

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“EFECTO DE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LA LACTOSA EN  
EL PERFIL DE TEXTURA DE QUESO FRESCO NORMAL Y BAJO  
EN GRASA”**

**Presentado por:  
CINTYA ISABEL ANTEZANA VÁSQUEZ**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA DE INDUSTRIAS  
ALIMENTARIAS**

**Lima – Perú**

**2015**

## ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCION	12
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1.	LA LECHE Y SU COMPOSICIÓN	13
2.1.1.	AGUA	13
2.1.2.	GRASA	14
2.1.3.	PROTEÍNAS	15
2.1.4.	SALES MINERALES	16
2.1.5.	LACTOSA	16
2.1.6.	ENZIMAS	18
2.1.7.	VITAMINAS	18
2.2.	INTOLERANCIA A LA LACTOSA	19
2.2.1.	TIPOS DE INTOLERANCIA	20
2.3.	HIDRÓLISIS DE LA LACTOSA	21
2.3.1.	DEFINICIÓN	21
2.3.2.	ENZIMA B-GALACTOSIDASA	22
2.3.2.1.	CARACTERÍSTICAS DE LA ENZIMA	22
2.3.3.	CRIOSCOPIA EN LA DETERMINACIÓN DEL GRADO DE HIDRÓLISIS	24
2.3.4.	APLICACIONES EN LA INDUSTRIA LÁCTEA	24
2.4.	QUESO	26
2.4.1.	CLASIFICACIÓN Y CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN	28
2.4.2.	QUESO FRESCO	29
2.4.2.1.	COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO	29
2.4.2.2.	MICROESTRUCTURA	29
2.4.2.3.	PROPIEDADES TEXTURALES Y REOLÓGICAS	30
2.4.2.4.	FACTORES QUE AFECTAN LAS PROPIEDADES DEL QUESO FRESCO	32
2.4.3.	ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA (TPA)	37

III.	MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN	41
3.2.	MATERIA PRIMA E INSUMOS	41
3.2.1.	MATERIA PRIMA	41
3.2.2.	INSUMOS	41
3.3.	EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	41
3.3.1.	EQUIPOS	41
3.3.2.	MATERIALES	42
3.3.3.	REACTIVOS	42
3.4.	MÉTODOS DE ANÁLISIS	43
3.4.1.	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS	43
3.4.2.	ANÁLISIS REOLÓGICO	44
3.4.3.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	45
3.4.4.	ANÁLISIS SENSORIAL	45
3.5.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	45
3.5.1.	NORMALIZACIÓN DE LA LECHE	45
3.5.2.	HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LA LACTOSA	46
3.5.3.	ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO	47
3.6.	DISEÑO EXPERIMENTAL	48
3.7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	50
IV.	RESULTADOS	
4.1.	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA MATERIA PRIMA	51
4.2.	NORMALIZACIÓN DE LA LECHE	51
4.3.	HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LA LACTOSA	52
4.4.	COMPOSICIÓN DE LOS QUESOS FRESCOS	53
4.5.	ESTABILIDAD FÍSICOQUÍMICA	54
4.5.1.	EVALUACIÓN DEL PH	54
4.5.2.	EVALUACIÓN DE LA ACIDEZ	56
4.5.3.	EVALUACIÓN DE LA SINÉRESIS	57
4.5.4.	EVALUACIÓN DEL COLOR	59
4.6.	EVALUACIÓN DE LA REOLOGÍA: ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA (TPA)	60

4.6.1.	EFEECTO SOBRE LA DUREZA	61
4.6.2.	EFEECTO SOBRE LA ELASTICIDAD	62
4.6.3.	EFEECTO SOBRE LA COHESIVIDAD	64
4.6.4.	EFEECTO SOBRE LA GOMOSIDAD	66
4.6.5.	EFEECTO SOBRE LA ADHESIVIDAD	67
4.6.6.	EFEECTO SOBRE LA MASTICABILIDAD	68
4.7.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	69
4.8.	ANÁLISIS SENSORIAL	71
V.	CONCLUSIONES	
VI.	RECOMENDACIONES	
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	
VIII.	ANEXOS	

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Pág.</b>
N°		
1	Requisitos fisicoquímicos de la leche	13
2	Composición de la leche de algunos mamíferos	14
3	Composición lipídica de la leche de vaca	14
4	Concentraciones de las proteínas más abundantes de la leche	16
5	Contenido de las principales sales en la leche	17
6	Composición media en vitaminas de la leche entera	19
7	Algunos microorganismos productores de $\beta$ -galactosidasa	23
8	Características de las lactasas disponibles comercialmente	23
9	Composición química y valor nutritivo de la leche con respecto a los quesos frescos típicamente consumidos en México	30
10	Condiciones para la determinación de propiedades reológicas en algunos tipos de queso fresco	33
11	Definiciones de los parámetros mecánicos de textura	39
12	Características fisicoquímicas de la leche	51
13	Balance del contenido graso para la normalización de la leche	51
14	Composición química de los tratamientos de queso fresco	54

15	Evaluación del pH durante el almacenamiento	55
16	Evaluación de la acidez durante el almacenamiento	56
17	Evaluación de la sinéresis durante el almacenamiento	57
18	Evaluación del color durante almacenamiento	59
19	Análisis microbiológicos de los tratamientos de queso fresco	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Pág.</b>
N°		
1	Estructura general del glóbulo de grasa de la leche bovina	15
2	Estructura Molecular de la lactosa	17
3	Grado de dulzor de diferentes tipos de azúcares	18
4	Hidrólisis enzimática de la lactosa	22
5	Mercado de productos lácteos deslactosados	26
6	Formación del coágulo de caseína	27
7	Criterios de clasificación del queso	28
8	Curva generalizada de Análisis de Perfil de Textura (TPA)	38
9	Flujo de operaciones para la normalización de la leche	45
10	Flujo de operaciones para la hidrólisis enzimática de la lactosa	46
11	Flujo de operaciones para la elaboración de queso fresco	47
12	Diseño experimental	49
13	Grado de hidrólisis Vs tiempo	52
14	Evaluación de la dureza durante el almacenamiento	61
15	Evaluación de la elasticidad durante el almacenamiento	63

16	Evaluación de la cohesividad durante el almacenamiento	65
17	Evaluación de la gomosidad durante el almacenamiento	66
18	Evaluación de la Adhesividad durante el almacenamiento	68
19	Evaluación de la masticabilidad durante el almacenamiento	69



## ÍNDICE DE ANEXOS

### **Anexo**

N°

- 1 Ficha Técnica de la enzima Ha- Lactase
- 2 Ficha de Evaluación Sensorial
- 3 Cálculo aritmético para la normalización de la leche
- 4 Monitoreo del proceso de hidrólisis enzimática de la lactosa
- 5 Análisis estadístico de la estabilidad fisicoquímica: efecto sobre el pH
- 6 Análisis estadístico de la estabilidad fisicoquímica: efecto sobre la acidez
- 7 Análisis estadístico de la estabilidad fisicoquímica: efecto sobre la sinéresis
- 8 Análisis estadístico de la estabilidad fisicoquímica: efecto sobre el color
- 9 Análisis estadístico de la textura: efecto sobre la dureza
- 10 Análisis estadístico de la textura: efecto sobre la elasticidad
- 11 Análisis estadístico de la textura: efecto sobre la gomosidad
- 12 Análisis estadístico de la textura: efecto sobre la cohesividad
- 13 Análisis estadístico de la textura: efecto sobre la adhesividad
- 14 Análisis estadístico de la textura: efecto sobre la masticabilidad
- 15 Análisis sensorial

## RESUMEN

Las propiedades reológicas constituyen un factor determinante de la calidad y aceptabilidad de los quesos. La tendencia actual hacia el desarrollo de derivados lácteos deslactosados, ha incrementado el interés de la industria por la investigación de dichos parámetros, que ayuden a la caracterización e innovación de nuevos productos. El presente trabajo de investigación evaluó el efecto de la hidrólisis enzimática de la lactosa y la reducción del contenido graso en la reología del queso fresco. La primera etapa de esta investigación, consistió en estandarizar la leche en 2 y 3% el contenido de grasa e hidrolizar la lactosa con la enzima HA-LACTASE 3.000 L.A.U. en una dosis de 4 ml/l a 40°C monitoreando el proceso por 100 min. Luego se elaboró queso fresco con leche estandarizada *con* y *sin hidrólisis* de la lactosa. Se evaluó la reología de los quesos frescos elaborados mediante *Texture Profile Analysis* (TPA) en muestras de 15 mm de diámetro por 15 mm de altura, a una compresión del 75% y velocidad constante de 100mm.min<sup>-1</sup> (Tunick & Van hekken, 2010). La hidrólisis en leche con 3% de grasa, originó un queso fresco con mayor cohesividad, mientras que en leche con 2% de grasa originó un queso fresco con mayor dureza, menor elasticidad y menor cohesividad. Mientras que la reducción del contenido graso afectó la reología del queso fresco deslactosado, el cual presentó mayor dureza, gomosidad y masticabilidad.

**Palabras clave:** hidrólisis, lactosa, grasa, queso, reología

## **ABSTRACT**

## I. INTRODUCCIÓN

La intolerancia a la lactosa es una patología común en muchas partes del mundo, causando vómitos, diarrea y dolor de estómago al consumir derivados lácteos. Se estima que alrededor del 70% de la población mundial se ve afectada por este problema (De Vrese *et al.*, 2001). El interés que recibe esta problemática, desde el punto de vista nutricional, es que priva a cierta parte de la población en el mundo a la ingesta de varios productos lácteos que son una excelente fuente de calcio y proteínas de alta calidad, como también de minerales y vitaminas.

En el Perú, la industria ha trabajado incesantemente para brindar productos lácteos reducidos en lactosa, entre ellos los más difundidos son las leches fluidas, leches fermentadas y helados. En el caso del queso, el más consumido es del tipo fresco, elaborado tanto con leche entera como parcialmente descremada, sin embargo, aún no se ha desarrollado su versión deslactosada, a pesar de contener gran parte de la lactosa remanente del desuerado.

La investigación del desarrollo de nuevos productos alimenticios junto con la complejidad de la tecnología para su producción, procesamiento y aceptación, requieren un mayor conocimiento de sus propiedades reológicas y fisicoquímicas con el fin de ofrecer alimentos de calidad. Según Osorio *et al.* (2004) la reología es un factor importante en la selección y preferencia de los alimentos, y además es reconocida como el mayor atributo de su calidad, por encima de la apariencia, el sabor y el olor. El procedimiento reológico comúnmente realizado en el queso es el Análisis de Perfil de Textura (TPA), una prueba instrumental que imita más o menos la acción de morder dos veces un trozo de comida (Tunick, 2000).

El objetivo del presente estudio es evaluar la reología de quesos frescos deslactosados a dos niveles de contenido graso, durante 21 días de almacenamiento. El conocimiento generado facilitaría el desarrollo y la caracterización de estos nuevos productos así como la evaluación del efecto del contenido graso y la hidrólisis enzimática de la lactosa en las propiedades reológicas del queso fresco.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. La leche y su composición

La leche es uno de los alimentos más completos que existe en la naturaleza, tanto por el equilibrio y diversidad entre sus diferentes componentes, como por la alta digestibilidad y absorción de los mismos. Tiene un color blanco dado por las partículas coloidales que dispersan la luz que reciben, y es ligeramente amarilla por la presencia de carotenoides, vitamina A y lactoferrina (Teniza, 2008). En el Cuadro 1 se presentan los requisitos fisicoquímicos que debe cumplir la leche cruda según la NTP 202.001.

**Cuadro 1: Requisitos fisicoquímicos de la leche.**

REQUISITO	VALOR
Materia grasa (g/100g)	Mínimo 3,2
Sólidos totales (g/100g)	Mínimo 11,4
Densidad a 15°C (g/ml)	1,0296 – 1,0340
Índice crioscópico ° C	-0,540
Acidez expresada en g. de ácido láctico (g/100g)	0,13-0,17
Índice de refracción del suero a 20°C	Mínimo 1,34179

FUENTE: NTP 202.001 (2010)

La leche está constituida por una mezcla compleja de diversos constituyentes, en la cual se distinguen tres fases: a) fase acuosa: donde se encuentran sales, azúcares, proteínas, vitaminas y aminoácidos disueltos, b) fase sólida: donde se encuentra en estado coloidal, formada por proteínas complejas (principalmente caseína), fosfatos y otras sales insolubles en calcio y c) fase lipídica emulsionada formada por grasas, esteroides y vitaminas liposolubles (Mansson *et al.*,2003). Su composición varía según la especie como se muestra en el Cuadro 2.

**2.1.1. Agua:** es el componente más abundante y el medio en el que todos los otros componentes de la leche (sólidos totales) son disueltos o están suspendidos; las sustancias

**Cuadro 2: Composición de la leche de algunos mamíferos.**

<b>Mamífero</b>	<b>Sólidos Totales (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>Proteínas Totales (%)</b>	<b>Caseína (%)</b>	<b>Proteínas de suero (%)</b>	<b>Lactosa (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>
Vaca	12,2	3,4	3,4	2,8	0,6	4,7	0,7
Búfalo	16,3	6,7	4,5	3,6	0,9	4,5	0,8
Cabra	13,2	4,5	2,9	2,5	0,4	4,1	0,8
Oveja	19,3	7,3	5,5	4,6	0,9	4,8	1,0
Camello	13,6	4,5	3,6	2,7	0,9	5,0	0,7
Yegua	11,2	1,9	2,5	1,3	1,2	6,2	0,5

FUENTE: Alais (2003).

proteicas se encuentran formando un coloide en estado de “sol” liófilo (caseína y globulina) o liofílico (albúmina), mientras que la lactosa y las sales se hallan en forma de solución y la materia grasa en forma de emulsión (Chamorro y Losada, 2002).

**2.1.1. Grasa:** Los triglicéridos suponen la mayor proporción de los lípidos totales en la leche, están entre 85,4 y 87,7%, este valor varía conforme se altera la cantidad de los demás componentes. Los triglicéridos están presentes en glóbulos de 2-3  $\mu\text{m}$  rodeados por una membrana derivada de la membrana plásmica apical celular (Fennema, 2000). En el Cuadro 3, se presenta la composición lipídica de la leche recién ordeñada. Durante el almacenamiento, ocurre cierto grado de lipólisis produciéndose mayores concentraciones de ácidos grasos libres, mono y diglicéridos (Scott *et al.*, 2002).

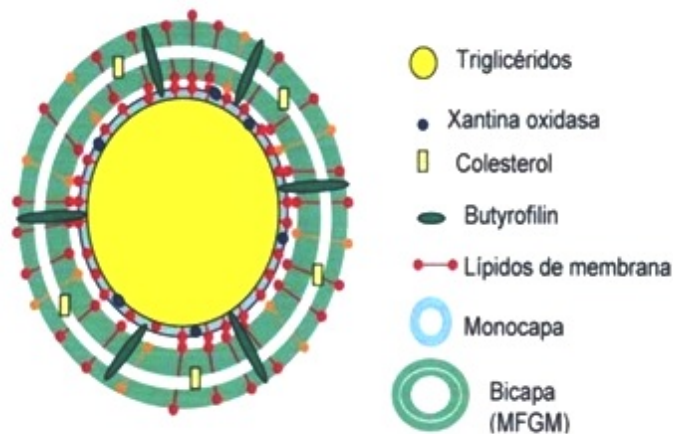
**Cuadro 3: Composición lipídica de la leche de vaca**

<b>Lípido</b>	<b>Porcentaje en Peso</b>
Triglicéridos	97-98
Diglicéridos	0,03-0,06
Monoglicéridos	0,02-0,04
Ácidos grasos libres	0,1-0,4
Esteroles libres	0,2-0,4
Fosfolípidos	0,2-1,0

FUENTE: Fennema (2000).

Referente a la estructura, se conoce que los lípidos de la leche bovina se encuentran empaquetados dentro de glóbulos grasos. Su origen inicia con la síntesis de triglicéridos en el retículo endoplasmático liso (REL) seguida por su agregación en el retículo endoplasmático rugoso (RER), conformando lo que se conoce como núcleo del glóbulo de grasa (NGG) que se encuentra casi exclusivamente compuesto por triglicéridos (99,8%), con pequeñas cantidades de colesterol, vitaminas y otros componentes (Heid, 2005; citado por Angulo *et al.*, 2009).

Luego el NGG es liberado en el citosol de la célula epitelial mamaria, donde quedan revestidos con proteínas y lípidos de la membrana reticular, formando a su alrededor una monocapa en la que predominan fosfatidil y lisofosfatidil colina, y constituyen lo que se conoce como microdroplets. En el citosol, los microdroplets se unen entre sí y dan origen a macrodrops o droplets lipídicos citoplasmáticos, que avanzan hacia la parte apical de la célula epitelial mamaria por mecanismos que involucran elementos del citoesqueleto y proteínas de la membrana del glóbulo de grasa de la leche (MFGM, por su siglas en inglés) (Heid, 2005; Reinhardt & Lippolis, 2006; citados por Angulo *et al.*, 2009). La estructura general de glóbulo de grasa de la leche bovina se muestra en la Figura 1.



**Figura 1: Estructura general del glóbulo de grasa de la leche bovina**

FUENTE: Angulo *et al.* (2009).

**2.1.2. Proteínas:** La leche contiene 30-35 g/l de proteína total de alta calidad nutritiva. Las proteínas de la leche se clasifican en caseínas y proteínas del suero. Todas las caseínas forman un complejo esférico singular altamente hidratado conteniendo fosfato cálcico,

denominado micela. El suero de la leche contiene aproximadamente el 0,6% de proteínas séricas, de las que la  $\beta$ - lactoglobulina constituye la mitad (0,3%) y la  $\alpha$ -lactalbúmina el 0,07%, estando el resto formado fundamentalmente por albúminas séricas e inmunoglobulinas. Las proteínas del suero están disueltas y en solución no forman coloides, como lo hacen las caseínas (Fennema, 2000). Los tipos de proteína se encuentran en el Cuadro 4.

**Cuadro 4: Concentraciones de las proteínas más abundantes de la leche**

<b>PROTEÍNA</b>	<b>CONCENTRACIÓN (g/l)</b>	<b>PORCENTAJE APROXIMADO DE LA PROTEÍNA TOTAL</b>
<b>CASEÍNAS:</b>		
$\alpha$ -caseínas	24 a 28	42
$\beta$ - caseínas	15 a 19	25
k- caseínas	9 a 11	9
$\gamma$ - caseínas	3 a 4	4
<b>PROTEÍNAS DEL SUERO:</b>		
$\beta$ - lactoglobulina	1 a 2	9
$\alpha$ -lactoalbúmina	5 a 7	4
Proteasas-peptonas	2 a 4	4
Proteínas de la sangre	1 a 1,5	3

FUENTE: Fennema (2000).

**2.1.3. Sales minerales:** la leche contiene sodio, potasio, magnesio, calcio, manganeso, hierro, cobalto, cobre, fósforo, fluoruros, yoduros. Además, se reconoce la presencia de otros en cantidades vestigiales, como el aluminio, molibdeno y plata (Cuadro 5). El calcio se halla en su mayor parte ligado a la caseína. Tan solo un tercio del calcio y del magnesio se encuentran en disociación iónica. Además de los cloruros y fosfatos, deben mencionarse también los citratos, presentes en una cuantía media de 2.3 g/l (Agudelo y Bedoya, 2005).

**2.1.4. Lactosa:** es el azúcar predominante de la leche, la cual aporta hasta el 25 por ciento de la energía total del producto lácteo, pero también contiene otros azúcares en menores

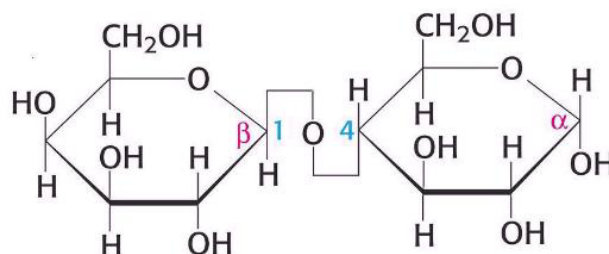


**Cuadro 5: Contenido de las principales sales en la leche**

Componente (mg)	Leche entera	Leche semidescremada	Leche desnatada
Calcio	124	125	121
Fósforo	92	91	97
Hierro	0,09	0,09	0,25
Magnesio	11,6	11,9	28,6
Zinc	0,38	0,52	0,54
Sodio	48	47	53
Potasio	157	155	150

FUENTE: Aranceta y Serra (2005).

porcentajes (glucosa y galactosa) y otros carbohidratos como glucolípidos, glucoproteínas y oligosacáridos (Miller *et al.*, 2000). Este disacárido resultante de la unión de glucosa y galactosa a través de un enlace  $\beta$  (1-4) (Figura 2).



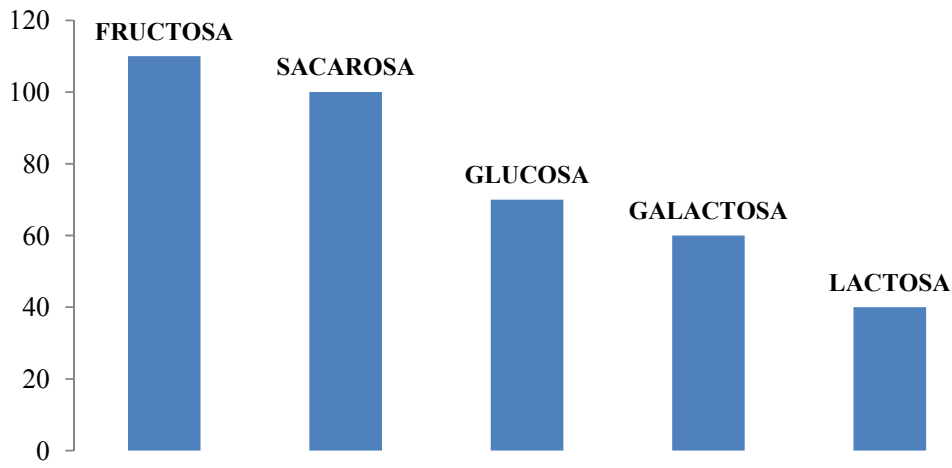
**Figura 2: Estructura molecular de la lactosa**

FUENTE: Mansson (2003)

Entre sus funciones, además de aportar energía, la lactosa facilita la absorción de calcio y el desarrollo de una microbiota intestinal grampositiva (bifidobacterias) tras su fermentación, que impide el crecimiento de gérmenes patógenos (La Orden, *et al.*, 2011). El poder edulcorante de la lactosa es aproximadamente 1/4 del de la sacarosa, 1/5 de la fructosa y 1/2 del de la glucosa, como se muestra en la Figura 3 (Teniza, 2008).

La lactosa en disolución puede tener un equilibrio entre las formas alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ), dependiendo este equilibrio de la temperatura y del pH. La lactosa y los grupos amino de

### Grado Relativo de Dulzor



**Figura 3: Grado de dulzor de diferentes tipos de azúcares**

FUENTE: Bylund (2003).

los aminoácidos y proteínas son la causa principal del oscurecimiento de la leche sometida a tratamientos con temperaturas elevadas, ya sea en procesos industriales o culinarios, fenómeno conocido como pardeamiento químico o no enzimático (Mansson *et al.*, 2003).

**2.1.5. Enzimas:** Las enzimas se encuentran distribuidas en la leche, ya sean unidas a las micelas de caseína, a la membrana del glóbulo de grasa o en forma libre en el suero; se producen en la glándula mamaria y de ahí se transfiere a la leche (Alais, 2003).

Entre las enzimas más importantes en la leche destacan las siguientes: lipasa, proteasa, fosfatasa alcalina, catalasa y lactoperoxidasa. Hay enzimas que se emplean como índice de calidad en algunos procesos tecnológicos de la leche: la fosfatasa alcalina, que tiene un pH óptimo de 8 se usa para determinar la eficiencia de la pasteurización de la leche, y la catalasa para medir la mastitis en las vacas. Por otra parte, la acción de las lipasas tienen implicaciones importantes ya que son responsables de la rancidez hidrolítica, al liberar ácidos grasos de cadena corta; las proteasa son las que ocasionan que la leche evaporada se coagule, ya que son termorresistentes y soportan el tratamiento de la esterilización, además de que se reactivan en el almacenamiento (Alais, 2003).

**2.1.6. Vitaminas:** La leche figura entre los alimentos que contienen la variedad más

completa de vitaminas, si bien algunas de ellas están presentes en cantidades pequeñas o despreciables, de todas formas la leche es una buena fuente de vitaminas. El Cuadro 6 muestra las cantidades de las vitaminas aportadas por 100 ml de leche (Gil, 2010).

**Cuadro 6: Composición media en vitaminas de la leche entera**

VITAMINA	LECHE (g/100ml)
Vitamina A (ug)	56
Vitamina D (ug)	0,03
Vitamina E (mg)	0,09
Tiamina (mg)	0,03
Riboflavina (mg)	0,2
Vitamina B <sub>6</sub> (mg)	0,06
Vitamina B <sub>12</sub> (ug)	0,4
Equivalencia de niacina (mg)	0,8
Folatos (ug)	6,0
Vitamina C (mg)	1,0

FUENTE: Gil (2010).

Es importante destacar que las vitaminas hidrosolubles de la leche (vitaminas del grupo B, vitamina C, etc.) se encuentran en la fase acuosa (suero), mientras que las liposolubles (A, D, E y K) se encuentran en la materia grasa. Este hecho tiene sus repercusiones en el tipo de leche que se consume. Así, las leches semidesnatadas o desnatadas tienen disminuida parcial o casi totalmente la materia grasa y, como consecuencia, tienen disminuidas las vitaminas liposolubles en la misma proporción. Si se desea que éstas mantengan la misma proporción de vitaminas liposolubles que la leche entera, se deben adicionar (Gil, 2010).

## **2.2. Intolerancia a la lactosa**

La intolerancia a la lactosa es un tipo de reacción adversa a alimentos, producida por un mecanismo no inmunológico, cuya frecuencia es de 5-10 veces superior a las de tipo alérgico. Este síndrome clínico se caracteriza por la presencia de uno o más de los siguientes síntomas: dolor abdominal, diarrea, náuseas, flatulencia, en relación a la ingesta de lactosa. Los síntomas pueden variar en cada individuo dependiendo de la cantidad de lactosa ingerida, el grado de intolerancia y el tipo de alimento consumido (Zugasti, 2009).

La intolerancia a la lactosa es un trastorno que se presenta como consecuencia de la mala absorción de la lactosa en el tubo digestivo, debido a un déficit de lactasa o a un defecto en el transporte de los monosacáridos resultantes de la digestión. La lactosa no absorbida es una sustancia osmóticamente activa que atrae líquido y electrolitos hacia la luz intestinal, donde acaba siendo hidrolizada y fermentada por la flora colónica, produciendo gas (hidrógeno y metano) y ácidos orgánicos de cadena corta, como el butirato, el propiónico, el acético y el láctico, que acidifican el pH colónico, dando lugar a una diarrea con heces líquidas, ácidas y que contienen azúcares (glucosa, lactosa) (Infante, 2008).

Con la excepción de la población de Europa del norte y central y sus descendientes en América y Australia, 70-100% de los adultos en todo el mundo son malabsorbedores de lactosa. La prevalencia de la mala digestión de la lactosa primaria es del 3-5% en los países escandinavos, el 17% en Finlandia, 5-15% en Gran Bretaña, el 15% en Alemania, 15-20% en Austria, 20-70% en Italia, 90-100% en Asia Central, 15% en los blancos de América del Norte, el 80% de los negros de América del Norte, 53% en los hispanos de América del Norte y 65-75% en América del Sur (Bayless, 1981; citado por De Vrese *et al.*, 2001).

Las personas intolerantes a la lactosa pueden ingerir una cierta cantidad de lactosa sin tener síntomas adversos. La mayoría de estas personas toleran 9-12 g (equivalente a 200ml o 1 vaso de leche) (Johnson, 1993; citado por De Vrese *et al.*, 2001). Vesa *et al.* (1996), llegaron a la conclusión de que la mayoría de malabsorbedores de la lactosa toleran 0,5-7 g de lactosa sin tener síntomas de intolerancia. Estudios sobre la intolerancia a la lactosa que realizaron Holsinger & Kingerman (1991), observaron que el porcentaje de hidrólisis de la lactosa entre 70 y 80% del contenido inicial, es un valor más que suficiente para que sea consumido por un intolerante congénito de deficiencia primaria, ya que se consiguió que estas personas que padecen intolerancia no tuvieron trastornos digestivos.

### **2.2.1. Tipos de intolerancia**

Desde el punto de vista clínico hay tres tipos de deficiencias de lactasa: primaria, secundaria y congénita.

a) Intolerancia primaria a la lactosa (persistente): inducida por el ambiente cuando la persona se cría en una sociedad que no consume productos lácteos. Este tipo se encuentra en varias culturas asiáticas y africanas, donde el consumo de productos lácteos industrializados y comerciales es poco común (Zugasti, 2009).

b) Intolerancia Secundaria o adquirida (Reversible/temporal): Zugasti (2009) afirma que se trata de una deficiencia transitoria de lactasa, en sujetos con actividad persistente de lactasa, debida a enfermedades o situaciones que afectan a la reserva enzimática en el tracto digestivo, de las cuales el autor destaca:

- Enfermedad gastrointestinal (desnutrición, gastroenteritis aguda, afección vascular, etc.) que conlleva un daño en la mucosa y en las microvellosidades intestinales.

- Fármacos que pueden afectar a la mucosa intestinal: antiinflamatorios no esteroideos (AINE), antibióticos, etc.

- Enfermedad crónica del intestino delgado: celiacía, enteritis actínica, enfermedad inflamatoria, enteropatía diabética, fibrosis quística, etc.

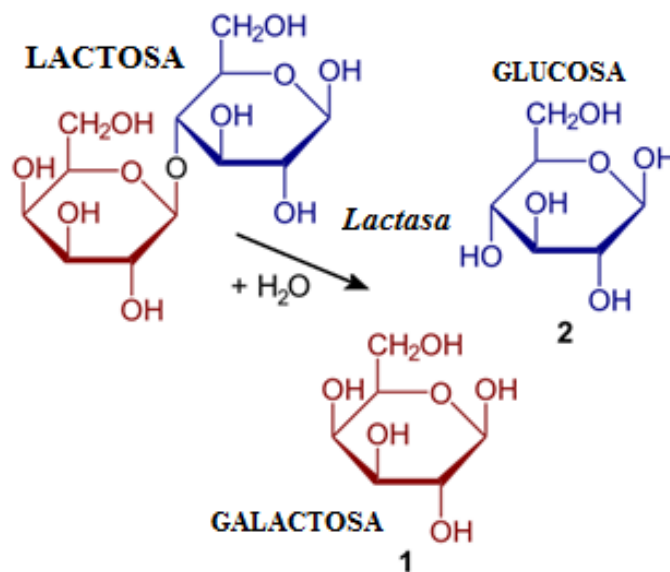
c) Déficit congénito de Lactasa: alteración genética presente al nacimiento y cuyo diagnóstico tiene lugar en la infancia. Es una alteración extremadamente rara y sólo se han descrito unos 40 casos. Se trata de un trastorno autosómico recesivo, pero no se conocen con exactitud los mecanismos moleculares. El único tratamiento es evitar la ingesta de lactosa desde el nacimiento (Zugasti, 2009).

### **2.3. Hidrólisis de la lactosa**

#### **2.3.1. Definición**

La hidrólisis de la lactosa es el desdoblamiento de este azúcar, en glucosa y galactosa. Este procedimiento se puede realizar mediante hidrólisis química o enzimática. La hidrólisis química se realiza en medio ácido y a altas temperaturas, utilizando ácidos inorgánicos como el sulfúrico o el clorhídrico a concentraciones elevadas. El proceso enzimático se realiza con la  $\beta$ -galactosidasa o lactasa (Figura 4), enzima oxidasa que rompe el enlace  $\beta$ -1,4 glicosídico (Ordoñez *et al.*, 1998; citados por Juca y Pérez, 2010).

Entre otras ventajas, la hidrólisis enzimática de la lactosa permite el consumo de leche y sus derivados a aquellas personas intolerantes, aprovechando sus nutrientes. Por otra parte, tecnológicamente, la lactosa es fácilmente cristalizable lo que dificulta ciertos procesos como la elaboración de helados y dulce de leche, evitándose estos problemas con la hidrólisis. Por último, se debe tener en cuenta que la lactosa presente en el suero de la leche, como subproducto en la elaboración de quesos, genera un gran problema de



**Figura 4: Hidrólisis enzimática de la lactosa**

FUENTE: De Vrese *et al.* (2001).

contaminación ambiental por las grandes cantidades de lactosuero que son vertidos por industrias de este tipo a los canales de agua, ya que la lactosa no es fácilmente biodegradable (Bylund, 2003).

### 2.3.2. Enzima β-Galactosidasa

La enzima β-galactosidasa (β-D-galactósido galactohidrolasa, EC 3.2.1.23) es uno de los biocatalizadores de mayor potencial en la industria de alimentos. Es una enzima de la más amplia distribución, producida por animales, plantas y microorganismos (Cuadro 7), la cual cataliza *in vivo* la hidrólisis de lactosa en glucosa y galactosa. Esta actividad es importante desde el punto de vista nutricional y tecnológico (Panesar *et al.*, 2010; citados por Torres, 2012). Además, bajo determinadas condiciones experimentales la enzima también cataliza procesos de transglucosilación para producir galactósidos y oligosacáridos (Neri *et al.*, 2011; citados por Torres, 2012).

#### 2.3.2.1. Características de la enzima

Se han realizado diversas investigaciones en relación a la hidrólisis enzimática de la lactosa, incluyendo las características que presentan las diferentes enzimas (pH y temperaturas óptimas, efecto de algunos parámetros, etc.), su utilización, y las diferentes fuentes de donde se pueden obtener; sin embargo, existen aún muchas incógnitas por resolver (Jiménez, 2003).

**Cuadro 7: Algunos microorganismos productores de  $\beta$ -galactosidasa**

<b>Bacterias</b>	<b>Hongos</b>	<b>Levaduras</b>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Saccharomyces anmensis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Fusarium monilliforme</i>	<i>Sacharomyces lactis</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptomyces violaceus</i>	<i>Sacharomyces fragilis</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>		<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>
<i>Streptococcus cremoris</i>		<i>Kluyveromyces fragilis</i>
<i>Streptococcus lactis</i>		<i>Kluyveromyces lactis</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>		

FUENTE: Panesar *et al.* (2010), citados por Torres (2012).

Según Jiménez (2003), las características y propiedades de las lactasas varían dependiendo de la fuente (Cuadro 8). Las de origen fúngico presentan mayor termoestabilidad que las de levadura y bacterias, y su pH óptimo de actividad cae dentro del rango ácido (4,5-6,5) y temperatura óptima entre 35 y 55 °C. Las lactasas de levadura y bacterias son en general más termolábiles, y su pH óptimo de actividad es cercano al neutro, por lo que se les llama lactasas neutras. Estas lactasas tienen una temperatura óptima alrededor de 37°C, y muestran una pérdida considerable de actividad a pH 5,3, al elevar la temperatura a 55°C, o bien la pierden completamente a pH 4,5.

**Cuadro 8: Características de las lactasas disponibles comercialmente**

<b>ORIGEN</b>	<b>pH ÓPTIMO</b>	<b>TEMPERATURA ÓPTIMA</b>
<i>A. niger</i>	3,0-4,0	55-60°C
<i>A. oryzae</i>	5,0	50-55°C
<i>K. lactis</i>	6,5-7,3	35°C
<i>K. marxianus</i>	6,6	37°C
<i>C. kefy</i>	6,2	45-47°C

FUENTE: García *et al.*(1993), citados por Jiménez (2003).

### **2.3.3. Crioscopia en la determinación del grado de hidrólisis**

Históricamente los métodos utilizados como referencia han sido el HPLC o enzimáticos/UV, pero los procedimientos requieren tiempo y equipos sofisticados, además de personal entrenado. Actualmente se utiliza la crioscopia como técnica de medición de la hidrólisis enzimática de la lactosa (Murphy *et al.*, 2002).

La leche presenta un punto de congelación de  $-0,557^{\circ}\text{C}$  menor que el del agua destilada (Alais, 2003), debido fundamentalmente a su contenido en minerales y lactosa. Durante la hidrólisis la molécula de lactosa se hidroliza en glucosa y galactosa, aumentando los solutos de la solución, ocasionando el correspondiente descenso del punto de congelación de la solución (Murphy *et al.*, 2002). El Reglamento Técnico de Colombia (2006) menciona que la leche deslactosada entera, semidescremada y descremada, presenta un índice crioscópico máximo de  $-0,661^{\circ}\text{C}$  ( $-0,685^{\circ}\text{H}$ ), para garantizar el 85% de hidrólisis.

Lazo y Verdugo (2011) citados por Rojas *et al.* (2012), y Sánchez (2011), mencionan la siguiente fórmula para determinar el grado de hidrólisis:  $\%H = \frac{Y-537}{2.74}$ , donde Y es igual a los grados Horvet ( $^{\circ}\text{H}$ ) multiplicados por mil.

En el Centro de Investigación y Desarrollo de la Industria Láctea (CITIL), se procedió a correlacionar el punto de congelación con el porcentaje de hidrólisis determinado en forma absoluta por un método de referencia, en este caso el HPLC encontrándose un coeficiente de correlación de 0,997. Con este estudio se verificó el comportamiento lineal y la precisión del método crioscópico, utilizado en el trabajo para seguimiento y control de los porcentajes de hidrólisis de lactosa a diferentes tiempos y diferentes concentraciones de enzima (Murphy *et al.*, 2002).

La técnica de determinación del descenso crioscópico es rápida y tiene la ventaja que utiliza equipos usualmente encontrados en la industria láctea, evitando así inversiones adicionales. Además esta metodología se utiliza no sólo para determinar el porcentaje de hidrólisis, sino también para conseguir, variando temperaturas de trabajo y concentraciones enzimáticas, diferentes condiciones operativas en planta (Murphy *et al.*, 2002).

### **2.3.4. Aplicaciones en la industria láctea**

El mercado de productos lácteos reducidos en lactosa surge en los EEUU en los años 80 para abastecer a aquellos individuos que presentaban intolerancia a la lactosa ya sea por su



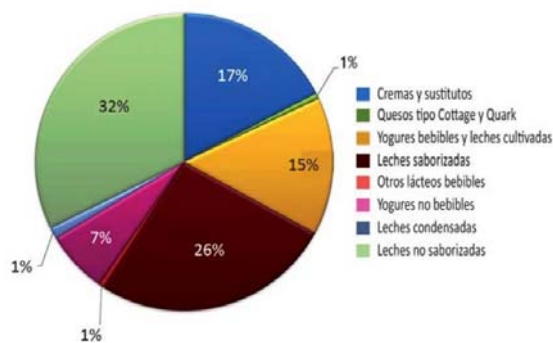
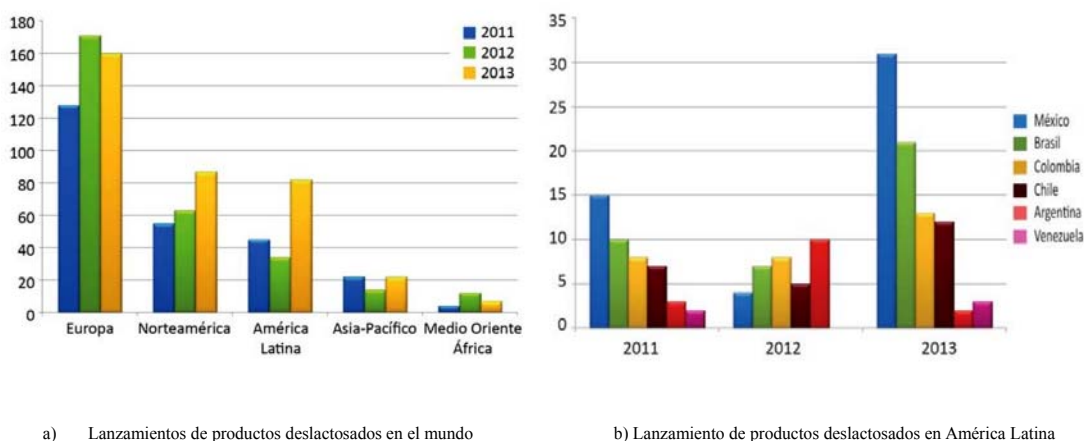
incapacidad de producir la enzima lactasa o tenerla disminuida en su concentración. Además de esta aplicación existen un sinnúmero de oportunidades para la utilización de productos con lactosa hidrolizada como los que mencionan Murphy *et al.* (2012):

- La utilización de sueros de quesería hidrolizados como reemplazo de la sacarosa. Dependiendo del nivel de hidrólisis, la leche predigerida posee un sabor más dulzón.
- Utilización de leches prehidrolizadas para incrementar el nivel de sólidos en los helados reemplazando el agregado de leche en polvo deslactosada y reduciendo de esta manera significativamente los costos de elaboración. Al mismo tiempo permitiría, en el caso de la fabricación de helados producidos con leches de otras especies, un aumento de los sólidos 100% de la misma especie.
- Utilización en la fabricación de dulce de leche. La utilización de leches predigeridas con una hidrólisis del 20-30% puede prevenir la cristalización de la lactosa en el dulce, evitando una textura arenosa.
- Reducción de la concentración de la sacarosa en yogures frutados, etc.

En el caso del queso, la gran mayoría de lactosa es retirada con el suero ya que es soluble en él, no obstante, la persistencia de malestares gastrointestinales al consumir este producto indicaría que no siempre el desuerado es suficiente para atenuar los síntomas, ya que aún queda lactosa retenida en la cuajada por su alto contenido de humedad. Según Vicaria (2002), la leche parcialmente hidrolizada (30-50%) puede ser utilizada en el proceso de fabricación de queso ya que la glucosa y galactosa formada estimulan el crecimiento y el sistema enzimático de las bacterias. Además según Reinheimer y Zalazar (2006), la hidrólisis parcial de la lactosa puede acelerar la maduración del queso ya que estimula la producción de la flora microbiana.

La industria láctea ha trabajado incesantemente para brindar productos lácteos en los cuales el contenido de lactosa es reducido, estos alimentos especiales están cada vez más al alcance del consumidor en todo el mundo. Los productos más difundidos son las leches fluidas pasteurizadas o esterilizadas (UHT), aunque también se pueden conseguir leches en polvo y, en algunos países, cremas, helados, quesos y leches fermentadas. Las líneas de productos más populares en los mercados de Europa y Estados Unidos incluyen los siguientes: “Lactaid”, “Dairy Ease”, “Mootopia”, “HYLA”, “Emmi”, “Kaiku” y

“Lactofree”. En el Perú son Gloria y Laive las empresas que producen a su vez, leche entera, leche evaporada y yogur deslactosado, pero aún no se aplica a los quesos frescos. Según estudios de mercado recientemente publicados por Mintel GNPD (2014), durante los últimos años se pudo observar un incremento en el lanzamiento de los productos deslactosados o con bajo contenido de lactosa (Figura 5).



**Figura 5: Mercado de productos lácteos deslactosados**

FUENTE: Mintel Global New Products Database GNPD (2014).

## 2.4. Queso

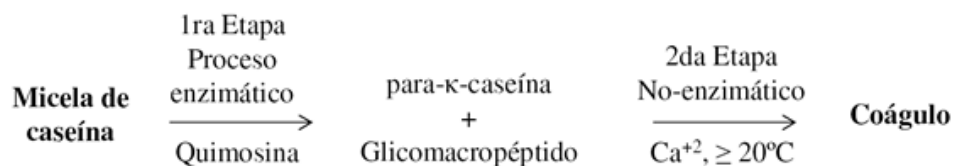
El queso es el producto obtenido por coagulación de la leche cruda o pasteurizada (entera, semidescremada y descremada), constituido esencialmente por caseína de la leche en forma de gel más o menos deshidratado (Eck y Gillis, 2000). Mediante este proceso se logra preservar el valor nutritivo de la mayoría de los componentes de la leche, incluidas las grasas, proteínas y otros constituyentes menores, generando un sabor especial y una consistencia sólida o semisólida en el producto obtenido (Vélez, 2009).

Scott *et al.* (2002) mencionan que el queso es el producto sólido o semisólido, madurado o fresco, en el que el valor de la relación suero proteínas/caseína no supera al de la leche, y que es obtenido por coagulación (total o parcial) de la leche por medio de la acción del cuajo o de otros agentes coagulantes adecuados, con un escurrido parcial del lactosuero.

Desde el punto de vista fisicoquímico, el queso se define como un sistema tridimensional tipo gel, formado básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico, el cual por coagulación, engloba glóbulos de grasa, agua, lactosa, albúminas, globulinas, minerales, vitaminas y otras sustancias menores de la leche, las cuales permanecen adsorbidas en el sistema o se mantienen en la fase acuosa retenida (Walstra *et al.*,2006).

El proceso de elaboración del queso es bastante simple, no obstante involucra fenómenos físicos y químicos muy complejos. Se trata esencialmente de un proceso de concentración, a partir de la coagulación de la proteína caseína por la acción enzimática (cuajo) o por acción de un ácido (comúnmente ácido láctico) (Law y Tamime, 2011).

El paso indispensable en la elaboración de los quesos, es la coagulación de la caseína, provocada mediante la acción combinada de enzimas proteolíticas (cuajos de distintos tipos) y calcio. El proceso de formación del coágulo incluye 2 etapas (Figura 6). En la primera, se desarrolla un proceso enzimático modulado por la quimosina, la cual rompe los enlaces entre los aminoácidos fenilalanina y metionina (Fen-105 y Met-106) presentes en la  $\kappa$ -caseína, liberándose el glicomacropéptido en la solución. En la segunda etapa, los agregados de para- $\kappa$ -caseína producen el coágulo (Udayarajan, 2007). Hasta la etapa de coagulación, los procedimientos básicos en la elaboración de los diferentes tipos de quesos son muy similares; sin embargo, las etapas siguientes varía de acuerdo con el tipo de queso a producir (Ramirez y Vélez, 2012).

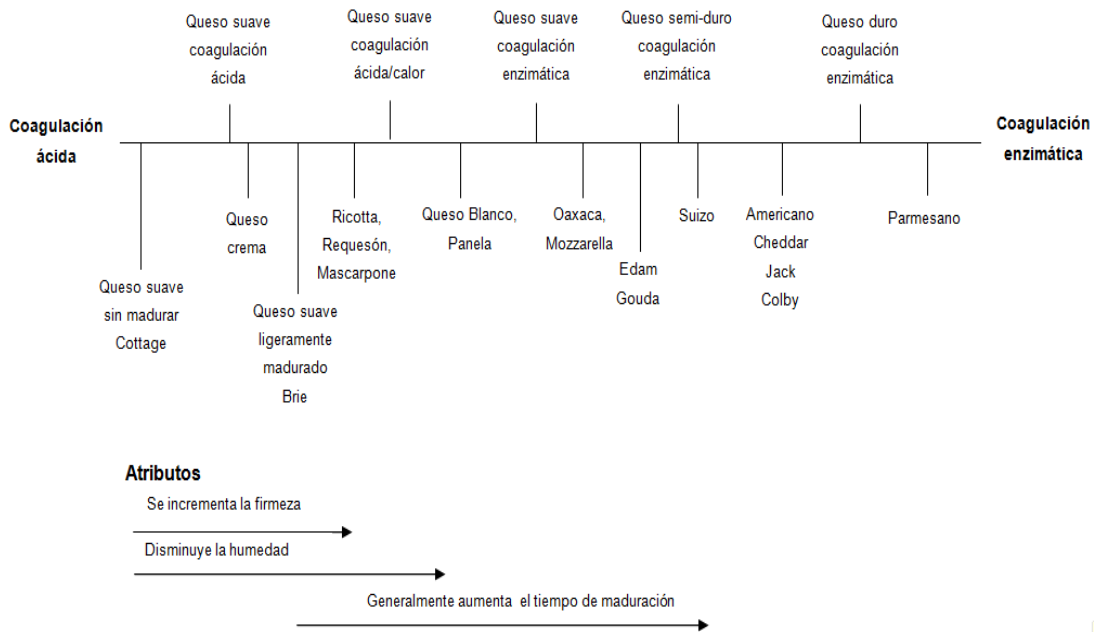


**Figura 6: Formación del coágulo de caseína**

FUENTE: Udayarajan (2007).

### 2.4.1. Clasificación y criterios de clasificación

El queso es producido en todo el mundo con una gran diversidad de sabores, aromas, texturas y formas, habiéndose recopilado en diversos catálogos y trabajos más de 2000 variedades y tipos (Fox *et al.*,2000). No obstante, la mayoría de los quesos que se elaboran en nuestro país son frescos o de corta duración. Existen diversos criterios de clasificación, como se representa en la Figura 7, con base en las condiciones de proceso o las características fisicoquímicas del tipo de queso:



**Figura 7: Criterios de clasificación del queso**

FUENTE: Farkye (2004), citado por Ramirez y Vélez (2012).

- Por contenido de humedad, se clasifican en quesos duros (20-42%), semiduros (44-55%) y blandos o suaves (aproximadamente 55%) (Scott *et al.*,2002).
- De acuerdo al tipo de coagulación de la caseína, se clasifican en quesos de coagulación enzimática, quesos de coagulación ácida y quesos de coagulación ácida/térmica (Dalglish, 1999; Fox *et al.*, 2000; Gunasekaran y Ak, 2003; citados por Ramirez y Vélez, 2012).
- De acuerdo a su estado de maduración: frescos (6 días), semi-madurados (40 días) y madurados (>70 días) (McSweeney, 2004; citados por Ramirez y Vélez, 2012).

## **2.4.2. Queso fresco**

El término “fresco” se utiliza para definir un queso que no se madura después de la fabricación, que se consume en estado fresco. En el Perú, el consumo de queso fresco es mayor al consumo de quesos madurados, esto debido a su bajo costo, a sus características nutricionales y usos variados (Calle y Solano, 2004; citados por Álvarez, 2011).

Los quesos frescos tienen un alto contenido de humedad y no han sufrido proceso de maduración, por lo que pueden tener sabor a leche fresca o leche acidificada. Su consistencia suele ser pastosa y su color blanco. Por tener un alto contenido de humedad en la pasta (45-80%), su tiempo de vida útil resulta corto, debiendo ser consumidos en pocos días. Su transporte y conservación se debe hacer a temperaturas de 4-10°C; aun manteniendo la cadena de frío son altamente perecederos (Villegas, 2009).

Según la Norma Técnica Peruana NTP 202.195, el queso fresco tradicional, es el queso blando, no madurado ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, sin cultivos lácticos, obtenido por separación del suero después de la coagulación de la leche pasteurizada, entera, descremada o parcialmente descremada.

### **2.4.2.1. Composición química y valor nutritivo**

El queso comparte casi las mismas propiedades nutricionales con la leche; a excepción de la lactosa, los otros componentes se encuentran más concentrados. Además de brindar un excelente aporte de proteínas de alto valor biológico, el queso se destaca por ser una fuente importante de calcio y fósforo (Van Hekken y Farkye, 2003). Como se puede observar en el Cuadro 9, la composición química puede variar de acuerdo al tipo del queso.

### **2.4.2.2. Microestructura**

Existe una estrecha relación entre la microestructura del queso y su reología, ambas propiedades a su vez están determinadas por la composición química del queso. El análisis de microestructura es útil cuando se desea evaluar el efecto de diferentes ingredientes en la formulación o el uso de alguna tecnología de procesado y conservación (Buffa *et al.*, 2004; citado por Ramírez y Vélez, 2012).

En el queso, el análisis de microestructura se ha utilizado principalmente para observar la distribución de los glóbulos de grasa y micelas de proteína (Lobato-Calleros *et al.*, 2007), para evaluar la incorporación de gomas, el efecto de procesos enzimáticos, proteólisis y

**Cuadro 9: Composición química y valor nutritivo de la leche con respecto a los quesos frescos típicamente consumidos en México.**

(%)	Leche entera <sup>a</sup>	Quesos fresco <sup>b</sup>	Queso Panela <sup>c</sup>	Queso Oaxaca <sup>c</sup>	Queso Blanco <sup>c</sup>	Queso Asadero <sup>c</sup>
Humedad	87,5	46-57	53,2-58,3	49,3-52,4	51-53	40-46
Grasa	3,5	18-29	18,8-12,1	20,6-24,2	19-25	23-25
Proteína	3,5	17-21	18,4-20,5	20,4-22,4	20-22	24-27
Ceniza	0,7-0,9	-	2,5-2,7	3,2-3,7	-	1,4-1,8
Lactosa	4,7	-	3,4-4,2	0,1-0,3	-	-
Calcio	1,3-1,8	-	23,9	-	-	-
Fósforo	1,0-2,3	-	18,4	-	-	-

<sup>a</sup>Alais, 1985

<sup>b</sup>Van Hekken y Farkye, 2003

<sup>c</sup>García-Isalas, 2006

FUENTE: Ramírez y Vélez (2012).

lipólisis durante la maduración, el efecto del procesamiento térmico de la leche y almacenamiento en condiciones de congelación, entre otros aspectos (Liu *et al.*, 2008; Karami *et al.*, 2009; Morales-Celaya *et al.*, 2012; Ribero *et al.*, 2009; citados por Ramírez y Vélez, 2012).

Para la observación de la microestructura del queso se han empleado diversas técnicas, entre las más comunes tenemos a la microscopía electrónica de barrido (Lobato-Calleros *et al.*, 2007), la microscopía electrónica de transmisión (Udayarajan, 2007) y la microscopía con focal de barrido láser sobre todo cuando se busca evidenciar la presencia de otros componentes no lácteos en la fórmula, tales como el almidón (Trivedi *et al.*, 2008; citados por Ramírez y Vélez, 2012).

Recientemente se ha hecho uso de la micro-tomografía de rayos X, de la que se señalan como principales ventajas no sólo el proporcionar un porcentaje preciso de la cantidad de grasa presente en productos como el queso, sino que también nos ayuda a revelar su distribución espacial (Laverse *et al.*, 2011; citados por Ramírez y Vélez, 2012).

#### 2.4.2.3. Propiedades texturales y reológicas

La textura puede definirse como el conjunto de los atributos mecánicos, geométricos y de superficie de un producto que son perceptibles por medio de receptores mecánicos, táctiles,

visuales y auditivos (Rosenthal, 2001), por lo que se puede decir que la textura de un alimento se puede definir como la manifestación sensorial de su estructura. Sin lugar a dudas para el consumidor la textura juega un rol importante en términos de inferir la calidad de un alimento. Particularmente en el queso, la textura es uno de los atributos más importantes que ayudan a determinar la identidad del mismo (Bourne, 2002).

Otro aspecto importante del alimento que se asocia con la textura es su comportamiento reológico. De manera general se puede definir a la reología, como el estudio de la deformación y flujo de materias primas, productos intermedios y productos terminados (Bourne, 2002). La información textural y reológica es importante en el diseño de procesos de transformación en alimentos (mezclado, flujo de materiales, calentamiento, enfriamiento), en la determinación de la funcionalidad de los ingredientes para el desarrollo de productos, en el control de calidad de productos intermedios y finales, en estudios de tiempo de vida útil y en evaluaciones de propiedades texturales correlacionadas con pruebas sensoriales, entre otros (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005)

El queso posee propiedades viscoelásticas, siendo los estudios reológicos esenciales para expresar sus características físicas y propiedades mecánicas (Bohlin *et al.*, 1984; citados por Ramirez y Vélez, 2012). Para tal efecto, se han desarrollado numerosos instrumentos y métodos para evaluar las propiedades reológicas de los alimentos, en particular en lo que concierne a la textura de quesos. Esta diversidad de instrumentos suele ser agrupada y reconocida en tres grupos; empírico, imitativo y fundamental (Bourne, 2002).

Las mediciones empíricas son aquellas pruebas que tienden a relacionar una variable medida con una propiedad del material, sin una base científica rigurosa. El penetrómetro, el tensómetro, la prueba de punción, y las pruebas con compresores de bola, son ejemplos típicos de mediciones empíricas (Gunasekaran y Ak, 2003; citados por Ramirez y Vélez, 2012). Cabe señalar, que estas pruebas no se consideran de precisión y frecuentemente los resultados que se obtienen son difícilmente comparables a los obtenidos con equipos de pruebas fundamentales (Bourne, 2002).

Por otro lado, las pruebas imitativas incluyen sistemas de medición mecánica con poco control de variables experimentales (tales como, el tipo de sonda, el tamaño y forma de la muestra, entre otras). Como su nombre lo indica son pruebas que tratan de imitar mecánicamente la evaluación sensorial realizada por evaluadores humanos. De hecho se

recomienda emplearlas junto con la evaluación sensorial, a fin de obtener modelos más exactos de los atributos de textura del alimento (Gunasekaran y Ak, 2003; citados por Ramirez y Vélez, 2012). Una de las pruebas imitativas más común es el Análisis de Perfil de Textura (TPA, por sus siglas en inglés), procedimiento por el cual se trata de simular las condiciones con que se encuentra un alimento en la boca (Ramirez y Vélez, 2012).

Finalmente, las pruebas fundamentales son más sofisticadas y tienen en cuenta la geometría de la muestra y las condiciones de experimentación, con el fin de que la muestra sea deformada de manera controlada y permita definir lo más exactamente posible la respuesta reológica del alimento. Dentro de esta clasificación se incluyen; la prueba de compresión uniaxial a velocidad constante, la prueba de relajación y Creep y las pruebas dinámicas oscilatorias (Bourne, 2002). Sin embargo, desde un punto de vista práctico en la caracterización reológica de queso, las técnicas de compresión uniaxial a velocidad constante, la relajación ante el esfuerzo y el denominado TPA, son las pruebas más ampliamente utilizadas (Ibáñez *et al.*, 1998; citados por Ramirez y Vélez, 2012). En el Cuadro 10 se describen las condiciones para algunas de las pruebas texturales aplicadas a diferentes tipos de queso fresco.

#### **2.4.2.4. Factores que afectan las propiedades del queso fresco**

Independientemente del origen de la leche, las propiedades físicas del queso se rigen por la interacción entre las moléculas de caseína (Tunick, 2000). Algunos de los factores que influyen en estas interacciones varían en función del tipo de queso, el grado de maduración (Lucey *et al.*, 2003), su composición química (en particular, el contenido de caseína y la distribución de la humedad y la grasa), el contenido de sal, pH y acidez (Guo *et al.*, 2012; Scholz, 1995; citados por Ramírez y Vélez, 2012), así como determinadas condiciones medioambientales como la temperatura (Law y Tamime, 2011).

##### **a) Cambios bioquímicos y propiedades fisicoquímicas**

En términos generales, se habla de que existen dos fenómenos opuestos que controlan la firmeza del queso. El primero consiste en la acción de las diferentes enzimas proteolíticas sobre la matriz proteica, principalmente sobre la  $\alpha$ s1-caseína, que da como resultado una disminución de la firmeza y en consecuencia, modificaciones en algunas propiedades como el color, la elasticidad y textura del queso (Lucey *et al.*, 2003). El segundo es el efecto de pérdida de humedad, que al provocar una disminución de la hidratación de las proteínas



**Cuadro 10:** Condiciones para la determinación de propiedades reológicas en algunos tipos de queso fresco

<b>PRUEBA REOLÓGICA</b>	<b>TIPO DE QUESO FRESCO</b>	<b>GEOMETRIA DE LA MUESTRA</b>	<b>CONDICIONES DE LA PRUEBA</b>	<b>PARÁMETROS CALCULADOS</b>	<b>REFERENCIA</b>
Compresión uniaxial	Queso fresco (sin iniciadores lácticos)	Cilindros de 25 mm de diámetro por 20 mm de altura	Temperatura:4°C Compresión: 80% Plato de 50 mm diam. Velocidad:0.8 mm/s N° de mediciones :6	Tensión o esfuerzo: ( $\sigma_f$ )  Deformación: ( $\epsilon_f$ )	Zamora, 2009
Compresión Uniaxial	Queso fresco elaborado con leche de cabra cruda, pasteurizada	Cubos de 10 mm de cada lado.	Temperatura: 20°C Compresión: 80% Velocidad: 80mm/min N° de mediciones por muestra:6	Tensión o esfuerzo: ( $\sigma_f$ )  Deformación: ( $\epsilon_f$ )	Buffa <i>et al.</i> , 2001
TPA	Queso suave de leche de cabra	Bloques cilíndricos de aprox. 14.5 mm de diámetro y altura	Doble compresión a 75% de su altura inicial Velocidad:100mm/min N° de mediciones por muestra: 4	A partir de la gráfica de fuerza Vs tiempo se calcularon: la dureza, cohesividad y fracturabilidad. Así como la masticabilidad (producto de Dureza y cohesividad)	Van Hekken <i>et al.</i> , 2005
TPA	Queso fresco de México	Cilindros de 15 mm de diámetro y 15 mm de altura	Doble compresión a 75% de su altura inicial Velocidad:100mm/min N° de mediciones: 4		Tunick y Van Hekken, 2010

Continuación

Relajación del esfuerzo	Queso untable	Cubos de 2 cm	Se utilizó un plato de 3.6 cm de diámetro, se aplicó una fuerza de 0.5 N con 1 mm/s de velocidad, con una deformación del 50%	Tiempo de relajación	Carvajal-Cuéllar, 2004
Creep	Queso untable	Cubos de 2 cm	Se utilizó un plato de 3.6 cm de diámetro, se aplicó una fuerza de 0.2 N con una velocidad de 1mm/s, midiendo distancia contra tiempo	Deformación como función del tiempo	Carvajal-Cuéllar, 2004
Penetración	Queso crema	Bloques rectangulares de (12*6.8*3 cm)	Se utilizó una sonda cónica de acero inoxidable con ángulo de 45° (AT-15) la cual se introdujo 15 mm en las muestras a una velocidad de 1mm/s	Dureza	Brighenti <i>et al.</i> , 2008

FUENTE: Ramírez y Vélez (2012).

conduce a una mayor interacción de las mismas provocando el aumento de la firmeza de la matriz proteica (Adda *et al.* 1982; Walstra, 1990; citados por Ramirez y Vélez, 2012).

Otro de los cambios bioquímicos que ocurren en el queso es la lipólisis. En la estructura del queso, la grasa se encuentra distribuida como material de relleno en la matriz proteica, por lo tanto si se incrementa su contenido en la formulación, el queso presentará menor firmeza y mayor elasticidad, mientras que cuando su contenido se reduce (ya sea por acción lipolítica o intencional para fines de obtener un producto con bajo contenido en grasa) se obtendrán quesos más duros y rígidos (Theophilou y Wilbey, 2007; Brighenti *et al.*, 2008; citados por Ramirez y Vélez, 2012).

El pH es uno de los parámetros que afecta sobre todo las propiedades texturales del queso, debido al efecto sobre la red de proteínas. Un pH cercano al punto isoeléctrico provoca fuerzas iónicas e hidrófobas, que resultan en una red de caseína compacta típica de los quesos duros, mientras que en el caso de un pH más alto las caseínas presentan una carga negativa, lo que genera repulsión entre los agregados proteicos, generándose un queso con mayor humedad, más elástico y menos compacto (Lu *et al.*, 2008).

En los quesos frescos, la elevada humedad y el bajo pH, son condiciones que afectan notoriamente la textura y sabor durante la conservación, de forma que una excesiva proteólisis podría ocasionar defectos como una textura excesivamente blanda y un sabor amargo (Fox y McSweeney, 1996; citados por Ramirez y Vélez, 2012). Un ejemplo donde se hace más evidente este defecto es en el queso Oaxaca, que con el tiempo se ablanda, pierde elasticidad y definición visual del hilado, semejante al que se observa en el queso Mozzarella (Imm *et al.*, 2003; Zisu y Shah, 2005; citados por Ramirez y Vélez, 2012).

La sal además de tener un papel en el sabor y conservación del queso, en altas concentraciones disminuye la actividad enzimática proteolítica, aumentando la salida de agua presente en la red proteica de la cuajada (sinéresis) ocasionando con ello, menor humedad y por lo tanto mayor dureza en el queso (Pinho *et al.*, 2004).

La acidez, en el queso es otro factor que no sólo tiene incidencia sobre el sabor, sino también directamente en los cambios que experimenta la red de proteína (cuajada) del queso, teniendo ésta una correlación directa en los fenómenos de sinéresis (es decir; a mayor acidez, mayor sinéresis) y textura final (Pinho *et al.*, 2004). Además de la acidez, la sinéresis está afectada también por circunstancias propias del proceso de elaboración y por

la presencia de calcio libre, el cual provoca la unión de la caseína en la red proteica de la cuajada (Walstra *et al.*, 2006).

#### **b) Tratamiento térmico**

Aunque no existe un mecanismo claro, se ha observado que la pasteurización de la leche produce una desnaturalización ligera de las proteínas séricas ( $\alpha$ S1 y  $\beta$ -caseínas), así como modificaciones leves en la capacidad de coagulación de la leche (Grappin y Beuvier, 1997; citados por Ramirez y Vélez, 2012). Provoca también la disminución significativa de péptidos de cadena corta y aminoácidos libres, compuestos precursores de aromas y sabores en el queso (Tunick y Van Hekken, 2010) y origina quesos con alto contenido de humedad con respecto a los elaborados con leche cruda (Ortigosa *et al.*, 2001).

Para evitar los efectos del tratamiento térmico en las proteínas de la leche, se ha investigado la aplicación de altas presiones en queso, que inactivan el crecimiento de los microorganismos presentes en la leche y el queso, asimismo alteran las velocidades de las reacciones enzimáticas (Buffa *et al.*, 2001; citados por Ramirez y Vélez, 2012).

#### **c) Alteraciones causadas por microorganismos**

Como ya se mencionó, las propiedades físicas del queso pueden verse afectadas como consecuencia de procesos bioquímicos, tales como la proteólisis y la lipólisis. Las enzimas involucradas en estos procesos pueden estar presentes en el cuajo, la leche, o bien ser producidas por microorganismos (Sousa *et al.*, 2001; citados por Ramirez y Vélez, 2012). Algunos microorganismos utilizados como cultivos iniciadores, además de metabolizar la lactosa, pueden producir y liberar otros compuestos en el queso. Jiménez-Guzmán *et al.*, (2009), citados por Ramirez y Vélez (2012), evaluaron la presencia de un exopolisacárido producido por una cepa de *Streptococcus thermophilus* en la composición y propiedades de queso Panela, concluyendo que la presencia de dicho compuesto incrementó la retención de humedad y grasa dentro de la matriz del queso.

El principal mecanismo a través del cual un cultivo iniciador puede afectar las propiedades texturales, reológicas y funcionales del queso, tiene que ver con su capacidad de producción de ácido, que como ya se mencionó afecta la red proteica y a su capacidad para retener agua. Un aumento en el contenido de humedad provocará una textura más blanda, menor firmeza, y en el caso del queso de pasta hilada, una mayor capacidad de fusión (fundibilidad) (Zisu y Shah, 2005; citados por Ramirez y Vélez, 2012).

#### **d) Otros factores**

El uso de cuajo artesanal da como resultado quesos de mayor dureza (bajo prueba de compresión y penetración), adhesividad y elasticidad con respecto al cuajo comercial (Álvarez, 2003). Esto se puede deber a la mayor capacidad proteolítica del coagulante artesanal frente al comercial, derivando en una mayor cremosidad de este tipo de quesos.

Algunos estudios demuestran que el cambio de dieta del animal modifica la composición de la leche y en consecuencia, puede ocasionar un cambio de leve a moderado en las propiedades reológicas y texturales de queso (Jaramillo *et al.*,2010).

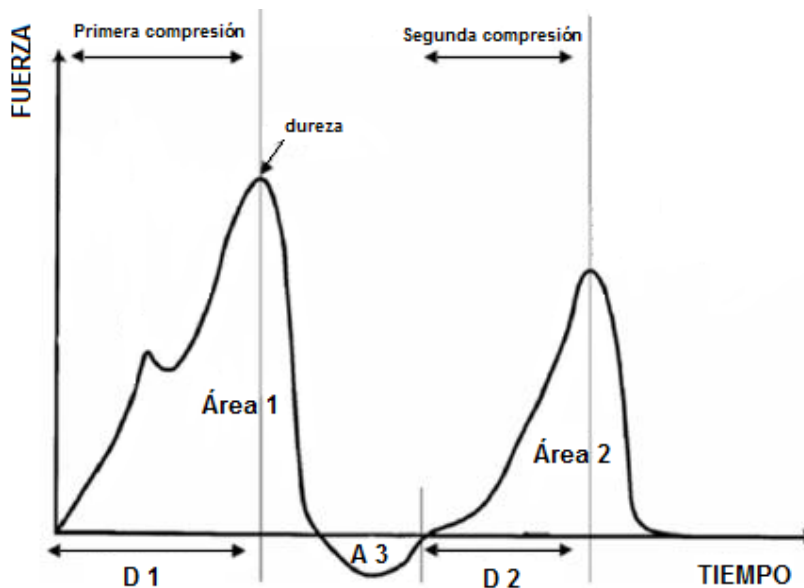
Finalmente, la oxidación de las grasas de los quesos es otro fenómeno presente en el queso en mayor o menor extensión. En quesos frescos la exposición a la luz es la causa principal de oxidación, aparición de aromas desagradables y cambios en el color (Mortensen *et al.*,2004; citados por Ramirez y Vélez, 2012).

#### **2.4.3. Análisis de Perfil de Textura (TPA)**

Es un ensayo imitativo que busca establecer valores estándar de los diversos atributos de textura de ciertos alimentos y también para caracterizar las propiedades mecánicas y la consistencia de alimentos texturizados. En el año 1963, la General Foods propuso la idea del perfil de textura, en donde se utilizó nueve panelistas entrenados para definir los principales parámetros de textura que influyen sobre la aceptación de un alimento y establecer patrones para su medición. De forma instrumental, estos patrones sensoriales se han tratado de interpretar mediante un equipo basado en los experimentos de doble compresión cuyos movimientos se asemejaban a la mandíbula humana (Rosenthal, 2001).

El análisis de perfil de textura consiste en una prueba de doble compresión en las cuales se someten muestras del producto a una compresión del 80 a 90% de su altura inicial, la cual resulta casi siempre en la ruptura del alimento. A partir de la curva fuerza en Newton (N) Vs tiempo en segundos (s), como se muestra en la Figura 8. Bourne (2002) cita los siguientes parámetros texturales obtenidos con el TPA: dureza, elasticidad, gomosidad, cohesividad, adhesividad y masticabilidad; de los cuales cuatro se obtienen de la gráfica y dos se logran por medio de cálculo.

- Dureza (hardness), es definida como la fuerza pico logrado en el primer ciclo de compresión.



**Figura 8: Curva generalizada de Análisis de Perfil de Textura (TPA)**

FUENTE: Gómez (2004).

- Elasticidad (Springiness), definida como la altura que recupera el alimento durante el tiempo que transcurre entre la primera y segunda compresión ( $D2/D1$ ).
- Cohesividad (cohesiveness) es definido como la razón del área positiva lograda durante la segunda compresión y del área positiva de la primera compresión ( $A_2 / A_1$ ).
- Adhesividad (adhesiveness) es definida como el área negativa ( $A_3$ ), lograda durante la primera compresión y representa el trabajo necesario para sacar el pistón de la muestra.
- Gomosidad (Gumminess) es definida como el producto de dureza por cohesividad.
- Masticabilidad (Chewiness) es definida como el producto de gomosidad por elasticidad (que es igual a dureza por cohesividad y por elasticidad).

Demonte (1995), citado por Osorio *et al.* (2004), indica que los quesos son productos para los cuales el Análisis de Perfil de Textura (TPA) ha sido muy usado, ya que son poco quebradizos, y para ellos la dureza y la elasticidad son parámetros determinantes de la evaluación de la textura. Por eso una medida en doble compresión ofrece mucha información, ya que se han realizado algunos estudios en donde para el queso crema se encontró que se deforma fácilmente lo que se traduce en una pendiente débil al inicio de la primera compresión; no se nota una verdadera fractura, la adhesión a la sonda después de

la compresión es bastante fuerte, su elasticidad y cohesión son débiles pero significativas.

Para el queso parmesano se encontró que este es un queso duro sin elasticidad ni cohesión, el cual se opone al queso mozzarella, queso muy elástico y de dureza media. En el Cuadro 11 Szczesniak (2002), clasifica la definición de las propiedades de textura basado en propiedades físicas y sensoriales.

**Cuadro 11: Definiciones de los parámetros mecánicos de textura**

<b>PROPIEDADES PRIMARIAS</b>	<b>FÍSICAS</b>	<b>SENSORIALES</b>
<b>DUREZA</b>	Fuerza necesaria para alcanzar una deformación dada.	Fuerza requerida para comprimir una sustancia entre los molares (en caso de sólidos) o entre la lengua y el paladar (en el caso de semisólidos).
<b>COHESIVIDAD</b>	Extensión a la que un material puede ser deformado antes de que se rompa	Grado en que una sustancia es comprimida entre los dientes antes de romper
<b>VISCOSIDAD</b>	Velocidad de flujo por unidad de fuerza	Fuerza requerida para llevar un líquido del utensilio a la lengua
<b>ELASTICIDAD</b>	Velocidad a la que un material deformado vuelve a su condición inicial después de que la fuerza que causa la deformación es retirada.	Grado en que un producto vuelve a su forma original una vez que ha sido comprimido entre los dientes.
<b>ADHESIVIDAD</b>	Trabajo necesario para superar las fuerzas atractivas entre la superficie del alimento y la superficie de otros materiales con los que el alimento entra en contacto.	Fuerza requerida para eliminar el material que se adhiere a la boca (generalmente el paladar) durante el proceso normal de comer.

Continuación

<b>PROPIEDADES SECUNDARIAS</b>	<b>FÍSICAS</b>	<b>SENSORIALES</b>
<b>FRACTURABILIDAD</b>	Fuerza con la que un material fractura: es un producto con una alta	Fuerza con la que una muestra se desmigaja, agrieta o se hace pedazos
<b>MASTICABILIDAD</b>	Energía requerida para masticar un alimento sólido hasta el estado adecuado para ser tragado.	Periodo de tiempo requerido para masticar la muestra, a una velocidad constante de fuerza aplicada, para reducirla a una consistencia adecuada para tragar.
<b>GOMOSIDAD</b>	Energía requerida para desintegrar un semisólido a un estado listo para ser tragado: un producto con un bajo grado de dureza y alto grado de cohesividad.	Espesura que persiste durante la masticación; energía requerida para desintegrar un semisólido a un estado adecuado para tragar.

FUENTE: Szczesniak (2002).



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones de la Planta Piloto de Leche, Laboratorio de Análisis Químico de la Facultad de Ciencias y el Laboratorio de Investigación e Instrumentación de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

#### **3.2. Materia prima e Insumos**

##### **3.2.1. Materia prima**

La elaboración del queso fresco se realizó con leche procedente del establo de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

##### **3.2.2. Insumos**

- Cuajo, marca: CHY-MAX
- Cloruro de calcio, marca: CHR-HANSEN
- Sal, marca: MARINA
- Enzima lactasa, marca: HA-LACTASE
- Sorbato de potasio, marca: MONTANA

#### **3.3. Equipos, Materiales y Reactivos**

##### **3.3.1. Equipos**

- Balanza analítica, marca: H.W. KESSEL, modelo: GR 200
- Potenciómetro, marca: HANNA INSTRUMENTS, modelo: HI 9026
- Cámara de refrigeración de la Planta Piloto de Leche- UNALM
- Termómetro digital, marca: HANNA INSTRUMENTS, modelo: HI 14500
- Licuadora, marca: OSTER, modelo: Osterizer Blender
- Colorímetro, marca: MINOLTA, modelo: CR400
- Crioscopio, marca: FUNKE GERBER, modelo: Cryostar

- Baño María, marca: GFL, modelo: 1083
- Texturómetro, marca: QTS-25 Brookfield
- Computadora, marca: ACER
- Homogenizador, marca: SEWART STOMACHER, modelo: 400 Circulator
- Autoclave, marca: FRAVILL, modelo: N.S-AV. 35L-990528
- Incubadora, marca:JSB, modelo: ST.304

### **3.3.2. Materiales**

- Lactodensímetro, marca: QUEVENNE
- Jarra plástica 1L
- Probetas graduadas de 100 ml y 200ml
- Pipeta graduada de 10ml
- Micropipetas
- Microtubos de ensayo de 2 ml
- Matraz Erlenmeyer de 100 ml
- Bureta de 25 ml
- Vaso de precipitado de 100 ml
- Bolsas de polietileno de 250 mg y 500mg
- Papel tissue
- Cuchillos
- Tablas de picar
- Cronómetro
- Mechero
- Sacabocado de 14 mm diámetro y 14 mm de altura aproximadamente
- Platos y vasos descartables
- Plumones marcadores y lapiceros

### **3.3.3. Reactivos**

- Solución de NaOH 0,1 N
- Fenolftaleína al 2%
- Alcohol al 70%
- Agua peptonada al 0,1%
- Placas Petrifil 3M<sup>TM</sup> para recuento de Coliformes totales
- Placas Petrifil 3M<sup>TM</sup> para recuento de mohos y levaduras

### **3.4. Métodos de análisis**

#### **3.4.1. Análisis fisicoquímicos**

##### **a) Análisis proximal**

Las determinaciones de la composición de los quesos frescos elaborados mediante diferentes tratamientos, se realizaron el día 1 después de la producción, a partir de una muestra de 500 g de cada uno de los tratamientos.

- Humedad (%): se realizó por el método de secado descrito en AOAC 2012.948.12, que determina la humedad del producto mediante el cálculo por pérdida de peso.
- Proteína (%): se calculó el contenido proteico basándose en el método sugerido por la AOAC 2012.991.20 que determina el contenido total de nitrógeno en la muestra mediante el método Kjendahl.
- Grasa (%): el método utilizado es el de la AOAC 2012.933.05 o método Gerber. Consiste en separar la grasa dentro de un butirómetro, con el uso de ácido sulfúrico.
- Cenizas (%): se utilizó el método descrito en la AOAC 2012.935.42, que permite determinar el contenido de residuos inorgánicos que quedan después de quemar la muestra en una mufla. Se calculó por diferencia de peso.
- Carbohidratos totales (%): se determinó por cálculo de la diferencia de 100% y la suma de los porcentajes de humedad, proteína, grasa y cenizas.

##### **b) Determinación de la densidad**

El método utilizado es el de la NTP 202.008:1998, en donde se establece el método usual para determinar la densidad relativa de la leche.

##### **c) Determinación de acidez titulable**

La acidez fue expresada como porcentaje de ácido láctico titulado con NaOH 0,1 N, empleando el método volumétrico 16.267 de la AOAC (2000).

##### **d) Determinación del pH**

Las determinaciones de pH en los quesos se realizaron con un electrodo de superficie (Hanna Instruments), calibrado con solución pH 7,0 y 4,0, empleando el método de la AOAC 981.12 (1998).

**e) Determinación de la sinéresis**

La sinéresis se determinó mediante el método descrito por Zambrano (2010), el cual se basa en la pérdida de peso por el suero liberado durante el almacenamiento. Se utiliza la siguiente fórmula:

$$\left( \frac{\text{suero liberado (g)}}{\text{masa de queso (g)}} \right) * 100\%$$

**f) Determinación del color**

Se determinó mediante el sistema CIELab, el cual fue establecido por la Comisión Internacional de L'Eclairage (CIE, 1978). El color se define a partir de las coordenadas denominadas L\*, a\* y b\*. El parámetro L\* indica variación en la luminosidad (variando desde 0% para negro y 100% para blanco), a\* indica del mismo modo variación entre el verde (-a) y rojo (+a), b\* señala variación entre el azul (-b) y el amarillo (+b).

**g) Determinación del grado de hidrólisis**

El grado de hidrólisis enzimática de la lactosa se determinó mediante crioscopia, utilizando la siguiente fórmula recomendada por Sánchez (2011) y Lazo y Verdugo (2011; citados por Rojas *et al.*, 2012)

$$\%GH = \frac{Y - 537}{2.74}$$

Donde:

%GH: es el porcentaje de grado de hidrólisis de la lactosa

Y: es el valor absoluto del punto crioscópico (°H), multiplicado por mil

La dosis de la enzima se especifica en el ANEXO 1

**3.4.2. Análisis reológico**

Se determinó mediante la metodología descrita por Tunick & van Hekken (2010). Las condiciones de trabajo fueron: muestra de 15mm de diámetro por 15mm de altura, compresión al 75% de su altura inicial, velocidad constante de 100 mm. min<sup>-1</sup>.

Los parámetros a medir fueron: dureza (N), elasticidad (mm), gomosidad (g), cohesividad, adhesividad (g.s) y masticabilidad (Nm).

### 3.4.3. Análisis microbiológico

Se determinó la estabilidad microbiológica, Según la Norma Técnica Colombiana NTC 750 (2009), de las muestras de queso fresco a 1 día después de su elaboración, mediante el Recuento de Coliformes Totales (3M, 2003; AOAC 986.33 y 989.10), Mohos y Levaduras (3M, 2003; AOAC 997.02) en placas petrifilm.

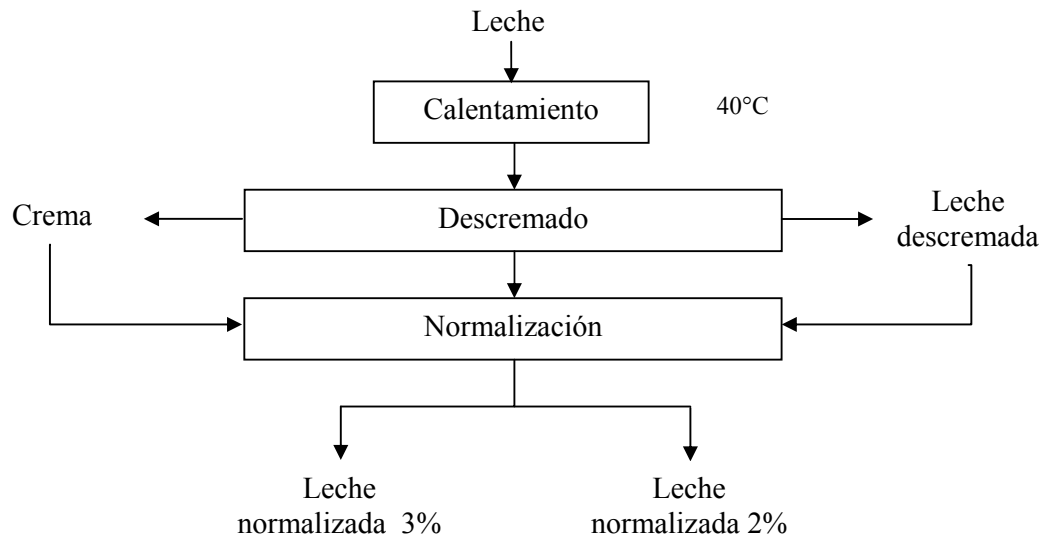
### 3.4.4. Análisis sensorial

Para el análisis sensorial se utilizó una Prueba de Preferencia Pareada con 100 panelistas no entrenados, consumidores de queso fresco. Para la codificación se utilizó una numeración de 3 dígitos al azar. En cada repetición, el orden de las muestras fue cambiado. (Witting, 2001). El formato utilizado para la evaluación se muestra en el ANEXO 2.

## 3.5. Metodología Experimental

### 3.5.1. Normalización de la leche

En la Figura 9 se muestra el flujo de operaciones para normalizar la leche.



**Figura 9: Flujo de operaciones para la normalización de la leche**

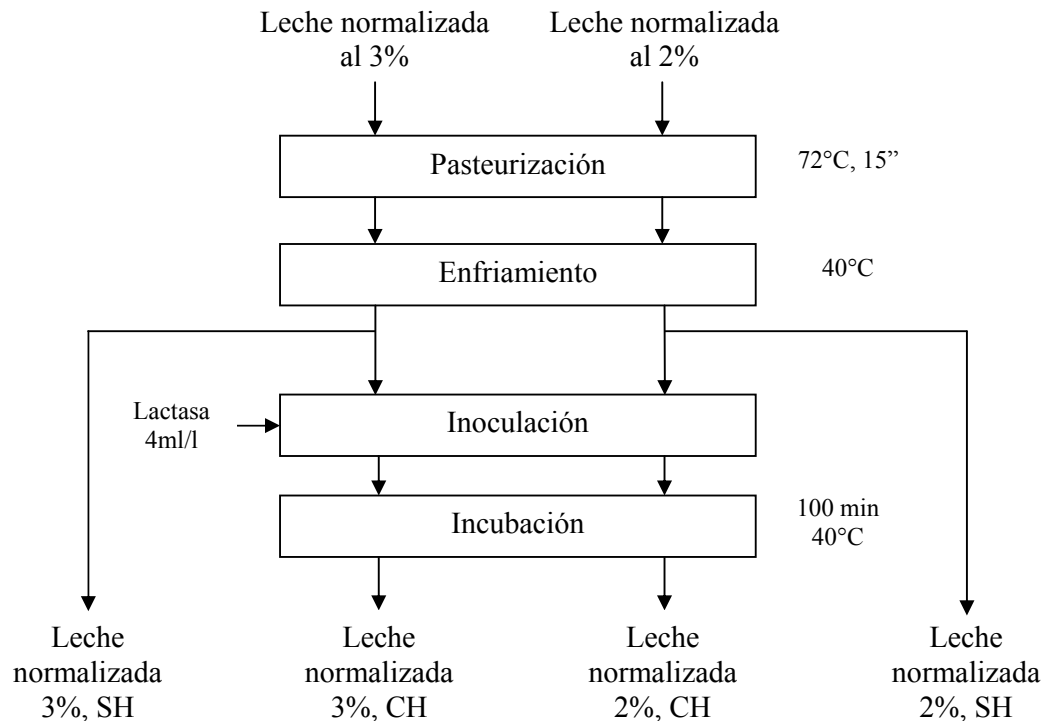
a) **Calentamiento.** La leche se calentó a 40°C para ser descremada.

b) **Descremado.** La leche se colocó en una descremadora eléctrica, la cual separó la crema de la leche a 85 l/hr. Se determinó el contenido graso de la crema y la leche descremada.

c) **Normalizado.** Mediante un balance del contenido graso entre la leche descremada y la crema de leche, se consiguió estandarizar el nivel en 2 y 3%.

### 3.5.2. Hidrólisis enzimática de la lactosa

En la Figura 10 se observa el flujo de operaciones para hidrolizar la lactosa de la leche.



**Figura 10: Flujo de operaciones para la hidrólisis enzimática de la lactosa**

a) **Pasteurización.** El tratamiento térmico de las leches normalizadas al 2 y 3%, fue de 72°C por 15 segundos (HTST).

b) **Enfriamiento.** Luego de la pasteurización se enfrió a 40 °C, temperatura adecuada para realizar la hidrólisis de la lactosa, según la ficha técnica de la enzima. De esta operación se separaron 2 muestras blanco, es decir leche normalizada al 2 y 3% de grasa y sin hidrólisis de la lactosa (SH).

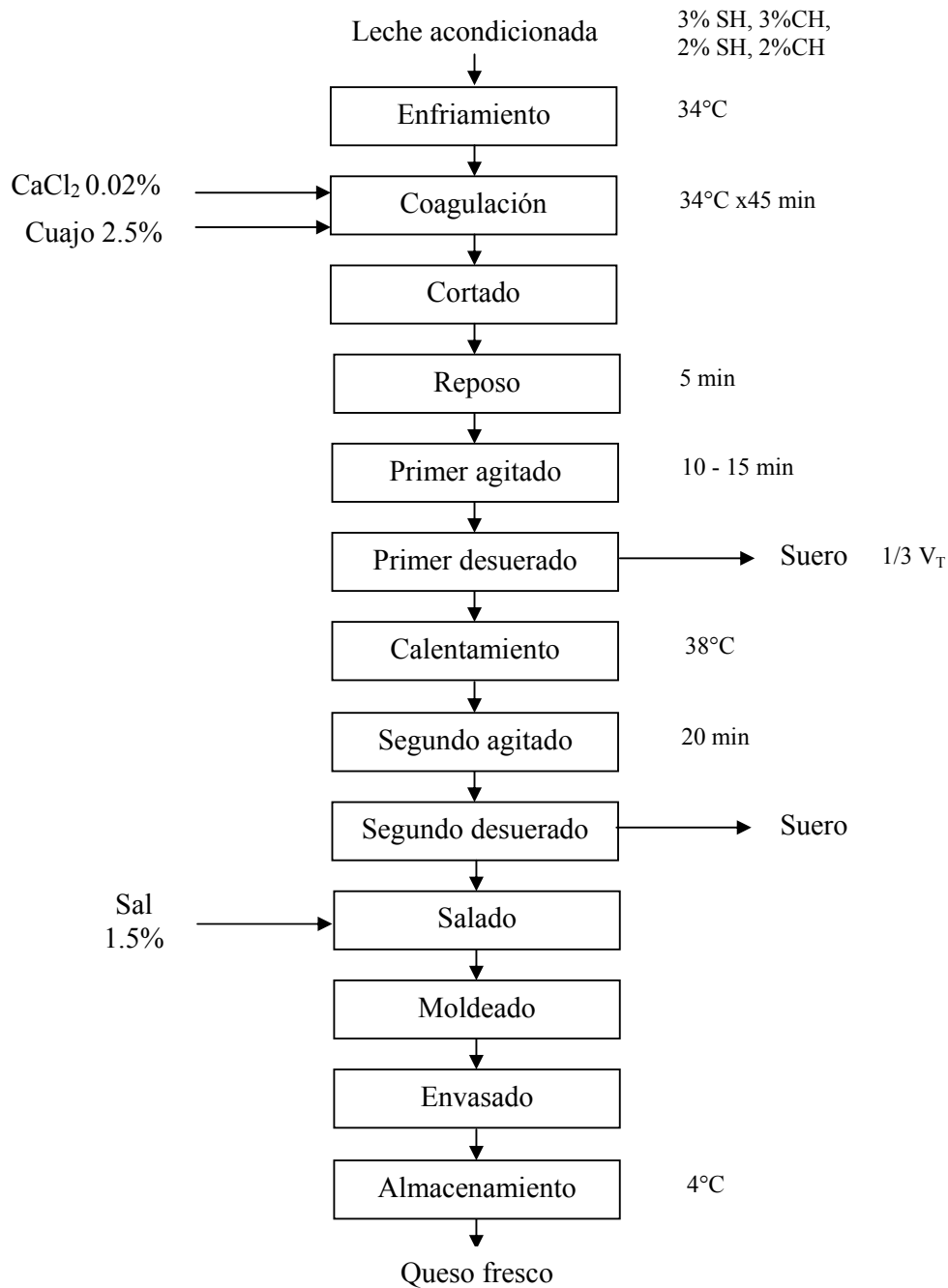
c) **Inoculación.** Se adicionó la enzima Ha- Lactase 3000 L.A.U. a una dosis de 4 ml/L.

d) **Incubación.** Se dejó actuar la enzima por 100 minutos aproximadamente. Se

monitoreó el punto crioscópico de la leche cada 10 minutos hasta que se mantenga constante, momento en el cual finalizó el proceso de hidrólisis. Finalizada esta operación se obtuvieron muestras de leche normalizada en 2 y 3% de grasa y con hidrólisis (CH).

### 3.5.3. Elaboración de queso fresco

En la Figura 11, se muestra el flujo de operaciones para la elaboración de queso fresco.



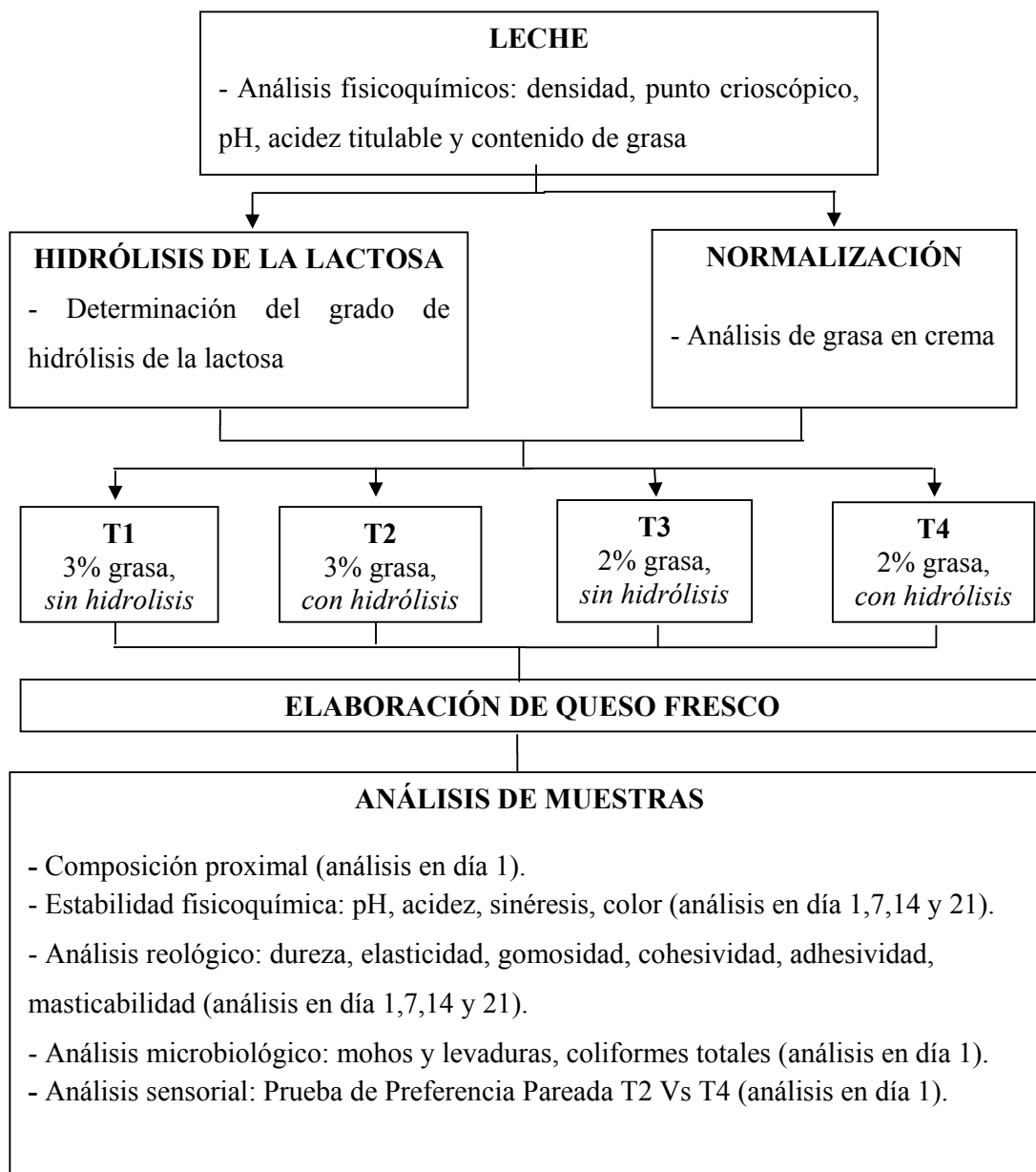
**Figura 11: Flujo de operaciones para la elaboración de queso fresco**

- a) **Enfriamiento.** La leche previamente normalizada al 2 y 3 %, con y sin hidrólisis se, enfrió a 34°C.
- b) **Coagulación.** Se agregó cloruro de calcio (0,02%) y el cuajo (2,5%), dejándolo actuar por 45 minutos aproximadamente.
- c) **Cortado.** Finalizada la coagulación, la cuajada se corta con las liras vertical y horizontal.
- d) **Reposo.** Se dejó reposar la cuajada por 5 minutos, para dejar salir el suero.
- e) **Primer agitado.** Con una pala se agita los granos de cuajada por 10-15 minutos aproximadamente para ayudar a la salida del suero.
- f) **Primer desuerado.** Se retiró la cantidad de suero correspondiente a 1/3 del volumen inicial de leche.
- g) **Calentamiento.** Se calentó la cuajada en la tina quesera hasta alcanzar 38°C.
- h) **Segundo agitado.** Se agitó nuevamente los granos, para ayudar a la expulsión del suero y para endurecer los granos. Este proceso duró aproximadamente 20 minutos.
- i) **Segundo desuerado.** Se retiró el total del suero.
- j) **Salado.** Se agregó sal en una cantidad de 1,5%, la cual fue disuelta en agua pasteurizada y filtrada para separar las impurezas. La salmuera preparada se agrega a los granos y se remueve suavemente.
- k) **Moldeado.** Los granos se colocaron en moldes cuadrículados, dejando desuerar. Luego se voltea el molde para ayudar al desuerado. Los moldes se dejaron en la cámara de refrigeración por 2 horas.
- l) **Envasado.** Los quesos frescos se pesaron y se colocaron en bolsa plásticas.
- m) **Almacenamiento.** Los quesos frescos se dejaron en la cámara de refrigeración por 21 días a 4°C.

### 3.6. Diseño experimental

El presente trabajo se dividió en tres etapas, como se muestra en la Figura 12: Normalización e hidrólisis de la lactosa, elaboración de las muestras experimentales y análisis de las variables respuesta de las muestras experimentales.





**Figura 12: Diseño experimental**

Los factores en estudio fueron: contenido de grasa, con niveles de 2 y 3% y grado de hidrólisis, cuyos niveles fueron *sin hidrólisis* y *con hidrólisis*. Las variables respuestas fueron:

- Estabilidad fisicoquímica: pH, acidez (°D), sinéresis (%), color (a\*, b\* y L\*)
- Reología: dureza (N), elasticidad (mm), gomosis (g), cohesividad, adhesividad (g.s) y masticabilidad (N.m).
- Sensorial: preferencia

### **3.7. Análisis estadístico**

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar en arreglo factorial  $2^2$  y 3 repeticiones, con efecto interactivo del tiempo de almacenamiento, donde se realizó el análisis particular para cada periodo y entre periodos a un  $p < 0,05$ , utilizando el paquete estadístico STATGRAPHICS-Centurión XVII.

Los datos del análisis reológico y estabilidad fisicoquímica, se analizaron por medio de pruebas paramétricas con posterior análisis de comparación de medias. Se empleó ANOVA para determinar significancia y las pruebas de Duncan para la comparación entre tratamientos. Los datos de la evaluación sensorial se analizaron mediante prueba Chi-cuadrada.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Análisis fisicoquímico de la materia prima

En el Cuadro 12 se presentan los resultados de las pruebas fisicoquímicas de la leche y de la crema de leche, a partir de las cuales se elaboraron los tratamientos de queso fresco. Todos los parámetros evaluados cumplen con los requisitos establecidos en la NTP 202.001:2010 y NTP 202.110:2008, excepto el contenido graso en la leche, que es inferior a lo mínimo establecido en 3,2%. Según Alais (2003) la composición de la leche puede variar de acuerdo a la estacionalidad y el tipo de alimentación del ganado vacuno.

**Cuadro 12: Características fisicoquímicas de la leche**

Parámetro	Leche	Leche descremada	Crema de leche
Densidad a 15°C (g/ml)	1,032±0,001	1,036±0,001	-
pH	6,8±0,1	6,7±0,1	6,4±0,2
Acidez (°D)	16±0,5	15±0,2	18±0,2
Punto crioscópico (°C)	-0,5346±0,01	-0,5347	-
Contenido de grasa (g/100g)	3±0,02	0,1	40±0,5

### 4.2. Normalización de la leche

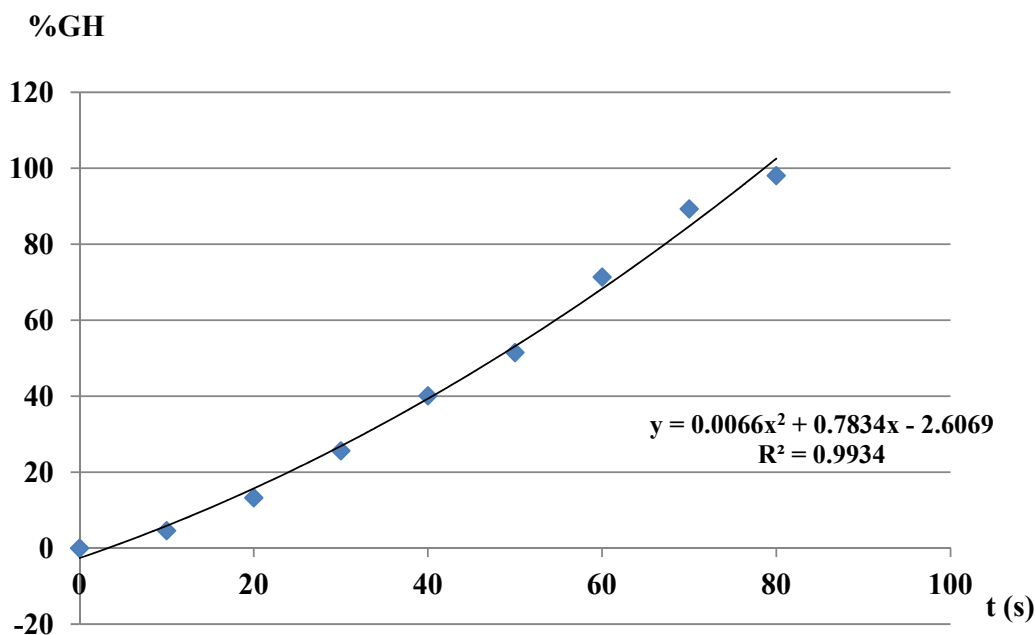
Para la normalización de la leche, se realizó un descremado mecánico mediante el cual se separó la leche descremada y crema de leche, luego se hizo un balance aritmético del contenido graso, para lograr un nivel de grasa en 2 y 3%. En el Cuadro 13 se muestran las cantidades que se mezclaron para normalizar la leche, a partir de un lote de 20 litros, teniendo en cuenta el porcentaje de grasa tanto de la crema como el de la leche descremada. Los cálculos respectivos de dicho balance se encuentran en el ANEXO 3.

**Cuadro 13: Balance del contenido graso para la normalización de la leche**

Normalización	Crema (l)	Leche descremada (l)
Leche normalizada al 3%	1,46	18,54
Leche normalizada al 2%	0,96	19,04

### 4.3. Hidrólisis enzimática de la lactosa

En la Figura 13 se muestra la variación del grado de hidrólisis de la lactosa durante el proceso de hidrólisis enzimática de la leche. Las determinaciones por triplicado se encuentran en el ANEXO 4.



**Figura 13: Grado de hidrólisis Vs tiempo**

El punto crioscópico de la leche desciende a medida que el grado de hidrólisis aumenta, hasta finalizar alrededor de los 80 y 90 minutos de reacción, donde el punto crioscópico se mantiene constante en  $-0.8$  °H, hidrolizando alrededor de 96% de la lactosa según la fórmula brindada por Lazo y Verdugo (2011). De acuerdo a la ecuación cuadrática mostrada en la Figura 13, el 100% de hidrólisis enzimática de la lactosa se lograría en 78.74 minutos en las condiciones ensayadas. Según la Ficha Técnica de la enzima Ha-Lactase 3000 LAU (ANEXO 1), el proceso lograría hidrolizar como mínimo el 80% de la lactosa en 60 minutos, sin embargo este grado se logró alrededor de los 67 minutos.

El Reglamento Técnico Colombiano indica que la leche deslactosada debe tener un punto crioscópico máximo de  $-0.685$  °H para garantizar hasta un 85% de hidrólisis. En las condiciones ensayadas se logró un punto crioscópico mucho más bajo, que indicaría que se ha llegado a un grado de hidrólisis mayor a 85% y por ende cumple con el requisito para ser denominada leche deslactosada así como los productos elaborados con ésta.

El comportamiento cuadrático del proceso enzimático puede deberse quizá a la disminución de la concentración del sustrato o a la inactivación de la enzima por el producto (glucosa y/o galactosa) haciendo el proceso cada vez más lento (Cardona *et al.*, 2010). A la vez durante la incubación de la enzima, la leche puede acidificarse por microorganismos resistentes a la pasteurización haciendo variar el punto crioscópico y por ende el grado de hidrólisis. Según González (2013) la acidificación debida a la fermentación de la lactosa aumenta el descenso crioscópico ya que forman 4 moles de ácido láctico a partir de un mol de lactosa, aumentando los solutos en la solución, por lo que el autor recomienda utilizar método crioscópico en leches frescas con una acidez no mayor de 20 °D.

Se procedió a hidrolizar la lactosa en la leche estandarizada al 2 y 3% de grasa de la misma manera, ya que la grasa y las proteínas no influyen en la variación del punto crioscópico, por no ser solubles en agua (Gil, 2010). Según González (2013), lo que hace variar la crioscopía de la leche son la lactosa, cloruros y otros componentes solubles en agua (tales como calcio, potasio y magnesio) que contribuyen al punto de congelación de la leche en aproximadamente el 55, 25 y 20% respectivamente.

La crioscopía de la leche es uno de los parámetros fisicoquímicos menos variable (-0,550 a -0,530 °H según el Reglamento Técnico de Colombia), pero a pesar de su poca variabilidad puede ser afectada ligeramente por varios factores que generan variación en la composición de la leche tales como la raza, la etapa de lactancia, la temporada y la nutrición del animal. En general, el efecto de la suma de estos factores puede generar variaciones en el orden de  $\pm 0,0169$  °C en el punto de congelación (Heno *et al.*, 2008; citado por González, 2013).

#### **4.4. Composición de los quesos frescos**

En el Cuadro 14 se presentan los valores obtenidos del análisis proximal de los tratamientos T1, T2, T3 y T4, realizado en muestras de queso fresco con 1 día de almacenamiento en refrigeración a 4 °C.

De acuerdo a la NTP 202.193 (2010) los quesos elaborados con leche al 3% de grasa (T1 y T2), estarían clasificados como quesos frescos grasos, y los quesos elaborados con leche al 2% de grasa (T3 y T4), como quesos frescos semigrasos, debido a que su contenido de grasa se encuentra entre 45 a 60 % y entre 25 a 45% respectivamente.

**Cuadro 14: Composición química de los tratamientos de queso fresco**

<b>Tratamiento</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Grasa (% b.s.)</b>	<b>Proteínas (% b.s.)</b>	<b>Cenizas (% b.s.)</b>	<b>Carbohidratos (%b.s.)</b>
T1	52,69	51,36	38,45	6,15	1,84
T2	52,39	51,67	39,13	6,13	3,07
T3	69,06	30,25	57,60	10,31	4,04
T4	62,68	36,09	49,71	8,23	5,98

Los quesos frescos semigrasos (T3 y T4) mostraron mayor contenido de humedad, proteínas, cenizas y carbohidratos que los quesos frescos grasos (T1 y T2), como consecuencia de la disminución porcentual de su contenido graso. Resultados similares se obtuvieron con el queso panela bajo en grasa, el cual presentó una humedad de 65,1% y 56,7% de proteínas de (Lobato- Calleros *et al*, 2009), mientras que la humedad del Queso Fresco sin reducción de grasa, estuvo entre 46 a 57% y 40,82% de proteínas (Van Hekken y Farkye, 2003). Asimismo el contenido de cenizas encontrado varía de 6,14% en los quesos frescos grasos hasta 9,27% en quesos semigrasos, valores cercanos al contenido en el queso Oaxaca de 6,3 a 7,7% (García-Isalas, 2006; citado por Ramírez y Vélez, 2012).

La Norma Técnica Peruana 202.195 (2004), especifica como requisitos fisicoquímicos del queso fresco, que el contenido de grasa sea mayor a 40% si está elaborado con leche entera y mayor a 15% si está elaborado con leche parcialmente descremada; en ambos casos con una humedad mayor a 46%, siendo estos requisitos cumplidos en los 4 tratamientos en estudio.

#### **4.5. Estabilidad fisicoquímica**

Los quesos frescos se mantuvieron en almacenamiento a 4°C por 21 días, durante el cual se controló su estabilidad midiendo semanalmente pH, acidez, sinéresis y color.

##### **4.5.1. Evaluación del pH**

En el Cuadro 15 se muestra los valores de pH de los quesos frescos en estudio, durante 21 días de almacenamiento, el análisis estadístico se encuentra en el ANEXO 5.

El pH promedio de los 4 tratamientos de quesos frescos con 1 y 7 días de almacenamiento, fue cercano a lo publicado por Tunick *et al.*(2012), quien obtuvo para el Queso Fresco un pH de 6,39, en la primera semana de almacenamiento a 4°C. Mientras que hacia el final del

**Cuadro 15: Evaluación del pH durante el almacenamiento**

	TIEMPO (días)	TRATAMIENTOS			
		T1	T2	T3	T4
pH	1	6,68 ± 0,26 <sup>bc</sup>	6,26 ± 0,06 <sup>bd</sup>	6,24 ± 0,13 <sup>ac</sup>	6,41 ± 0,19 <sup>abc</sup>
	7	6,24 ± 0,16 <sup>abB</sup>	6,13 ± 0,04 <sup>abC</sup>	6,13 ± 0,23 <sup>bb</sup>	5,98 ± 0,08 <sup>ab</sup>
	14	5,86 ± 0,08 <sup>abB</sup>	5,90 ± 0,03 <sup>bb</sup>	5,64 ± 0,15 <sup>aA</sup>	5,76 ± 0,19 <sup>abB</sup>
	21	5,37 ± 0,10 <sup>aA</sup>	5,38 ± 0,04 <sup>aA</sup>	5,48 ± 0,30 <sup>aA</sup>	5,42 ± 0,22 <sup>aA</sup>

<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras en una misma fila indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A, B, C</sup> Valores con diferentes letras en una misma columna indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

tiempo de almacenamiento, el pH de los 4 tratamientos fue disminuyendo significativamente ( $p < 0,05$ ) hasta valores alrededor de 5, los cuales concuerdan con Pastorino *et al.* (2003). Algunas de las causas de este descenso en el pH, se atribuyen al crecimiento de bacterias sobrevivientes a la pasteurización y/o por la contaminación cruzada en la elaboración y almacenaje del mismo. García (2006), afirma que pH bajos de la cuajada promueve la solubilización de fosfato cálcico de la misma y acerca a las caseínas a su punto isoelectrico por lo que se afectan considerablemente las propiedades funcionales.

Entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2) y semigrasos (T3 Vs T4), el pH de los tratamientos *sin hidrólisis* (T1 y T3) no se diferenciaron significativamente de los tratamientos *con hidrólisis* (T2 y T4) respectivamente ( $p > 0,05$ ).

Negri (2005) afirma que los valores de pH que toman los quesos frescos recién elaborados, se debe a las caseínas, fosfatos, sales minerales y ácidos orgánicos, sin embargo el pH puede variar además por la contaminación microbiana. Es en este punto donde la hidrólisis enzimática de la lactosa podría influir indirectamente en la variación del pH del queso fresco durante el tiempo de almacenamiento, ya que según Reinheimer y Zalazar (2006), y Vicaria (2002), mencionan que debido a la hidrólisis se forman glucosa y galactosa, monosacáridos fácilmente digeribles por los microorganismos. Es así donde la hidrólisis puede ser beneficiosa en la elaboración de quesos madurados, ya que podría acelerar su maduración (Reinheimer y Zalazar, 2006), mientras que en el caso de quesos frescos, que no llevan cultivo iniciador, podría acelerar su degradación.

Por otro lado la reducción del contenido graso afectó el pH de los tratamientos *sin*

*hidrólisis*, en donde el pH del queso fresco semigraso (T3) presentó menor pH que el queso fresco graso (T1) ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, entre los tratamientos *con hidrólisis*, no se presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). De acuerdo a lo resultados, Guaraca (2008) encontró que el queso Zamodelfia elaborado con leche al 5% de grasa presentó menor pH que el elaborado con leche al 7%, según el autor al reducirse el contenido graso, los azúcares del suero se encuentran más expuestos a la contaminación microbiana formándose así ácido láctico resultando en una disminución del pH.

#### 4.5.2. Evaluación de la acidez

En el Cuadro 16 se presentan los resultados de la acidez evaluados durante el tiempo de almacenamiento. Del análisis estadístico (ANEXO 6) se dedujo que entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2) y semigrasos (T3 Vs T4), la acidez de los tratamientos *sin hidrólisis* (T1 y T3) no se diferencian significativamente de los tratamientos *con hidrólisis* (T2 y T4) respectivamente ( $p > 0,05$ ). Sin embargo la reducción del contenido graso si afectó la acidez de los quesos frescos *sin hidrólisis*, en donde el queso semigraso (T3) presentó mayor acidez que el queso fresco graso (T1) ( $p < 0,05$ ).

**Cuadro 16: Evaluación de acidez durante el almacenamiento**

	TIEMPO (días)	TRATAMIENTOS			
		T1	T2	T3	T4
Acidez (°D)	1	0.107 ± 0.003 <sup>aA</sup>	0.111 ± 0.003 <sup>abA</sup>	0.113 ± 0.001 <sup>bA</sup>	0.111 ± 0.003 <sup>abA</sup>
	7	0.127 ± 0.005 <sup>aB</sup>	0.125 ± 0.003 <sup>aB</sup>	0.129 ± 0.003 <sup>aB</sup>	0.126 ± 0.006 <sup>aB</sup>
	14	0.160 ± 0.007 <sup>abC</sup>	0.157 ± 0.002 <sup>aC</sup>	0.165 ± 0.002 <sup>abC</sup>	0.167 ± 0.005 <sup>bC</sup>
	21	0.183 ± 0.003 <sup>aD</sup>	0.187 ± 0.004 <sup>aD</sup>	0.189 ± 0.006 <sup>aD</sup>	0.188 ± 0.005 <sup>aD</sup>

<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras en una misma fila indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A, B, C, D</sup> Valores con diferentes letras en una misma columna indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

Como se puede observar en el Cuadro 15 y 16, al comparar los tratamientos dentro de un mismo día de almacenamiento, los valores de la acidez no se relacionan estadísticamente con los de pH, a pesar de que entre ellos exista una relación indirecta. Según Negri (2005), el pH y la acidez por titulación son dos medidas no estrictamente asociadas, ya que el pH mide la acidez actual, mientras que la acidez titulable mide la acidez actual y la potencial. La acidez actual representa a los grupos H<sup>+</sup> libres, mientras que la acidez potencial incluye



todos aquellos componentes que por medio de la titulación liberan grupos H<sup>+</sup> al medio.

Para la primera semana de almacenamiento la acidez de los tratamientos en estudio bordean los 0.09% de ácido láctico, ya que estos tipos de quesos, no llevan cultivo iniciador. A los 21 días de almacenamiento los quesos presentaron una acidez alrededor de 0.17 % de ácido láctico. La NTP 202.95 permite que los quesos frescos elaborados con leche entera como descremada, una acidez máxima de 0.65% de ácido láctico. Como se mencionó anteriormente el aumento de la acidez, debe ser probablemente por bacterias resistentes a la pasteurización o por contaminación cruzada, asimismo por la contribución indirecta de la hidrólisis enzimática de la lactosa en la proliferación de la contaminación microbiana; de igual manera se cumple con el requisito de la NTP.

Pinho *et al.* (2004), afirman que la acidez es un factor que no sólo tiene incidencia sobre el sabor, sino también directamente en los cambios que experimenta la red proteica del queso, teniendo ésta una correlación directa con los fenómenos de la sinéresis y reología final.

#### 4.5.3. Evaluación de la sinéresis

En el Cuadro 17 se muestran los valores de sinéresis expresados en porcentaje para los 4 tratamientos, durante el almacenamiento. Del análisis estadístico (ANEXO 7) se dedujo que en el día 7, entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2) el tratamiento *con hidrólisis* (T2) presentó menor sinéresis que el tratamiento *sin hidrólisis* (T1), sin embargo entre los quesos frescos semigrasos (T3 Vs T4) la sinéresis del tratamiento *con hidrólisis* (T4) fue mayor que del tratamiento *sin hidrólisis* (T3) ( $p < 0,05$ ).

**Cuadro 17: Evaluación de la sinéresis durante el almacenamiento**

	TIEMPO (días)	TRATAMIENTOS			
		T1	T2	T3	T4
Sinéresis (%)	1	-	-	-	-
	7	10,67±0,30 <sup>dA</sup>	4,01±0,32 <sup>cA</sup>	1,00±0,18 <sup>aA</sup>	3,05±0,03 <sup>bA</sup>
	14	16,27±1,29 <sup>dB</sup>	9,49±1,10 <sup>bB</sup>	4,71±0,87 <sup>aB</sup>	12,0 ±0,83 <sup>cB</sup>
	21	17,69±1,38 <sup>cB</sup>	14,27±0,34 <sup>bC</sup>	8,97±0,62 <sup>aC</sup>	17,87±0,97 <sup>cC</sup>

<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras en una misma fila indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A, B, C, D</sup> Valores con diferentes letras en una misma columna indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

Por otro lado la reducción del contenido graso afectó el grado de sinéresis de los quesos frescos, en los cuales los queso frescos grasos (T1 y T2) presentaron mayor sinéresis que los semigrasos (T3 y T4) ( $p < 0,05$ ). Al respecto Wilbey (2007), citado por Chacón y Pineda (2009), afirma que la grasa actúa como una material de relleno en la matriz proteica, haciendo que ésta sea más porosa cuanto más reducido sea el contenido graso, obteniéndose quesos duros con menos sinéresis durante su almacenamiento.

De acuerdo con el autor, esta condición solamente se cumplió en los tratamientos *sin hidrólisis* en estudio, mientras que en los tratamientos *con hidrólisis* no se cumplió probablemente por el proceso enzimático que involucra la hidrólisis de la lactosa ya que la lactosa, como molécula, no es parte estructural de la red proteica, por ser soluble en el agua y liberarse con el desuerado (Vicaria, 2002). Walstra (1990), citado por Ramírez y Vélez (2012) afirma que la sinéresis se ve afectada además por circunstancias propias del proceso de elaboración y por la presencia de calcio libre, el cual provoca la unión de la caseína en la red proteica de la cuajada.

El queso fresco *con hidrólisis* (T4) presentó una sinéresis en la primera semana de almacenamiento de 3,05%, acorde con lo presentado por Zambrano (2010) quien elaboró queso fresco con leche al 2,6% de grasa, el cual presentó 3,37% de sinéresis en 7 días de almacenamiento. Luego de 14 días de almacenamiento, el porcentaje de sinéresis del T2 (9,49%), coincide con lo estudiado por Ochoa *et al.* (2013), para el queso panela elaborado con leche al 3% de grasa, el cual presentó una sinéresis de 9.8 % luego de 15 días de almacenamiento. Asimismo, en todos los tratamientos estudiados el grado de sinéresis aumentó significativamente hacia el final del tiempo de almacenaje con respecto al primer día ( $p < 0,05$ ). Lobato-Calleros *et al.* (2007) afirma que el queso fresco es un sistema metaestable que sufre con el tiempo, cambios marcados en su contenido de humedad y rendimiento.

Como se puede observar en el Cuadro 15, 16 y 17, los grados de sinéresis de los 4 tratamientos en estudio, presentaron una relación directa con la acidez e indirecta con el pH. Lu *et al.* (2008) y Zambrano (2010) mencionan que cuando el pH es más alto, las caseínas presentan carga negativa, lo que genera repulsión entre agregados proteicos, generando un queso con mayor humedad. Mientras que al disminuir el pH (incrementa la acidez), mayor número de iones  $H^+$  se concentran en el producto, provocando fuerzas iónicas e hidrófobas entre micelas de caseínas, provocando el desuerado.

#### 4.5.4. Evaluación del color

El Cuadro 18 presenta los valores obtenidos para las coordenadas L\*a\*b que caracterizan el color de las cuales L\* define la luminosidad, a\* la coloración verde y b\* la coloración amarilla. El análisis estadístico se encuentra en el ANEXO 8.

**Cuadro 18: Evaluación del color durante almacenamiento**

COLOR	TIEMPO	TRATAMIENTOS			
		T1	T2	T3	T4
a*	1	-1,72 ± 0,23 <sup>bcA</sup>	-1,85 ± 0,14 <sup>cA</sup>	-1,14 ± 0,06 <sup>abA</sup>	-1,02 ± 0,05 <sup>aA</sup>
	7	-1,97 ± 0,05 <sup>bB</sup>	-1,87 ± 0,09 <sup>bA</sup>	-1,45 ± 0,06 <sup>aAB</sup>	-1,40 ± 0,07 <sup>aA</sup>
	14	-2,05 ± 0,05 <sup>bB</sup>	-1,90 ± 0,28 <sup>abB</sup>	-1,62 ± 0,16 <sup>ab</sup>	-1,93 ± 0,43 <sup>bA</sup>
	21	-1,93 ± 0,02 <sup>abB</sup>	-1,82 ± 0,13 <sup>ab</sup>	-1,95 ± 0,17 <sup>abAB</sup>	-2,05 ± 0,05 <sup>bA</sup>
b*	1	9,76 ± 0,66 <sup>bA</sup>	8,74 ± 0,40 <sup>aA</sup>	8,77 ± 0,24 <sup>aA</sup>	8,51 ± 0,42 <sup>aA</sup>
	7	11,40 ± 0,21 <sup>bC</sup>	10,87 ± 0,43 <sup>bC</sup>	10,87 ± 0,38 <sup>bA</sup>	8,38 ± 0,12 <sup>aA</sup>
	14	9,72 ± 0,28 <sup>aB</sup>	9,81 ± 0,16 <sup>ab</sup>	11,62 ± 0,47 <sup>cA</sup>	10,83 ± 0,55 <sup>bB</sup>
	21	9,30 ± 0,21 <sup>bB</sup>	11,19 ± 0,56 <sup>cC</sup>	9,87 ± 0,17 <sup>bA</sup>	8,34 ± 0,23 <sup>aA</sup>
L*	1	87,04 ± 0,27 <sup>aA</sup>	88,82 ± 0,25 <sup>bA</sup>	87,12 ± 0,28 <sup>abA</sup>	87,02 ± 0,27 <sup>aA</sup>
	7	87,67 ± 0,77 <sup>aA</sup>	88,49 ± 0,53 <sup>abA</sup>	88,19 ± 0,64 <sup>abA</sup>	89,02 ± 0,19 <sup>bA</sup>
	14	87,42 ± 0,55 <sup>abA</sup>	88,05 ± 0,64 <sup>abA</sup>	87,14 ± 0,82 <sup>aA</sup>	88,55 ± 0,63 <sup>bA</sup>
	21	88,00 ± 0,94 <sup>aA</sup>	87,89 ± 0,74 <sup>aA</sup>	88,21 ± 0,36 <sup>aA</sup>	88,65 ± 0,09 <sup>aA</sup>

<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras en una misma fila indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A, B, C</sup> Valores con diferentes letras en una misma columna indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

Para el primer día de almacenamiento, la coloración verdosa de los tratamientos *con hidrólisis* no se diferenciaron significativamente de los tratamientos *sin hidrólisis* ( $p > 0,05$ ), tanto entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2) como semigrasos (T3VsT4) respectivamente. Sin embargo, la reducción del contenido graso afectó la coloración verdosa de los tratamientos *con hidrólisis* (T2 Vs T4), en donde el queso fresco graso (T2) presentó mayor coloración verdosa que el queso fresco semigraso (T4) ( $p < 0,05$ ), mientras que en los tratamientos *sin hidrólisis* (T1 Vs T3) no se diferenciaron significativamente ( $p > 0,05$ ). Álvarez *et al.* (2007), asegura que esta coloración verdosa casi imperceptible se debe al color característico del suero.

Entre los días de almacenamiento, la coloración verdosa fue aumentando

significativamente ( $p < 0,05$ ) en los tratamientos de quesos frescos grasos (T1 y T2), sin embargo en los tratamientos de quesos frescos semigrasos (T3 y T4) no varió significativamente ( $p > 0,05$ ). Esto debido quizá a la mayor sinéresis de los quesos grasos con respecto a los quesos semigrasos, haciendo que la coloración verdosa se acentúe durante el tiempo de almacenaje.

Entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2) la coloración amarilla del tratamiento *con hidrólisis* (T2) es menor al tratamiento *sin hidrólisis* (T1) ( $p < 0,05$ ), mientras que entre los quesos frescos semigrasos (T3 Vs T4) no existieron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Además la reducción del contenido graso afectó la coloración amarilla de los tratamientos *sin hidrólisis* (T1 Vs T3), en donde el queso fresco graso (T1) presentó mayor coloración amarilla que el queso fresco semigraso (T3) ( $p < 0,05$ ). Según Carpino *et al.* (2004), el color amarillento del queso depende principalmente de las propiedades cromáticas de la grasa de la leche de partida y de la cantidad de grasa en el queso ya que la concentración de carotenos de la grasa es la que condiciona su color, además esta coloración se acentúa con la maduración del queso.

En el primer día de almacenamiento entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2), el tratamiento *con hidrólisis* (T2) presentó mayor luminosidad que el tratamiento *sin hidrólisis* (T1) ( $p < 0,05$ ), mientras que entre los quesos frescos semigrasos (T3 Vs T4) no se presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Asimismo la reducción del contenido graso afectó la luminosidad de los tratamientos *con hidrólisis* (T2 Vs T4), en donde el queso fresco graso (T2) presentó mayor luminosidad que el queso fresco semigraso (T4) ( $p < 0,05$ ). Álvarez *et al.* (2007) mencionan que la luminosidad del queso depende de la humedad que contenga, es así que los quesos frescos grasos por retener mayor cantidad de suero son más luminosos que los quesos frescos semigrasos, quienes por la reducción del contenido graso retienen menos suero y son más opacos.

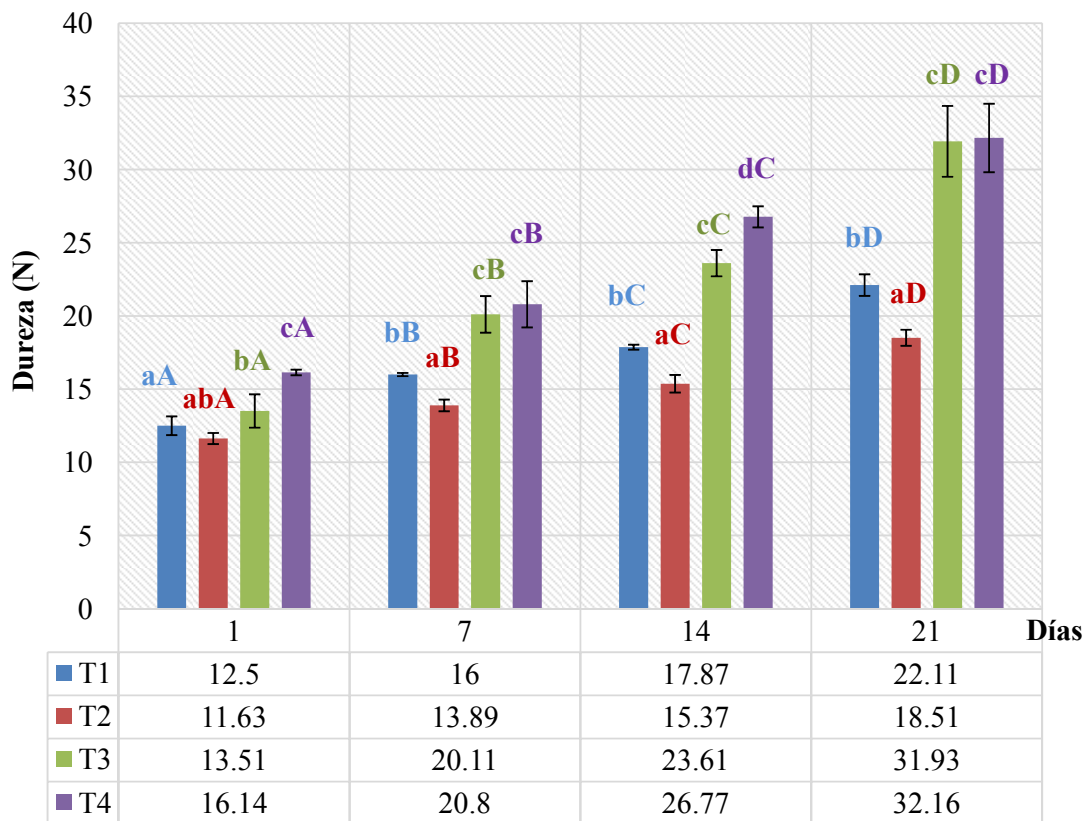
#### **4.6. Evaluación de la reología: Análisis de Perfil de Textura (TPA)**

Los valores de los parámetros reológicos fueron hallados mediante una metodología estandarizada descrita por Tunick & Van Hekken (2010). Los resultados obtenidos en este estudio han sido comparados con aquellos encontrados en las mismas condiciones de medición debido a que Bourne (2002) afirma que al ser una determinación instrumental de la reología, la metodología utilizada influye en los resultados.

En el caso de la cohesividad y la elasticidad, son los únicos parámetros reológicos cuyos valores han sido comparados a los obtenidos en otros estudios en condiciones experimentales diferentes, ya que según Chacón y Pineda (2009), la cohesividad es adimensional y la elasticidad puede transformarse en un valor relativo como porcentaje de recuperación con respecto a la altura original.

#### 4.6.1. Efecto sobre la dureza

En la Figura 14 se muestra la dureza de los 4 tratamientos en estudio durante los 21 días de almacenamiento, el análisis estadístico se muestra en el ANEXO 9.



<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A, B, C</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

**Figura 14: Evaluación de la dureza durante el almacenamiento**

La dureza de los 4 tratamientos de quesos frescos con un día de almacenamiento, son similares a los encontrados en el Queso Fresco caracterizado reológicamente por Tunick *et*

*al.* (2012) cuya dureza es 14N, mientras que para el Queso Fresco Mexicano es 13.1 N (Tunick & Van Hekken, 2010).

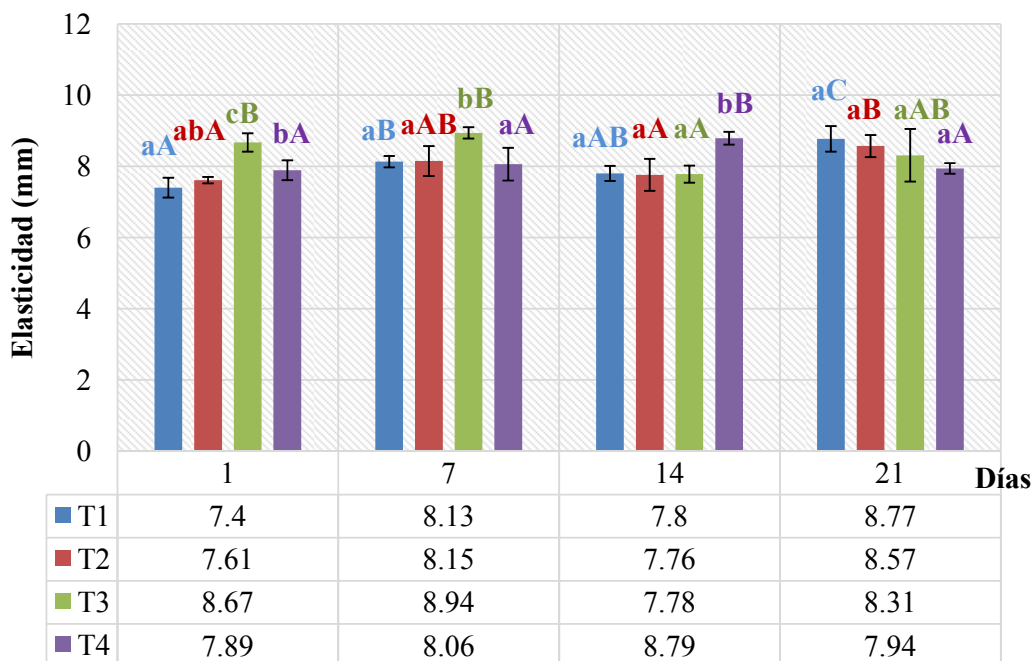
Según el análisis estadístico en el primer día de almacenamiento, entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2) la dureza del tratamiento *sin hidrólisis* (T1) no se diferenció significativamente del tratamiento *con hidrólisis* (T2) ( $p > 0,05$ ). Sin embargo entre los quesos frescos semigrasos (T3 Vs T4) el tratamiento *con hidrólisis* (T4) presentó mayor dureza que el tratamiento *sin hidrólisis* (T3). Según el análisis estadístico el efecto de la hidrólisis enzimática de la lactosa en la dureza de los quesos frescos analizados dependería del contenido graso de los mismos.

Asimismo, la reducción del contenido graso aumentó la dureza de los tratamientos ya que los quesos frescos semigrasos (T3 y T4) presentaron mayores valores de dureza que los quesos frescos grasos (T1 y T2) *sin hidrólisis* y *con hidrólisis* respectivamente ( $p < 0,05$ ). Según Mistry (2001), citado por Guaraca (2008), cuando se reduce el contenido graso, los quesos tienen una inadecuada degradación de la caseína y por lo tanto obtiene una textura relativamente más firme. Castañeda (2002) además afirma que un incremento en la materia grasa y contenido de agua, debilitan la estructura proteica haciendo que el queso sea blando, mientras que una disminución de los mismos provoca un endurecimiento en el queso. Es así que la diferencia en la dureza de los quesos estudiados no sólo se debe a la reducción del contenido de grasa, sino además a la pérdida de suero (sinéresis), por lo que la dureza de los 4 tratamientos aumentaron significativamente ( $p < 0,05$ ) hacia el final del tiempo de almacenamiento, con respecto al primer día.

Como se mencionó anteriormente, la acidez y el pH, son parámetros que afectan la estructura proteica de la cuajada, por lo que también afectaría la reología del queso. Lu *et al.* (2008) mencionan que una alta acidez del queso (bajo pH) aumenta la sinéresis de la cuajada, ocasionando con ello menor humedad y por lo tanto mayor dureza. Este comportamiento se observó durante el tiempo de almacenamiento, en donde en los quesos frescos en estudio aumentaba su acidez, disminuía su pH y con ello aumentaba el grado de sinéresis, lo que originó un aumento progresivo y significativo en la dureza.

#### **4.6.2. Efecto sobre la elasticidad**

La Figura 15 muestra los resultados de la elasticidad de los 4 tratamientos de queso fresco durante los 21 días de almacenamiento, el análisis estadístico se muestra en el ANEXO 10.



<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A, B, C</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

**Figura 15: Evaluación de la elasticidad durante el almacenamiento**

En general en el primer día de almacenamiento, los 4 tratamientos de quesos frescos mostraron una alta elasticidad ya que lograron recuperar en promedio 52.6% de su altura original luego de la primera compresión. Esto implica que, a pesar de tratarse de un queso blando, con alto contenido de humedad, y estructura aparentemente frágil, es más elástico que el queso Edam que recupera alrededor del 30% de su altura inicial (Osorio *et al.*, 2004) y cercano al queso Panela con 51% (Lobato-Calleros *et al.*, 2009) y al queso mozzarella con 52% (Rudan *et al.*, 1999; citado por Chacón y Pineda, 2009).

Según el análisis estadístico, la influencia de la hidrólisis enzimática de la lactosa en la elasticidad dependería del contenido graso del queso fresco, ya que entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2), la elasticidad del tratamiento *con hidrólisis* (T2) no se diferenció significativamente del tratamiento *sin hidrólisis* (T1) ( $p > 0,05$ ). Mientras que entre los quesos frescos semigrasos (T3 Vs T4), la elasticidad del tratamiento *con hidrólisis* (T4) presentó menor elasticidad que el tratamiento *sin hidrólisis* (T3) ( $p < 0,05$ ).

Por otro lado, la reducción del contenido graso aumentó la elasticidad en los tratamientos *sin hidrólisis* (T1 Vs T3), en donde el queso fresco semigraso (T3) presentó mayor elasticidad que el queso fresco graso (T1) ( $p < 0,05$ ). Mientras que entre los tratamientos *con hidrólisis* (T2 Vs T4) no se presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).

Contrariamente a los resultados Wilbey (2007), citado por Chacón y Pineda (2009), afirma que la grasa como material de relleno de la matriz proteica, otorga cuando está presente en alto porcentaje, mayor elasticidad y menor firmeza, mientras que cuando su porcentaje disminuye se obtienen quesos más duros y rígidos. Sin embargo Chen *et al.* (1979), citados por Lobato-Calleros *et al.* (2009) concluyeron que la elasticidad está correlacionada principalmente con la proteína presente en el queso y no con sus contenidos de grasa y humedad. Guinee y Kilcawley (2004) mencionan que la disminución del contenido de grasa aumenta la fracción proteica en los quesos, por lo que existe un mayor entrecruzamiento de filamentos de caseínas, ocasionando un aumento de la firmeza y elasticidad del mismo. Al respecto el tratamiento de queso fresco semigraso (T3) presentó mayor contenido de proteínas y mayor elasticidad que el tratamiento de queso fresco graso (T1) coincidiendo con lo dicho por los autores anteriormente.

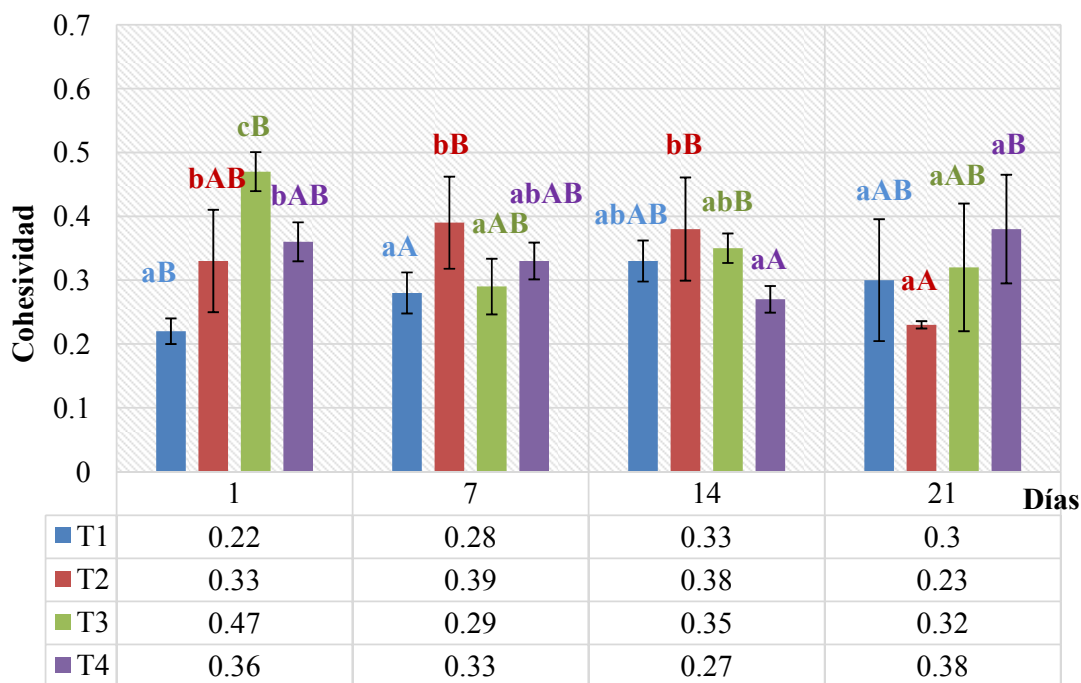
A los 21 días de almacenamiento la elasticidad de los quesos grasos *sin hidrólisis* (T1) y *con hidrólisis* (T2) aumentaron significativamente, con respecto al primer día ( $p < 0,05$ ), mientras que en los quesos frescos semigrasos, no avarió significativamente ( $p > 0,05$ ), excepto en el día 14.

#### **4.6.3. Efecto sobre la cohesividad**

La Figura 16 muestra los valores de cohesividad de los 4 tratamientos de quesos frescos durante 21 días de almacenamiento, el análisis estadístico se muestra en el ANEXO 11.

En general en el primer día de almacenamiento, los quesos frescos en estudio presentaron una cohesividad promedio de 0,35, siendo estos quesos menos cohesivos que el Mozzarella elaborado con leche al 5% de grasa y tres días de almacenamiento cuya cohesividad es de 0,71 (Ruddan *et al.*, 1999; citados por Chacón y Pineda, 2009); y que el queso Panela graso y semigraso, con tres días de almacenamiento, cuya cohesividad es de 0,8 (Lobato-Calleros, 2009). Sin embargo son más cohesivo que el queso Edam con 30 días de maduración, cuya cohesividad es 0,24 (Osorio *et al.*, 2004).





<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A,B,C</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

**Figura 16: Evaluación de la cohesividad durante el almacenamiento**

Según el análisis estadístico en el día 1, la influencia de la hidrólisis enzimática de la lactosa en la cohesividad, depende del contenido graso y del tiempo de almacenamiento del queso fresco, es así que en el día 1 entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2) el tratamiento *con hidrólisis* (T2) presentó mayor cohesividad que el tratamiento *sin hidrólisis* (T1) ( $p < 0,05$ ). Mientras que entre los quesos frescos semigrasos (T3 Vs T4) el tratamiento *con hidrólisis* (T4) presentó un comportamiento opuesto ( $p < 0,05$ ).

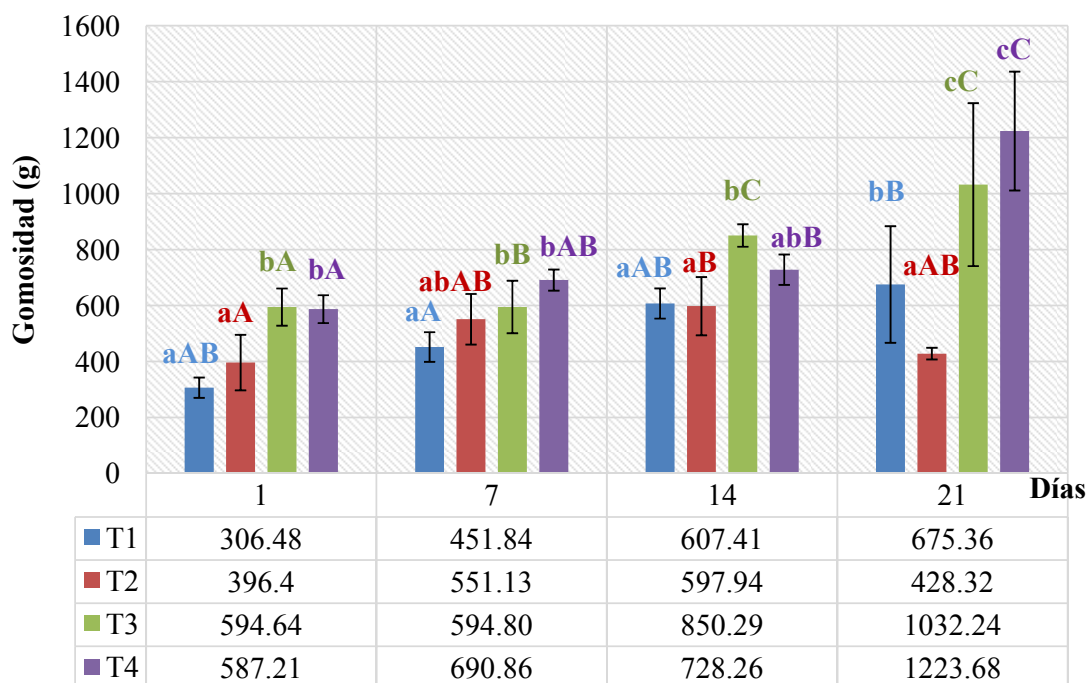
Por otro lado, la influencia del contenido graso en la cohesividad, dependería del tiempo de almacenamiento del queso fresco, ya que para el día 1 se encontró que entre los tratamientos *sin hidrólisis* (T1 Vs T3), el queso fresco semigraso (T3) presentó mayor cohesividad que el queso fresco graso (T1) ( $p < 0,05$ ), mientras que entre los tratamientos *con hidrólisis* (T2 Vs T4) no se presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). De acuerdo con los resultados Álvarez *et al.* (2007) afirman que cuando la humedad aumenta y el contenido graso disminuye, la cohesividad aumenta, ya que la fuerza ejercida por los

enlaces internos del queso es mayor.

Debido a la pérdida de humedad por la sinéresis originada durante el almacenamiento, se esperaba que la cohesividad de los tratamientos disminuyera (Álvarez *et al.*, 2007), sin embargo, sólo sucedió en los quesos frescos grasos, en donde en el tratamiento *sin hidrólisis* (T1) disminuyó su cohesividad en la primera semana, mientras que en el tratamiento *con hidrólisis* (T2) aumentó hasta el día 14, para luego disminuir significativamente ( $p < 0,05$ ). En los quesos frescos semigrasos la cohesividad no varió significativamente ( $p > 0,05$ ), quizá debido al menor grado de sinéresis que presentaron este tipo de quesos ocasionado por la reducción de grasa.

#### 4.6.4. Efecto sobre la gomosidad

La Figura 17 muestra los valores de gomosidad de los 4 tratamientos de queso fresco durante 21 días de almacenamiento, el análisis estadístico se muestra en el ANEXO 12.



<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A, B, C</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

**Figura 17: Evaluación de la gomosidad durante el almacenamiento**

Los 4 tratamientos de queso fresco presentaron una gomosidad de 471,18 g mayor que el Queso Fresco Mexicano con 327.5 g (Tunick y Van Hekken, 2010) y que el Queso Fresco caracterizado por Tunick *et al.* (2012) con tan solo 282 g.

En el primer día de almacenamiento no se encontró influencia de la hidrólisis enzimática de la lactosa en la gomosidad, ya que entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2) y semigrasos (T3 Vs T4), la gomosidad no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos *con hidrólisis* y *sin hidrólisis* ( $p > 0,05$ ).

Por otro lado, la reducción del contenido graso aumentó la gomosidad de los quesos frescos semigrasos (T3 y T4), ya que presentaron mayor gomosidad que los quesos frescos grasos (T1 y T2) *con* y *sin hidrólisis* respectivamente ( $p < 0,05$ ). Cabe mencionar que la gomosidad está relacionada directamente con la dureza y la cohesividad, ya que es el producto ambos (Bourne, 2002). La reducción del contenido graso aumenta la dureza y la cohesividad (Castañeda, 2002; Álvarez *et al.*, 2007) por ende la gomosidad también aumentaría, coincidiendo con los resultados encontrados en el presente estudio.

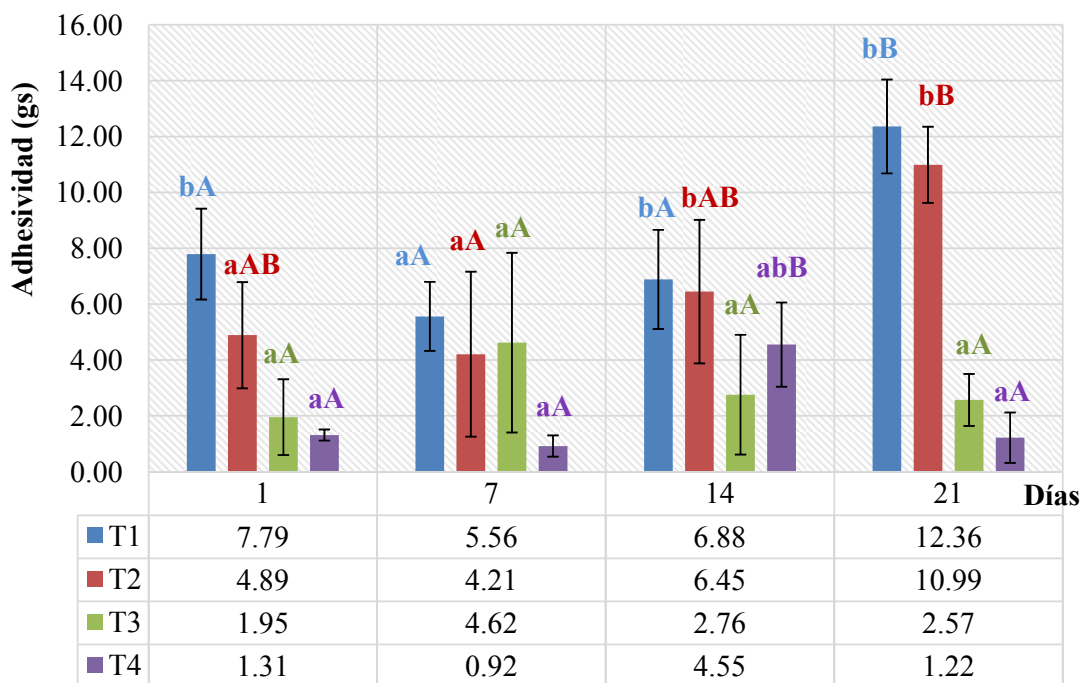
Durante el tiempo de almacenamiento se pudo observar que la gomosidad de los quesos frescos semigrasos (T3 y T4) aumentaron significativamente ( $p < 0,05$ ), mientras que la de los quesos frescos grasos (T1 y T2) no varía significativamente ( $p > 0,05$ ).

#### **4.6.5. Efecto sobre la adhesividad**

En la Figura 18 se muestra los valores de adhesividad de los 4 tratamientos de queso fresco durante los 21 días de almacenamiento, el análisis estadístico se muestra en el ANEXO 13.

Según el análisis estadístico, en el día 1 la hidrólisis enzimática de la lactosa no influyó en la adhesividad del queso fresco. Sin embargo, la reducción del contenido graso disminuyó significativamente la adhesividad del tratamiento *sin hidrólisis* ( $p < 0,05$ ), en donde el queso fresco graso (T1) presentó mayor adhesividad que el queso fresco semigraso (T3). ( $p < 0,05$ ). Al respecto Álvarez (2007), afirma que la adhesividad es mayor cuanto mayor es el contenido de grasa y menor es el contenido de humedad presente en los quesos, lo cual concuerda con lo encontrado ya que los quesos frescos de mayor contenido graso y menor humedad (T1 y T2) presentaron mayor adhesividad.

Debido a la pérdida de humedad por la sinéresis originada durante el almacenamiento, se esperaba que la adhesividad de los tratamientos aumentara (Álvarez *et al.*, 2007), condición que solamente se cumplió en los tratamientos de quesos frescos grasos (T1 y T2) ( $p < 0,05$ ).



<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A, B, C</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

**Figura 18: Evaluación de la Adhesividad durante el almacenamiento**

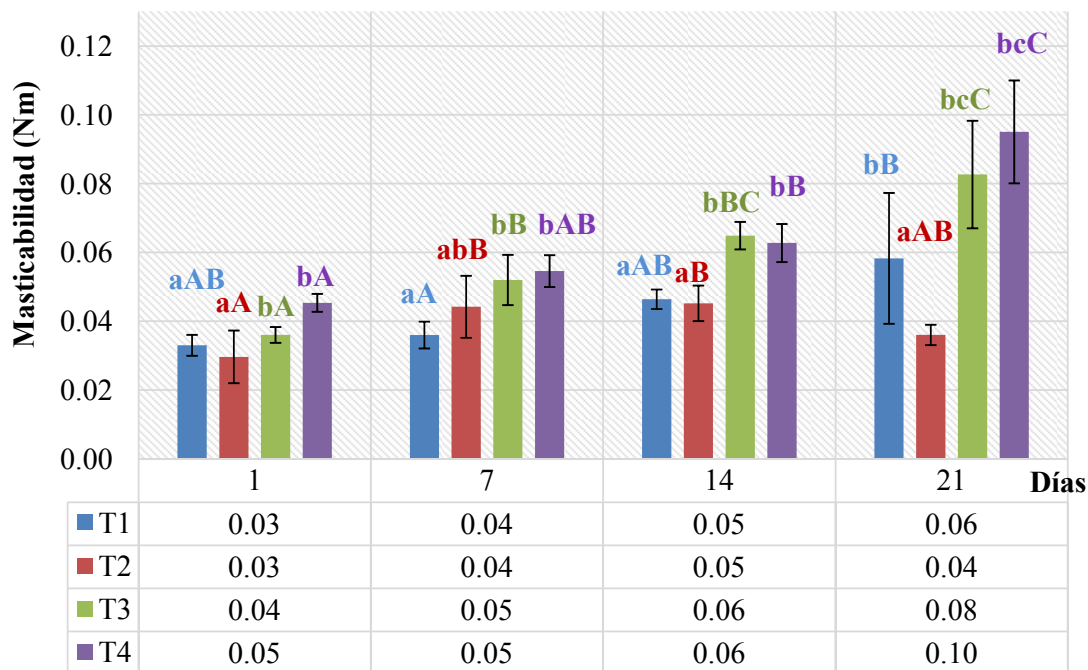
#### 4.6.6. Efecto sobre la masticabilidad

La Figura 19 muestra los valores de masticabilidad de los 4 tratamientos de quesos frescos durante 21 días de almacenamiento, el análisis estadístico se muestra en el ANEXO 14.

Los valores de masticabilidad en el primer día de almacenamiento de los 4 tratamientos fueron mayores que la del Queso Fresco caracterizado por Tunick *et al* (2012), el cual presentó una masticabilidad de 0,023 Nm.

Según el análisis estadístico para el primer día de almacenamiento no se encontró influencia de la hidrólisis enzimática de la lactosa en la masticabilidad del queso fresco, ya que el tratamiento *con hidrólisis* no se diferenció significativamente del tratamiento *sin hidrólisis* ( $p > 0,05$ ), tanto entre los quesos frescos grasos (T1 Vs T2) como semigrasos (T3 Vs T4).

Por otro lado, la reducción del contenido graso aumentó la masticabilidad de los quesos



<sup>a,b,c</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los quesos con diferentes tratamientos, para un mismo periodo de tiempo.

<sup>A, B, C</sup> Valores con diferentes letras indica la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre periodos de almacenamiento para cada tratamiento estudiado.

**Figura 19. Evaluación de la masticabilidad durante el almacenamiento.**

frescos semigrasos (T3 y T4) ya que presentaron mayor masticabilidad que los quesos frescos grasos (T1 y T2) *con* y *sin hidrólisis* respectivamente ( $p < 0,05$ ). Cabe mencionar que la masticabilidad está relacionada directamente con la dureza, cohesividad y elasticidad, ya que es el producto de estos tres (Bourne, 2002). De acuerdo a los resultados encontrados, los quesos frescos semigrasos presentaron mayor dureza, cohesividad y elasticidad, debido a la reducción del contenido graso y el aumento de la fracción proteica (Castañeda, 2002; Álvarez *et al.*, 2007; Guinee y Kilcawley, 2004).

Luego de los 21 días de almacenamiento, la masticabilidad de los quesos frescos semigrasos aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ), mientras que la de los quesos frescos grasos no varió significativamente con respecto al primer día ( $p > 0,05$ ).

#### 4.7. Análisis microbiológico

El Cuadro 19 muestra los recuentos microbiológicos en coliformes totales, mohos y levaduras, analizados en los 4 tratamientos de queso fresco a un 1 día de su elaboración.

**Cuadro 19: Análisis microbiológicos de los tratamientos de queso fresco**

MICROORGANISMOS	TRATAMIENTOS			
	T1	T2	T3	T4
Coliformes totales (UFC/ml)	<10	<10	<10	<10
Mohos (UFC/ml)	<10	<10	<10	<10
Levaduras (UFC/ml)	100	100	80	90

La Norma Técnica Colombiana NTC 750, recomienda el recuento de coliformes, mohos y levaduras, como exámenes de rutina durante el almacenamiento del queso fresco; sin embargo si es necesario se pueden hacer exámenes especiales para el recuento de estafilococos coagulasa positiva, detección de *salmonella* y detección de *Listeria monocytogenes*. La Norma Técnica Peruana 202.95 recomienda todos estos análisis además de *E. coli* y exceptuando el de *Listeria monocytogenes*.

Los resultados obtenidos del recuento de coliformes mohos y levaduras, son aceptables según la Norma Técnica Colombiana NTC 750 y la Norma Técnica Peruana 202.95, ya que el recuento máximo permisible de coliformes en la NTC 750 es de 1000 UFC/g y para la NTP 202.95 es de 100 UFC/g; el recuento de mohos y levaduras máximo permisible según la NTC 750 es de 500 UFC/g para identificar un nivel de buena calidad.

La estabilidad microbiológica del queso fresco depende mucho de las condiciones de elaboración, manipulación de los operarios y la cadena ininterrumpida de frío. En la elaboración de los 4 tratamientos de queso fresco, se utilizaron equipos y materiales previamente esterilizados, al igual que el uso de una indumentaria adecuada. Los quesos frescos elaborados fueron empaquetados en bolsas de polietileno y almacenados en una cámara de refrigeración a 4 °C por 21 días.

Según Reinheimer y Zalazar (2006) y Vicaria (2002), la hidrólisis enzimática de la lactosa estimula la producción de flora microbiana, debido a la formación de monosacáridos fácilmente digeribles. Esta condición es ventajosa para los quesos madurados, en donde aceleraría su proceso de maduración, sin embargo en los quesos frescos, como en el caso de los tratamientos estudiados, podría facilitar la contaminación microbiana y reducir su

tiempo de vida útil.

Si bien existe escasa literatura relacionada a determinar la vida útil del queso fresco elaborado sin conservantes o cultivos iniciadores, existen autores que han estimado la vida útil del queso fresco elaborado en otras condiciones y técnicas de elaboración como: Zambrano (2010), quien estimó la vida útil de un queso fresco probiótico (*Lactobacillus acidophilus*) en 21 días, manteniendo el producto a temperaturas entre 4-8°C. Asimismo, López (2004), estimó la vida útil de un queso fresco de pasta blanda tipo “Ranchero”, en 15 días. En su estudio consideró la pasteurización, uso de conservantes químicos y un exhaustivo control de higiene de los manipuladores y de equipos para garantizar este periodo de vida en anaquel, considerando la conservación del producto entre 2 y 4°C. En general el tiempo de vida útil de los quesos frescos es relativamente corto, debido principalmente a su alto contenido de humedad y  $a_w$ ; sin embargo, para el caso de los quesos frescos deslactosados que se encuentran más propensos a la contaminación microbiana, se podría analizar opciones que permitan conservar este tipo de queso, como el envasado al vacío, el uso de conservantes etc.

#### **4.8. Análisis sensorial**

La evaluación sensorial de los quesos frescos con un día de almacenamiento, se realizaron entre el queso fresco graso (T2) y el queso fresco semigraso (T4), ambos *con hidrólisis*, en los cuales se encontró mediante una prueba de Preferencia Pareada, una mayor preferencia por el sabor del queso fresco graso (T2) ( $p < 0,05$ ) (ANEXO 15).

Según lo analizado, la reducción del contenido graso habría cambiado la preferencia del queso fresco *con hidrólisis*. Delahunty *et al.* (1996), citado por Guaraca (2008), menciona que componentes del sabor como la 2-butanona y 2-heptanona, son liberados durante la masticación con mayor intensidad en quesos reducidos en grasa; lo que constituye una percepción distinta del sabor.

Muchos autores coinciden en manifestar que la reducción del contenido graso en el queso resulta en una percepción de sabor mucho menos satisfactoria, presentando un sabor diluido, insípido o poco intenso y a menudo puede presentar sabores atípicos desagradables, los cuales no siempre son detectables en el queso tradicional completo en grasa debido al rol de enmascaramiento que ejercería este componente (Vega, 2002; Walstra, 2006; Guaraca, 2008).

Por otro lado los quesos frescos *con hidrólisis* pueden presentar un ligero sabor dulce, ya que según Bylund (2003), la hidrólisis enzimática genera glucosa y galactosa, quienes cuentan con un poder de dulzor mayor al de la lactosa; este ligero sabor dulce, quizás desagradable sensorialmente, pudo haber sido enmascarado por el mayor contenido de grasa en el queso con tratamiento T2, siendo el más preferido con respecto al tratamiento T4 ( $p < 0,05$ ).



## V. CONCLUSIONES

- La hidrólisis enzimática de la lactosa en leche con 2 y 3% de grasa se logró con una dosis de 4 ml/l de la enzima Ha- lactase 3000 L.A.U., a una temperatura de 40°C por 78,74 minutos.
- El queso fresco graso deslactosado presentó 11,63 N de dureza, 7,61 mm de elasticidad, 0,33 de cohesividad, 396,4 g de gomosidad, 4,89 gs de adhesividad y 0,03 Nm de masticabilidad.
- El queso fresco semigraso deslactosado presentó 16,14 N de dureza, 7,89 mm de elasticidad, 0,36 de cohesividad, 587,21g de gomosidad, 1,31gs de adhesividad y 0,05 Nm de masticabilidad.
- Del análisis sensorial se encontró una mayor preferencia por el sabor del queso fresco deslactosado elaborado con leche al 3% de grasa.
- La hidrólisis enzimática de la lactosa influyó en las características fisicoquímicas del queso fresco. La hidrólisis en leche con 3% de grasa originó un queso fresco con mayor luminosidad, menor color amarillo y menor sinéresis. Mientras que en leche con 2% de grasa originó un queso fresco con mayor sinéresis.
- La hidrólisis enzimática de la lactosa influyó en la reología del queso fresco. La hidrólisis en leche con 3% de grasa, originó un queso fresco con mayor cohesividad. Mientras que en leche con 2% de grasa originó un queso fresco con mayor dureza, menor elasticidad y menor cohesividad.
- La reducción del contenido graso afectó las características fisicoquímicas del queso fresco deslactosado, el cual presentó menor sinéresis, menor coloración verde y menor luminosidad.
- La reducción del contenido graso afectó la reología del queso fresco deslactosado, el cual presentó mayor dureza, gomosidad y masticabilidad.

- Durante el tiempo de almacenamiento, en todos los tratamientos evaluados se encontró un aumento de la acidez y la sinéresis, y una disminución del pH.
- La reología del queso fresco deslactosado se vio afectada por el tiempo de almacenaje, durante el cual aumentó la dureza, elasticidad, gomosidad, adhesividad y masticabilidad, mientras que disminuyó la cohesividad.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Optimizar el proceso de hidrólisis enzimática de la lactosa y estudiar su aplicación en diversos tipos de quesos frescos.
- Estimar el tiempo de vida útil de quesos frescos deslactosados.
- Realizar un estudio de mercado que determine la demanda, factibilidad financiera y rentabilidad, que justifique la producción de quesos frescos deslactosados en el Perú.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **AOAC.** (Association of Official Analytical Chemistry). 2000. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemistry. Washington D.C. 33:844.
2. **ALAIS, C.** 2003. Ciencia de la Leche: Principios de Técnica Lechera. 4 ed. Editorial Reverté S.A. Barcelona, España. 873 p
3. **ÁLVAREZ, S.** 2003. Influencia de la alimentación del ganado caprino en la caracterización físico-química y organoléptica del queso Majorero (D.O.). Tesis Doctoral. Universidad de La Laguna, España. 136 p.
4. **ÁLVAREZ, S., RODRIGUEZ, V., RUIZ, M.** 2007. Correlaciones de textura y color instrumental con la composición química de quesos de cabra canarios. Archivos de Zootecnia. 56(1):663-666.
5. **ÁLVAREZ, E.** 2011. Efectos del *Lactobacillus casei* ATCC 393<sup>TM</sup> sobre el *Escherichia coli* durante la vida comercial del queso fresco. Tesis para optar el título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Nacional del Callao. Perú. 169 p.
6. **AGUDELO, D., BEDOYA, O.** 2005. Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. Revista Lasallista de Investigación 2(1): 38-42
7. **ANGULO, J., MAHECHA, L., OLIVERA, M.** 2009. Síntesis, Composición y Modificación de la grasa de la leche bovina: un nutriente valioso para la salud humana. Revista MVZ Córdoba. 14(3):1856-1866.
8. **ARANCETA, J., SERRA, LI.** 2005. Leche, Lácteos y Salud. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 144 p.
9. **BYLUND, G.** 2003. Manual de industrias lácteas. Mundi- Prensa. Madrid (España). 436 p.

10. **BOURNE, M.** 2002. Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. 2da Edición. Academic Press. EE.UU. 427 p.
11. **CARDONA, C., ÁLVAREZ, C., JARAMILLO, J.** 2010. Optimización de hidrólisis enzimática de la lactosa en reactores de tanque agitado. Revista Vector (5):115-121
12. **CARPINO, S., HOME, J., MELILLI, C.** 2004. Contribution of Naïve Pasture to the sensory Properties of Ragusano Cheese. Journal of Dairy Science. 87:308-315
13. **CASTAÑEDA, R.** 2002. La reología en la tipificación y la caracterización de quesos. Tecnología Láctea Latinoamericana. 20(26):48-53.
14. **COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉCLAIRAGE (CIE).** 1978. Recommendations on uniform color spaces, color difference and psychometric color terms. CIE Central Bureau. Paris, France. 21 p.
15. **CHACON, A., PINEDA, M.** 2009. Características químicas, físicas y sensoriales de un queso de cabra adaptado del tipo "Crottin de Chavignol". Agronomía Mesoamericana. 20(2):297-309.
16. **CHAMORRO, M. LOSADA, M.** 2002. El análisis Sensorial de los Quesos. Mundi-Prensa. Madrid, España. 235 p.
17. **DE VRESE, M., STEGELMANN, A., BERND, R.** 2001. Probiotics- compensation for lactase insufficiency. The American Journal of Clinical Nutrition. 73(2): 421-429.
18. **ECK, A. y GILLIS, J.** 2000. Cheesemaking: From Science to Quality Assurance. 2da Edición. Intercept Limited. París. 831 p
19. **FENNEMA, O.** 2000. Química de los Alimentos. 2Da Edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España). 1258 p.
20. **FOX, P., GUINNE, T., TIMOTHY, M. y MCSWEENEY, P.** 2000. Fundamentals of Cheese Science. Aspen Publishers. EE.UU. 587 p.
21. **GUINEE T., KILCAWLEY K.** 2004 Cheese as an ingredient. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Academic Press. 2: 395-428 p.
22. **GIL, A.** 2010. Tratado de Nutrición. Composición y Calidad Nutritiva de los

Alimentos. 2da. Edición. Editorial médica PANAMERICANA. Madrid (España).786 p.

23. **GARCÍA, B.** 2006. Caracterización Físico-química de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de Tulancingo con el fin de proponer normas de calidad. Tesis para obtener el Título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 98 p.

24. **GÓMEZ, M.** 2004. Evaluación sensorial e instrumental de textura de quesos argentinos. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España. 248 p.

25. **GONZÁLEZ, M.** 2013. Estudio del punto crioscópico de leche cruda bovina, en dos pisos altitudinales y dos épocas del año 2012. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agropecuario. Universidad Politécnica Salesiana. Quito Ecuador. 94 p.

26. **GUARACA, A.** (2008). Efecto del porcentaje de grasa y el tiempo de maduración en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del queso Zamodelfia. Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura. Honduras. 41 p.

27. **HOLSINGER, V., AND KINGERMAN, A.** 1991. Applications of lactase in Dairy Foods and other Foods Containing lactose. Food Technology 45: 92-95.

28. **INFANTE, D.** 2008. Intolerancia a la lactosa: en quién y por qué. En Anales de Pediatría. Elsevier Doyma. 69 (2): 103-105.

29. **JARAMILLO, D., BUFFA, M., RODRÍGUEZ, I., PÉREZ-BAENA, I.** 2010. Effect of the inclusion of artichoke silage in the ration of lactating ewes on the properties of milk and cheese characteristics. Journal of Dairy Science 93(4):1412-1419.

30. **JIMÉNEZ, J.** 2003. Influencia de las Proteínas de la Leche y su tratamiento térmico en la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis*. Tesis para obtener el Grado de doctora en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México D.F.92 p

31. **JUCA, C., PÉREZ, D.** 2010. Determinación de lactosa en leche deslactosada y su comparación con la fórmula aplicada en la empresa de Lácteos San Antonio. Tesis para obtener el grado académico en Bioquímica Farmacéutica. Universidad de Cuenca. 146 p.

32. **LA ORDEN, E., CARABAÑO, I., PELAYO, F.** 2011. Situación actual de la intolerancia a la lactosa en la infancia. *Revista Pediatría Atención Primaria*. 13(50):271-278.
33. **LAW, B. y TAMIME, A.** 2011. *Technology of cheesemaking*. Segunda edición. Wiley Blackwell, Reino Unido. 512 p
34. **LOBATO-CALLEROS, C., REYES-HERNÁNDEZ, J., BERISTAIN, C.** 2007. Microstructure and texture of White fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. *Food Research International* 40:529-537.
35. **LOBATO-CALLEROS, C., LOZANO, E., VERNON, J.** 2009. Textura y microestructura de quesos tipo panela bajos en grasa y en colesterol: diferentes metodologías. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas* 1(1): 39-48
36. **LOPEZ, M.** 2004. Mejoramiento de vida de anaquel en queso tradicional Ranchero y queso de pasta hilada (Oaxaca). Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencia y tecnología de los Alimentos. Universidad Iberoamericana. México. 102 p
37. **LU, N., SHIRASHOJI, N. y LUCEY, J.** 2008. Effects of pH on the textural properties and meltability of pasteurized process cheese made with different types of emulsifying salts. *Food Engineering and Physical Properties*. 73(8): 363-369.
38. **LUCEY, J., JOHNSON, M. y HORNE, D.** 2003. Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal Dairy Science* 9(86):2725-2743.
39. **MANSSON H; FONDEN, R. y PETTERSSON, H.** 2003. Composition of Swedish dairy milk. *Journal Dairy International*. 13:409-425.
40. **MICROBIOLOGY PRODUCTS LABORATOIRES 3M.** 2003. Guía de Interpretación 3M<sup>TM</sup> Placas Petrifilm<sup>TM</sup>. 80 p.
41. **MILLER, G.; JARVIS, J. Y McBEAN, L.** 2000. *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*. 3 ed. Estados Unidos. 407 p.
42. **MINTEL GLOBAL NEW PRODUCTS DATABASE GNPD.** 2014. Productos deslactosados. *Tecnología Láctea Latinoamericana*. 81:20-25.

43. **MURPHY, M.; MUSET, G.; RODRIGUEZ, G.** 2002. Aplicación de la crioscopia a la medición de la hidrólisis enzimática de la lactosa. Centro de Investigación y Desarrollo de la Industria Láctea (CITIL). 4 Jornadas de Desarrollo e Innovación. 2002:1-2.
44. **NEGRI, L.** 2005. Manual de referencias técnicas para el logro de leche de calidad. INTA. 2da Edición. 161 p.
45. **Norma Técnica Colombiana NTC 750.** 2009. Productos lácteos. Queso. 10 p.
46. **Norma Técnica Peruana NTP 202.110.** 2008. Leche y Productos Lácteos. Crema de Leche. Requisitos. 8 p.
47. **Norma Técnica Peruana NTP 202.001.** 2010. Leche y Productos Lácteos. Leche Cruda. Requisitos. 13 p.
48. **Norma Técnica Peruana NTP 202.195.** 2004. Leche y Productos Lácteos. Queso fresco. Requisitos. 2da Edición. 8 p.
49. **Norma Técnica Peruana NTP 202.008.** 1998. Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Ensayo de determinación de la densidad relativa. 2da. Edición. 4 p.
50. **OCHOA, A., HERNÁNDEZ, J., LÓPEZ, E.** 2013. Rendimiento, firmeza y aceptación sensorial de queso Panela adicionado con estabilizantes. Universidad y Ciencia. 29(3):277-286.
51. **ORTIGOSA, M., TORRE, P., IZICO, J.** 2001. Effect of pasteurization of ewe's milk and use of a native starter cultura on the volatile components and sensory characteristics of roncal cheese. Journal of Dairy Science. 8(6):1320-1330.
52. **OSORIO, J., CIRO, H., MEJÍA, G.** 2004. Caracterización Textural y Físicoquímica del queso Edam. Revista facultad Nacional de Agronomía. 57(1):1-11.
53. **PASTORINO, A., HANSEN, C., McMAHON, D.** 2003. Effect of pH on the chemical Composition and Structure function relationships of cheddar Cheese. Journal of Dairy Science, 86:2751-2760.
54. **PINHO, O., MENDES, E., ALVES, M., FERREIRA, I.** 2004. Chemical, physical, and sensorial characteristics of "Terrincho" ewe cheese: Changes during ripening and



intravarietal comparison. Journal of Dairy Science.87(2):249-257

55. **RAMIREZ, C. y VELEZ, J.** 2012. Quesos Frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos 6(2):131-148.

56. **REINHEIMER, J., ZALAZAR, C.** 2006. Avances en microbiología bioquímica y tecnología de quesos. Ediciones UNL. Argentina. 339p

57. **REGLAMENTO TÉCNICO DE COLOMBIA.** 2006. Requisitos de la Leche para Consumo. Decreto N° 616.2006. Ministerio de la Protección Social. República de Colombia. 15 p.

58. **ROSENTHAL, A.** 2001. Textura de los Alimentos. Medida y percepción. Ed. Acribia. España. 299 p.

59. **ROJAS, C., TRIPALDI, P., PÉREZ, A.** 2012. Diseño experimental y métodos de decisión multicriterio para optimizar la composición del helado mantecado. Scientia Agropecuaria 1(2012):51-60

60. **SÁNCHEZ, C.** 2011. Elaboración de yogur deslactosado mediante un modelo de hidrólisis. Avances en Ciencia y Tecnología. Revista de la Universidad del Azuay. 54:43-59.

61. **SCOTT, R., ROBINSON, R., WILBEY, R.** 2002. Fabricación de Queso. Editorial Acribia, S.A. España. 488 p.

62. **SZCZESNIAK, A.** 2002. Texture is a sensory property. Food Quality and Preference 13:215-225.

63. **TABILO-MUNIZAGA, G. y BARBOSA-CÁNOVAS, G.** 2005. Rheology for food industry. Journal of Food Engineering. 67:147-156

64. **TENIZA, O.** 2008. Estudio del suero de queso de leche de vaca y propuesta para el rehúso del mismo. Tesis para obtener el grado de maestro en tecnología avanzada. Instituto Politécnico Nacional- Centro de Investigación en biotecnología Aplicada. México. 139 p.

65. **TORRES, P.** 2012. Desarrollo de sistemas enzimáticos en fase sólida para la

biotransformación de lactosa de sueros de quesería. Tesis doctoral en Química. Universidad de la República. Uruguay. 178 p.

66. **TUNICK, M.** 2000. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. *Journal of Dairy Science* 83:1892-1898.

67. **TUNICK, M. y VAN HEKKEN, D.** 2010. Rheology and texture of commercial queso fresco cheeses made from raw and pasteurized milk. *Journal of Food Quality* 33:204-215.

68. **TUNICK, M., VAN HEKKEN, D., IANDOLA, S. TOMASULA, P.** 2012. Characterization of Queso Fresco during Storage at 4 and 10°C. *Journal of Food Research*. 1(1):308-319

69. **UDAYARAJAN, C.** 2007. Relating physicochemical characteristics of cheese to its functional performance. Tesis doctoral. (PhD of Philosophy Food Science). Universidad de Wisconsin-Madison, EE.UU. 29 p

70. **VAN HEKKEN, D. y FARKYE, N.** 2003. Hispanic Cheeses: The quest for queso. *Food Technology* 57:32-38

71. **VÉLEZ, J.** 2009. Rheology and texture of cheese. Nova Science Publishers. EE.UU. 87-122 p.

72. **VESA, T., KORPELA, R., SAHI, T.** 1996. Tolerance to small amounts of lactose in lactose maldigesters. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 64(2):197-201.

73. **VICARIA, J.** 2002. Estudio cinético de la hidrólisis de lactosa mediante un reactor de fibra hueca. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Universidad de Granada. 262 p.

74. **VILLEGAS, A.** 2009. Tecnología de alimentos de origen animal: manual de prácticas. Editorial Trillas. México. 184 p.

75. **WALSTRA P., WOUTERS J. y GEURTS, T.** 2006. *Dairy Science and Technology*. CRC Press. Nueva York, EE.UU. 808 p.

76. **WITTING, E.** 2001. Evaluación sensorial, una metodología actual para tecnología de

alimentos. Edición Digital reproducida con autorización del autor. Repositorio Académico de la Universidad de Chile. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/121431>.

77. **ZAMBRANO, M.** 2010. Elaboración de Queso fresco con la utilización de un fermento probiótico. Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial. Escuela Politécnica Nacional. Quito. 159 p.

78. **ZUGASTI, A.** 2009. Intolerancia Alimentaria. *Endocrinology and Nutrition*. 56(5):241-250.

# **ANEXOS**

## ANEXO 1. Ficha Técnica de la enzima Ha- Lactase



Calle Los Ceibos 171  
Urb. Camacho  
Lima 12, Perú  
Telefax: 01-4378406  
**Chr. Hansen S.A.**

Calle Los Plateros 270 Urb. El Artesano  
Lima 03 - Perú

Tel : 511 436 8461  
Fax : 511 435 3053  
www.chr-hansen.com

### Información de Producto Lactasa

## Ha-Lactase

**Descripción** : Combinación enzimática líquida, traslúcida, de color castaño claro, compuesta de lactasa producida por fermentación submersa de cepas seleccionadas de *Kluyveromyces fragilis*, donde el componente activo es una betagalactosidasa.

**Presentación** : Frascos plásticos de 1 Lt. y 5 Lt.

**Datos técnicos** : Actividad : 3.000 LAU/ml (Lactase Activity Units)  
Densidad : 1,2 g/mg

Recuento máximo de microorganismos:

Recuento total : <  $5 \times 10^4$ /ml

Coliformes : < 100 ufc/ml

Levaduras : < 100 ufc/ml

Mohos : < 100 ufc/ml

Actividad relativa : 90 – 100% a 40 – 50°C  
90 – 100% en pH 6,0 – 7,0

Actividad residual: A 30°C – 90-100% después de 6 hrs.  
A 45°C – 50-60% después de 6 hrs.  
A 50°C – 2-4% después de 6 hrs.

**Conservación y Validez** : En local oscuro, bajo refrigeración, a temperaturas inferiores a 5°C. Bajo estas condiciones, en embalaje cerrado, el producto mantiene sus especificaciones por un periodo de hasta 6 meses.

**Estabilidad** : A 5 – 10°C, el producto mantiene su actividad hasta 3 meses.

**Aplicación** : Promover la hidrólisis de la lactosa con la finalidad de proporcionar mejor solubilidad y digestibilidad, evitando la tendencia a cristalización de este azúcar en el producto.

Ha-Lactase es utilizada en la fabricación de productos lácteos, tales como: dulce de leche, helados, yogurts, bebidas lácteas delactosadas con o sin suero y quesos especiales. También se aplica a confitería, fabricación de panes especiales, galletas y alimentos para niños.

**CHR HANSEN**

**INSUMOS PARA ALIMENTOS SAC**

Calle Los Ceibos 171  
Urb. Camacho  
Lima 12, Perú  
Telefax: 01-4378406

**Chr. Hansen S.A.**

Calle Los Plateros 270 Urb. El Artesano  
Lima 03 - Perú

Tel : 511 436 8461  
Fax : 511 435 3053  
[www.chr-hansen.com](http://www.chr-hansen.com)

- Dosis** : Depende del grado de hidrólisis deseado, del tiempo y de la temperatura de reacción, pH y sustrato. Mirar la tabla de dosis estimadas.
- Modo de Empleo** : Definiéndose las condiciones de tiempo y temperatura de trabajo, se debe medir el volumen de Ha-Lactase correspondiente al grado de hidrólisis deseado, disolver en partes iguales con agua potable y agregar a la materia prima bajo constante agitación. La agitación debe seguir aunque sea por 10 minutos después de agregar la enzima al producto.
- Servicios Técnicos** : **Chr. Hansen** está a disposición de sus clientes para ofrecerles información y asistencia técnica gratuitamente en calle Los Plateros N°270 Urb. El Artesano, Ate Vitarte – LIMA – PERU, Tif. 01-4368461 Fax: 01-4353053.
- 
-



Calle Los Ceibos 171  
Urb. Camacho  
Lima 12, Perú  
Telefax: 01-4378406

INSUMOS PARA ALIMENTOS S.A. Dosis estimadas de Ha-Lactase

Dosis de Ha-Lactase (ml/l)	Tiempo de Reacción (horas)	Temperatura de Reacción (° C)	Grado de Hidrolisis
0,3 - 0,5	10	5	20
0,1 - 0,2	24	5	20
0,5 - 0,9	1	30	20
0,1 - 0,2	4	30	20
0,2 - 0,4	1	40	20
0,05 - 0,1	4	40	20
1,0 - 1,6	10	5	50
0,5 - 0,7	24	5	50
2,1 - 3,1	1	30	50
0,5 - 0,8	4	30	50
0,9 - 1,4	1	40	50
0,2 - 0,4	4	40	50
3,5 - 5,4	10	5	80
1,5 - 2,2	24	5	80
6,9 - 10,4	1	30	80
1,7 - 2,6	4	30	80
2,9 - 4,4	1	40	80
0,7 - 1,1	4	40	80

## ANEXO 2. Ficha de Evaluación Sensorial

N°.

NOMBRES Y APELLIDOS:	FECHA:
	HORA:

### INDICACIONES:

1. Usted recibirá 2 muestras de queso, pruebe las muestras en el orden indicado e identifique la muestra que prefiere.

CODIGO	PREFIERO
2758	
9632	

**¡Muchas gracias!**



### ANEXO 3. Cálculo aritmético para la normalización de la leche

#### a) Normalización al 2%

$$a*40\% + b*0,1\% = 20*2\% \dots\dots (1 \text{ Ec})$$

$$a + b = 20 \quad \dots\dots (2 \text{ Ec})$$

Donde:

a : crema de leche (Litros)

b: Leche descremada (Litros)

Resolviendo sistema de ecuaciones, se tiene que:

$$a= 0,96$$

$$b= 19,04$$

#### b) Normalización al 3%

$$a*40\% + b*0,1\% = 20*3\% \dots\dots (3 \text{ Ec})$$

$$a + b = 20 \quad \dots\dots (4 \text{ Ec})$$

Donde:

a : crema de leche (Litros)

b: Leche descremada (Litros)

Resolviendo sistema de ecuaciones, se tiene que:

$$a= 0,96$$

$$b= 19,04$$

#### ANEXO 4. Monitoreo del proceso de hidrólisis enzimática de la lactosa

<b>TIEMPO</b> (min)	<b>PUNTO CRIOSCOPICO (°H)</b>				<b>GRADO DE</b> <b>HIDRÓLISIS*</b> (%)
	<b>LECTURA</b> <b>1</b>	<b>LECTURA</b> <b>2</b>	<b>LECTURA</b> <b>3</b>	<b>PROMEDIO</b>	
0	-0.5351	-0.5346	-0.5349	-0.5349	0
10	-0.5496	-0.5501	-0.5492	-0.5496	4.61 ± 0.16
20	-0.5711	-0.5752	-0.5738	-0.5734	13.27 ± 0.76
30	-0.5998	-0.611	-0.611	-0.6073	25.64 ± 2.36
40	-0.6409	-0.6497	-0.6501	-0.6469	40.11 ± 1.90
50	-0.6852	-0.6789	-0.6702	-0.6781	51.50 ± 2.75
60	-0.7338	-0.7299	-0.7338	-0.7325	71.35 ± 0.82
70	-0.7831	-0.7805	-0.7814	-0.7817	89.29 ± 0.48
80	-0.8012	-0.8103	-0.8056	-0.8057*	98.07 ± 1.66*
90	-0.8153	-0.8196	-0.8201	-0.8183	102.68 ± 0.96
100	-0.8123	-0.8147	-0.8129	-0.8133	100.84 ± 0.46
110	-0.8203	-0.8200	-0.8209	-0.8204	103.43 ± 0.17

\* El grado de hidrólisis se determinó mediante la siguiente fórmula recomendada por Lazo y Verdugo (2011), citados por Rojas *et al.* (2012), y Sánchez (2001):

$$\%GH = \frac{Y - 537}{2.74}$$

Donde:

%GH: porcentaje de grado de hidrólisis de la lactosa.

Y: valor absoluto del punto crioscópico (°H), multiplicado por mil.

## ANEXO 5. Análisis estadístico de la estabilidad fisicoquímica: efecto sobre el pH

### a) Resultados

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	6.39	6.91	6.73	6.20	6.27	6.31	6.13	6.21	6.38	6.34	6.62	6.27
7	6.13	6.16	6.42	6.18	6.11	6.10	6.25	6.15	6.59	5.89	6.05	5.99
14	5.81	5.83	5.95	5.94	5.89	5.88	5.59	5.81	5.52	5.71	5.97	5.59
21	5.26	5.39	5.46	5.43	5.36	5.35	5.26	5.36	5.82	5.67	5.26	5.33

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W ( $n < 50$ )

$n$	$W$	$P$
48	0.9586	0.1487

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un  $P > 0.05$ , por lo que los valores de pH siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

Factor	Prueba	Valor- P
Levene's Grasa	2.09243	0.1548
Levene's Hidrólisis	1.9332	0.1711
Levene's Tiempo	0.600574	0.6181

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:GRASA	0.0176333	1	0.0176333	0.66	0.4225
B:HIDROLISIS	0.0675	1	0.0675	2.53	0.1218
C:TIEMPO	6.73404	3	2.24468	84.03	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.0520083	1	0.0520083	1.95	0.1725
AC	0.36275	3	0.120917	4.53	0.0094
BC	0.157117	3	0.0523722	1.96	0.1397
ABC	0.0633417	3	0.0211139	0.79	0.5082
RESIDUOS	0.8548	32	0.0267125		
TOTAL (CORREGIDO)	8.30919	47			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de pH en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre pH con un 95.0% de nivel de confianza.

e) Comparación de medias: Prueba Duncan

➤ Entre tratamientos

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T3	3	6.24	X
	T4	3	6.41	XX
	T2	3	6.26	X
	T1	3	6.6767	X
7	T4	3	5.9767	X
	T2	3	6.13	XX
	T1	3	6.2367	XX
	T3	3	6.33	X
14	T3	3	5.64	X
	T4	3	5.7567	XX
	T1	3	5.8633	XX
	T2	3	5.9033	X
21	T1	3	5.37	X
	T2	3	5.38	X
	T4	3	5.42	X
	T3	3	5.48	X

➤ Entre días de almacenamiento

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 21	3	5.37	X
	Día 14	3	5.86333	X
	Día 7	3	6.23667	X
	Día 1	3	6.24	X
T2	Día 21	3	5.38	X
	Día 14	3	5.90333	X
	Día 7	3	6.13	X
	Día 1	3	6.26	X
T3	Día 21	3	5.48	X
	Día 14	3	5.64	X
	Día 7	3	6.33	X
	Día 1	3	6.67667	X
T4	Día 21	3	5.42	X
	Día 14	3	5.75667	X
	Día 7	3	5.97667	X
	Día 1	3	6.41	X

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## ANEXO 6. Análisis estadístico de la estabilidad fisicoquímica: efecto sobre la acidez

### a) Resultados

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	0.10	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.12	0.11	0.11	0.11
7	0.13	0.13	0.12	0.12	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.12	0.12	0.13
14	0.15	0.16	0.17	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.16
21	0.18	0.19	0.18	0.19	0.19	0.18	0.19	0.18	0.19	0.18	0.19	0.19

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

<i>n</i>	<i>W</i>	<i>P</i>
48	0.8773	0.0501

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un  $P > 0.05$ , por lo que los valores de acidez siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

<i>Factor</i>	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's <i>Grasa</i>	0.260882	0.6120
Levene's <i>Hidrólisis</i>	0.0232544	0.8795
Levene's <i>Tiempo</i>	1.71288	0.1782

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:GRASA	0.000171461	1	0.000171461	9.90	0.0036
B:HIDROLISIS	1.08E-8	1	1.08E-8	0.00	0.9802
C:TIEMPO	0.0423771	3	0.0141257	815.80	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.0000084672	1	0.0000084672	0.49	0.4894
AC	0.0000676728	3	0.0000225576	1.30	0.2905
BC	0.0000255852	3	0.0000085284	0.49	0.6900
ABC	0.000055836	3	0.000018612	1.07	0.3736
RESIDUOS	0.000554083	32	0.0000173151		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0432602	47			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de la acidez en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre acidez con un 95.0% de nivel de confianza.

e) Comparación de medias: Prueba Duncan

➤ Entre tratamientos

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T1	3	0.10716	x
	T2	3	0.111	xx
	T4	3	0.11124	xx
	T3	3	0.1128	x
7	T2	3	0.1254	x
	T4	3	0.12624	x
	T1	3	0.1272	x
	T3	3	0.12888	x
14	T2	3	0.1566	x
	T1	3	0.1596	xx
	T3	3	0.16476	xx
	T4	3	0.1668	x
21	T1	3	0.183	x
	T2	3	0.1872	x
	T4	3	0.18768	x
	T3	3	0.189	x

➤ Entre días de almacenamiento

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 1	3	0.10716	x
	Día 7	3	0.1272	x
	Día 14	3	0.1596	x
	Día 21	3	0.183	x
T2	Día 1	3	0.111	x
	Día 7	3	0.1254	x
	Día 14	3	0.1566	x
	Día 21	3	0.1872	x
T3	Día 1	3	0.1128	x
	Día 7	3	0.12888	x
	Día 14	3	0.16476	x
	Día 21	3	0.189	x
T4	Día 1	3	0.11124	x
	Día 7	3	0.12624	x
	Día 14	3	0.1668	x
	Día 21	3	0.18768	x

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## ANEXO 7. Análisis estadístico de la estabilidad fisicoquímica: efecto sobre la sinéresis

### a) Resultados

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	10.98	10.39	10.65	4.02	4.32	3.68	1.16	0.81	1.02	3.08	3.06	3.02
14	15.43	15.63	17.75	8.22	10.25	9.99	3.82	5.56	4.74	12.76	12.32	11.15
21	16.75	17.04	19.27	13.98	14.64	14.18	8.5	8.73	9.67	18.51	16.75	18.35

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

n	W	P
36	0.9309	0.045

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de sinéresis siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

Factor	Prueba	Valor-P
Levene's Grasa	0.533458	0.4702
Levene's Hidrólisis	0.131873	0.7187
Levene's Tiempo	0.200049	0.8197

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:GRASA	130.112	1	130.112	197.83	0.0000
B:HIDROLISIS	0.5329	1	0.5329	0.81	0.3770
C:TIEMPO	608.946	2	304.473	462.94	0.0000
INTERACCIONES					
AB	344.226	1	344.226	523.38	0.0000
AC	6.98611	2	3.49305	5.31	0.0123
BC	38.2145	2	19.1073	29.05	0.0000
ABC	4.65754	2	2.32877	3.54	0.0449
RESIDUOS	15.7847	24	0.657694		
TOTAL (CORREGIDO)	1149.46	35			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de la sinéresis en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 6 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre sinéresis con un 95.0% de nivel de confianza.

e) **Comparación de medias: Prueba Duncan**

➤ **Entre tratamientos**

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
7	T3	3	0.996667	X
	T2	3	3.05333	X
	T4	3	4.00667	X
	T1	3	10.6733	X
14	T3	3	4.70667	X
	T2	3	9.48667	X
	T4	3	12.0767	X
	T1	3	16.27	X
21	T3	3	8.96667	X
	T2	3	14.2667	X
	T4	3	17.87	X
	T1	3	18.02	X

➤ **Entre días de almacenamiento**

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 7	3	10.6733	X
	Día 14	3	16.27	X
	Día 21	3	18.02	X
T2	Día 7	3	3.05333	X
	Día 14	3	9.48667	X
	Día 21	3	14.2667	X
T3	Día 7	3	0.996667	X
	Día 14	3	4.70667	X
	Día 21	3	8.96667	X
T4	Día 7	3	4.00667	X
	Día 14	3	12.0767	X
	Día 21	3	17.87	X

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.



## ANEXO 8. Análisis estadístico de la estabilidad fisicoquímica: efecto sobre el color

### 8.1. Parámetro a\*

#### a) Resultados (\*)

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	-1.14	-1.07	-1.19	-1.05	-1.02	-0.96	-1.85	-2.02	-1.74	-1.72	-1.36	-1.78
7	-1.51	-1.40	-1.45	-1.36	-1.49	-1.40	-1.97	-1.91	-2.01	-2.02	-1.87	-1.85
14	-1.59	-1.88	-1.62	-1.22	-2.01	-1.93	-2.05	-2.05	-2.14	-1.99	-1.90	-1.47
21	-2.15	-1.95	-1.81	-2.05	-1.97	-2.05	-1.94	-1.93	-1.91	-1.82	-1.87	-1.63

(\*)Para el análisis estadístico los resultados fueron convertidos ABS COS COLOR a\*

#### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

n	W	P
48	0.9549	0.1057

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de color a\* siguen una distribución normal.

#### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

Factor	Prueba	Valor-P
Levene's Grasa	4.78694	0.338
Levene's Hidrólisis	0.00978	0.9217
Levene's Tiempo	0.72672	0.5415

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

#### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:GRASA	0.000210665	1	0.000210665	0.02	0.8759
B:HIDROLISIS	0.000764881	1	0.000764881	0.09	0.7661
C:TIEMPO	0.0879966	3	0.0293322	3.45	0.0279
INTERACCIONES					
AB	0.171277	1	0.171277	20.16	0.0001
AC	0.426659	3	0.14222	16.74	0.0000
BC	0.00741446	3	0.00247149	0.29	0.8316
ABC	0.0561587	3	0.0187196	2.20	0.1068
RESIDUOS	0.271809	32	0.00849403		
TOTAL (CORREGIDO)	1.02229	47			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad del color a\* en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre color a\* con un 95.0% de nivel de confianza.

e) **Comparación de medias: Prueba Duncan**

➤ **Entre tratamientos**

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T4	3	0.188523	X
	T3	3	0.292745	XX
	T1	3	0.423126	XX
	T2	3	0.531486	X
7	T1	3	0.117076	X
	T2	3	0.153305	X
	T4	3	0.334866	X
	T3	3	0.382213	X
14	T1	3	0.124229	X
	T4	3	0.276983	XX
	T2	3	0.373464	X
	T3	3	0.487036	X
21	T4	3	0.200187	X
	T3	3	0.348379	XX
	T1	3	0.384823	XX
	T2	3	0.436943	X

➤ **Entre días de almacenamiento**

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 7	3	0.117076	X
	Día 14	3	0.124229	X
	Día 21	3	0.384823	X
	Día 1	3	0.423126	X
T2	Día 7	3	0.153305	X
	Día 14	3	0.373464	X
	Día 21	3	0.436943	X
	Día 1	3	0.531486	X
T3	Día 1	3	0.292745	X
	Día 21	3	0.348379	XX
	Día 7	3	0.382213	XX
	Día 14	3	0.487036	X
T4	Día 1	3	0.188523	X
	Día 21	3	0.200187	X
	Día 14	3	0.276983	X
	Día 7	3	0.334866	X

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## 8.2. Parámetro b\*

### a) Resultados

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	8.53	9.00	8.79	9.20	8.51	8.52	9.36	10.52	9.39	8.12	8.47	8.95
7	11.16	11.56	11.48	10.79	10.49	11.33	11.03	11.14	10.43	8.33	8.29	8.52
14	9.51	10.03	9.61	9.93	9.63	9.86	12.17	11.35	11.29	11.29	10.98	10.22
21	9.54	9.21	9.14	10.94	11.83	10.81	9.92	10.01	9.68	10.08	10.51	10.42

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

n	W	P
48	0.9551	0.1080

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de color b\* siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

Factor	Prueba	Valor-P
Levene's Grasa	0.0636616	0.8019
Levene's Hidrólisis	0.509817	0.4788
Levene's Tiempo	2.63672	0.0614

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:GRASA	0.0238521	1	0.0238521	0.17	0.6858
<b>B:HIDROLISIS</b>	1.27727	1	1.27727	8.92	0.0054
<b>C:TIEMPO</b>	18.2744	3	6.09147	42.56	0.0000
INTERACCIONES					
<b>AB</b>	5.5965	1	5.5965	39.10	0.0000
<b>AC</b>	13.6685	3	4.55616	31.84	0.0000
<b>BC</b>	11.3032	3	3.76773	26.33	0.0000
ABC	0.471723	3	0.157241	1.10	0.3640
RESIDUOS	4.57973	32	0.143117		
TOTAL (CORREGIDO)	55.1951	47			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad del color b\* en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 5 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre color b\* con un 95.0% de nivel de confianza.

e) Comparación de medias: Prueba Duncan

➤ Entre Tratamientos

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T4	3	8.51333	X
	T2	3	8.74333	X
	T3	3	8.77333	X
	T1	3	9.75667	X
7	T4	3	8.38	X
	T3	3	10.8667	X
	T2	3	10.87	X
	T1	3	11.4	X
14	T1	3	9.71667	X
	T2	3	9.80667	X
	T4	3	10.83	X
	T3	3	11.6233	X
21	T4	3	8.33667	X
	T1	3	9.29667	X
	T3	3	9.87	X
	T2	3	11.1933	X

➤ Entre días de almacenamiento

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 1	3	8.77333	X
	Día 21	3	9.29667	X
	Día 14	3	9.71667	X
	Día 7	3	11.4	X
T2	Día 1	3	8.74333	X
	Día 14	3	9.80667	X
	Día 7	3	10.87	X
	Día 21	3	11.1933	X
T3	Día 1	3	9.75667	X
	Día 7	3	10.8667	X
	Día 14	3	11.1267	X
	Día 21	3	337.23	X
T4	Día 21	3	8.33667	X
	Día 7	3	8.38	X
	Día 1	3	8.51333	X
	Día 14	3	10.83	X

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

### 8.3. Parámetro L\*

#### a) Resultados

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	87.63	88.46	86.92	88.02	88.39	89.06	88.40	87.47	88.69	88.82	89.03	89.20
7	88.13	88.21	87.71	88.04	88.13	87.60	88.24	87.97	88.50	88.91	89.01	88.54
14	88.06	87.09	87.11	88.69	88.04	87.42	87.41	86.21	87.79	88.68	89.11	87.87
21	87.01	88.13	88.87	87.41	87.52	88.04	88.04	87.96	88.62	88.57	88.63	88.74

#### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

n	W	P
48	0.9637	0.2348

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de color L\* siguen una distribución normal.

#### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

Factor	Prueba	Valor-P
Levene's Grasa	0.193825	0.6618
Levene's Hidrólisis	0.114941	0.7361
Levene's Tiempo	1.31605	0.2812

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

#### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:GRASA	2.39413	1	2.39413	8.49	0.0065
B:HIDROLISIS	3.4347	1	3.4347	12.18	0.0014
C:TIEMPO	2.09064	3	0.696881	2.47	0.0797
INTERACCIONES					
AB	0.957675	1	0.957675	3.40	0.0747
AC	0.461817	3	0.153939	0.55	0.6546
BC	1.93542	3	0.645139	2.29	0.0974
ABC	0.314075	3	0.104692	0.37	0.7743
RESIDUOS	9.02613	32	0.282067		
TOTAL (CORREGIDO)	20.6146	47			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad del color L\* en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre color L\* con un 95.0% de nivel de confianza.

e) Comparación de medias: Prueba Duncan

➤ Entre tratamientos

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T4	3	87.9233	X
	T1	3	88.0167	X
	T3	3	88.2367	X
	T2	3	88.82	X
7	T1	3	87.67	X
	T3	3	88.1633	XX
	T2	3	88.49	XX
	T4	3	89.0167	X
14	T3	3	87.1367	X
	T1	3	87.42	XX
	T2	3	88.05	XX
	T4	3	88.5533	X
21	T2	3	87.89	X
	T1	3	88.0033	X
	T3	3	88.2067	X
	T4	3	88.6467	X

➤ Entre días de almacenamiento

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 14	3	87.42	X
	Día 1	3	87.67	X
	Día 21	3	88.0033	X
	Día 7	3	88.0167	X
T2	Día 21	3	87.89	X
	Día 7	3	87.9233	X
	Día 14	3	88.05	X
	Día 1	3	88.49	X
T3	Día 14	3	87.1367	X
	Día 1	3	88.1867	X
	Día 21	3	88.2067	X
	Día 7	3	88.2367	X
T4	Día 14	3	88.5533	X
	Día 21	3	88.6467	X
	Día 7	3	88.82	X
	d1	3	89.0167	X

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## ANEXO 9. Análisis estadístico de la reología: efecto sobre la dureza

### a) Resultados(\*)

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	12.65	13.05	11.79	11.55	11.30	12.04	12.30	13.66	14.56	15.93	16.17	16.31
7	15.96	15.92	16.13	13.68	13.63	14.35	18.87	20.10	21.37	19.41	20.46	22.52
14	17.82	18.05	17.73	14.83	15.26	16.01	22.91	23.3	24.62	27.61	26.37	26.34
21	21.89	21.51	22.93	18.15	18.24	19.15	29.78	31.47	34.55	30.25	31.45	34.77

(\*)Para el análisis estadístico los resultados fueron convertidos ARCOTAN DUREZA

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

<i>n</i>	<i>W</i>	<i>P</i>
48	0.99578	0.1384

El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de dureza, siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

<i>Factor</i>	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's <i>Grasa</i>	0.146422	0.7037
Levene's <i>Hidrólisis</i>	0.231553	0.6327
Levene's <i>Tiempo</i>	0.45681	0.7138

El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
<b>A:GRASA</b>	12.7379	1	12.7379	528.27	0.0000
<b>B:HIDROLISIS</b>	0.122477	1	0.122477	5.08	0.0312
<b>C:TIEMPO</b>	26.0055	3	8.66848	359.50	0.0000
INTERACCIONES					
<b>AB</b>	1.69031	1	1.69031	70.10	0.0000
AC	0.167515	3	0.0558383	2.32	0.0944
<b>BC</b>	0.360071	3	0.120024	4.98	0.0060
ABC	0.118864	3	0.0396213	1.64	0.1989
RESIDUOS	0.771606	32	0.0241127		
TOTAL (CORREGIDO)	41.9742	47			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de dureza, en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 5 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre dureza con un 95.0% de nivel de confianza.

e) **Comparación de medias: Prueba Duncan**

➤ **Entre tratamientos**

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T2	3	85.0822	XX
	T1	3	85.4167	X
	T3	3	85.7454	X
	T4	3	86.4535	X
7	T2	3	85.8789	X
	T1	3	86.4243	X
	T3	3	87.1464	X
	T4	3	87.2367	X
14	T2	3	86.273	X
	T1	3	86.7963	X
	T3	3	87.5724	X
	T4	3	87.8599	X
21	T2	3	86.9064	X
	T1	3	87.4085	X
	T3	3	88.2015	X
	T4	3	88.2127	X

➤ **Entre días de almacenamiento**

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 1	3	85.4167	X
	Día 7	3	86.4243	X
	Día 14	3	86.7963	X
	Día 21	3	87.4085	X
T2	Día 1	3	85.0822	X
	Día 7	3	85.8789	X
	Día 14	3	86.273	X
	Día 21	3	86.9064	X
T3	Día 1	3	85.7454	X
	Día 7	3	87.1464	X
	Día 14	3	87.5724	X
	Día 21	3	88.2015	X
T4	Día 1	3	86.4535	X
	Día 7	3	87.2367	X
	Día 14	3	87.8599	X
	Día 21	3	88.2127	X

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.



## ANEXO 10. Análisis estadístico de la reología: efecto sobre la elasticidad

### a) Resultados

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	7.07	7.53	7.59	7.64	7.51	7.69	8.85	8.38	8.79	7.81	7.66	8.20
7	8.22	7.94	8.23	8.35	8.43	7.66	8.91	9.11	8.79	7.63	7.99	8.55
14	7.95	7.90	7.56	7.26	7.91	8.12	7.98	7.86	7.51	8.62	8.98	8.76
21	8.92	8.36	9.04	8.41	8.37	8.92	8.58	7.47	8.88	7.88	7.84	8.11

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

<i>n</i>	<i>W</i>	<i>P</i>
48	0.9503	0.0675

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de elasticidad, siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

<i>Factor</i>	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's <i>Grasa</i>	0.365171	0.5486
Levene's <i>Hidrólisis</i>	2.45857	0.1237
Levene's <i>Tiempo</i>	0.122176	0.9465

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
<b>A:GRASA</b>	0.896533	1	0.896533	7.89	0.0084
B:HIDROLISIS	0.2028	1	0.2028	1.79	0.1909
<b>C:TIEMPO</b>	2.02262	3	0.674206	5.94	0.0024
INTERACCIONES					
AB	0.192533	1	0.192533	1.69	0.2022
<b>AC</b>	2.93895	3	0.97965	8.62	0.0002
<b>BC</b>	1.53958	3	0.513194	4.52	0.0094
<b>ABC</b>	1.99608	3	0.665361	5.86	0.0026
RESIDUOS	3.63487	32	0.11359		
TOTAL (CORREGIDO)	13.424	47			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de elasticidad, en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 5 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre elasticidad con un 95.0% de nivel de confianza.

e) **Comparación de medias: Prueba Duncan**

➤ **Entre tratamientos**

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T1	3	7.39667	X
	T2	3	7.61333	XX
	T4	3	7.89	X
	T3	3	8.67333	X
7	T4	3	8.05667	X
	T1	3	8.13	X
	T2	3	8.14667	X
	T3	3	8.93667	X
14	T2	3	7.76333	X
	T3	3	7.78333	X
	T1	3	7.80333	X
	T4	3	8.78667	X
21	T4	3	7.94333	X
	T3	3	8.31	X
	T2	3	8.56667	X
	T1	3	8.77333	X

➤ **Entre días de almacenamiento**

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 1	3	7.39667	X
	Día 14	3	7.80333	XX
	Día 7	3	8.13	X
	Día 21	3	8.77333	X
T2	Día 1	3	7.61333	X
	Día 14	3	7.76333	X
	Día 7	3	8.14667	XX
	Día 21	3	8.56667	X
T3	Día 14	3	7.78333	X
	Día 21	3	8.31	XX
	Día 1	3	8.67333	X
	Día 7	3	8.93667	X
T4	Día 1	3	7.89	X
	Día 21	3	7.94333	X
	Día 7	3	8.05667	X
	Día 14	3	8.78667	X

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## ANEXO 11. Análisis estadístico de la reología: efecto sobre la cohesividad

### a) Resultados

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	0.23	0.25	0.19	0.41	0.25	0.34	0.52	0.42	0.46	0.35	0.39	0.33
7	0.24	0.30	0.29	0.37	0.47	0.33	0.32	0.24	0.31	0.36	0.31	0.31
14	0.32	0.31	0.37	0.47	0.37	0.31	0.38	0.34	0.34	0.26	0.29	0.25
21	0.41	0.25	0.24	0.22	0.23	0.23	0.32	0.42	0.22	0.41	0.44	0.28

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

<i>n</i>	<i>W</i>	<i>P</i>
48	0.9596	0.1631

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de la cohesividad, siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

<i>Factor</i>	<i>Prueba</i>	<i>Valor- P</i>
Levene's <i>Grasa</i>	2.88593	0.0961
Levene's <i>Hidrólisis</i>	0.110839	0.7407
Levene's <i>Tiempo</i>	2.80546	0.0506

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:GRASA	0.00725208	1	0.00725208	2.12	0.1550
B:HIDROLISIS	0.00175208	1	0.00175208	0.51	0.4793
C:TIEMPO	0.0103229	3	0.00344097	1.01	0.4026
INTERACCIONES					
AB	0.00630208	1	0.00630208	1.84	0.1841
AC	0.0596062	3	0.0198687	5.81	0.0027
BC	0.0163396	3	0.00544653	1.59	0.2103
ABC	0.0781229	3	0.026041	7.62	0.0006
RESIDUOS	0.1094	32	0.00341875		
TOTAL (CORREGIDO)	0.289098	47			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de cohesividad, en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre cohesividad con un 95.0% de nivel de confianza.

e) **Comparación de medias: Prueba Duncan**

➤ **Entre tratamientos**

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T1	3	0.223333	x
	T2	3	0.333333	x
	T4	3	0.356667	x
	T3	3	0.466667	x
7	T1	3	0.276667	x
	T3	3	0.29	x
	T4	3	0.326667	xx
	T2	3	0.39	x
14	T4	3	0.266667	x
	T1	3	0.333333	xx
	T3	3	0.353333	xx
	T2	3	0.383333	x
21	T2	3	0.226667	x
	T1	3	0.3	x
	T3	3	0.32	x
	T4	3	0.376667	x

➤ **Entre días de almacenamiento**

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 1	3	0.276667	x
	Día 7	3	0.3	x
	Día 14	3	0.333333	xx
	Día 21	3	0.466667	x
T2	Día 21	3	0.226667	x
	Día 1	3	0.333333	xx
	Día 14	3	0.383333	x
	Día 7	3	0.39	x
T3	Día 1	3	0.226667	x
	Día 7	3	0.29	xx
	Día 21	3	0.32	xx
	Día 14	3	0.353333	x
T4	Día 14	3	0.266667	x
	Día 7	3	0.326667	xx
	Día 1	3	0.356667	xx
	Día 21	3	0.376667	x

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## ANEXO 12. Análisis estadístico de la reología: efecto sobre la gomosidad

### a) Resultados(\*)

TIEM P	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	288.7	348.6	282.3	483.2	288.3	417.7	671.2	59.3	553.4	568.9	643.5	549.2
7	390.9	487.3	477.3	516.5	653.7	483.2	616.2	492.2	676.0	713.0	647.2	712.4
14	581.9	571.0	669.4	711.2	576.1	506.4	888.3	808.4	854.2	732.5	780.3	671.9
21	915.8	548.7	561.6	407.4	428.1	449.4	972.4	1348.7	775.6	1265.6	1412.0	993.4

(\*)Para el análisis estadístico los resultados fueron convertidos LOG GOMOSIDAD

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

<i>n</i>	<i>W</i>	<i>P</i>
48	0.9730	0.4879

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de gomosidad, siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

<i>Factor</i>	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's <i>Grasa</i>	3.55546	0.0657
Levene's <i>Hidrólisis</i>	0.0559884	0.8140
Levene's <i>Tiempo</i>	8.51594	0.06158

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
<b>A:GRASA</b>	0.962226	1	0.962226	37.24	0.0000
B:HIDROLISIS	0.00480179	1	0.00480179	0.19	0.6693
<b>C:TIEMPO</b>	1.96243	3	0.654144	25.32	0.0000
INTERACCIONES					
<b>AB</b>	0.432521	1	0.432521	16.74	0.0003
<b>AC</b>	1.11203	3	0.370678	14.35	0.0000
BC	0.195063	3	0.065021	2.52	0.0758
<b>ABC</b>	0.732717	3	0.244239	9.45	0.0001
RESIDUOS	0.826848	32	0.025839		
TOTAL (CORREGIDO)	6.22864	47			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de gomosidad, en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 5 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre gomosidad con un 95.0% de nivel de confianza.

e) Comparación de medias: Prueba Duncan

➤ Entre tratamientos

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T1	3	5.72059	x
	T2	3	5.95971	x
	T4	3	6.37306	x
	T3	3	6.38395	x
7	T1	3	6.1085	x
	T2	3	6.30338	xx
	T3	3	6.37956	x
	T4	3	6.53692	x
14	T2	3	6.38359	x
	T1	3	6.40666	x
	T4	3	6.58879	xx
	T3	3	6.74483	x
21	T2	3	6.05908	x
	T1	3	6.48603	x
	T3	3	6.91345	x
	T4	3	7.09907	x

➤ Entre días de almacenamiento

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 7	3	6.1085	x
	Día 1	3	6.38395	xx
	Día 14	3	6.40666	xx
	Día 21	3	6.48603	x
T2	Día 1	3	5.95971	x
	Día 21	3	6.05908	xx
	Día 7	3	6.30338	xx
	Día 14	3	6.38359	x
T3	Día 1	3	5.72059	x
	Día 7	3	6.37956	x
	Día 14	3	6.74483	x
	Día 21	3	6.91345	x
T4	Día 1	3	6.37306	x
	Día 7	3	6.53692	xx
	Día 14	3	6.58879	x
	Día 21	3	7.09907	x

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## ANEXO 13. Análisis estadístico de la reología: efecto sobre la adhesividad

### a) Resultados(\*)

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	-5.98	-8.26	-9.13	-4.95	-2.69	-5.02	-1.99	-3.29	-0.58	-1.24	1.54	-1.16
7	-6.40	-6.14	-4.14	-0.59	-2.18	-9.85	-0.15	-11.72	-1.99	-1.05	1.22	-0.49
14	-5.43	-6.36	-8.86	-5.89	-9.25	-4.2	-1.19	-5.20	-1.88	-2.85	5.08	-5.72
21	-11.40	-11.38	-14.30	-11.06	-12.31	-9.59	-2.12	-1.95	-3.64	-1.17	2.14	-0.34

(\*)Para el análisis estadístico los resultados fueron convertidos  $((ADHESIVIDAD)^{0.5}) * 10$

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

<i>n</i>	<i>W</i>	<i>P</i>
48	0.9484	0.0563

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de adhesividad, siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

<i>Factor</i>	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's Grasa	0.578516	0.4508
Levene's Hidrólisis	0.0604352	0.8069
Levene's Tiempo	5.7575	0.2177

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:GRASA	1622.66	1	1622.66	43.91	0.0000
B:HIDROLISIS	137.85	1	137.85	3.73	0.0623
C:TIEMPO	359.935	3	119.978	3.25	0.0346
INTERACCIONES					
AB	9.70479	1	9.70479	0.26	0.6118
AC	379.259	3	126.42	3.42	0.0288
BC	135.806	3	45.2686	1.23	0.3166
ABC	67.8505	3	22.6168	0.61	0.6122
RESIDUOS	1182.5	32	36.9531		
TOTAL (CORREGIDO)	3895.56	47			

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de adhesividad, en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre adhesividad con un 95.0% de nivel de confianza.

e) **Comparación de medias: Prueba Duncan**

➤ **Entre tratamientos**

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T4	3	11.4385	X
	T3	3	13.287	X
	T2	3	19.218	X
	T1	3	27.8034	X
7	T4	3	9.43077	X
	T3	3	17.4047	X
	T2	3	17.9436	X
	T1	3	23.4747	X
14	T3	3	15.8078	X
	T4	3	21.1124	XX
	T2	3	25.059	X
	T1	3	26.0957	X
21	T4	3	10.4254	X
	T3	3	15.8677	X
	T2	3	33.1033	X
	T1	3	35.1045	X

➤ **Entre días de almacenamiento**

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 7	3	23.4747	X
	Día 14	3	26.0957	X
	Día 1	3	27.8034	X
	Día 21	3	35.1045	X
T2	Día 7	3	17.9436	X
	Día 1	3	19.218	XX
	Día 14	3	25.059	XX
	Día 21	3	33.1033	X
T3	Día 1	3	13.287	X
	Día 14	3	15.8078	X
	Día 21	3	15.8677	X
	Día 7	3	17.4047	X
T4	Día 7	3	9.43077	X
	Día 21	3	10.4254	X
	Día 1	3	11.4385	X
	Día 14	3	21.1124	X

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.



## ANEXO 14. Análisis estadístico de la reología: efecto sobre la masticabilidad

### a) Resultados (\*)

TIEMPO	TRATAMIENTOS											
	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	0.03	0.03	0.02	0.04	0.02	0.03	0.05	0.04	0.04	0.04	0.05	0.04
7	0.03	0.04	0.04	0.04	0.05	0.04	0.05	0.04	0.06	0.05	0.05	0.06
14	0.05	0.04	0.05	0.05	0.04	0.04	0.07	0.06	0.06	0.06	0.07	0.06
21	0.08	0.04	0.05	0.03	0.04	0.04	0.08	0.10	0.07	0.10	0.11	0.08

(\*)Para el análisis estadístico los resultados fueron convertidos  $ASIN(((MASTICABILIDAD)^{0.3})/100)$

### b) Prueba de Normalidad: Shapiro-Wilk W (n<50)

<i>n</i>	<i>W</i>	<i>P</i>
48	0.9737	0.5135

#### El StatAdvisor

La prueba de Shapiro-Wilk muestra un P-value mayor a 0.05, por lo que los valores de masticabilidad, siguen una distribución normal.

### c) Prueba de Homogeneidad de Varianzas: Levene's

<i>Factor</i>	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's <i>Grasa</i>	4.51287	0.040
Levene's <i>Hidrólisis</i>	0.00231627	0.9618
Levene's <i>Tiempo</i>	9.1507	0.0917

#### El StatAdvisor

Los estadísticos mostrados en esta tabla evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar dentro de cada factor son iguales. Puesto que los valor-P son mayores o iguales que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### d) Análisis de Varianza- Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES	0.00630328	1	0.00630328	55.61	0.0000
A:GRASA	0.00000178805	1	0.00000178805	0.02	0.9008
B:HIDROLISIS	0.0113641	3	0.00378804	33.42	0.0000
C:TIEMPO					
INTERACCIONES	0.00159968	1	0.00159968	14.11	0.0007
AB	0.00396115	3	0.00132038	11.65	0.0000
AC	0.000585547	3	0.000195182	1.72	0.1822
BC	0.00249406	3	0.000831355	7.33	0.0007
ABC	0.00362702	32	0.000113344		
RESIDUOS	0.0299367	47			
TOTAL (CORREGIDO)	0.00630328	1	0.00630328	55.61	0.0000

#### El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad demasticabilidad, en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre masticabilidad, con un 95.0% de nivel de confianza.

e) **Comparación de medias: Prueba Duncan**

➤ **Entre tratamientos**

<i>Día</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	T1	3	0.191573	X
	T2	3	0.198347	X
	T3	3	0.222821	X
	T4	3	0.226432	X
7	T1	3	0.21112	X
	T2	3	0.224104	XX
	T3	3	0.235659	X
	T4	3	0.239316	X
14	T2	3	0.226066	X
	T1	3	0.227984	X
	T4	3	0.249553	X
	T3	3	0.252127	X
21	T2	3	0.211248	X
	T1	3	0.24248	X
	T3	3	0.270537	XX
	T4	3	0.282322	X

➤ **Entre días de almacenamiento**

<i>Tratamiento</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	Día 7	3	0.21112	X
	Día 1	3	0.222821	XX
	Día 14	3	0.227984	XX
	Día 21	3	0.24248	X
T2	Día 1	3	0.198347	X
	Día 21	3	0.211248	XX
	Día 7	3	0.224104	X
	Día 14	3	0.226066	X
T3	Día 1	3	0.191573	X
	Día 7	3	0.235659	X
	Día 14	3	0.252127	XX
	Día 21	3	0.270537	X
T4	Día 1	3	0.226432	X
	Día 7	3	0.239316	XX
	Día 14	3	0.249553	X
	Día 21	3	0.282322	X

**El StatAdvisor**

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple de Duncan para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con respecto a los tratamientos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## ANEXO 15. Análisis Sensorial- Preferencia Pareada

### a) Prueba Chi-Cuadrada

$$\chi^2 = \left[ \frac{(|O_1 - E_1| - 0.5)}{E_1} \right] + \left[ \frac{(|O_2 - E_2| - 0.5)}{E_2} \right]$$

Dónde:

- $O_1$  = # observado de elecciones Producto A
- $O_2$  = # observado de elecciones Producto B
- $E_1$  = # esperado de elecciones Producto A (np): p= 0.500
- $E_2$  = # esperado de elecciones correctas (nq): q= 0.500
- n = # de panelistas

<b>Prueba de Preferencia Pareada</b>		
n	Número de panelistas	100
O1	Observado en T2	58
O2	Observado en T4	42
E1	Esperado en T2	50
E2	Esperado en T4	50
<b>p= 0.05</b>		
<b><math>X^2_t=3.84</math></b>		
<b>gl (2-1)= 1</b>		
<b><math>X^2_c=2.54</math></b>		
<b>Conclusión:</b> Existe diferencia significativa en la preferencia de los tratamientos T3 y T4.		