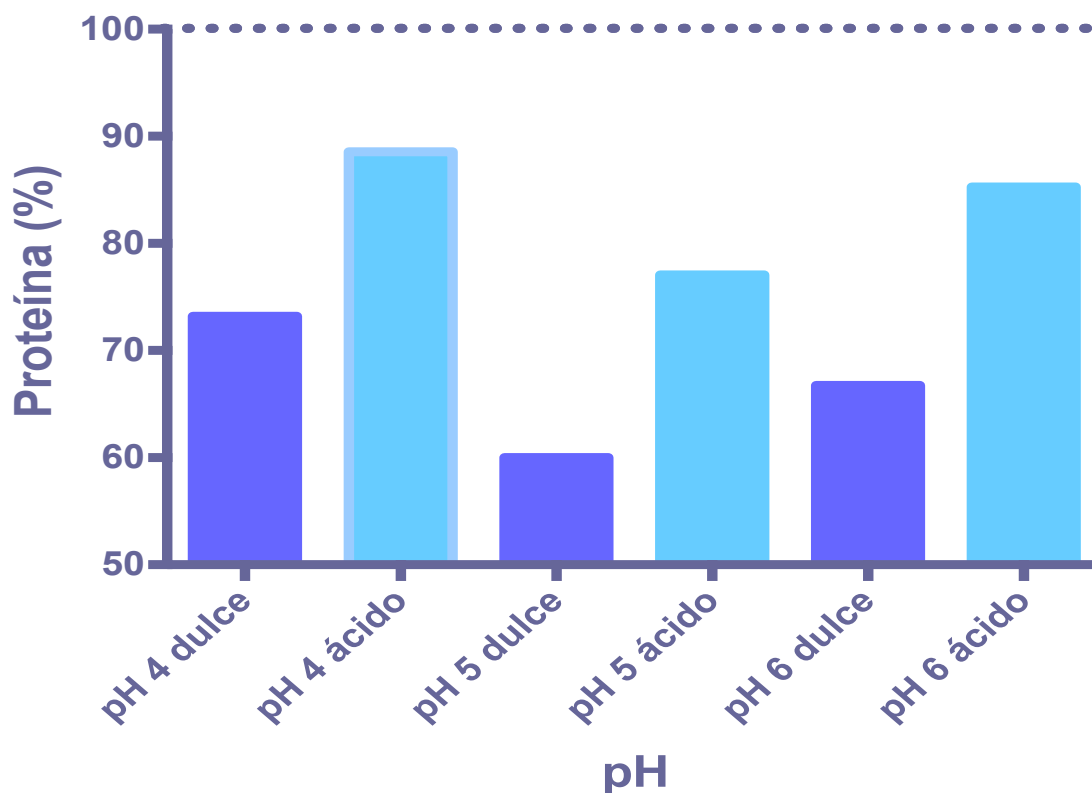


Figura 7. Efecto del pH sobre rendimiento proteínico en requesones elaborados con lactosuero dulce y ácido de origen bovino



El comportamiento de las proteínas es generalmente el mismo bajo las condiciones a las que se sometieron los lactosueros sin importar el tipo de lactosuero. (Figura 8)

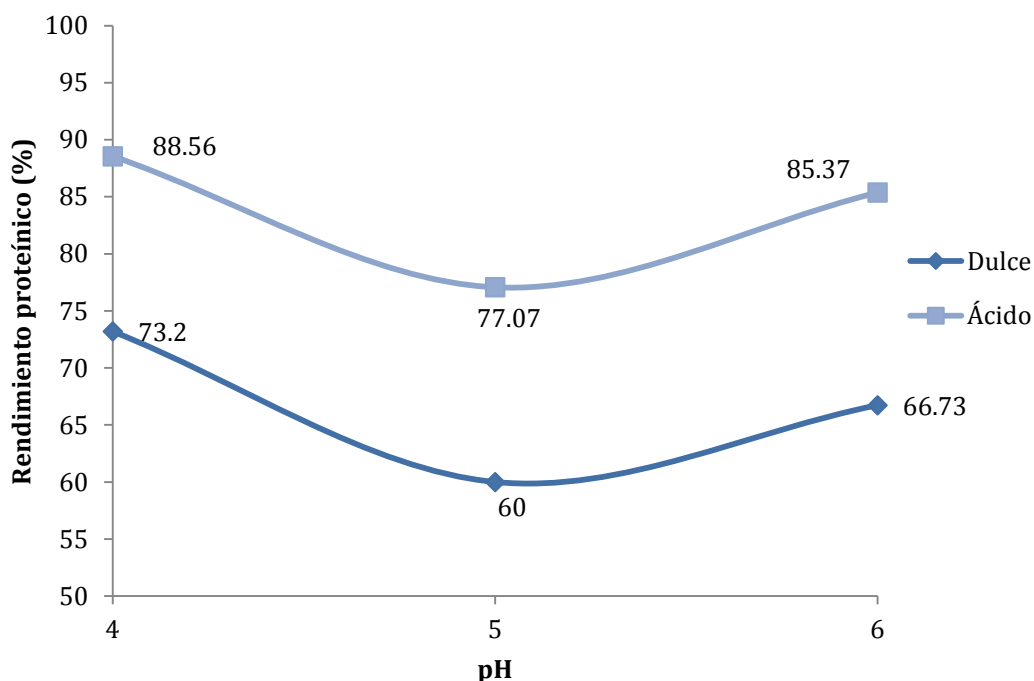


Figura 8. Rendimiento proteínico de requesones dulces y ácidos respecto al pH.

Como se observa en la Figura 7 y 8, el tratamiento que obtuvo un mayor rendimiento de proteína fue a pH 4 para ambos tipo de lactosuero, 73.20% en lactosuero dulce y 88.56% para ácido. El rendimiento se calculó con base a la masa final obtenida en cada requesón, el contenido de proteína en el requesón (por AQP) y la cantidad inicial de proteína que se encuentra en el lactosuero de partida.

Dado que el rendimiento de proteína más alto fue en pH 4 de requesón dulce y ácido (73.20% y 88.56%) podría suponerse que estos requesones presentaron la mayor cantidad de proteína, sin embargo, esto no fue así, se observó que este pH contiene la menor cantidad de proteína, por lo tanto su valor elevado en



rendimiento se debe a la masa total de requesón obtenida bajo esta condición; ya que en el requesón a pH 4 dulce se obtuvo la mayor cantidad de masa del producto final (181.00 g) comparada con la masa obtenida a pH 5 y pH 6 dulces (143.00 y 144.00 g respectivamente) y para requesón ácido a pH 4 una masa de 275.00 g, 244.50 g y 227.00 g a pH 5 y 6 respectivamente.

Como se muestra la figura 8, existe la misma tendencia de un mayor rendimiento proteínico a pH 4, un decremento a pH 5 (77.07% y 60%) y por ultimo a pH 6 se encuentra el segundo valor más alto (66.73% y 85.37%). En conclusión, las proteínas séricas del lactosuero de origen bovino presentaron una similitud en su comportamiento sin importar el tipo de lactosuero empleado es decir, ácido o dulce, siempre y cuando se mantengan las mismas condiciones de pH y temperatura, para la elaboración de los requesones.

3.3.4 Evaluación de la composición fisicoquímica de requesones elaborados con lactosuero dulce de caprino

Los resultados obtenidos de los análisis fisicoquímicos de los productos finales (requesón) de origen caprino dulce se muestran en la Tabla 7. Se realizó el mismo tratamiento utilizado en la elaboración de requesón de lactosuero bovino. A continuación se presenta en la Figura 9 los requesones de cabra elaborados con lactosuero caprino dulce.

Tabla 7. Composición fisicoquímica de requesones (RQ) elaborados con lactosuero dulce de origen caprino.

	Requesón pH 4	Requesón pH 5	Requesón pH 6
Humedad (%)	49.12 ^a	47.83 ^b	49.74 ^c
Materia seca (%)	50.88	52.17	50.26
• Proteína (%)	7.44 ^a	9.97 ^b	7.89 ^a
• Lípidos (%)	10.00 ^a	12.00 ^b	10.20 ^a
• Carbohidratos(%)	30.37	27.13	28.32
• Cenizas (%)	3.07 ^a	3.07 ^a	3.35 ^b
pH	3.89	4.43	4.33
Acidez (%)	1.66 ^a	1.70 ^a	1.67 ^a

Resultados Expresados en Base húmeda. Cada determinación mostrada en la tabla se realizó por triplicado con un Coeficiente de Variación no mayor al 3%. %. Los promedios con literales distintas son estadísticamente diferentes con $\alpha=0.05$ de acuerdo con la prueba de Tukey (por filas).

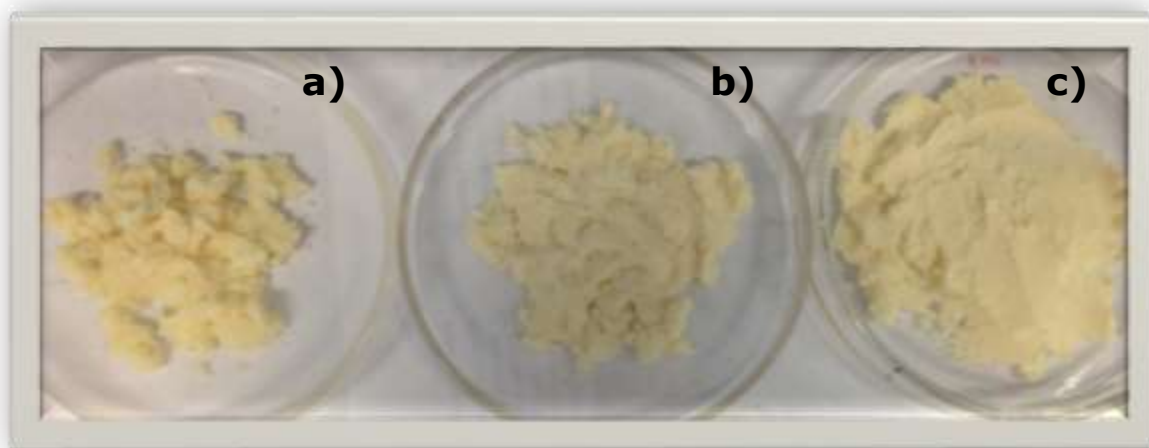


Figura 9. Requesones de lactosuero caprino dulce obtenidos a: a) pH 4, b) pH 5 y c) pH 6.

Para el análisis de esta sección se empleó como referencia los valores citados por Pizzillo *et al.*, (2005) basados en la elaboración de requesón con lactosuero dulce de cabra. El valor promedio de referencia de humedad citado por Pizzillo *et al.*, (2005) es de 68.00% el cual es aproximadamente 20.00% mayor a los encontrados experimentalmente, dicho comportamiento al igual que en requesones de suero bovino, el contenido de humedad es menor al de referencia, por la manera de recuperación de las proteínas precipitadas en la elaboración de requesón. Debido a la fuerza centrífuga aplicada a las muestras experimentales, los requesones obtenidos presentaron mayor cantidad de sólidos, inversamente proporcional al contenido de humedad, los cuales son bajos comparados con el valor teórico, en donde la recuperación de los sólidos por precipitación térmica que forman parte del requesón se llevó a cabo por una separación en una manta de cielo, y su posterior desuerado en reposo durante un día, lo que conlleva a que la matriz retenga mayor humedad que en las muestras experimentales sometidas a centrifugación. Las tres muestras presentaron diferencia estadísticamente significativa.

Con el aumento de la energía térmica se causa el desplegamiento de las proteínas (desnaturalización), entonces se da la agregación y precipitación de las mismas y



por lo tanto su solubilidad disminuye. De acuerdo a los valores citados por Pizzillo *et al.*, (2005), en la composición de quesos elaborados a base de lactosuero caprino, reportan un contenido de proteína de 7.00-9.00%, los datos experimentales se asemejan a los teóricos, considerando que para pH 5 (9.97%) es el que presenta mayor cantidad de proteína además de ser estadísticamente diferente a las pruebas de pH 4 y 6.

El contenido de grasa de 20.00% reportado por el mismo autor (Pizzillo *et al.*, 2005) es mucho mayor al encontrado experimentalmente, la diferencia de estos quesos puede deberse a la cantidad de grasa inicial que presentó el lactosuero dulce de cabra (1.10%). Para pH 5 se presentó diferencia estadística respecto a las otras pruebas, esto puede estar asociado, así mismo, al contenido de proteína, ya que a mayor contenido de proteína en pH 5, los agregados formados en la desnaturalización de proteínas pueden dejar expuestos grupos no polares que pueden interactuar con lípidos que están en el medio a través de interacciones hidrofóbicas y formar complejos lipoproteicos. Esta relación proteína-lípidos se conserva en todas las pruebas, es decir, el contenido de lípidos a pH 4 y pH 6 es similar 10.00% Vs 10.20% y guarda una relación con el contenido de proteína a estos mismos pH (4 y 6) con valores de 7.44% y 7.89% respectivamente. En conclusión a mayor cantidad de proteínas puede existir una mayor cantidad de lípidos por interacciones hidrofóbicas.

Los carbohidratos presentan una concentración mayor a lo reportado en el estudio de Pizzillo *et al.* (2005) de 15.00%-20.00% Vs. 4.00%, Por el tratamiento mecánico (centrifugación) al que se sometieron los quesos para su recuperación estos valores de carbohidratos pueden ser mayores debido a que la mayor parte de sólidos se sedimentaron entre ellos la lactosa, quedando una fracción atrapada en la matriz acuosa o también pudiéndose formar cristales que le confirieron una textura más granular a las muestras de queso. Por otro lado los carbohidratos fueron calculados por diferencia entre su correspondiente materia seca y la suma de proteína, lípidos y cenizas, lo cual puede llevar a un error experimental, y no



garantiza que esta diferencia corresponda solamente a carbohidratos como lactosa.

Por último el comportamiento de las cenizas es congruente, a pH mayor se presentó mayor cantidad de cenizas por la adición de bicarbonato para lograr el ajuste de pH. A pH 6 se observa que existe diferencia estadística con el resto de las pruebas, esto por la cantidad de bicarbonato requerida para llegar a este pH, la cual fue mayor que a pH 4 o 5. Los valores experimentales superan al teórico (1.00%), sin embargo el autor no hace mención de la adición de sales en el proceso de elaboración de requesón para hacer un ajuste de pH inicial del lactosuero como se hizo en este desarrollo experimental.

3.3.5 Evaluación de la composición fisicoquímica de requesones elaborados con lactosuero ácido caprino

Los resultados obtenidos de los análisis de los requesones de origen caprino ácido se muestran a continuación en la Tabla 8.

Tabla 8. Composición fisicoquímica de requesones (RQ) elaborados con lactosuero ácido de origen caprino.

	Requesón pH 4	Requesón pH 5	Requesón pH 6
Humedad (%)	61.17 ^a	69.30 ^b	67.22 ^c
Materia seca (%)	38.83	30.70	32.78
• Proteína (%)	10.12 ^a	8.63 ^a	9.53 ^a
• Lípidos (%)	4.00 ^a	2.50 ^b	3.50 ^a
• Carbohidratos(%)	19.88	15.07	14.68
• Cenizas (%)	4.82 ^a	4.50 ^b	5.07 ^c
pH	3.78	4.46	4.66
Acidez (%)	5.10 ^a	3.07 ^b	1.66 ^c

Resultados Expresados en Base húmeda. Cada determinación mostrada en la tabla se realizó por triplicado con un Coeficiente de Variación no mayor al 3%. Los promedios con literales distintas son estadísticamente diferentes con $\alpha=0.05$ de acuerdo con la prueba de Tukey (por filas).

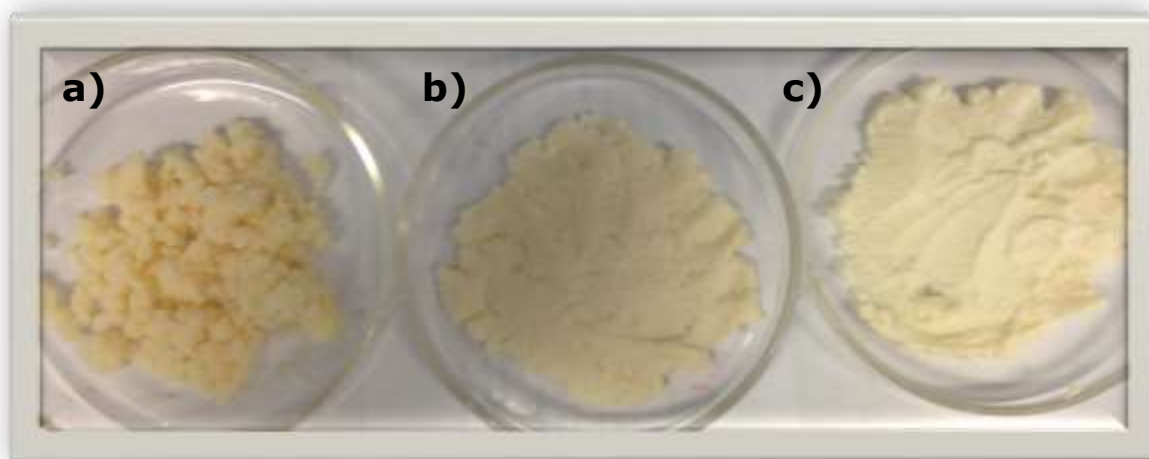


Figura 10. Requesones de lactosuero caprino ácido obtenidos a: a) pH 4, b) pH 5 y c) pH6.

Para estos requesones elaborados con suero ácido caprino no existe referencia con la cual se pueda hacer una comparación concreta de los resultados obtenidos experimentalmente con los reportados en la teoría.

Sin embargo en esta sección se analizará la influencia que pudo tener en la elaboración de requesones el tipo de lactosuero empleado. Se espera que se presente un comportamiento similar con el lactosuero dulce, ya que al tratarse de la misma especie es posible que exista una semejanza en los resultados como lo obtenido en requesones de origen bovino.

De la misma manera se realizó un análisis estadístico de todas las pruebas (pH 4, 5 y 6) en ambos tipos de lactosuero caprino y se observó que no existe diferencia significativa en el contenido de proteína y cenizas, lo que puede indicar que la mezcla de estos lactosueros no impactará a nivel fisicoquímico una características finales más importantes en la producción de requesón, es decir, en el contenido de proteína, ya que se busca un alto contenido de la misma en el producto, sin embargo, habrá que hacer otro tipo de consideraciones para poder aceptar esta supuesta aseveración ya que en el contenido de lípidos y porcentaje de acidez sí presentó diferencia significativa en los dos tipos de lactosuero.



El contenido de humedad en requesones ácidos es mayor respecto a los requesones de origen dulce, se presentaron valores mayores a 60.00%, los cuales son estadísticamente diferentes entre sí. Posiblemente estos valores se pueden explicar por el tipo de lactosuero, que al tratarse de un lactosuero ácido, en donde inicialmente la proteína ya había sufrido un proceso de desnaturalización previa por acción del pH y la modificación de su carga neta lo cual pudo aumentar la capacidad de formar interacciones con el agua traducido en mayor porcentaje de humedad que en requesones dulces.

Para el contenido de proteínas no se presentó diferencia estadística en las diferentes pruebas con requesones ácidos obteniéndose valores entre 8.60%-10.12%. De manera general los productos obtenidos a partir de lactosuero caprino ácido presentan un mayor porcentaje de humedad y un incremento en el contenido de proteína que los productos obtenidos de lactosuero dulce. Dicho comportamiento puede deberse a que por su mayor contenido de humedad existe aún parte de la proteína soluble en la fase acuosa de estos requesones.

Se observa en la Tabla 4, que el contenido de lípidos en el suero ácido caprino es el menor (0.40%) de todos los lactosueros empleados, por lo cual este mismo generó requesones con poca cantidad de lípidos (2.50%-4.00%) en las tres pruebas de pH llevadas a cabo, presentando un valor estadísticamente diferente a pH 5 (2.50%). Estos valores de porcentaje de lípidos en requesones de origen ácido fueron los menores y diferentes estadísticamente en las seis pruebas experimentales, lo que se relaciona con la textura, ya que la granulosidad detectada en los requesones como lo recalca Pizzillo (2005) está asociada al bajo contenido de grasa y un elevado contenido de proteína, así como una posible cristalización de la lactosa por su alto contenido.



3.3.6 Evaluación de rendimiento proteínico de quesos elaborados con lactosueros dulce y ácido de caprino

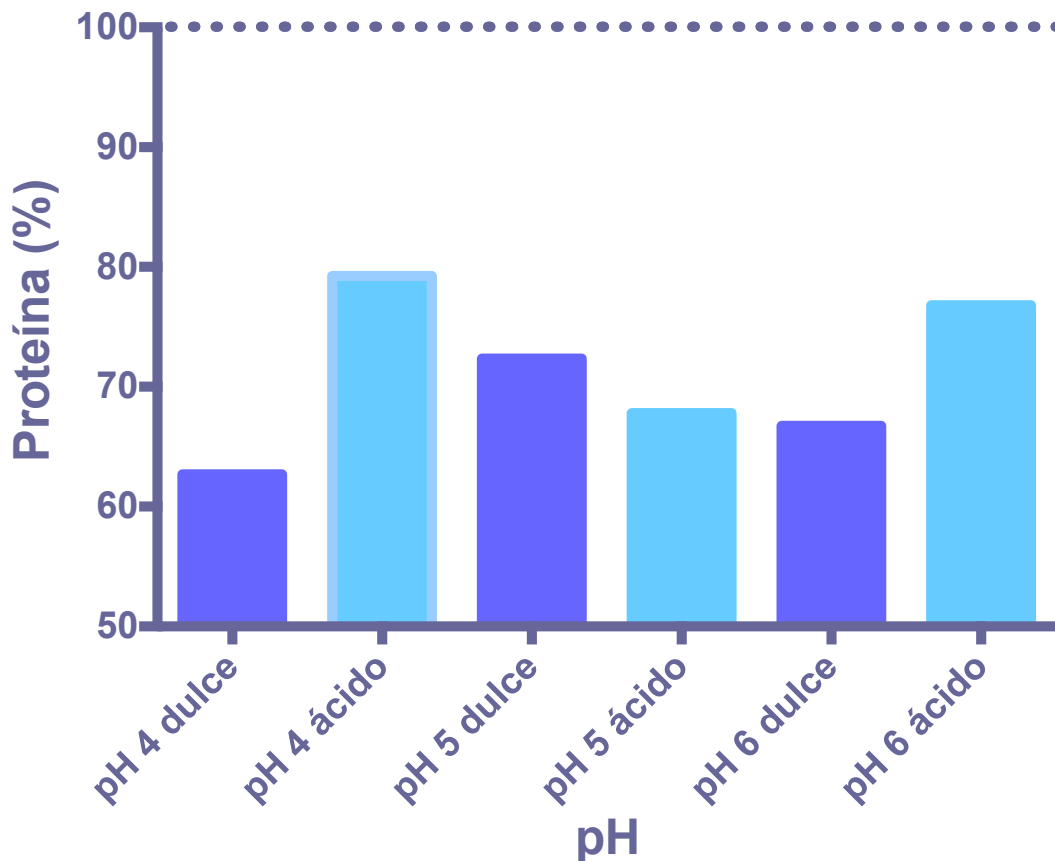


Figura 11. Efecto del pH sobre rendimiento proteínico en quesos elaborados con lactosuero dulce y ácido de origen caprino.

Como se muestra en la Figura 11, generalmente el rendimiento proteínico para los quesos ácidos es mayor que en quesos dulces. Los quesos ácidos muestran una mayor humedad, por ende cierta fracción proteínica se puede encontrar ionizada lo que provoca una mayor solubilidad.

El efecto del pH sobre el rendimiento proteínico en los quesos caprinos no presenta el mismo comportamiento que en los quesos bovinos. Las proteínas en el lactosuero ácido pueden presentar cierto grado de desnaturalización debido al pH inicial, sin embargo esto no garantiza su máxima precipitación, ya que al



hacer los ajustes de pH a valores de 5 y 6, sufren cambios estructurales, generando proteínas con un alto grado de desnaturalización que pueden no ser capaz de formar interacciones proteína-proteína, debido a que sus grupos hidrofílicos están muy expuestos, promoviendo la relación proteína-agua que provoca un aumento en su solubilidad, por lo tanto un mayor rendimiento proteínico en quesos con alto porcentaje de humedad (quesos ácidos).

Para los quesos dulces se obtuvo el mayor rendimiento de proteínas a pH 5 con un valor de 72.40%, un decremento a pH 6 con 66.73% y con un menor rendimiento a pH 4 con un valor de 62.70%. En estos quesos el contenido de proteína en el análisis químico proximal si está relacionado con el rendimiento, es decir, el queso dulce que presenta mayor contenido de proteína es el mismo que presentó un mayor rendimiento. Este mismo comportamiento se observa en quesos ácidos en donde a pH 4 se observa mayor contenido de proteína en lo reportados en su composición (Tabla8), y este mismo presenta un rendimiento de 79.26%.

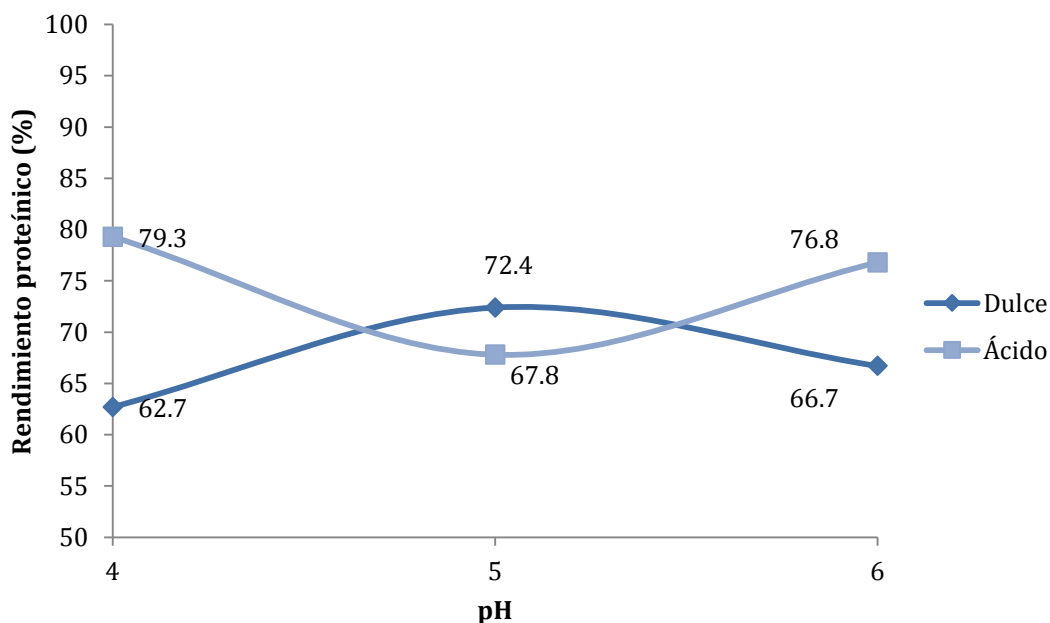


Figura 12. Rendimiento proteínico de quesos dulces y ácidos respecto al pH.



Por otro lado el comportamiento de los tipos de quesos dulces y ácidos es opuesto, Figura 12. Para quesos de caprino dulce el mayor rendimiento se encuentra a pH 5 (67.80%), sin embargo a este mismo pH para quesos ácidos se encuentra el valor más bajo en rendimiento proteínico (72.40%). Esto por el tipo de lactosuero con el que se elaboró el queso, no obstante debe considerarse que los quesos que presentaron mayor rendimiento son los ácidos, característica conferida por el lactosuero de partida que presentó una concentración de 1.22% contra un 1.10% del lactosuero caprino dulce.

3.3.7 Evaluación de la composición fisicoquímica de quesos elaborados con lactosueros dulces, bovino caprino

Tabla 9. Composición fisicoquímica de quesos (RQ) elaborados con lactosuero dulce bovino y caprino

	Queso Dulce					
	Bovino			Caprino		
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 4	pH 5	pH 6
Humedad (%)	64.39 ^b	55.69 ^c	49.14 ^a	49.12 ^a	47.83 ^d	49.74 ^f
Materia seca (%)	35.61	44.31	50.86	50.88	52.17	50.26
• Proteína (%)	6.55 ^a	6.80 ^a	7.51 ^a	7.44 ^a	9.97 ^a	7.89 ^a
• Lípidos (%)	8.80 ^b	14.98 ^a	14.87 ^a	10.00 ^a	12.00 ^c	10.20 ^a
• Carbohidratos(%)	18.22	20.41	24.48	30.37	27.13	28.32
• Cenizas (%)	2.04 ^a	2.12 ^a	3.00 ^a	3.07 ^a	3.07 ^a	3.35 ^b
pH	4.71	5.40	5.94	3.89	4.43	4.33
Acidez (%)	1.70 ^a	1.01 ^b	0.83 ^c	1.66 ^a	1.70 ^a	1.67 ^a

Resultados expresados en base húmeda. Cada determinación mostrada en la tabla se realizó por triplicado con un coeficiente de variación no mayor al 3%. Los promedios con literales distintas son estadísticamente diferentes con $\alpha=0.05$ de acuerdo con la prueba de Tukey (por filas).

Al realizar el análisis estadístico y pruebas de diferencias de medias para cada pH en el mismo tipo de lactosuero (dulce) de diferente especie, es decir, pH 4, 5 y 6 bovino dulce contra pH 4, 5 y 6 caprino dulce, no se encontró diferencia significativa en parámetros como proteínas, el cual es importante en el objetivo de esta investigación, en la cual se busca una máxima recuperación de proteínas.



Los resultados estadísticos de la Tabla 9 sugieren que a nivel fisicoquímico no interfiere el tipo de lactosuero en la recuperación de proteínas en la elaboración de requesón, sin embargo existen otros componentes como los lípidos que sí presentan diferencias significativas a pH 4 bovino dulce y pH 5 caprino ácido así como el contenido de humedad que sólo presenta similitud a pH 6 bovino dulce y pH 4 caprino dulce. Por lo tanto de acuerdo a la estadística es posible que puedan emplearse lactosueros de diferente especie en mezcla o por separado, siempre y cuando provengan del mismo tipo de elaboración de quesos, es decir la recuperación de la caseína sea mediante el uso de una enzima y puedan ser clasificados como lactosueros dulces.

3.3.8 Evaluación de la composición fisicoquímica de requesones elaborados con lactosueros ácidos, bovino caprino.

Tabla 10. Composición fisicoquímica de requesones (RQ) elaborados con lactosuero ácido de origen bovino y caprino.

	Requesón ácido					
	Bovino			Caprino		
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 4	pH 5	pH 6
Humedad (%)	53.56 ^a	50.08 ^b	47.24 ^c	61.17 ^d	69.30 ^f	67.22 ^g
Materia seca (%)	46.44	49.92	52.76	38.83	30.70	32.78
• Proteína (%)	7.15 ^a	7.00 ^a	8.34 ^a	10.12 ^a	8.63 ^a	9.53 ^a
• Lípidos (%)	13.00 ^b	16.50 ^c	18.50 ^d	4.00 ^a	2.50 ^e	3.50 ^a
• Carbohidratos(%)	22.12	21.98	20.76	19.88	15.07	14.68
• Cenizas (%)	4.17 ^b	4.44 ^a	5.16 ^a	4.82 ^c	4.50 ^a	5.07 ^a
pH	4.05	4.79	5.80	3.78	4.46	4.66
Acidez (%)	3.17 ^a	1.48 ^b	1.32 ^c	5.10 ^d	3.07 ^a	1.66 ^e

Resultados Expresados en Base húmeda. Cada determinación mostrada en la tabla se realizó por triplicado con un Coeficiente de Variación no mayor al 3%. Los promedios con literales distintas son estadísticamente diferentes con $\alpha=0.05$ de acuerdo con la prueba de Tukey (por filas).

Al igual que para requesones de lactosuero dulce, se llevó a cabo el análisis estadístico y la diferencia de medias (ANDEVA) entre los requesones obtenidos de lactosueros ácidos de bovino y caprino.



En el contenido de proteína no se encontró diferencia significativa en los quesos, es decir se puede concluir que la especie es independiente en la elaboración de queso, al menos para un parámetro importante en esta investigación, que fue el contenido de proteínas. Por otro lado, no en todos los componentes se presentó este comportamiento, para lípidos, sólo se encontró similitud en quesos de caprino a pH 4 y pH 6, en el contenido de humedad todos los quesos presentan diferencia, las cenizas para pH 4 de ambas especies son diferentes al resto de las pruebas, por lo tanto podrían emplearse mezclas de estos lactosúeros, pero estos no garantizarían la obtención de un producto con características deseables y/o rendimiento proteínico elevado.

Finalmente a pesar de que en quesos de origen ácido de ambas especies se obtuvo el mayor rendimiento proteínico, este no garantiza que se obtengan productos con características propias a un queso en sabor y olor. Debido a su origen los quesos obtenidos de lactosúeros ácidos bovino y caprino, fueron descartados. El sabor conferido por la cantidad de bicarbonato añadido para hacer el ajuste en lactosúeros ácidos a pH mayores puede ser desagradable para el consumidor a pesar de presentar un buen aspecto visual.

3.4 Recuperación y caracterización de lactosúeros residuales de origen bovino y caprino.

En la Figura 13 se resume la manera general por la cual los lactosúeros remanentes de la producción de quesos fueron recuperados y analizados para conocer su composición química y poder establecer alternativas para su uso con base a sus propiedades químicas. La caracterización de estos lactosúeros se llevó a cabo como lo describe el Cuadro 3 de metodologías empleadas. Los resultados se muestran en las Tablas 11 y 12.



Tabla 11. Características fisicoquímicas de lactosueros residuales obtenidos a partir de la elaboración de requesón con lactosuero ácido y dulce de origen bovino

	Bovino					
	Lactosuero residual dulce			Lactosuero residual ácido		
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 4	pH 5	pH 6
Humedad (%)	81.02	73.73	62.26	65.02	62.85	60.58
Materia seca (%)	18.98	26.27	37.74	34.98	37.15	39.42
• Proteína (%)	1.08	2.26	3.05	3.16	2.86	4.16
• Lípidos (%)	2.67	1.78	2.43	8.10	6.30	2.30
• Carbohidratos (%)	14.42	20.87	30.70	18.21	22.43	22.60
• Cenizas (%)	0.81	1.36	1.56	5.51	5.56	10.36
pH	4.75	5.32	5.45	4.25	5.01	5.15
Acidez (%)	1.85	3.13	5.43	2.92	1.82	1.75

Resultados expresados en Base húmeda. Cada determinación mostrada en la tabla se realizó por triplicado con un coeficiente de variación menor al 3%. Los promedios con literales distintas son estadísticamente diferentes con $\alpha=0.05$ de acuerdo con la prueba de Tukey (por filas).

Tabla 12. Características fisicoquímicas de lactosueros residuales obtenidos a partir de la elaboración de requesón con lactosuero ácido y dulce de origen caprino

	Caprino					
	Lactosuero residual dulce			Lactosuero residual ácido		
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 4	pH 5	pH 6
Humedad (%)	72.42	63.77	66.12	64.15	74.40	75.82
Materia seca (%)	27.58	36.23	33.88	35.85	25.6	24.18
• Proteína (%)	4.04	3.45	4.96	3.92	2.61	2.58
• Lípidos (%)	0.50	0.50	0.50	0.20	1.10	0.40
• Carbohidratos (%)	18.00	26.84	24.63	28.48	16.86	16.92
• Cenizas (%)	5.04	5.44	3.79	3.25	5.03	4.28
pH	4.11	4.75	4.63	3.59	4.39	4.60
Acidez (%)	2.60	2.00	2.62	7.97	2.40	4.00

Resultados expresados en Base húmeda. Cada determinación mostrada en la tabla se realizó por triplicado con un coeficiente de variación menor al 3%. Los promedios con literales distintas son estadísticamente diferentes con $\alpha=0.05$ de acuerdo con la prueba de Tukey (por filas).

Se ha hecho hincapié de la importancia del lactosuero por la elevada concentración de los sólidos de la leche que presenta después de la elaboración del queso. De igual manera que lo ocurrido en la elaboración de quesos, los sólidos presentes en el lactosuero se concentran al extraer una parte de ellos en la elaboración del requesón, que se refleja en los resultados mostrado en las Tablas 11 y 12, en donde es notable una mayor cantidad de sólidos totales en estos lactosueros residuales que los presentes en el lactosuero original. De acuerdo a lo



planteado por Carvalho *et al.* (2013) en su revisión bibliográfica, el lactosuero residual proveniente de la elaboración de quesos de suero tiene cerca del 60% de los sólidos totales presentes en el lactosuero original.

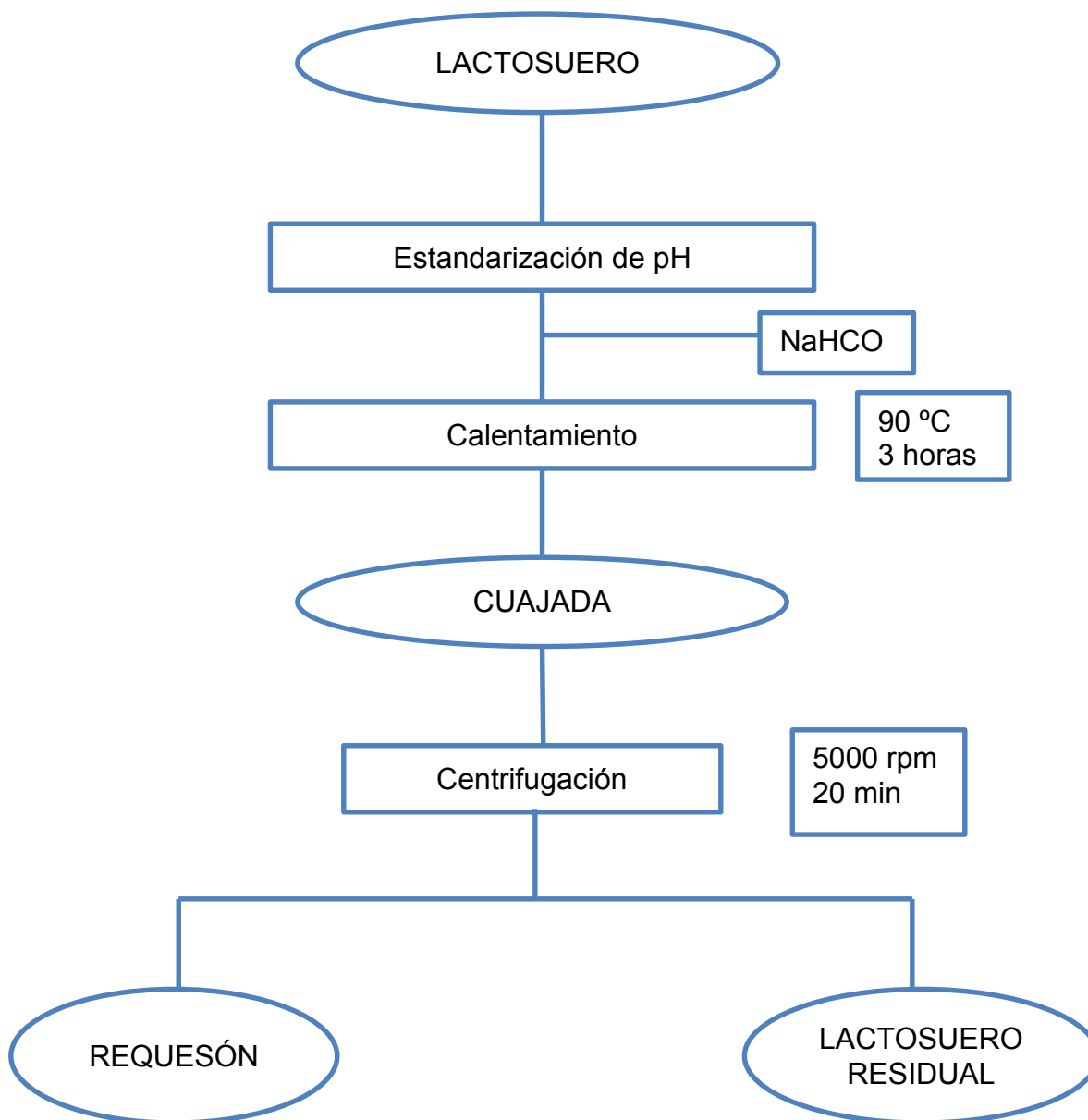


Figura 13. Tratamiento de lactosuero y recuperación de lactosuero residual.



Estos lactosueros presentan un contenido importante de materia orgánica que se relaciona directamente con la fracción de sólidos más importante en estas muestras, es decir la lactosa presente en el lactosuero, que oscila en un intervalo de 15.00-30.00% de los sólidos totales. Esta propiedad química le confiere al lactosuero residual un alto poder contaminante por su elevada DBO que también se presenta en los lactosueros iniciales, además de ser susceptible a contaminación microbiana por el elevado contenido de azúcares que son utilizados como fuente de carbono y energía para las bacterias lácticas. Sin embargo, este subproducto de la elaboración de quesos y requesón puede ser útil en alternativas de aprovechamiento basadas directamente en su importante concentración de lactosa. Se puede utilizar como medio para la hidrólisis de la lactosa por la acción de una enzima producida por *Aspergillus* y *Kluyveromyces* capaz de hidrolizar la lactosa en sus monosacáridos, glucosa y galactosa (Prazeres *et al.*, 2012) y estos monosacáridos poder ser aprovechados para la elaboración de jarabes concentrados, el más popular es elaborado a base de glucosa, para su uso final como aditivo o ingrediente en los alimentos, aunque también se puede llegar a utilizar esta característica para la obtención de lactosa cristalizada con un alto grado de pureza.

Otra característica de estos lactosueros es su alta salinidad relacionada con contenido de cenizas, que como se muestra en las Tablas 11 y 12 el contenido de cenizas tiene una tendencia mayor en los lactosueros de origen ácido en ambas especies, lo que está estrechamente ligado a la adición de bicarbonato de sodio para lograr el ajuste de pH a valores de 5 y 6.

En la cantidad de lípidos y proteínas se observaron valores menores a los iniciales en lactosuero original, los cuales son consecuencia de la segunda recolección de sólidos que se lleva a cabo en la elaboración de requesón, es decir la formación de agregados de proteína que pueden atrapar moléculas no polares como lípidos y otros sólidos.



Teóricamente como lo estableciera Sanmartín *et al.* (2012) el lactosuero proveniente de la elaboración de requesón es normalmente libre de aminoácidos, es decir libre de proteínas, sin embargo en los resultados todavía se observa una cierta cantidad de proteínas presentes en el lactosuero residual, lo cual conserva una lógica que se explica con aquellas proteínas menores que aún quedan solubles en el medio acuoso, como la albuminas séricas, proteosa-peptonas, lactoferrina y posiblemente cierta cantidad de β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina que no lograron precipitarse. Para poder lograr obtener un lactosuero desproteinizado muchos autores y estudios consideran necesario la previa concentración de estas proteínas por ultrafiltración y ósmosis inversa, para obtener un líquido remanente libre de proteínas y concentrado en carbohidratos y sales minerales.

3.5 Balances de materia

A continuación se muestran condensados los resultados de balance de materia para cada macrocomponentes en requesones y lactosuero residual de bovino dulce y ácido. Para ejemplo de cálculo (Ver Anexo 1). El resto de las tablas con los resultados del balance de materia de los productos obtenidos de lactosueros dulce caprino y ácido caprino se encuentran en el Anexo 2, ya que mostraron un comportamiento similar que en los productos de origen bovino en su distribución de los sólidos y de los macrocomponentes en el requesón y lactosuero residual de cada prueba.



3.5.1 Balance de materia lactosuero, requesón y lactosuero residual dulce bovino

En la Tabla 13 se muestra la cantidad de sólidos expresados en gramos que teóricamente debieron obtenerse en la elaboración de requesón, la cantidad en gramos está contenida en un volumen de 2 L, el cual fue el volumen que se empleó para la elaboración de cada uno de los requesones en las diferentes pruebas.

Tabla 13. Balance de materia en lactosuero dulce bovino

Lactosuero dulce bovino		
Componente	AQP (%)	2 L (g)
Materia seca	7.07	141.40
• Proteína	0.81	16.20
• Lípidos	1.34	26.80
• Lactosa	4.40	88.00
• Cenizas	0.52	10.40

En las siguientes Tablas 14, 15 y 16 se muestra la suma de las cantidades de cada macrocomponente obtenido en requesón y lactosuero residual, teóricamente la suma de estas cantidades debe ser el valor que presenta la Tabla 9 para cada componente, sin embargo se observa que existen diferencias negativa o positiva en la suma de los valores dependiendo el caso, siendo en todos casos no mayor a 3 gramos. Estas diferencias se atribuyen al error relacionado a cada determinación, generando resultados con una desviación estándar la cual se refleja en la suma total de los componentes.



Tabla 14. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual bovino a pH 4

Componente	Requesón dulce bovino pH 4 (g)	Lactosuero residual dulce bovino pH 4 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	64.46	75.92	140.38	-1.02
• Proteína	11.86	4.32	16.18	-0.02
• Lípidos	15.93	10.68	26.61	-0.19
• Lactosa	32.98	57.68	90.66	+2.66
• Cenizas	3.69	3.24	6.93	-3.47

Tabla 15. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual bovino a pH 5

Componente	Requesón dulce bovino pH 5 (g)	Lactosuero residual dulce bovino pH 5 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	63.36	76.45	139.81	-1.59
• Proteína	9.72	6.57	16.29	+0.09
• Lípidos	21.42	5.18	26.60	-0.20
• Lactosa	29.18	60.73	89.91	+1.91
• Cenizas	3.03	3.97	7.00	-3.4

Tabla 16. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual bovino a pH 6

Componente	Requesón dulce bovino pH 6 (g)	Lactosuero residual dulce bovino pH 6 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	73.24	65.29	138.53	-2.87
• Proteína	10.81	5.28	16.09	-0.11
• Lípidos	21.41	4.20	25.61	-1.19
• Lactosa	36.69	53.11	89.80	+1.80
• Cenizas	4.32	2.70	7.02	-3.38

Está claro que es imposible que exista mayor cantidad de sólidos que los presentes en el lactosuero de partida, ya que al ser la materia prima para la elaboración de requesón la cantidad de sólidos y por ende del resto de los



componentes debería ajustarse a la presente en 2 litros de lactosuero inicial, sin embargo, al ser un ensayo experimental cada determinación cuenta con un error debida a la incertidumbre del método y los instrumentos de medición, sin dejar a un lado el error humano que se presenta en la determinación de cada componente.

3.5.2 Balance de materia de lactosuero, requesón y lactosuero residual de bovino ácido

La Tabla 17 es punto de partida para poder comparar la cantidad obtenida de cada componente en los productos obtenidos (requesón y lactosuero residual) en cada prueba. Se observan la cantidad de sólidos expresada en gramos de cada componente que está presente en 2 litros de lactosuero ácido bovino y que por consecuente esta cantidad debe de estar distribuida en los productos de cada prueba.

Tabla 17. Balance de materia en lactosuero ácido bovino

Lactosuero ácido bovino		
Componente	AQP (%)	2 L (g)
Materia seca	8.24	164.80
• Proteína	1.11	22.20
• Lípidos	2.30	46.00
• Lactosa	4.16	83.20
• Cenizas	0.67	13.40

En la suma de los componentes de los productos obtenidos de lactosuero bovino ácido en los diferentes pH existe una cantidad mayor de materia seca al teórico para cada prueba, donde el porcentaje de cenizas en el tratamiento pH 6 es el que presenta mayor diferencia, es aproximadamente 13 g por arriba de la teórica este comportamiento es congruente ya que para lactosueros ácidos se empleó mayor cantidad de bicarbonato de sodio para lograr el pH deseado y por ende esto afecta la cantidad inicial de sólidos que impacta directamente con cenizas. En otros componentes como se explicó para productos de suero dulce bovino, en cada determinación experimental es común que exista un error en medición o



experimentación, por ende este error se refleja en la suma de las cantidades de cada componente, pudiendo ser mayor o menor a la teórica (Tablas 18, 19 y 20).

Tabla 18. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual bovino a pH 4

Componente	Requesón ácido bovino pH 4 (g)	Lactosuero residual ácido bovino pH 4 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	127.71	43.72	171.43	+6.63
• Proteína	19.66	3.95	23.61	+1.41
• Lípidos	35.75	10.12	45.87	-0.13
• Lactosa	60.83	22.76	83.59	+0.39
• Cenizas	11.47	6.89	18.36	+4.96

Tabla 19. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual bovino a pH 5

Componente	Requesón ácido bovino pH 5 (g)	Lactosuero residual ácido bovino pH 5 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	122.01	55.72	177.73	+12.93
• Proteína	17.11	4.29	21.40	-0.80
• Lípidos	40.33	9.45	49.78	+3.78
• Lactosa	53.72	33.65	87.37	+4.17
• Cenizas	10.85	8.34	19.19	+5.79

Tabla 20. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual bovino a pH 6

Componente	Requesón ácido bovino pH 6 (g)	Lactosuero residual ácido bovino pH 6 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	119.77	56.37	176.14	+11.34
• Proteína	18.93	5.95	24.88	+2.68
• Lípidos	41.99	3.29	45.28	-0.72
• Lactosa	47.12	32.32	79.44	-3.76
• Cenizas	11.71	14.81	26.52	+13.12



3.6 Sabor, color y textura de requesones experimentales

Realizar un perfil sensorial, no fue uno de los objetivos principales de esta investigación; sin embargo, se realizó una evaluación de las características sensoriales (sabor, textura, y color) de los diferentes requesones obtenidos a nivel laboratorio.

Como se resume en la Cuadro 5 el color fue homogéneo en la mayoría de las muestras estudiadas, esta prueba se realizó mediante la comparación de las muestras con un sistema control de color, conocido como Pantone, utilizando la carta de colores “Starter guide Coated & Uncoated, The plus series Pantone”.

Se observaron diferencias notables en sabor debido al origen del suero y la cantidad de bicarbonato de sodio añadido a lactosueros ácidos para poder ajustar el pH, ya que al usar esta sal se notó un resabio amargo metálico. La textura fue determinante para elegir un producto final, ya que se busca una textura suave y untable, la cual se encontró en requesones de origen dulce. Es importante mencionar que para pruebas de sabor y olor no se utilizó ninguna escala para calificar estos atributos, el estudio sensorial se limitó a gustos básicos de percepción del sabor del consumidor como salado, amargo, graso etc. y olor característico presente en productos lácteos. Las pruebas de textura no se llevaron a cabo bajo un protocolo o alguna técnica en particular, los participantes en la degustación describieron simplemente la sensación y textura del requesón al tener contacto con la boca y paladar.

Por lo tanto, los requesones que presentaron mejores características sensoriales fueron el de pH 6 de lactosuero bovino dulce y el de pH 5 a de lactosuero caprino dulce.



Cuadro 5. Evaluación sensorial de quesos a diferentes pruebas de pH.

Especie	Lactosuero	Requesón	Color	Olor	Sabor	Textura	
BOVINO	DULCE	pH 4	7499 U	Lácteo	Salado	Fluida, húmeda	
		pH 5		Lácteo	Salado	Fluida, húmeda	
		pH 6	607U		Lácteo	Graso	Pastosa, granular, untable.
	ÁCIDO	pH 4	7499 U		Lácteo	Amargo	Untable arenosa
		pH 5			Lácteo	Amargo	Untable arenosa
		pH 6			Lácteo	Amargo	Untable arenosa
	CAPRINO	DULCE	pH 4		Lácteo	Salado amargo	Seca, firme, compacta, granular
			pH 5		Lácteo	Salado	Suave, untable, húmeda
			pH 6		Lácteo	Salado metálico	Suave, untable
ÁCIDO		pH 4	607U		Lácteo	Amargo Ácido metálico	Granular, seca, compacto
		pH 5	7499 U		Lácteo	Amargo Ácido metálico	Húmeda, suave, untable
		pH 6	Lácteo		Amargo Ácido metálico	Muy untable, suave, húmedo	



CONCLUSIONES

1. Se logró establecer las condiciones para la obtención de requesón con alto rendimiento de proteínas a partir de lactosuero bovino y caprino dulce. Es necesario un ajuste de pH final que oscile entre 5 y 6 y calentar el lactosuero a una temperatura de 90 °C durante 2.5 horas para obtener el requesón.
2. Los requesones que obtuvieron un rendimiento mayor en el contenido de proteínas y que presentaron mejores características sensoriales fueron aquellos que se elaboraron con lactosuero dulce caprino y/o bovino con un ajuste de pH a valores de 5-6, sometiendo el lactosuero a calentamiento controlado durante 2.5 horas a 90 °C logrando la desnaturalización térmica de las proteínas.
3. La solubilidad en el punto isoeléctrico de las proteínas séricas es uno de los factores que afecta directamente el rendimiento en la cantidad de sólidos por lo que no es necesario realizar un ajuste de pH del lactosuero dulce inicial a valores cercanos al punto isoeléctrico para lograr la precipitación de proteínas.
4. Para la recuperación eficiente de proteínas es muy importante llevar a cabo un tratamiento térmico para que exista un cambio conformacional de la estructura nativa a desnaturalizada de las proteínas del lactosuero, debido a la exposición de grupos hidrófobos que genera interacciones proteína-proteína y favorece la precipitación y modificación de su carga neta, lo que aumenta el rendimiento de proteínas precipitadas.



-
5. Modificar el tipo de lactosuero no representa un cambio significativo en las características finales de los requesones por la similitud en la composición química inicial de los lactosueros empleados sin embargo, se descarta el uso de lactosueros ácidos como posible fuente de elaboración de requesón por el sabor que le confiere al producto final el cual no es agradable para el consumidor.
 6. Es posible hacer uso de mezclas de lactosuero del mismo tipo pero de diferente especie en la producción de requesón, sin obtener diferencias significativas en la composición fisicoquímica del producto final.
 7. Se obtiene un mayor contenido de proteína a pH 6 en requesones de ambos tipos de lactosuero, dulce y ácido, resultado del ajuste de pH fuera del punto isoeléctrico de las proteínas séricas y por el tratamiento térmico que tiene gran influencia en la desnaturalización y precipitación de las proteínas.
 8. La elaboración de requesón es una opción viable para el aprovechamiento de un recurso que es actualmente considerado como un desecho, a su vez generara un beneficio económico para el CEPIPSA y reducirá el impacto ambiental negativo de la quesería de este centro de enseñanza.



SUGERENCIAS

Con el fin de enriquecer esta investigación se hacen las siguientes recomendaciones para llegar a conclusiones más detalladas y saber a un nivel más profundo la composición química y la relación de proteínas presentes en los quesos obtenidos en diferentes pruebas experimentales.

- Perfil electroforético: los métodos electroforéticos son de alta sensibilidad, poder de resolución y versatilidad, y sirven como método de separación de mezclas complejas de ácidos nucleicos, proteínas y otras biomoléculas, donde aportan un potente criterio de pureza. Se pueden conocer también mediante estas técnicas, las características ácido-básicas de las proteínas presentes en un extracto, en este caso el lactosuero o queso. Es útil además para determinar otros parámetros como peso molecular, punto isoeléctrico y número de cadenas polipeptídicas de las proteínas presentes en la muestra (Magaña et al., 2009).
- Calorimetría de barrido diferencial: técnica para monitorear el estado desnaturalizado y sus posibles estados metaestables de las proteínas por tratamiento térmico.
- Perfil sensorial: se recomienda hacer un estudio sensorial de los productos con una población mayor y jueces entrenados para poder discernir con certeza las características que se busca en un queso para que sea equiparable con los productos comerciales presentes en el mercado.
- Perfil de textura: realizar un perfil de textura de los quesos experimentales y de un comercial sería de ayuda para identificar las características de textura como la dureza, elasticidad, cohesividad y adhesividad y las diferencias que presentan entre los mismos.



-
- Uso de mezclas de lactosuero: Explotar ambos sueros de leche en una mezcla para la elaboración de productos secundarios como el requesón en la industria láctea por si similitud química resultaría un beneficio tanto económico para los productores así como ecológico, disminuyendo el impacto ambiental que conlleva el desperdicio de este suero.
 - Uso de lactosuero ovino: el empleo de leche de oveja para la producción de quesos, especialmente el tipo manchego está en aumento, por lo que aprovechar este subproducto para la elaboración de requesón sería benéfico para un estudio más detallado y una comparación entre las tres especies más utilizadas en la industria láctea para la elaboración de quesos y poder ampliar la variedad de requesones en el mercado.



ANEXOS

ANEXO 1. Cálculos de balances de materia

A continuación se muestra el ejemplo del cálculo en el balance de materia para cada componente. Esta dinámica se siguió para cada componente en cada una de las pruebas con los diferentes lactosuero.

- 1) Con el resultado de AQP del lactosuero de partida
 - **Materia seca: 7.07 %**

7.07%= 7.07 g sólidos / 100 mL de lactosuero

Entonces:

Si 7.07 g sólidos están en 100 mL de lactosuero

7.07 g sólidos----- 100 mL de lactosuero

X----- 2000 mL de lactosuero (Vol. empleado para requesón)

$$x = \frac{7.07 \text{ g sólidos} * 2000 \text{ mL}}{100 \text{ mL}}$$

x = 141.40 g sólidos en 2 L de lactosuero

Lactosuero dulce bovino		
Componente	AQP (%)	2 L (g)
Materia seca	7.07	141.40
• Proteína	0.81	16.20
• Lípidos	1.34	26.80
• Lactosa	4.40	88.00
• Cenizas	0.52	10.40



ANEXO 2. Balances de materia requesones y lactosueros residuales de origen caprino.

A continuación se muestran los resultados del cálculo correspondiente al balance de materia de cada componente para requesones y lactosueros residuales de caprino dulce y caprino ácido.

1) Balance de materia de lactosuero, requesón y lactosuero residual de caprino dulce

Las cantidades en gramos de cada componente que debieron ser recuperadas en el requesón y lactosuero residual se presentan en la Tabla 21. Al igual que las pruebas con lactosuero bovino, para lactosuero caprino se emplearon 2 L para la elaboración de requesón a cada pH.

Tabla 21. Balance de materia en lactosuero dulce caprino

Lactosuero dulce caprino		
Componente	AQP (%)	2 L (g)
Materia seca	7.32	146.40
2) Proteína	1.10	22.00
3) Lípidos	1.00	20.00
4) Lactosa	4.63	92.60
5) Cenizas	0.59	11.80

En las siguientes Tablas (22, 23 y 24) se encuentra el balance general de cada componente para cada pH. De igual manera que pruebas con lactosuero bovino, se encuentran cantidades mayores de los componentes que las presentes inicialmente.



Tabla 22. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual caprino a pH 4

Componente	Requesón dulce caprino pH 4 (g)	Lactosuero residual dulce caprino pH 4 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	94.30	54.47	148.77	+2.37
6) Proteína	13.79	7.98	21.77	-0.23
7) Lípidos	18.53	0.99	19.52	-0.48
8) Lactosa	56.29	35.55	91.84	-0.76
9) Cenizas	5.69	9.95	15.64	+3.84

Tabla 23. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual caprino a pH 5

Componente	Requesón dulce caprino pH 5 (g)	Lactosuero residual dulce caprino pH 5 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	83.31	65.21	148.52	+2.12
10) Proteína	15.92	6.21	22.13	+0.13
11) Lípidos	19.16	0.90	20.06	+0.06
12) Lactosa	43.32	48.31	91.63	-0.97
13) Cenizas	4.90	9.79	14.69	+2.89

Tabla 24. Balance de materia en requesón y lactosuero dulce residual caprino a pH 6

Componente	Requesón dulce caprino pH 6 (g)	Lactosuero residual dulce caprino pH 6 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	93.54	49.8	143.34	-3.06
14) Proteína	14.68	7.29	21.97	-0.03
15) Lípidos	18.98	0.74	19.72	-0.28
16) Lactosa	53.65	36.20	89.85	-2.75
17) Cenizas	6.23	5.57	11.80	0.00



2) Balance de materia de lactosuero, requesón y lactosuero residual de caprino ácido

Tabla 25. Balance de materia en lactosuero ácido caprino

Lactosuero ácido caprino		
Componente	AQP (%)	2 L (g)
Materia seca	6.47	129.40
3) Proteína	1.22	24.40
4) Lípidos	0.4	8.00
5) Lactosa	3.85	77.00
6) Cenizas	1.00	20.00

Como en los balances de materia anteriores, en los productos de lactosuero caprino ácido existe una diferencia en la suma de los componentes en requesón y lactosuero residual, de igual manera que en casos anteriores debido al error experimental.

Tabla 26. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual caprino a pH 4

Componente	Requesón ácido caprino pH 4 (g)	Lactosuero residual ácido caprino pH 4 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	74.24	46.84	121.08	-8.32
7) Proteína	19.38	5.12	24.50	+0.10
8) Lípidos	7.65	0.26	7.91	-0.09
9) Lactosa	38.00	37.21	75.21	-1.79
10) Cenizas	9.21	4.25	13.46	-6.54



Tabla 27. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual caprino a pH 5

Componente	Requesón ácido caprino pH 5 (g)	Lactosuero residual ácido caprino pH 5 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	58.85	71.86	130.71	+1.31
11) Proteína	16.54	7.32	23.86	-0.54
12) Lípidos	4.79	3.09	7.88	-0.12
13) Lactosa	28.89	47.32	76.21	-0.79
14) Cenizas	8.63	14.13	22.76	+2.76

Tabla 28. Balance de materia en requesón y lactosuero ácido residual caprino a pH 6

Componente	Requesón ácido caprino pH 6 (g)	Lactosuero residual ácido caprino pH 6 (g)	Total (g)	+/-
Materia seca	64.47	71.25	135.72	+6.32
15) Proteína	18.74	7.60	26.34	+1.94
16) Lípidos	6.88	1.18	8.06	+0.06
17) Lactosa	28.88	49.86	78.74	+1.74
18) Cenizas	9.97	12.61	22.58	+2.58



ANEXO 3. Rendimiento proteínico

A continuación se detalla el procedimiento que se llevó a cabo para calcular el rendimiento proteínico de cada prueba. Se consideraron los valores de contenido de proteína encontrados en su composición y la masa final recuperada del requesón.

- Rendimiento proteínico

Requesón dulce bovino pH 4 (181.01 g)		
Componente	AQP (%)	Gramos*
Materia seca	35.61	64.46
• Proteína	6.55	11.86
• Lípido	8.80	15.93
• Lactosa	18.22	32.98
• Cenizas	2.04	3.69

- Proteína en requesón : 6.55 %

6.55%= 6.55 g proteína / 100 g de requesón

Entonces:

Si 6.55 g proteína están en 100 g de requesón

6.55 g proteína----- 100 g de requesón

X g de proteína ----- 181.01 g de requesón (masa final recuperada de requesón)

$$g \text{ proteína} = \frac{6.55 \text{ g proteína} * 181.01 \text{ g de requesón}}{100 \text{ g de requesón}}$$

$$g \text{ proteína} = 11.66 \text{ g proteína en 181.01 g de requesón}$$

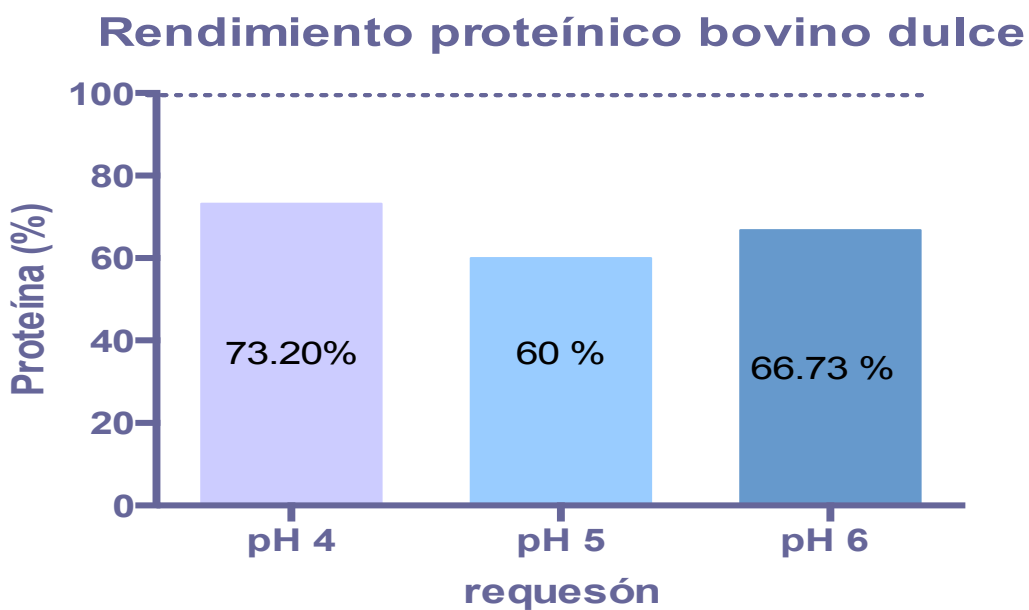
Si el 100%----- 16.20 g proteína (LS) (cantidad en 2 L de lactosuero)

11.86 g de proteína (RQ) en requesón entonces



$$\frac{11.86 \text{ g proteína en RQ} * 100}{16.20 \text{ g proteína (LS)}} = \% \text{ rendimiento proteínico}$$

$$x = 73.20\% \text{ rendimiento proteínico a pH 4}$$



Para la cantidad de cada componente en lactosuero residual se siguieron los mismos cálculos ya explicados para dar lugar a la siguiente tabla.

Lactosuero residual dulce bovino pH 4 (400 mL)		
Componente	AQP (%)	Gramos*
Materia seca	18.98	75.92
• Proteína	1.08	4.32
• Lípido	2.67	10.68
• Lactosa	14.42	57.68
• Cenizas	0.81	3.24



Finalmente con los datos concentrados de los balances de materia para cada componente se hizo la suma el requesón y lactosuero residual para construir la siguiente tabla.

Componente	Requesón dulce bovino pH 4 (g)	Lactosuero residual dulce bovino pH 4 (g)	Total	+/-
Materia seca	64.46	75.92	140.38	-1.02
• Proteína	11.86	4.32	16.18	-0.02
• Lípidos	15.93	10.68	26.61	-0.19
• Lactosa	32.98	57.68	90.66	+2.66
• Cenizas	3.69	3.24	6.93	-3.47



BIBLIOGRAFIA

- Abagair, A. (2009). El lactosuero en la alimentación del ganado porcino. ITG Ganadero. pp 13-17.
- Almécija, R.M.C. (2007). Obtención de lactoferrina bovina mediante ultrafiltración de lactosuero. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, Dpto. de Ingeniería Química, España.
- Alvarado, C., & Guerra, M., (2010). Lactosuero como fuente de péptidos bioactivos. *Canales Venezolanos de Nutrición*. 23 (1), 42-49.
- Association of Official Analytical Chemist Inc. Official Methods of Analysis. 18th Edition. 2005. Virginia
- Badui, S. 2006. Proteínas. En: A. Gálvez, I. Flores y A. Farrés. *Química de los alimentos*. Edo. De México: Pearson Educación de México, S.A de C.V., 119-236.
- Britten, M. & Giroux, H. (2001). Acid-induced gelation of Whey Protein polymeres: effects of pH and calcium concentration during polymerization. *Food Hydrocolloids*. 15 (2001) 609-617.
- Bonnaillie L., & Tamasula, P., (2008). Whey protein fractionation. Whey Functionality and health benefits. Iowa: *Wiley-Blackwell IFT Press*. 15-38.
- Bordenave-Juchereau, S., Almeida, S., Piot, B., & Sannier, J., (2005). Effect of protein concentration, pH, lactose content and pasteurization on thermal gelation of acid caprine whey proteins concentrates. *J. Dairy Res*. 72, 34-38.
- Callejas, J., Prieto, F., Reyes, V., Marmolejo, M. & Méndez M. (2012). Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. Acta Universitaria Dirección de apoyo a la investigación y al posgrado. Universidad de Guanajuato, 22(1), 11-18.
- Carvalho, F., Prazeres, A., & Rivas, J., (2013). Cheese whey wastewater. *Science of the Total Environment*. 1, 385-396.
- Castro, E. (2010). Tesis “Elaboración de requesón en la planta industrializadora de productos lácteos en la Facultad de Medicina



Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

- Chánéz, M., & Vazquez, E., (2003). ¿Es el glóbulo fundido un intermediario general en la vía de plegamiento de las proteínas globulares? *Revista de la Sociedad Química de México*. 47 (4), 320-327.
- Dragone, G., Mussato, S., Oliveira, J., & Teixeira, J., (2009). Characterization of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. *Food Chemistry*. 112(4), 929-935.
- Early, R. 1998. *The Technology of Dairy Products*. 2nd Edition. Maryland. Aspen Publishers, Inc.
- Fennema, O. (2000). *Química de los Alimentos*. España: Acriba.
- García, M., López-Munguía, & Quintero R. (1993). *Biología Alimentaria*. México: Limusa.
- Gómez-Romero, J. (2015). *Producción de biohidrogeno por co-digestion de lactosuero y residuos sólidos orgánicos en sistemas en lote y continuo*. Tesis Dcotoral. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. México.
- Gómez-Romero, J., González-García, A., Chairez, I., Torres, L., & García .Peña, E.I. (2014). Selective adaptation of an anaerobic microbial community: Biohydrogen production by co-digestion of cheese whey and vegetables fruit waste. *International Journal of Hydrogen Energy*. 39, 12541-12550.
- Jelen, P. 2011. Whey Processing. John W., Fox. F. Paul, H. & McSweeney En: *Encyclopedia of Dairy Science*. 2nd Edition. 732-737. Academic Press.
- Kon, K.J., Nhat, L., Nam, C. Y. & Wouk, K. S. (2008). Hydrogen production conditions from food waste by dark fermentation with *Clostridium beijerinckii* KCTC 1785. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 80, 763-769.
- Lucena, M., Álvarez, S., Menéndez, C., Riera, F., & Álvarez, R., (2007). A-Lactalbumin precipitation from commercial whey protein concentrates. *Separation and Purification Technology*. 52, 446-453.



-
- Luquet, F. 1998. Subproductos derivados de la elaboración de los quesos. En: P. Sottiez. Leche y productos lácteos. Vol. 2. Los productos lácteos, transformación y tecnologías. Zaragoza: Ed. Acribia, S.A., 287-319.
 - Madureira, A., Pereira, C., Gomes, A., Pintado, M., & Malcata, X., (2007). Bovine whey proteins- Overview on their main biological properties. *Food Research International*. 40, 1197-1211.
 - McGuffey, M., Epting, K., Kelly, L., & Foegeding, E., (2005). Denaturation and aggregation of three α -Lactalbumin preparations at neutral pH. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 3182-3190.
 - Minhalma, M., Magueijo, V., Qheiroz, D., & Pinho M., (2007). Optimization of "Serpa" cheese whey nanofiltration for effluent minimization and by-products recovery. *Environ Manage*. 82(2), 200-2006.
 - Montero, M., Juárez, F. & García, H. (2009). Suero de leche fermentado con lactobacilos para la alimentación de becerro en el trópico. *Agrociencia*, 43 (6), 585-593.
 - Mulvihill, D. M., & Ennis, M. P. (2003). Functional milk proteins: production and utilization. In P. F. Fox, & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Advanced dairy chemistry, Vol. 1*. (pp. 1176-1128) New York, USA: KluwerPart B.
 - Muñi, A., Paez, G., Faria, J., Ferrer, J., & Ramares, E., (2005). Eficiencia de un sistema de ultrafiltración y nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. *Revista Científica*. 15(4), 361-367.
 - Nicorescu, I., Loisel, C., Riaublanc, A., Vial, C., Djelveh, C., Cuvelier, G., & Legrand, J., (2009). Effect of dynamic heat treatment on the physical properties of whey protein foams. *Food Hydrocolloids*. 23(4), 12009-1219.
 - Norma Mexicana NMX-F721-COFOCALEC-2012. Sistema-Producto Leche-Alimentos-Lácteos-Suero de leche (líquido o en polvo)-Especificaciones y Métodos de prueba, declaratoria de vigencia en el Diario Oficial de la Federación el 20 de marzo del 2014.
-



-
- Organización Mundial de la Salud, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. CODEX ALIMENTARIUS 284-1971. Leche y productos lácteos. 2da edición. 2011.
 - Panesar, P., Kennedy, J., Gandhi, D. & Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid and production. *Food Chemistry*. 105, 1-14.
 - Park, Y., Juárez, M., Ramos, M., & Haenlein, G., (2006). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 68, 88-113.
 - Parra, R. (2009). Whey: Importance in Food industry. *Revista Facultad Nacional de Agronomía de Medellín*. 62 (1): 4967-4982
 - Pintado, M., Macedo, A., & Malcata, F., (2001). Review: Technology, Chemistry and Microbiology of whey cheese. *Food Sciences and Technology International*. 7(2), 105-116.
 - Pizillo, M., Claps, S., Cifuni, G., Fedele, V., & Rubino, R., (2005). Effect of goat breed on the sensory chemical and nutritional characteristics of ricotta cheese. *Livestock Production Science*. 94, 33-40.
 - Prazeres, A., Carvalho, F. & Rivas, J. (2012). Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*. 110, 48-68.
 - Prazeres, A., Carvalho, F., Rivas, J., Palonita, M. & Dores, J. (2014). Reuse of pretreated cheese whey wastewater for industrial tomato production (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Agricultural water Management*, 140, 87-95.
 - Ramos, O., Pereira, J., Silva, S. & Amorim, M. (2012) Effect of composition of commercial whey protein preparations upon gelation at various pH values. *Food research International*. 48, 681-689.
 - Rojas, E., Valbuena, E., Torres, G., García, A., Piñero, G., & Galindo, L., (2009). Aislamiento y rendimiento del GMP mediante precipitación de lactosuero con ácido tricloroacético. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. XIX (3), 295-302.
 - Sanmartín, B. (2010). Aprovechamiento de suero de quesería de origen caprino mediante la obtención de concentrados de proteínas séricas y subproductos de clarificación. Estudio de sus propiedades tecnológicas. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago Compostela. Facultad de Ciencias.
-



Depto. Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Área Tecnología de los Alimentos. España.

- Sanmartín, B., Díaz, O., Rodríguez-Turienzo, L., Cobos, A., (2012). Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey. *Small Ruminant Research*. 105, 186-192.
- Schmitt, C., Bovay, C., Vuilliomenet, A., Rouvet, M., & Bovetto, L., (2011). Influence of protein and mineral composition on the formation of whey protein heat-induced microgels. *Food Hydrocolloids*. 25, 558-567.
- Selvaggi, M., Vito, L., Cataldo, D., & Vincenzo, T., (2014). Major proteins in goat milk: an updated overview on genetic variability. *Springer Science*. 41, 1035-1048.
- Singh, 2011. Functional Properties of Milk Proteins. John W., Fox. F. Paul, H. & McSweeney En: *Encyclopedia of Dairy Science*. 2nd Edition. 887-893. Academic Press
- Smilowitz, T., T., Dillard, C.J., & German, J.B. (2005). Milk beyond essential nutrients: The metabolic food. *Australian Journal of Dairy Technology*. 60, 77-83.
- Smithers, G. (2008). Whey and whey proteins- From 'gutter-gold'. *International Dairy Journal*. 18, 695-704.
- Sinha, R., Radha, R., Prakash, J., & Kaul, P., (2007). Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional, quality and utilization in the beverage formulation. *Food Chemistry*. 101(4), 1484-1491.
- Sullivan, S., Khan, S., & Eissa, A., (2008). Whey proteins: functionality and foaming under acid conditions. Whey functionality and health benefits. Iowa: *Wiley-Blackwell IFT Press*. 99-132.
- Thompson, A., Boland, M. & Harjinder, S. 2009. En: Edwards, P., K. Creamer, L. & Jameson, G., *Milk Proteins: from Expression to Food*. New Zealand. Academic Press publications. Pp 163-190.
- Valencia-Denicia, Elizabeth y Ramírez-Castillo, María Leticia. (2009). La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos*. 16(73):27-31.



-
- Vázquez, F., Villegas, G., Mosqueda, P. (2010). Precipitation of whey proteins as a function, temperature and time from whey produced in Comonfort, Guanajuato, México. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1 (2) 157-169.

PAGINAS WEB

- Análisis de agua. Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en Aguas Naturales, Residuales (DBO) y Residuales Tratadas. Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-028-1981). (2014). [En línea]. Disponible en: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/NMX-AA-028-SCFI-2001.pdf> [Consultado el 4 Octubre 2014].
- Corporate Document Repository. The Technology of traditional milk in developing countries. (2014). [En línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/T0251E/T0251E13.htm> [Consultado el día 28 de Noviembre 2014].
- Panorama de la lechería en México. 2013. SAGARPA (2013). [En línea]. Disponible en: [Consultado el 13 agosto, 2015].
www.siap.gob.mx/wp-content/uploads/boletinleche/bboletleche1trim
- Producción y Productos lácteos. Tipos y Características. (2014). [En línea]. Disponible en:
<http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/tipos-y-caracteristicas/es/#.VMs4WsZGLE9> [Consultado el día 29 de noviembre 2014].