



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Aprovechamiento del lactosuero dulce para el desarrollo de un concentrado de proteínas séricas obtenidas por tecnología de separación por membranas y su inclusión en la elaboración de queso fresco

Edinson Eliecer Bejarano Toro

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Área de Producción Agraria Sostenible
Medellín, Colombia
2022

Aprovechamiento del lactosuero dulce para el desarrollo de un concentrado de proteínas séricas obtenidas por tecnología de separación por membranas y su inclusión en la elaboración de queso fresco

Edinson Eliecer Bejarano Toro

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctor en Ciencias Agrarias

Director (a):

PhD., Eduardo Rodríguez Sandoval

Codirector (a):

MSc., José Uriel Sepúlveda Valencia

Aprovechamiento de subproductos agroindustriales

Ciencias de la leche: aprovechamiento del lactosuero

Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos (GICTA)

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Área de Producción Agraria Sostenible,

Medellín, Colombia

2022

A mi madre, que siempre me enseñó con amor.... la extraño cada día de mi vida. A mi padre por ser la base de mi desarrollo y mi hermano porque es mi soporte. Los amo.

Agradecimientos

A mi amigo, compañero y maestro, el profesor y director del Laboratorio de Productos Lácteos, porque siempre me impulsó a crecer personal y profesionalmente, muchas gracias.

A mi madre por ser una excelente profesora de vida y a mi padre porque siempre está para mí y me ayuda sin condiciones. A mi hermano Nelson porque es siempre ha confiado en mí y es mi apoyo.

Al Profesor Eduardo Rodríguez Sandoval, director de mi tesis, por ser un gran guía y tener una gran paciencia, sin su orientación no hubiera sido posible.

Al espacio del Laboratorio de Productos Lácteos, porque es mi segundo hogar, y a su equipo de trabajo porque siempre apoyaron mi labor; Felipe Piedrahita, Giovanni Grisales, Javier Vallejo, Fernando Castro, Omar Loiza Garzón, Jorge Atehortúa, Sindy Agudelo, Laura Morales.

A mi compañera de vida Marcela Gómez Muñoz por estar conmigo y brindarme su apoyo y amor.

A mis compañeros de los diferentes posgrados porque de múltiples formas hicieron posible llegar a la meta.

A mis grandes amigos Pablo Restrepo Tabares, Sara Chaverra Garcés, Víctor Hugo Herrera Franco. Son mi otra familia.

A Colciencias porque gracias a la financiación recibida por medio del programa de doctorados nacionales pude lograr obtener este importante título y la Universidad Nacional de Colombia porque desde el año 2006 me acogió y cambio radicalmente mi vida.

A la Universidad de Santiago de Compostela y puntualmente al Aula de Productos Lácteos, por recibirme y enseñarme tantas cosas.

Resumen

El tratamiento de lactosuero por medio de las tecnologías de filtración y concentración selectiva de componentes ha mostrado ser eficiente y adecuada para el aprovechamiento y valorización de los componentes de este efluente. Los concentrados de proteínas de lactosuero (WPC) son ingredientes usados por diversos sectores. A nivel de la industria láctea a partir de los WPC se han desarrollado ingredientes como los microparticulados de proteínas de lactosuero (MWP), los cuales han sido usados para productos como postres, helados, yogures y quesos. En los quesos ha ayudado a mejorar las características sensoriales de los productos reducidos en grasa y a aumentar el rendimiento quesero.

En la primera fase del trabajo (capítulo 1) el objetivo fue concentrar por ultrafiltración (UF) las proteínas de lactosuero dulce evaluando condiciones de proceso. Se usó una membrana de polietersulfona con tamaño molecular de corte de 10 kDa. El efecto del factor volumétrico de concentración entre 5 y 18 y la presión transmembrana entre 2,5 y 5 bar fueron evaluados sobre el flujo de permeado, coeficiente de retención y rendimiento de retención de la proteína en una metodología de superficie de respuesta. Se aplicó ANOVA de una sola vía para el efecto de la filtración sobre contenido de proteína, sólidos totales, acidez, pH, lactosa, α -lactoalbumina y β -lactoglobulina. Se encontraron diferencias significativas en contenido de sólidos totales, proteína total e individual, lactosa, pH y acidez. El concentrado de proteína de lactosuero fue 18,2% de los sólidos totales, de los cuales la proteína representa el 45%.

En la segunda fase (capítulo 2) se evaluó la diafiltración como una metodología viable para desmineralizar la leche y su impacto en parámetros fisicoquímicos de un queso y un yogurt. Entonces se planteó estudiar el proceso de desmineralización de un concentrado de proteínas de leche (MPC) por medio de varios ciclos de DF y evaluar el efecto de este tratamiento sobre las características composicionales y texturales de productos coagulados enzimáticamente y por acidez. El(MPC) obtenido por ultrafiltración fue diafiltrado en dos ciclos, luego el MPC fue usado para elaborar un queso fresco, un yogurt batido y uno cuchareable. La aplicación de un ciclo de DF removió el 22,2% de las cenizas

y 8,12% del calcio, pero no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) con respecto a la aplicación de dos ciclos de DF. El queso elaborado utilizando el MPC con uno y dos ciclos de DF fue menos duro y presentó menor resistencia a la masticación que el elaborado con MPC sin DF, y el yogurt cuchareable presentó menor elasticidad debido al menor contenido de sólidos totales y calcio, los cuales fueron afectados por la DF. La desmineralización parcial aumentó el tiempo de coagulación y favoreció la formación de geles más débiles. La DF alcanzó el máximo de desmineralización de la leche en un solo ciclo.

Finalmente, en la tercera fase (capítulo 3) se desarrollaron y optimizaron las condiciones de obtención de un MWP adecuado para su inclusión en la elaboración de queso blanco. Para la optimización del MWP se evaluaron como factores la temperatura y el tiempo del tratamiento térmico y como variables respuesta el potencial Zeta, tamaño de partícula, color, coeficiente de retención de proteína y rendimiento quesero por medio de un diseño de superficie de respuesta con 14 experimentos, de los cuales se obtuvieron unas condiciones óptimas de procesamiento que fueron 93°C por un tiempo de 17 min en retención. Con respecto a la inclusión del MWP en el queso blanco, se probaron dos niveles de inclusión 3% y 5%; y se evaluó su impacto sobre características de rendimiento quesero, retención de la proteína y el perfil de textura con respecto a un queso control que no fue adicionado con MWP. Se encontró que el 3% de inclusión es más adecuado porque conservó características texturales semejantes a un queso blanco tradicional.

De forma general los resultados obtenidos en esta investigación constituyen un avance significativo en el conocimiento sobre la valorización de los componentes del lactosuero dulce, obtenido de la elaboración de quesos frescos como cuajada, queso blanco y quesito antioqueño, que en el contexto colombiano aún no hay estrategias claras para la valorización de este coproducto. Particularmente, se obtuvo una caracterización del lactosuero dulce, que luego fue concentrado por ultrafiltración hasta obtener un WPC 45. Este WPC fue tratado térmica y físicamente para desarrollar un MWP que se incluyó posteriormente en la elaboración de queso blanco. Como resultado general se obtuvo un queso blanco con adición de MWP, con aumento de rendimiento quesero y con mayor retención de proteína. Sin embargo, sensorialmente los quesos fueron impactados en características de textura debido a la retención de humedad generada por las proteínas del lactosuero.

Palabras claves: lactosuero; concentrado de proteínas; ultrafiltración; concentración; micropartículado, quesos frescos

Use of sweet whey for the development of a whey protein concentrate obtained by membrane separation technology and its inclusion in the production of fresh cheese

Abstract

The filtration and concentration technologies to the whey treatment have been shown to be efficient to use and valuation of the components of this effluent. whey proteins concentrates (WPC) are ingredients used by various sectors. The dairy industry has developed interesting ingredients from WPC like whey proteins microparticulated (MWP), which have been used in deserts, ice cream yogurt and cheeses fabrication. In the cheeses, the MWP has helped to improve sensory characteristics in low-fat products and increasing cheese yield.

In the first stage (chapter 1) the objective of this study was to concentrate sweet whey proteins by ultrafiltration and to evaluate the process conditions. A polyethersulfone membrane with molecular weight cut-off of 10 kDa was used. The effect of volumetric concentration factor between 5 and 18, transmembrane pressure between 2.5 and 5 bar were evaluated on the permeate flow, protein retention coefficient, and retention yield using a response surface methodology. One-way ANOVA was applied for filtration effect on protein content, total solids, acidity, pH, lactose, α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Significant differences were found in total solids content, total and individual protein, lactose, pH and acidity. Whey protein concentrate had 18.2% of total solids out of which protein represents 45%.

In the second stage (chapter 2) it was considered studying the MPC demineralization process with DF and evaluates the effect of this treatment on the compositional and textural characteristics of enzymatically and acid-coagulated products. The MPC of ultrafiltration was diafiltered by two cycles, later this MPC was used to make a fresh cheese, a set yogurt and stirred yogurt. The application of a single DF cycle removed 22.2% of the ashes and 8.12% of the MPC calcium, but no statistically significant differences were present ($P > 0.05$) between the applications of two DF cycles. The cheeses with MPC undergone to one

cycle and two cycles of DF were less hard and presented less resistance to chewing, and the set yogurt showed lower springiness values due a total solids and calcium content, that was affected by DF. These phenomena increased the coagulation time and the formation of weaker gels. The DF achieved the maximum milk demineralization in a single cycle.

In the final stage (chapter 3) the conditions for obtaining a suitable MWP for its inclusion in white cheese production were developed and optimized. For the optimization of MWP were evaluated the temperature and the heat treatment time as factors and the zeta potential, particle size, color, protein retention coefficient, and cheese yield as response variables by means of a response surface design with 14 experiments, from which optimal processing conditions were obtained which were 93°C for a retention time of 17 minutes. Regarding the inclusion of the MWP in white cheese, two levels of inclusion 3% and 5% were tested, and their impact on cheese yield, protein retention and texture profile was evaluated with respect to a control cheese without MWP addition. 3% cheese was the most adequate treatment because the textural characteristics are more similar to traditional white cheese. In general, the results presented in this research constitute a significant advancement of knowledge about sweet whey valorization obtained from fresh cheeses like the cuajada, white cheese and quesito antioqueño, which in the Colombian context there aren't still strategies to whey solids valorization. sweet whey was characterized, and then it was concentrated by ultrafiltration technology until obtaining a WPC 45. This WPC was thermally and physicochemical treated to develop a MWP that was added in white cheese making. White cheese with MWP had a better yield with higher whey protein retention. Nevertheless, cheese textural characteristics were affected by the moisture retention generated by the whey proteins.

Palabras claves: cheese whey; WPC; ultrafiltration; concentration; microparticulated, fresh cheese.

Contenido

Pág.	
	Resumen..... IX
	Lista de figuras..... XIV
	Lista de tablas 1
	Introducción2
	Objetivos.....5
	1. Generalidades.....7
	2. Capítulo 1: Concentration of White Cheese Sweet Whey Proteins by Ultrafiltration.....29
	3. Capítulo 2: Características físicas y composiciones de un queso y un yogurt elaborados con un concentrado de preteínas de leche parcialmente desmineralizado44
	4. Capítulo 3: Desarrollo de un microparticulado de proteínas de lactosuero dulce concentrado por ultrafiltración y su aplicación en la elaboración de queso blanco59
	5. Conclusiones y recomendaciones.....78
	6. Bibliografía81

Lista de figuras

	Pág.
Ilustración 1 Alternativas de manejo del lactosuero de queso	8
Ilustración 3 Esquema de obtención del lactosuero dulce y ácido	10
Ilustración 4. Posibilidades para la incorporación de proteínas de lactosuero al queso ..	15
Ilustración 5. Esquema de un sistema de concentración por membranas	17
Ilustración 6. Procedimientos de recuperación y utilización del lactosuero en alimentos	18
Ilustración 7. Características de separación de los sistemas de membranas	19
Ilustración 8. Alternativas para el uso íntegro del suero	23

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Composición del lactosueroácido y dulce	10
Tabla 2. Bacterias contra las cuales se ha reportado efecto de la Lactoferrina (LF)	12
Tabla 3. Proteínas séricas y su concentración en el suero	14
Tabla 4. Composición típica de los sueros en polvo típicos (% p/p)	16
Tabla 5. Aplicaciones del UF en quesería.....	27

Introducción

Según la Norma General del Codex para el Queso (Codex Standard, 2013), este representa uno de los principales productos de la agricultura alrededor del mundo. El lactosuero es resultado de la precipitación y remoción de la caseína por diversas metodologías (González, 1996), representa entre el 85 al 90% del volumen de la leche coagulada y contiene alrededor del 55% de sus nutrientes (Sánchez, *et al.*, 2009). El lactosuero contiene 93% de agua y 7% de sólidos totales, de estos, la lactosa representa entre 70-72%, las proteínas séricas entre 8-10% y minerales del 12 hasta el 15% (Fuquay, 2011), presentando sobresalientes características nutricionales y funcionales (Domingues, Lima, & Teixeira, 1999).

Por otro lado, este coproducto se considera actualmente como una de las mayores fuentes de contaminación orgánica provocada por la industria láctea (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012). Por cada kilogramo de queso se obtienen, en promedio, 9 litros de lactosuero, por este motivo, la industria láctea se cataloga como una de las principales generadoras de aguas residuales, en términos de carga orgánica y volumen del efluente (Kushwaha, Srivastava, & Mall, 2010). La producción mundial de lactosuero se estima entre 180 a 190 millones de ton/año, de las cuales se procesa el 50%, por lo tanto 90 millones de ton/año son vertidas, principalmente en fuentes acuíferas, alrededor del mundo (Baldasso, Barros, & Tessaro, 2011; Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012). En Colombia se producen 57000 ton de queso/año, equivalentes a 513.000 ton de suero, de los cuales según datos de Arango (2005) se vierten sin tratamiento el 80%, equivalente a 410.400 ton. Como subproducto de la industria láctea, genera problemas al momento de realizar su tratamiento y disposición debido a la alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO) que varía entre 30000 a 50000 mg/kg como consecuencia de su contenido de materia orgánica, con presencia de lactosa y proteínas séricas, con pocas porciones de caseínas y grasa. El vertimiento del lactosuero en el ambiente genera problemas como exceso en el consumo de oxígeno en cuerpos de agua, impermeabilización, eutrofización, toxicidad, entre otros (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012).

Por la presión del mercado y normatividad ambiental el desarrollo de tecnologías limpias y amigables con el ambiente ha tomado gran relevancia para las organizaciones, y es así como la industria láctea esta forzada a darle un tratamiento efectivo y eficiente a sus

efluentes antes de ser dispuestos. El reto está en encontrar una metodología que sea viable y sustentable en términos económicos y ambientales, para la re-utilización de agua, depósito de subproductos, manejo de residuos y recuperación de componentes útiles para la industria (Kushwaha, Srivastava, & Mall, 2010)

En el tratamiento del lactosuero se han aplicado prácticas tradicionales como son la fertilización de suelos por riego directo, la alimentación de bovinos y porcinos, y el secado por aspersion (Cowan y Ritchie *et al.*, 2007). Estas prácticas no permiten una valorización significativa de sus componentes. Actualmente, se han desarrollado alternativas tecnológicas, viables a nivel industrial, que permiten realizar el fraccionamiento de los componentes principales del lactosuero, sin tratamientos térmicos severos, y que generan productos de alto valor económico por sus cualidades nutricionales y funcionales (Fuquay, 2011).

Adicional a las metodologías tradicionales, existen opciones para el manejo de efluentes de quesería; como la aplicación de tecnologías de valorización recuperando componentes alto valor, como las proteínas y la lactosa. Otra alternativa son los tratamientos biológicos que pueden secundar la opción anterior, por ejemplo hidrolisis de lactosa y proteínas generando monosacáridos (glucosa y galactosa), péptidos y aminoácidos, respectivamente, o las fermentaciones controladas. Adicionalmente, se pueden utilizar los tratamientos físico-químicos como coagulación-floculación, ozonización, entre otros (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012).

Derivado de las tecnologías de fraccionamiento de los componentes del lactosuero se ha logrado la incorporación al queso de concentrados de proteínas, principalmente séricas, permitiendo aumentar el rendimiento quesero y tener un aprovechamiento de la leche más integral. Se puede llevar a cabo en su forma nativa o desnaturalizada. Para ser incorporadas sin desnaturalización deben retenerse durante el proceso, y para este fin, una de las alternativas son los sistemas de separación por membranas (Hinrichs, 2001)

La tecnología de separación por membranas semipermeables es una de las tecnologías escaladas a nivel industrial. Wang *et al.*, (2020) trabajaron en el aislamiento de lactoferrina e inmunoglobulinas del lactosuero por medio de la filtración combinada con la electrodiálisis. Renhe y Correding (2018) exploraron la estabilidad térmica de los concentrados de proteínas de leche con base al contenido de proteína obtenida por microfiltración y ultrafiltración. Baldasso, Barros, & Tessaro, (2011) usaron lactosuero de

queso Mozzarella para obtener un concentrado de proteínas de alta pureza por medio de UF y diafiltración (DF) probando diferentes ciclos y volúmenes de agua adicionada en esta última tecnología; lactosuero ; Rektor *et al.* (2004) probaron la MF, UF, NF y OI en el fraccionamiento del lactosuero de queso Mozzarella, donde evaluaron la eficiencia en retención de proteína, lactosa y microorganismos bajo estas tecnologías; Butylina *et al.*, (2006) obtuvieron lactosuero por coagulación enzimática, el cual fue prefiltrado antes de ser tratado con UF y NF, evaluando la pérdida de péptidos al realizar la concentración a diferentes valores de pH.; Galanakis *et al.*, (2014) debido a la ausencia de investigaciones sobre la recuperación de proteínas y azúcares del lactosuero obtenido de la elaboración de queso Helloumi propusieron realizar su tratamiento por UF variando condiciones de trabajo del equipo de filtración; Tarapata *et al.*, (2022) evaluaron la eficiencia de la filtración con lactosuero dulce y ácido. Otros autores han usado procesos como la microfiltración (MF) (Pereira, Diaz, & Cobos, 2002; Rektor & Vatai, 2004; de Souza, Bergamasco, da Costa, Feng, Bernardo, & Gimenes, 2010), ultrafiltración (UF) (Di Giacomo, Del Re, & Spera, 1996; Domingues, Lima, & Teixeira, 1999; Rektor & Vatai, 2004; Suárez, Lobo, Álvarez, Riera, & Álvarez, 2006; Cuartas-Uribe, *et al.*, 2006; Yorgun, Balcioglu, & Saygin, 2008; De Souza, *et al.*, 2010), nanofiltración (NF) (Alkhatim, *et al.*, 1998; Cuartas-Uribe, *et al.*, 2006; Suárez, *et al.*, 2006; Minhalma, Magueijo, *et al.*, 2007; Yorgun, Balcioglu, & Saygin, 2008) y osmosis inversa (OI) (Di Giacomo, Del Re, & Spera, 1996; Del Re, Di Giacomo, Aloisio, & Terreri, 1998; Yorgun, Balcioglu, & Saygin, 2008), para retener y concentrar las proteínas del lactosuero en rangos que oscilan entre 28-85, 56-81, 87-100 y 94-96%.

Estas proteínas tienen alto valor nutricional, por el contenido de aminoácidos esenciales, principalmente azufrados (De Wit, 2001), además de propiedades funcionales cuando son usadas como ingredientes en alimentos, principalmente alta solubilidad, absorción de agua, gelatinización y capacidad emulsificante (Sgarbieri, 2006).

Por estos motivos el estudio y desarrollo de ingredientes útiles a partir de un coproducto como el lactosuero, del cual hay una importante disponibilidad a nivel mundial y nacional, puede aportar alternativas viables para su valorización.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la aplicación de un concentrado de proteínas séricas, obtenido a partir de lactosuero dulce utilizando un sistema de ultrafiltración, como fuente de proteína en la elaboración de un queso fresco

Objetivos específicos

- Optimizar el sistema de filtración por membranas para obtener un concentrado proteico a partir del lactosuero dulce de leche en función de las variables de desempeño del sistema de separación y las propiedades de calidad del producto final.
- Evaluar diferentes niveles de inclusión del concentrado proteico en la elaboración de un queso fresco y establecer su comportamiento físico-químico, de rendimiento y textural.
- Evaluación de un concentrado de proteínas de leche parcialmente desmineralizado en las características texturales y composicionales de un yogurt y un queso tipo burgos

1. Generalidades

1.1. INDUSTRIA LÁCTEA

1.1.1. Efluentes en la industria láctea.

La industria láctea se divide en diferentes sectores, que están asociados con la producción de aguas residuales contaminantes. Estos efluentes tienen diferentes características, de acuerdo con el producto obtenido (yogurt, queso, mantequilla, leche, helado, proteínas, entre otros). Además, el manejo, el clima, condiciones de operación y los sistemas de limpieza en el sitio o CIP perfilan las características de los efluentes (Pattnaik, et al., 2007). También, varían en términos de volumen, pH y sólidos suspendidos (Rivas, Prazeres, & Carvalho, 2011). En general, estos contienen grasa, proteína (caseínas y proteínas séricas), lactosa, ácido láctico, minerales, detergentes y desinfectantes (Vourch, et al., 2005).

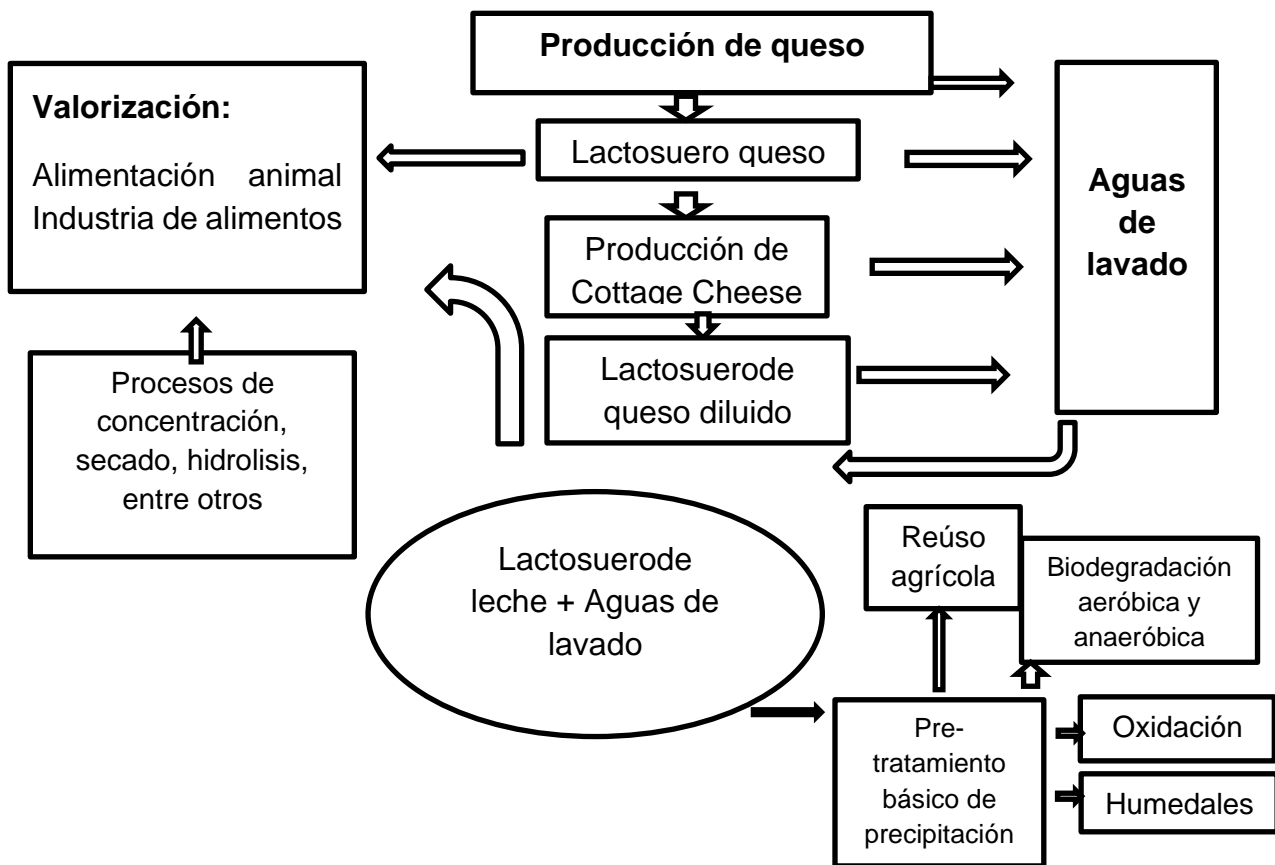
La elaboración de mantequilla, queso y helado son las actividades que generan mayor volumen de efluentes en la industria láctea. Las queserías son responsables de tres tipos de efluentes, principalmente; lactosuero de queso (CW) resultante de la producción de este, lactosuero de queso diluido (SCW) resultante del Cottage Cheese o quesos donde se realicen procesos de lavado de la cuajada y aguas residuales de lactosuero (CWW); que se definen como aguas de lavado que contienen diferentes fracciones de los anteriores (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012).

Los efluentes de la quesería tienen impacto ambiental significativo, por sus características físico-químicas, dentro de las cuales se pueden resaltar los minerales (0.46-10%), sólidos suspendidos totales (0.1-22 g/L), pH (3.3-9.0), contenido de fósforo (0.006-0.5 g/L), nitrógeno total por Kjeldahl (TKN) (0.01-1.7 g/L), carga orgánica (0.6-102 g/L), esta última debido principalmente a la lactosa (0.18-60 g/L), proteína (1.4-33.5 g/L) y grasa (0.08-10.58

g/L), tomando en cuenta que el 99% de los componentes son biodegradables (Ergüder, *et al.*, 2001).

En la ilustración1 se observan las alternativas actuales y tradicionales para el manejo del CW, siendo este el mayor problema de vertimiento de esta industria láctea por su impacto ambiental considerable, debido a que presenta una demanda bioquímica de oxígeno (BOD) a partir de 40.000 mg/kg, constituyendo una carga ecológica altamente contaminante si es dispuesto como material residual (Rivas, Prazeres, & Carvalho, 2011).

Ilustración 1 Alternativas de manejo del lactosuero de queso



Tomado de (Carvalho, Prazeres, & Rivas, 2013)

Debido a la significativa carga orgánica, no debe ser descargado al ambiente sin tratamiento previo, por este motivo se hace necesario recuperar componentes como la proteína y la lactosa, para valorizar el lactosuero (Yorgun, Balcioglu, & Saygin, 2008). Estos procesos son importantes para mitigar el impacto ambiental y también, desde el punto de vista del requerimiento y tratamiento de agua para esta industria (Kushwaha, Srivastava, & Mall, 2010).

1.2. LACTOSUERO DE QUESO

El uso de la leche como alimento para humanos es una práctica que data antes de la domesticación de los animales en la prehistoria, debido a su calidad nutricional natural. El suero, subproducto resultante de la elaboración de quesos, no ha recibido mucha atención y se ha considerado de poco valor. Sin embargo, Hipócrates describió sus propiedades saludables en la antigua Grecia. Durante la edad media, era considerado no solo una medicina, sino también un afrodisíaco (Kosikowski, 1982). Recientemente, se ha incrementado el interés por sus componentes y la capacidad de concentrarlos selectivamente, por la calidad nutricional y carácter bioactivo de sus componentes en la salud humana (Madureira, *et al.*, 2007)

1.2.1. Caracterización de lactosuero de queso e implicaciones ambientales

El lactosuero se puede considerar como un líquido verde-amarillo, resultado de la precipitación y remoción de la caseína de la leche en la elaboración de queso (González, 1996). El color amarillo es causado por la presencia de riboflavina (vitamina B2) (De Wit, 2001). El agua es el principal componente, encontrándose entre el 93-94%, seguido por la lactosa entre 4.5-6.0%, las proteínas entre el 0.6-1.1%, los minerales 0.8-1.0%, el ácido láctico entre 0.05-0.9% y la grasa entre 0.06-0.5% (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012)

La precipitación de la caseína se realiza principalmente en la elaboración de quesos, pero también en industrias productoras de caseína o derivados de esta, por la aplicación de enzimas coagulantes. Cuando el pH del lactosuero se encuentra entre 6.5-6.0 se cataloga como lactosuero dulce. El segundo tipo es el ácido, resultado de procesos de fermentación o adición de ácidos orgánicos o minerales para coagular la caseína, elaborando quesos frescos ácidos como el Cottage, Quark, Crema, entre otros (Fuquay, 2011), los cuales representan un 2.5% del consumo *per cápita* en Colombia (Sepúlveda, 2007). La tecnología de este tipo de productos se observa en la ilustración 3. En la Tabla 1 se comparan composicionalmente, el lactosuero ácido y el dulce, notándose variabilidad en la acidez, contenido de minerales y las proteínas presentes. Estas diferencias tienen un profundo efecto tecnológico en su tratamiento (Fuquay, 2011).

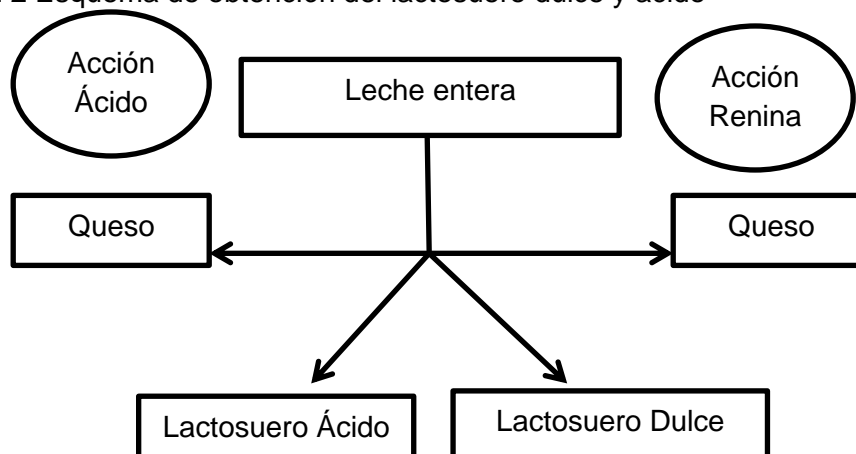
Tabla 1. Composición del lactosuero ácido y dulce

COMPONENTE (g/litro)	LACTOSUERODULCE	LACTOSUEROACIDO
Sólidos totales	63,0-70,0	63,0-70,0
Lactosa	46,0-52,0	44,0-46,0
Proteína	6,0-10,0	6,0-8,0
Calcio	0,4-0,6	1,2-1,6
Fosfato	1,0-3,0	2,0-4,5
Ácido Láctico	2	6,4
Cloro	1,1	1,1

Tomado de (Fuquay, 2011)

La producción de quesos a nivel mundial se estima en 20×10^6 ton/año, que equivale a una producción entre 180×10^6 a 190×10^6 ton/año de suero, de la cual se procesa el 50%, equivalente a 90×10^3 (Baldasso, Barros, & Tessaro, 2011) y la cantidad restante es vertida al ambiente sin tratamiento previo. Por cada 1-2 kg de queso producido, se obtienen 8-9 kg de lactosuero (Rektor & Vatai, 2004; Atra, *et al.*, 2005).

Ilustración 2 Esquema de obtención del lactosuero dulce y ácido



Tomado de (Madureira, *et al.*, 2007)

1.2.2. Proteínas del lactosuero de queso

1.2.2.1. β -Lactoglobulina

La β -Lactoglobulina es cuantitativamente dominante dentro de las proteínas séricas, (58% p/p). Cuando es aislada exhibe baja solubilidad y baja fuerza iónica. Sintetizada en la glándula mamaria de los rumiantes, presenta variantes genéticas, siendo la β -LG A la más común, compuesta por 162 aminoácidos y un peso molecular de 18277 kDa (Fox & McSweeney, 1992). Tiene la función de transferir inmunidad pasiva al recién nacido y regular el metabolismo del fósforo en la glándula mamaria (Marshall, 2004). Además, por su composición de aminoácidos ayuda al crecimiento muscular y fuente de cisteína (De Wit, 2001).

1.2.2.2. α -Lactoalbumina

La α -Lactoglobulina es clasificada como la segunda proteína sérica en importancia, representando el 20% (p/p) del total en el lactosuero, sintetizada en la glándula mamaria. Actúa como cofactor en la síntesis de lactosa (De Wit, 1998). Contiene 123 aminoácidos y un peso molecular de 14175 kDa. Se reporta actividad anti carcinogénica, inhibiendo la división celular además como agente inductor de apoptosis. También se les asocia con el tratamiento de estrés crónico inducido por deterioro cognitivo (Madureira, *et al.*, 2007).

1.2.2.3. Albumina de lactosuero bovino (BSA)

No es sintetizada en la glándula mamaria, pero por difusión pasiva pasa a la leche, contiene 582 aminoácidos y un peso molecular de 66267 kDa. Puede enlazar ácidos grasos libres y otros lípidos, como componentes de sabor. Puede inhibir el crecimiento de tumores, probado con células cancerígenas *in vitro*, regulando factores de crecimiento (Fox & McSweeney, 1992).

1.2.2.4. Inmunoglobulinas

Grupo complejo, producidas desde los β -linfocitos, presentes en el lactosuero y fluidos fisiológicos de los mamíferos, unas se comportan como receptores y otras como anticuerpos y son liberadas en la sangre o en el sistema linfático. Son transferidas vía calostro al recién nacido, generando inmunidad pasiva. Estudios clínicos indican reducción del colesterol y la presión sanguínea al consumir leche inmune (Marshall, 2004).

1.2.2.5. Lactoferrina

Glicoproteína quelante de hierro, peso molecular de 80000 kDa, tiene dos carbohidratos en su estructura. Es secretada por neutrófilos maduros y glándulas de las células epiteliales, y se puede encontrar en la leche, saliva y en secreciones lagrimales, nasales e intestinales (Lonnerdal & Iyer, 1995). La leche bovina contiene entre 0.02 a 0.35 mg/l, dependiendo de la etapa de lactación, mientras que la humana contiene 4.0 mg/l.

La actividad antimicrobiana se le atribuye a la capacidad de enlazar hierro o enlaces directos con los fosfolípidos de la membrana bacteriana, teniendo efecto sobre amplio espectro de microorganismos (Farnaud & Evans, 2003). Además, combinada con ciertos antibióticos, genera acción de sinergia, por ejemplo, con la penicilina G, en el tratamiento contra *Staphylococcus aureus* (Diarra, et al., 2003). También reporta acción en *Streptococcus mutans*, causante de caries dental (Kaeriyama, et al., 2007), en el caso del *Helicobacter pylori* genera acción bactericida a pH de 6, en concentración de 0.5 mg/ml (Di Mario, et al., 2003), tiene efecto contra *Carnobacterium viridans* (Al-Nabulsi & Holley, 2005). En la Tabla 2 se observan los microorganismos gram-positivos y gram-negativos sobre los cuales se tiene reporte de actividad bactericida.

Se ha encontrado evidencia en ratones, del valor terapéutico en el tratamiento de distintos tipos de cáncer, como el de colon (Ma, et al., 2013). Esta actividad se explica por su capacidad de ligar hierro, porque este en forma libre actúa como promotor mutagénico, por daño oxidativo en la estructura de los ácidos nucleicos, entonces reduce el riesgo de carcinomas inducidos por oxidación (Galaris, Skiada, & Barbouti, 2008).

1.2.2.6. Lactoperoxidasa

Presente en gran variedad de secreciones animales, como saliva, leche y lágrimas. Perteneciente a la familia de las peroxidases mamíferas, y es una de las enzimas más abundantes en la leche, casi el 1% (p/p) de las proteínas séricas (Campbell, et al., 2012). Importante defensa en los mamíferos contra microorganismos invasores nocivos, es más activa a pH ácido, el ión tiocianato es necesario para la expresión de esta actividad. Son importantes inhibiendo la caries dental, controlando el crecimiento microbiano en la leche y eliminación de patógenos (Marshall, 2004)

Tabla 2. Bacterias contra las cuales se ha reportado efecto de la Lactoferrina (LF)

	Objetivo	Mecanismo de acción
Gram-positivos	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Secuestrante de hierro
	<i>Bacillus subtilis</i>	Interacción con pared celular
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Interacción con pared celular
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Secuestrante de hierro
	<i>Streptococcus mutans</i>	Interacción con pared celular
	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	Alterador del crecimiento bacteriano
	<i>Actinobacillus</i>	Actividad proteolítica
	<i>S. epidemidis</i>	Interacción con pared celular
	<i>S. epidermidis</i>	Previene formación biofilm
	Gram-negativos	<i>Chlamydomphila psittaci</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>		Altera virulencia
<i>E. coli</i> (EPEC)		Actividad proteolítica
<i>E. coli</i> (EAEC)		Interfiere adhesión celular
<i>E. coli</i> (DAEC)		Inhibe proliferación agregativa Prevención interacción célula-hospedero
<i>Helicobacter felis</i>		
<i>Helicobacter pylori</i>		Mecanismo independiente de hierro
<i>Legionella pneumophila</i>		previene proliferación intracelular
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Previene formación biofilm
<i>Shigella flexneri</i>		Interfiere mecanismo de secreción
<i>Vibrio cholerae</i>		Mecanismo independiente de hierro
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>		Aumenta inmunidad celular
<i>Mycoplasma bovis</i>		Previene formación biofilm
<i>Porphyromonas gingivalis</i>		Previene formación biofilm
<i>Salmonella enteritidis</i>		Interfiere polisacáridos celulares

Tomado de (García-Montoya, *et al.*, 2012)

1.2.3. Calidad nutricional y funcional de las proteínas del lactosuero de leche

En general, estas tienen alto valor nutricional, debido al contenido de aminoácidos esenciales, especialmente azufrados (De Wit, 2001; Custódio, *et al.*, 2005; Madureira, *et al.*, 2007). Las proteínas del suero, representan entre el 20 al 25% del total de proteínas de la leche, son globulares con presencia de aminoácidos ácidos/básicos e hidrófobos/hidrófilos balanceados a través de su secuencia. En la tabla 3 se encuentra la concentración de cada proteína sérica en el lactosuero y su peso molecular. Las principales son, la β -lactoglobulina (β -LG), α -lactoalbumina (α -LA), albumina de lactosuero bovino (BSA), lactoferrina bovina (BLF) y lactoperoxidasa. Adicionalmente, existen fracciones

pequeñas como el glicomacropéptido (GMP), liberado de la κ -caseína en el primer paso del tratamiento enzimático en la elaboración de queso (Madureira, *et al.*, 2007).

Además, se les atribuyen características nutraceuticas y funcionales, dentro de las cuales están; la α -LA etiquetada como nutraceutica y un aditivo para formulas infantiles por su alta concentración de triptófano (Beulens, *et al.*, 2004), β -LG usada como estabilizante en emulsiones por sus propiedades activas de superficie (Dunlap & Cote, 2005), la BSA tiene propiedades gelificantes (Matsudomi *et al.*, 1991), y es interesante para aplicación en alimentos y terapéuticos, las inmunoglobulinas son incluidas en formulas infantiles y también en el tratamiento de animales neonatos (Zydney, 1998), y además en suplementos especiales, reduciendo el riesgo de padecer diarrea causada por infecciones y otras enfermedades (Bayford, C., 2010), la lactoferrina bovina, que se encuentra en bajas concentraciones, tiene actividad biológica importante, entre ellas antimicrobiana, inmunestimuladora y antiinflamatoria (Arnold, *et al.*, 2002) también se ha evidenciado que inhibe el crecimiento de tumores y su metástasis, en ratones (Yu-tang, *et al.*, 2013). Además, si se digieren parcialmente son una fuente de péptidos bioactivos (McIntosh, *et al.*, 1998; Ryhanen, Pihlanto-Leppala, & Pahkala, 2001; Madureira, *et al.*, 2010).

Tabla 3. Proteínas séricas y su concentración en el suero

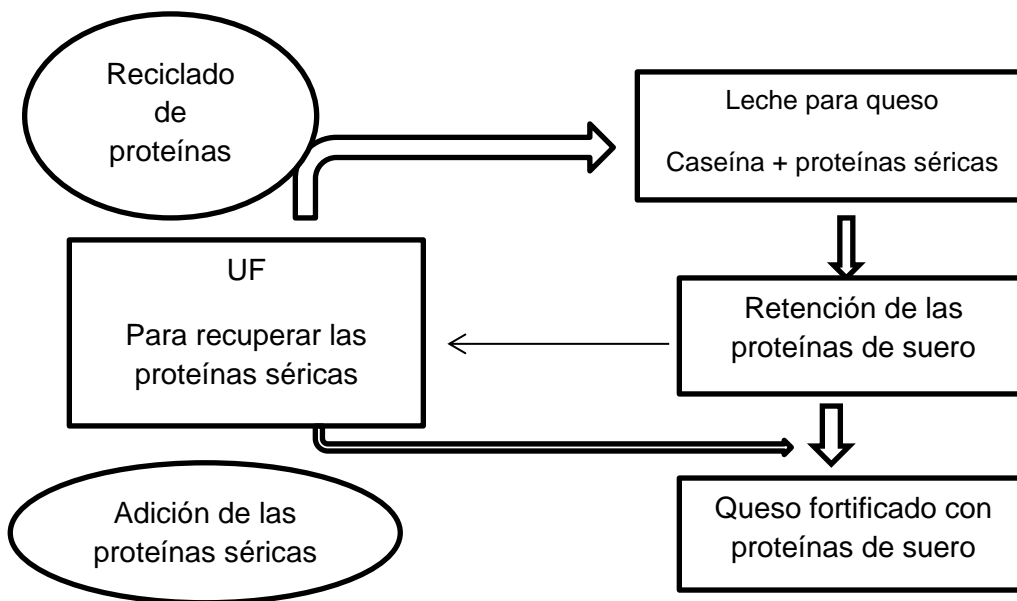
Proteína	Concentración (g/l)	Peso Molecular kDa	Numero de residuos (AA)
β -Lactoalbumina	1,3	18227	162
α -Lactoalbumina	1,2	14175	123
Albumina de lactosuero bovino	0,4	66267	582
Inmunoglobulinas (A, M y C)	0,7	25000 (ligera) + 50000 (pesada)	
Lactoferrina	0,1	80000	700
Lactoperoxidasa	0,03	70000	612
Glicomacropéptido	1,2	67000	64

Tomado de (Madureira, *et al.*, 2007)

La capacidad emulsificante se debe a su carácter anfílico (Lee, *et al.*, 2003). Si se realizan hidrolisis enzimático controladas se producen péptidos más pequeños, que poseen menos estructura secundaria y terciaria, exponiendo su núcleo hidrófobo, condición que aumenta la tasa de difusión del aceite en agua, comparado con las proteínas intactas (O'Regan & Mulvihill, 2010).

Se han probado y establecido tecnologías para integrar las proteínas séricas en el queso y así mejorar la eficiencia de uso de la leche. En la ilustración 4 se observa el esquema por medio del cual se retienen y reutilizan, usando el proceso de ultrafiltración (UF) (Hinrichs, 2001). Esta aplicación es diseñada para la incorporación en quesos frescos, donde el lactosuero resultante es concentrado, tratado térmica y físicamente (homogenización), para ser mezclado con la leche al inicio de la liberación del producto.

Ilustración 3. Posibilidades para la incorporación de proteínas de lactosuero al queso



Tomado de (Hinrichs, 2001)

1.2.4. Aplicaciones del lactosuero de leche

Debido al volumen de lactosuero producido por cada kilogramo de queso elaborado, se han desarrollado tecnologías y estrategias para su empleo. La alimentación de ganado bovino y porcino son alternativas usadas significativamente, pero actualmente, debido a la calidad de sus nutrientes, se están aplicando procesos de concentración y purificación para valorizarlos (Fuquay, 2011).

La técnica más usada para la conversión del lactosuero a un producto con valor industrial es el secado. Proceso básico compuesto por una o varias etapas de evaporación, seguido

de secado por atomización. El equipo es similar al usado en plantas de pulverizado de leche, teniendo cuidado con el fenómeno de cristalización de la lactosa y la temperatura que mitigue la afectación de la calidad de las proteínas. Este producto varía en composición y propiedades tecnológicas, dependiendo de los pretratamientos y manejo de la leche o del lactosuero (Fuquay, 2011). Algunos de los productos típicos se listan en la tabla 4.

El secado por atomización ha dejado de ser la tecnología ideal, porque el lactosuero entero pulverizado tiene bajo valor en mercado, comparado con sus componentes concentrados selectivamente. Otras tecnologías de secado se basan en sistemas de alta concentración (cerca de 76%) combinado con remoción adicional de humedad por evaporadores y secado en lechos fluidizados (Fuquay, 2011). Sin embargo, estos procesos que requieren evaporación y secado, implican alto consumo de energía, también alteran las características de los componentes nativos, principalmente las proteínas, que son termolábiles, perdiéndose parte de su calidad nutricional y funcionalidad (Baldasso, Barros, & Tessaro, 2011).

Tabla 4. Composición típica de los sueros en polvo típicos (% p/p)

Tipo de producto	Proteína total	Lactosa	Minerales
Lactosuero en polvo regular	12,5	73,5	8,5
Lactosuero en polvo desmineralizado (70%)	13,7	75,7	3,5
Lactosuero en polvo desmineralizado (90%)	15	83	1
Permeado de UF seco	1	90	9
Concentrado proteínas de suero	35	50	7,2
Proteínas de lactosuero concentradas	65-80	4,0-21,0	3,0-5,0
Aislado de proteínas de suero	88,0-92,0	menor 1	2,0-3,0

Tomado de Funquay, 2011

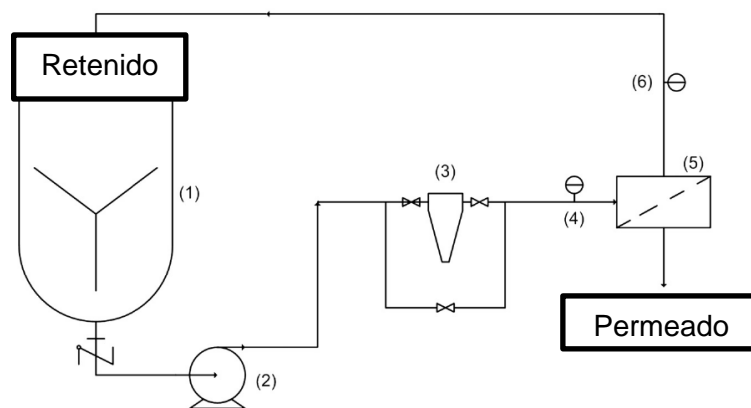
Los procesos industriales de recuperación del lactosuero y sus componentes, adicionales al secado, pueden cumplir una o varias de las siguientes etapas; fraccionamiento de componentes por tecnología de membranas, para obtener ingredientes con diferentes tamaños moleculares; remoción de la lactosa, aprovechando la baja solubilidad de esta, llevándola a procesos de cristalización; desmineralización, basado en remoción de

minerales y algunos ácidos orgánicos a través de nanofiltración, diafiltración, intercambio iónico o electrodiálisis (De Wit, 2001).

Dentro de las tecnologías de fraccionamiento la ultrafiltración (UF) es una metodología atractiva y alternativa, que no incluye tratamiento térmico severo y en consecuencia sin cambio de fases, haciendo el proceso de concentración más económico. Se basa en la tecnología de separación por membranas, usado para retener macromoléculas, y particularmente en la industria láctea, se emplea para la recuperación y fraccionamiento de componentes de la leche (Baldasso, Barros, & Tessaro, 2011). De esta manera, se puede variar la tasa de concentración de los componentes, debido a la retención de proteínas y permeado el agua, lactosa, minerales y demás componentes de tamaño menor (Brans, 2006).

La diafiltración (DF) es usada para la producción de concentrados con alto contenido de proteína de lactosuero (WPC). La purificación ayuda a la eliminación de problemas asociados al alto contenido de productos retenidos no proteicos (Ebersold & Zydney, 2004). En la ilustración5 se observa un esquema de filtración por membranas usado a nivel experimental por (Baldasso, Barros, & Tessaro, 2011).

Ilustración 4. Esquema de un sistema de concentración por membranas



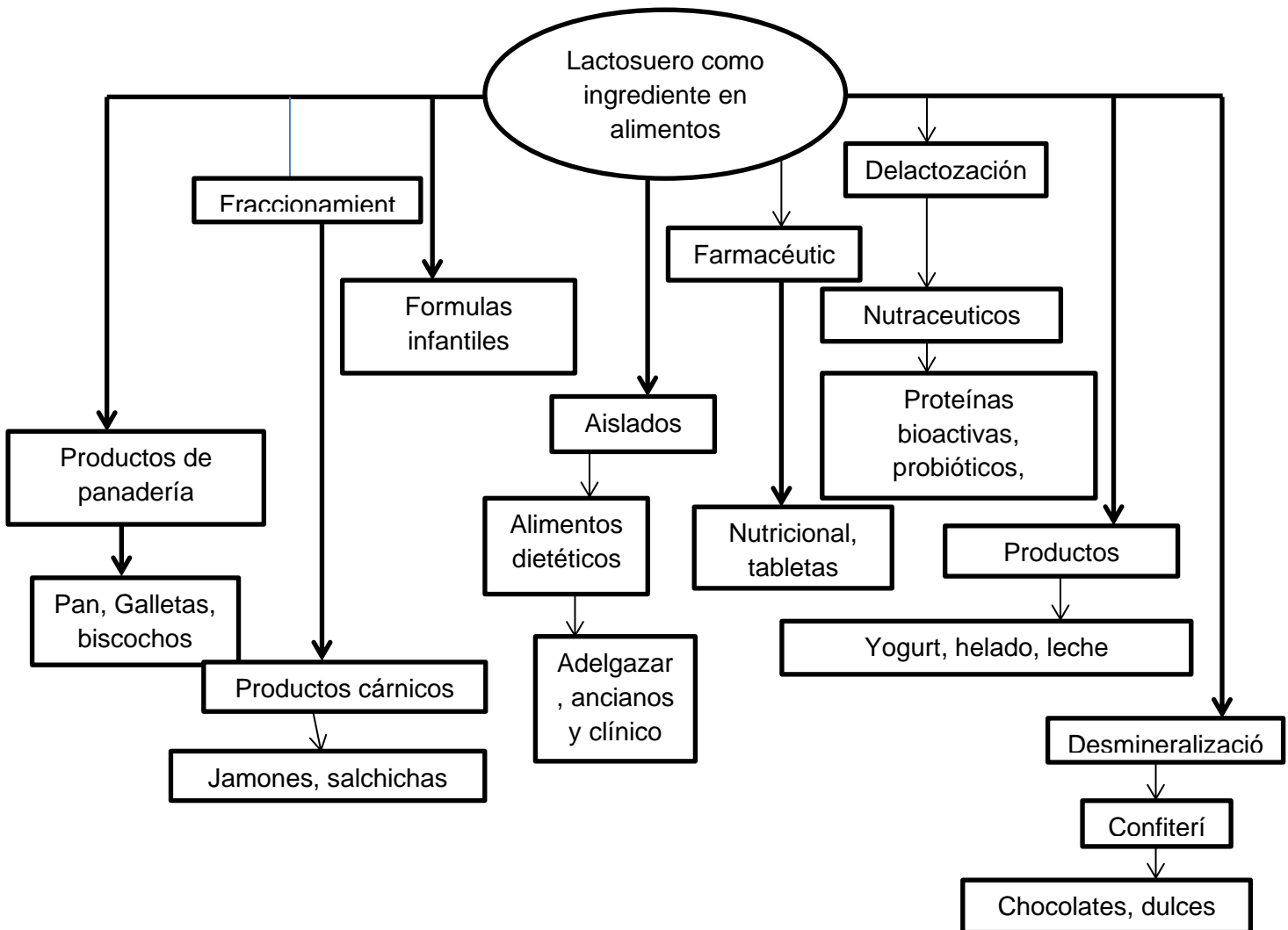
Tomado de (Baldasso, Barros, & Tessaro, 2011).

(1) Tanque de alimentación, (2) Bomba neumática, (3) Pre-filtro, (4) y (6) manómetros, (5) Modulo de membranas

La producción de lactosuero en polvo se ha incrementado, por su uso como suplemento nutricional y un reemplazante para la leche en polvo descremada en la formulación de

alimentos. La introducción de las técnicas de fraccionamiento y aislamiento incrementó las aplicaciones en la industria de alimentos, como se ve en la ilustración 6, donde se hace una organización arbitraria de ellas, según (De Wit, 2001).

Ilustración 5. Procedimientos de recuperación y utilización del lactosuero en alimentos



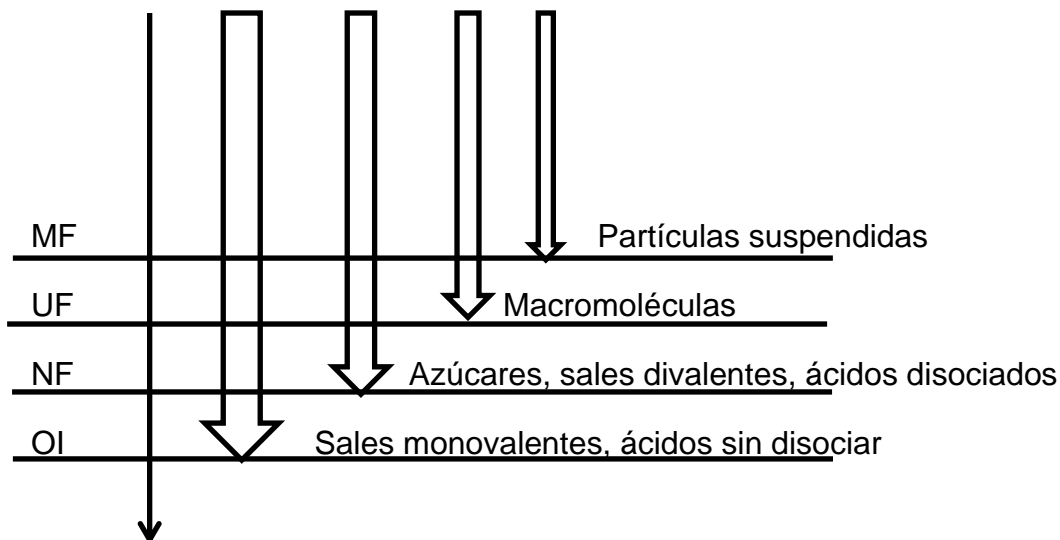
Tomado de De Wit, J. (2001)

1.3. FILTRACIÓN POR MEMBRANAS Y APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA LÁCTEA

La filtración es definida como la separación de dos o más componentes de diferente tamaño que se encuentran en un fluido primario. El rol primario es actuar como una barrera selectiva, que debe permitir el pasaje de ciertos componentes y retener otros. Las membranas se pueden clasificar por (a) naturaleza de la membrana (natural y sintética), (b) estructura (porosas y no porosas o membranas líquidas); (c) aplicación (separación de fase gaseosa, gas-líquido, líquido-líquido, entre otras); y (d) mecanismo de acción: adsorción-difusión, intercambio iónico, osmosis o membranas no selectivas (Cheryan, 1998).

Los principales sistemas de separación por membranas basados en el tamaño de partícula son la osmosis inversa (OI), ultrafiltración (UF), microfiltración (MF), nanofiltración (NF) y diálisis. Las presiones aplicadas para cada una de las tecnologías son diferentes, debido a la energía necesaria para atravesar los poros de la membrana, siendo MF y UF de bajas presiones y NF y OI de altas. Debido a la naturaleza y tamaño o peso molecular de corte de la membrana, esta seleccionará los componentes que pueden permear, como se muestra en la Ilustración 7.

Ilustración 6. Características de separación de los sistemas de membranas



Tomado de Cheryan, 1998, *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*

Dentro de la industria de alimentos, la láctea tiene la mayor capacidad instalada de dicha tecnología. La primera aplicación comercial exitosa se realizó sobre lactosuero de leche, con OI. Así que la industria láctea se considera pionera en el desarrollo de equipos de ultrafiltración por las experiencias en fraccionamiento de proteínas (Rektor & Vatai, 2004).

Desde 1969, las aplicaciones en quesos se han expandido a numerosas áreas, como los quesos frescos, suaves, semi-duros y duros, a partir de leche de vaca, cabra, oveja o búfala y también producción de leche en polvo con buenas propiedades para la quesería (Mistry & Maubois, 2004).

El sistema de membranas ofrece posibilidades para mejorar la sustentabilidad de la industria láctea, implicando adicionalmente reducción de costos, por los siguientes aspectos:

- Concentración o reducción de volumen
- Recuperación de productos (proteínas, minerales, lactosa entre otros)
- Recuperación de agua
- Sanitización de salmueras
- Clarificación de soluciones CIP
- Pre-concentración

Las definiciones según (Mistry & Maubois, 2004) y las aplicaciones según (GEA Process Engineering, 2012) de cada uno de los sistemas en la industria láctea se encuentran a continuación:

1.3.1. Microfiltración (MF)

Selecciona partículas con un peso molecular mayor de 200000 Da y un tamaño de poro entre 0.1 a 10 μm . De acuerdo al tamaño de poro puede remover células somáticas, glóbulos de grasa, células bacterianas, micelas de caseínas y componentes de lactosuero agregados, β -caseína y β -lactoglobulina (Mistry & Maubois, 2004).

En la industria láctea se aplica en reducción de la carga bacteriana, extendiendo la vida útil de la leche, proceso alternativo al tratamiento térmico, conservando las características químicas iniciales. También remueve esporas, células muertas e impurezas, liberándola de células autolizables y posterior liberación enzimática. Higienización y estandarización de leche destinada a la elaboración de quesos, ajustando la concentración de la proteína

y la grasa, reteniendo de bacterias que generan defectos en el producto y de ciertos inhibidores (Nitratos). Retención de grasa láctea, ayudando a optimizar la obtención de concentrados proteicos. También es importante en la recuperación y sanitización de salmueras, crítica en el finalizado de los quesos, retirando bacterias y residuos extraños.

1.3.2. Ultrafiltración

Este proceso selecciona macromoléculas que tiene peso entre 1000 – 200000 Da, desde solventes y solutos disueltos, el tamaño del poro de la membrana se encuentra desde 1 a 100 nm. El flujo de alimentación se realiza a menos de 1000 kPa, considerándose una tecnología de baja presión, comparado con NF y OI, el permeado obtenido, también conocido como ultrafiltrado contiene agua, lactosa, minerales solubles, nitrógeno no proteico y vitaminas solubles en agua, por otra parte, en el retenido se puede encontrar proteínas, grasa y sales coloidales (Mistry & Maubois, 2004).

En la industria láctea se aplica en concentración proteica para la elaboración de quesos, obteniendo leches pre-concentradas, optimizando uso de equipos y la estandarización del producto obtenido; también para la obtención de MPC's; se llevan a cabo procesos de estandarización y enriquecimiento de leche para yogurt, kéfir, entre otros. También permiten la concentración de las proteínas del lactosuero a partir de diferentes fuentes como el lactosuero dulce y ácido derivado de procesos como la obtención de caseínas, quesos o a partir de permeados de microfiltración de leche. Este proceso es normalmente combinado con la diafiltración que permite mayores niveles de pureza. Incluso a partir de este proceso, acompañado tratamientos de desmineralización, permitiendo así la obtención de aislados de proteínas de lactosuero (WPI) (Prazeres *et al.*, 2012; Giroux *et al.*, 2015).

Para lograr concentrados de proteínas del lactosuero (WPC) de alta pureza; se realizan procesos de desmineralización y algunos procesos de precipitación térmica, logrando una lactosa de alta pureza; También se pueden obtener quesos frescos por medio de la concentración de la leche entera hasta lograr de 34 a 40% de solidos totales, este concentrado es pasteurizado y adicionado con cultivos iniciadores. Con esta tecnología el rendimiento puede aumentar en 20% comparado con métodos tradicionales.

Para llevar a cabo este tipo de procesos de concentración selectiva, existen variables e indicadores que permiten controlar el proceso. Las más relevantes pueden ser el flujo de

permeado (J_p) que es definido como los litros de permeado que se pueden producir por unidad de área en unidad de tiempo bajo unas condiciones de temperatura y presión transmembranaria, y permite evaluar la dinámica de taponamiento de los poros de la membrana. También la evaluación de coeficientes de retención del soluto de interés, los cuales han sido aplicados por autores como Barba *et al.* (2001), Butylina *et al.* (2009) y Bipasha, Das, *et al.* (2015). D'Souza y Wiley (2013) identificaron parámetros de proceso relevantes como la temperatura, diferencias de presión transmembranaria, concentración del flujo de alimentación, pH del producto tenían efectos significativos sobre el flujo de permeado y la retención total de sólidos.

1.3.3. Nanofiltración (NF)

Se encuentra entre la OI y la UF, separando componentes de bajo peso molecular, entre 200 a 1000 Da y tamaño de poro entre 1 hasta 10 μm . La presión de trabajo está entre 1 a 5 MPa. Al hablar de filtración de leche se podrían permear moléculas ionizadas pequeñas, así como sales minerales disueltas. Mientras que la lactosa, proteínas y grasa son retenidas, sirviendo en el proceso de desalado del suero, reciclado de aguas de lavado, entre otras (Mistry & Maubois, 2004).

En la industria láctea se aplica en procesos de concentración y desmineralizado parcial de suero, especialmente el cloruro de sodio y potasio y se aplica a la obtención de lactosa. El nivel de desmineralización puede estar por encima del 30%, haciendo más eficientes los procesos posteriores de retiro de minerales. Asimismo, se utiliza en la obtención de derivados de leche de alta calidad, libres de lactosa, resultando en productos deslactosados con un sabor y olor similar a la leche fresca; recuperación de detergentes, purificando las soluciones de lavado en el sitio (CIP), reduciendo la demanda bioquímica de oxígeno y la pérdida de agentes de lavado. Existen combinaciones de estas metodologías para el aprovechamiento íntegro del lactosuero de leche y todos sus componentes, en la ilustración 9 se muestra el proceso para este fraccionamiento.

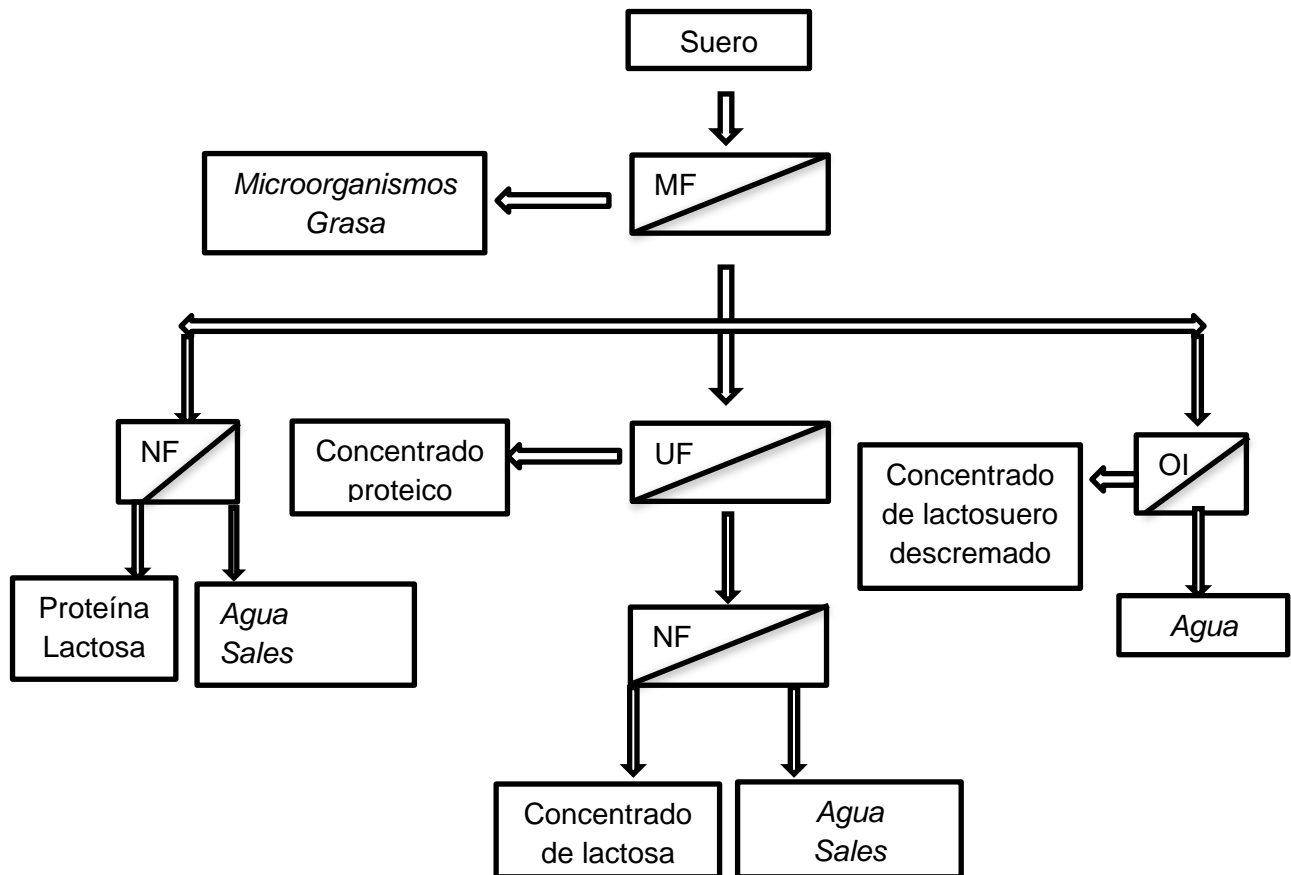
1.3.4. Osmosis inversa (OI)

También conocida como hiperfiltración, es un proceso para separar el agua de otros solutos, trabaja a presiones entre 5 a 10 veces mayor que la UF. Separa solutos con un

peso molecular de aproximadamente 150 Da o menos y el tamaño del poro va desde 0.1 hasta 1.0 nm. Entonces la grasa, proteínas, lactosa, y los minerales sin disociar son retenidos y concentrados, pasando a través de ella agua y algunos minerales ionizados (Mistry & Maubois, 2004).

En la industria láctea se aplica como pretratamiento para posterior evaporación por su eficiencia, retirando agua de la leche o el suero. Esta tecnología aumenta el contenido de sólidos totales lácteos y es útil en la recuperación de aguas residuales, pulido de agua proveniente de evaporaciones, y procesos de limpieza; reduce la demanda bioquímica de oxígeno de las aguas vertidas, y por consiguiente la tasa de emisión.

Ilustración 7. Alternativas para el uso íntegro del suero



Tomado de (Rektor & Vatai, 2004)

1.4. QUESO

Data de siglos antes de Cristo, probablemente en la zona cálida de la cuenca del mar Mediterráneo. Se desarrollaron diferentes tipos de queso paralelamente en varios países. Fueron estandarizados en Egipto y Grecia, pero obteniendo su estatus de alto nivel en la antigua Roma. Desde el 100 al 50 A.C. Emperadores, senadores y los humildes ciudadanos se deleitaban con el sabor de un buen queso. Debido a las campañas de expansión romana, las técnicas de quesería eran adoptadas por los pueblos a los cuales conquistaban. La tribu helvética en el área Alpina, perteneciente a la actual Suiza inició la producción de queso Emmenthal en el 58 AC, probablemente por influencia Romana durante la invasión previa (Kosikowski, 1982).

El queso natural viene de una concentración selectiva de componentes insolubles de la leche. El calentamiento, ácido, sal y bacterias juegan un rol efectivo, solos o en combinación, transformando este concentrado en un producto fresco aceptable y de cualidades predecibles (Kosikowski, 1982).

Según la norma general recomendada del Codex Standard (2013) el queso es el producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no, que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de lactosuero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante:

1. Coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche desnatada/descremada, leche parcialmente desnatada/descremada, nata (crema), nata (crema) de lactosuero de mantequilla/manteca, o de cualquier combinación de estos materiales, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del lactosuero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína)
2. técnicas de elaboración que, por medio de la coagulación de la proteína de la leche y/o de productos obtenidos de la leche, dan un producto final que posee las mismas características físicas, químicas y sensoriales que el producto definido en el apartado anterior.

La producción de leche mundial se estima en 804,5 millones de ton, de este valor el 25% se emplea en la elaboración de quesos, variando esa cantidad entre países (Law &

Tamime, 2010: FAO, 2015). Las diferentes variedades de queso se basan principalmente en condiciones regionales y tecnología de producción. El principal objetivo es convertir la leche en un producto con mayor vida útil para preservar los nutrientes. En general, la metodología para mantener y extender la vida útil de un producto sin tratamiento térmico, ni empaque adecuado es la reducción de la actividad de agua (aw). La coagulación con renina y la fermentación es una combinación efectiva para lograr este proceso; sin embargo, se pierden las cualidades nutricionales de las proteínas séricas (Hinrichs, 2001).

Por elaboración tradicional, se pueden recuperar entre 6 y 30 kg de cuajada por cada 100 kg de leche coagulada, según el tipo de queso, lo demás es representado por el suero. La estructura básica de este producto es la caseína, que representa el 80% de las proteínas de la leche, el restante son las proteínas séricas, que no son retenidas en la red de caseínas. El rendimiento quesero concentra gran interés en la industria, y es influenciado por: (a) contenido de proteína y grasa en la leche, (ii) retención o reincorporación de proteínas de lactosuero y (iii) incorporación al queso, de otros constituyentes de la leche (Hinrichs, 2001).

1.4.1. Aplicación de la tecnología de membranas en la elaboración de quesos

La UF es el proceso más ampliamente usada en la industria láctea y esta es pionera en el desarrollo de equipamiento y técnicas de dicha tecnología (Atra, Vatai, Bekassy-Molnar, & Balint, 2005). Aunque independiente de la tecnología usada, las propiedades de los productos enriquecidos en proteína deben ser entendidas, para determinar su calidad y la viabilidad económica (Mistry & Maubois, 2004). La elaboración de quesos se puede definir como el proceso de fraccionamiento donde la proteína y la grasa son concentradas en la cuajada, mientras que la lactosa, proteínas solubles, minerales y otros componentes solubles son perdidos en el suero. Cuando se aplica el proceso de UF en la elaboración de quesos, la leche puede ser pre-concentrada hasta niveles normales en un queso, adelantando el proceso de desuerado, otra opción es el pre-queso, que luego será convertido en queso por medio de procesos tradicionales de elaboración (Cheryan, 1999). Los beneficios de la UF en la elaboración de quesos según (Cheryan & Alvarez, 1995):

- ❖ Incremento del rendimiento quesero entre un 10-30% por la inclusión de proteínas de lactosuero y agua ligada. Esta última en los quesos suaves y semisuaves.

- ❖ Se requiere menos cantidad de enzima coagulante,
- ❖ Reducción del volumen de leche a manipular y, en consecuencia, de mano de obra o mejorando el aprovechamiento de los espacios en planta.
- ❖ Poca o cero producciones de lactosuero porque la mayoría del agua y la lactosa han sido removidas. Sin embargo, el permeado de UF, el cual es menos ácido, claro, no contiene proteína y tiene alto contenido de carbohidratos fermentables (Lactosa) y nitrógeno no proteico soluble.
- ❖ Uniformidad en la calidad del producto obtenido. Los niveles pueden ser estandarizados y sufrir menos alteraciones por la temporada climática.
- ❖ Posibilidad de usar procesos continuos y automatizados, que mejora el control de calidad, especialmente la humedad. Resultando en mejor sanitización y condiciones ambientales.

Sin embargo, implica dificultades técnicas;

- ❖ Incremento dramático de la viscosidad cuando el contenido de proteína excede 12-14%. Lo que dificulta la mezcla de cultivos, renina, y causa problemas de textura en el queso. Puede mitigarse este efecto con el uso de NaCl, citrato o ácido luego de UF.
- ❖ La capacidad buffer o amortiguadora del retenido aumenta, así que el proceso de acidificación es lento.
- ❖ La recirculación del retenido genera homogenización parcial de la grasa, afectando la textura de quesos duros.

La tecnología ha sido aplicada a nivel industrial en la elaboración de queso crema, camembert, feta, ricotta, pasta hilada, cheddar, bases de queso, cottage cheese y queso mantequilla (Hinrichs, 2001). Se ha sugerido que la potencial Zeta de las micelas de caseína tratadas por UF es menor, por lo cual, la coagulación se da en menor tiempo (Rosenberg, 1995)

En la tabla 5 se observan los quesos elaborados por las técnicas de retenido de baja concentración (LCR), retenido de concentración media (MCR) y pre-queso líquido (LPC).

Tabla 5. Aplicaciones del UF en quesería

Variedades Elaboradas por LCR		Variedades Elaboradas por MCR		Variedades Elaboradas por LPC	
Cheddar	Brick	Cheddar	Gouda	Camembert	Mascarpone
Cottage	Colby	Feta	blue	Quarg	Feta
Mozzarella	Edam	Havarti		Saint	
Saint Paulin	Quarg			Maure	Mozzarella
				Ricotta	Saint Paulin
				Crema	

Tomado de (Rosenberg, 1995).

Otra metodología que es adecuada para la transformación de las proteínas de lactosuero concentradas (WPC) son los procesos térmicos, acompañados de altas presiones de homogenización, principales pasos de la microparticulación (Sturaro, A. *et al.*, 2015). Las propiedades de los WPC pueden modificarse específicamente por una desnaturalización y agregación controladas (Nicolai T., y Durand, D., 2013).

Los microparticulado (MWP) se obtienen de la agregación controlada de las proteínas de lactosuero hasta un tamaño de partícula entre 0,1 a 100 μm y que son usados en la industria de alimentos por su capacidad de mejorar las características sensoriales y texturales de los productos alimenticios (Sturaro, A. *et al.*, 2015). El desarrollo de unas micropartículas de proteínas de lactosuero fue patentado por Singer *et al.* (1988) y este proceso se basó en la agregación térmica de estas proteínas en condiciones de pH bajo con una alta cizalla. Como resultado de este proceso se obtuvieron partículas esféricas con tamaño de partícula entre 0,1 a 2,5 μm y fue comercializado como sustituto de grasa (Simplese®) (Ipsen 2017) por parte de la empresa NutraSweet. Estas partículas esféricas imitan la forma esférica y el tamaño de las gotas de grasa emulsificadas y crean una sensación en boca cremosa por el mecanismo “ball-bearing”. Este producto fue el primer sustituto de grasa desarrollado a partir de proteínas, que fueron microparticuladas y secadas por aspersión, que pueden simular el efecto de los glóbulos de grasa emulsificados formando una fase dispersa con movimiento independiente (Chavan, *et al.* 2016). Autores como Di Cagno, *et al.* (2014) usaron la inclusión de un MWP en la

elaboración de queso Caciotta bajo en grasa con el objetivo de generar una textura similar al queso con el contenido de grasa tradicional. Los quesos bajos en grasa adicionados con MWP tuvieron calificaciones sensoriales similares al producto tradicional, por lo cual se consideró una alternativa viable para un producto más saludable en la dieta de la población.

Tabla 6. Principales productos derivados del lactosuero

Producto	Proteína total (%)	Lactosa (%)	Minerales (%)
Suero en polvo regular	12,5	73,5	8,5
Lactosuero en polvo desmineralizado (70%)	13,7	75,7	3,5
Lactosuero en polvo desmineralizado (90%)	15	83	1
Permeado de UF	1	90	9
WPC (sustituto de leche en polvo descremada)	35	50	7,2
WPC	65 - 80	4,1-21	3,1 - 5
WPI	88 - 92	<1	2,1-3

Tomado de Jelen 2011

Los derivados del lactosuero, gracias a las características de solubilidad a diferentes valores de pH, gelificación y espumado han sido usados en varios productos de alto contenido de proteína en productos como bebidas ácidas, postres de leche de texturas espumosas, yogures y productos lácteos y no lácteos similares. Se estima que a nivel mundial se producen 10 millones de toneladas de sólidos de lactosuero de los cuales el 50% de aprovecha en alimentación humana y el restante en alimentación animal (Sanchez-Obando, J., et al. 2020).

A partir de los WPC se han obtenido productos derivados de las proteínas de lactosuero (MWP), que pueden han sido incluidos en diferentes derivados lácteos con objetivos como el aumento de retención de proteínas de alto valor biológico y rendimiento en quesos y mejoradores de textura en productos reducidos en grasa como yogures, helados, quesos, postres, entre otros. Autores con Sanchez-Obando, J., et al. (2020) usaron el MWP en la fabricación de petit-suisse reducido en grasa, alcanzando reducciones hasta del 40% de la grasa sin afectar la apreciación sensorial, haciéndolo ideal para lograr productos bajos en grasas. Stankey, J., et al. (2017) fabricaron queso cheedar reducido en grasa usando MWP y evaluaron el efecto en el rendimiento y la calidad del queso, en este caso hubo aumento del rendimiento quesero pasando del 7,22% en el control hasta 7,45% con la inclusión de 0,5% de MWP, fenómeno explicado por la capacidad de

retención de agua de las proteínas del lactosuero y con respecto a las características sensoriales, no se vieron afectadas significativamente aunque el queso fue más blando que el control. En el campo de los helados Hossain, M., et al. (2021) incluyó MWP comercial y un MWP extruido en la fabricación de helado "Light", comprobando que los helados con micropartícuado tuvieron mejor comportamiento en textura con respecto al control, ya que les otorgó mayor firmeza. Por otro lado, Hossain M., et al. (2020) también aplicó MWP en la fabricación de yogurt batido reducido en grasa y encontró que el MWP aporta en cremosidad del producto y este efecto se marcó mucho más cuando el MWP presentó tamaños de partícula más cercanos a $0,1 \mu\text{m}$. Li, H., et al. (2021) elaboró yogurt bajo en grasa con adición de proteínas de lactosuero tratadas térmica y físicamente (MWP), logrando que los yogures con MWP mejoraron su capacidad de retención de agua y cremosidad, por lo tanto, se determina su gran utilidad como estabilizadores y sustitutos de grasa en derivados lácteos como los helados y los quesos procesados.

2. Capítulo 1: Artículo: Concentración de Proteínas de Lactosuero Dulce de Queso Blanco por Ultrafiltración

Edinson Bejarano Toro; Eduardo Rodríguez Sandoval; José Uriel Sepúlveda Valrencia

Resumen

La industria láctea genera contaminación por el vertimiento de lactosueros resultantes de la elaboración de productos coagulados. La tecnología de ultrafiltración se ha estudiado ampliamente en suero ácido; sin embargo, la investigación es escasa en suero dulce, el cual se obtiene de la producción de queso blanco fresco (queso campesino). El objetivo de este estudio fue concentrar por ultrafiltración las proteínas de lacto suero dulce evaluando condiciones de proceso. Se usó una membrana de polietersulfona con tamaño molecular de corte de 10 kDa. El efecto del factor concentración volumétrico entre 5 y 18, y la presión transmembrana entre 2,5 y 5 bar fueron evaluados sobre el flujo de permeado, coeficiente de retención y rendimiento de retención de la proteína en una metodología de superficie de respuesta. En ese mismo rango se realizó la optimización del proceso. Las proteínas y grasas se concentraron aplicando ultrafiltración; sin embargo, se obtuvo un sistema menos estable ya que una mayor concentración de proteína puede resultar en más colisiones entre moléculas, generando floculación. El concentrado de proteína de suero tuvo 18,2% de sólidos totales, de los cuales la proteína representa el 45%.

Palabras clave: Fabricación de queso, concentrado de proteínas, tecnología de membranas, ultrafiltración, lactosuero.

Introducción

La industria láctea, genera lactosuero como resultado de la coagulación enzimática o ácida de las proteínas de la leche. Este co-producto genera problemas de contaminación ambiental, corroborado por indicadores como la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) que varía entre 30000 a 50000 mg/kg, la cual se debe principalmente a su contenido de lactosa y proteínas séricas. El vertimiento de éste en los cuerpos de agua sin tratamientos previos genera fenómenos como el consumo de oxígeno, impermeabilización, eutrofización, toxicidad, entre otros, (Prazeres *et al.*, 2012; Giroux *et al.*, 2015).

En la industria láctea, se estima que por cada kg de queso se obtienen, en promedio, 9 L de lactosuero, por lo cual se cataloga como una gran generadora de aguas residuales con alta carga contaminante (Giroux *et al.*, 2015). La producción mundial de este efluente se estima entre 180 a 190 millones de ton/año, de las cuales se procesa o redirige a procesos

industriales, aproximadamente el 50%, por lo tanto 90 millones de ton/año son vertidas, principalmente en fuentes acuíferas, alrededor del mundo (Prazeres *et al.*, 2012; Bansal and Bhandari, 2016).

Según Fedegan (2022) el acopio forma de leche en Colombia fue de 3113 millones de litros en el año 2021 y según Asoleche (2020) el 21% de esta es destinada a la producción de queso campesino y queso doble crema, por lo cual se estima una producción de lactosuero alrededor de 580.000 litros al año. según estimaciones de Arango (2005) y CSIRO (2014) la producción real en Colombia es de 2.1 millones de ton/año y se está vertiendo sin tratamientos adecuados entre el 70 al 80% de este volumen.

Las prácticas tradicionales para el uso del lactosuero son la fertilización de suelos por riego directo, la alimentación animal y el secado por aspersión (Bansal and Bhandari, 2016). Actualmente, se han desarrollado otras alternativas, para su tratamiento, que permiten el fraccionamiento de sus componentes, permitiendo obtener concentrados ricos en proteína y lactosa, que tienen alto valor económico en el mercado (Jelen, 2011). la ultrafiltración (UF) retiene macromoléculas que tienen un peso molecular entre 1000 – 200000 Da, con tamaños de poro desde 1 a 100 nm. El flujo de alimentación se lleva a cabo con menos de 1000 kPa, por lo tanto, se considera una tecnología de baja presión, comparada con la nanofiltración (NF) y la osmosis inversa. EL permeado obtenido, es conocido como ultrafiltrado y contiene agua, lactosa, minerales solubles, nitrógeno no proteico y vitaminas solubles en agua. Adicionalmente, las proteínas, la grasa y las sales coloidales pueden ser encontradas en el concentrado (Mistry and Maubois, 2017). Autores como Rastogi, Priya y Gogate (2022) exploraron la concentración de proteínas de lactosuero dulce por UF con la polimerización de las proteínas por medio de la enzima transglutaminasa, lo cual ayudó a reducir procesos de taponamiento de la membrana y aumentó la tasa de retención de la proteína del 69% hasta el 85%. Wang, et al. (2022) usaron lactosuero obtenido de la fabricación de queso cheddar para ser filtrado por una membrana de polietersulfona (PES) de 10 kDa de tamaño de corte, y evaluaron su capacidad de retención con modificaciones del ambiente iónico del lactosuero usado, logrando una mayor retención de proteína por los cambios conformacionales generados sobre las proteínas. Con lactosuero ácido y dulce obtenidos de la elaboración de queso tvarog (coagulado por acidez) y gouda, respectivamente, fue evaluado por Tarapa, et al. (2022) para describir los fenómenos de taponamiento de la membrana con la filtración en estas dos condiciones, teniendo en cuenta que este parámetro es crítico para la viabilidad de los procesos de concentración.

Se encontró que más allá de la condición de acidez del lactosuero, el factor más determinante es la concentración de proteína, que al aumentar también genera mayor taponamiento de los poros. Baldasso, Barros, & Tessaro, (2011) usaron lactosuero de queso Mozzarella para obtener un concentrado de proteínas de alta pureza por medio de UF y diafiltración (DF) probando diferentes ciclos y volúmenes de agua adicionada en esta última tecnología. Barba *et al.*, (2001) también demostró la efectividad de la UF y DF para obtener un concentrado de proteínas de alta pureza a partir de un lactosuero con pH 4. Una parte importante de los lactosueros colombianos son obtenidos como resultado de la elaboración de cuajadas frescas, sin adición de bacterias, por coagulación enzimática de la leche. Adicionalmente, con la revisión de la literatura disponible, se encuentran trabajos como los de Rincon-Garcia, Sepúlveda-Valencia y Ciro-Velásquez (2020), Zapata, S., et al. (2021) y Vargas, D., et al. (2019) enfocados en lactosueros obtenidos de la elaboración de quesos colombianos. Sin embargo, la evaluación del proceso de UF sobre el lactosuero dulce para la obtención de un concentrado de proteínas a partir del queso blanco colombiano no ha sido explorado y, por lo tanto, se propone como objetivo del presente trabajo, con el objetivo de generar alternativas de valorización de este efluente.

Materiales y métodos

Características fisicoquímicas y composicionales del lactosuero y el concentrado de proteínas obtenido

La leche usada para elaborar el queso blanco se obtuvo de una finca lechera con vacas de raza Holstein, y presentó en promedio 3% de proteína, 3,6% de grasa y 12% de sólidos totales. Los animales son alimentados con pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). La leche fue obtenida por medio de un ordeño mecánico y fue almacenada en refrigeración (2-6°C) hasta que fue procesada. El lactosuero dulce fue obtenido de fabricar un queso fresco coagulado enzimáticamente (queso blanco) que fue proveído por la empresa Productos Lácteos Aura SA (Rionegro, Antioquia, Colombia). El queso blanco es tradicional de Colombia, es fresco, obtenido por coagulación enzimática de la leche sin adición de bacterias. Se fabricó con leche entera, que fue pasteurizada a 75°C por 15 s de retención, luego fue enfriada a 35°C para ser coagulada (Chimax, CHR Hansen, Denmark). La cuajada fue cortada y agitada por 10 min, luego fue desuerado y finalmente salado (cloruro de sodio) al 1,2%. La masa fue moldeada y prensada por 10 min, luego porcionada

y empacada para ser almacenada en refrigeración. El lactosuero fue filtrado, clarificado y descremado a 7200 rpm y termizado a 63°C. El contenido de proteína total se determinó por Kjeldahl (AOAC 920.123, 1997), la grasa por Babcock (AOAC 989.04, 1997), sólidos totales por secado con aire forzado a 98-100°C por 3 h (AOAC 925.23, 1997), la acidez por titulación por NaOH 0,1N (AOAC 947.05, 1997), pH con un potenciómetro (AOAC 981.12, 1997), actividad de agua (A_w) con un termohigrometro de punto de rocío a 25°C (AquaLab 3TE Series, Decagon Devices, Inc., Pullman, Washington, USA) (Grummer and Schoenfuss, 2011); el potencial Zeta con un Zetasizer (Malvern Panalytical); donde se determinó la movilidad y distribución electroforética. Las muestras de lactosuero se inyectaron en la celda de medida y puesta en el equipo. La temperatura fueron 25°C y se usaron 200 mV. El análisis tomó por lo menos 10 min (Gbassi et al., 2012). El contenido de lactosa se cuantificó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) usando un equipo Agilent serie 1200 (Santa Clara, CA, USA) con una columna Aminex HPX-87H de intercambio iónico (300x7,8 mm) (Bio-Rad) (Hercules, CA, USA); con un detector de índice de refracción de Agilent Technologies usando como fase móvil H_2SO_4 a 0,008 N con una tasa de flujo de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ (AOAC 984.22, 1997); la α -lactoalbumina y β -lactoglobulina se determinaron por HPLC usando un cromatógrafo Shimadzu (Kyoto, Japón) equipado con un detector de arreglo de diodos (DAD); con una columna Jupiter® (5 μm C18, 300 Å, 250x4,6 mm) (Phenomenex) (Torrance, CA, USA) se usó como fase móvil el ácido trifluoroacético (TFA) y acetonitrilo (ACN) (Elgar et al. 2000). La tasa de flujo fue de 1 mL min^{-1} . La columna fue equilibrada con 80% del solvente A (0.1% v/v, TFA en agua Milli-Q) y después, se inyectó la muestra, con un minuto de periodo isocrático, posteriormente, se usó un gradiente lineal de 100% del solvente B (0.09%, v/v, TFA, 90%, v/v acetonitrilo en agua Milli-Q) y se realizó de la siguiente manera: 1-6 min 20-40% B; 6-16 min 40-45% B, 16-19 min 45 – 50% B; 19-20, 50% B; 20-23 min, 50-70% de B; 23-24 min, 70-100% B. La columna se equilibró de nuevo después de 1 min a 100% de B con dos minutos en gradiente lineal hasta llegar al 20% de B seguido de 3 minutos de un periodo isocrático.

Aplicación de la UF en la concentración de las proteínas del lactosuero.

Cada experimento de filtración (UF) se llevó a cabo con 800 L de lactosuero dulce estandarizado, en una planta piloto (Perinox, Villarobledo, España), la cual estaba equipada con dos membranas de polietersulfona (PES) en configuración espiral (Koch Membrane System inc., Wilmington, Massachusetts, USA), con capacidad de 130 L/h de flujo de permeado y un tamaño molecular de corte (MWCO) de 10 kDa. Para estudiar el

efecto del proceso de filtración sobre la concentración de las proteínas de suero, se planteó estudiar el efecto de la presión transmembrana (PTM), entre 2,5 a 5 bar, y el factor de concentración volumétrico (VCF), entre 5 y 18, sobre el coeficiente de retención de la proteína (R_p) en Eq. (1) (Alkhatim, H., *et al.*, 1998; Vourch, M., *et al.*, 2005; De Souza, *et al.*, 2010), el flujo de permeado (J_p) en Eq. (2) y el rendimiento (Y) en la recuperación de la proteína Eq. (3) (Nath, *et al.*, 2014), estas variables tienen gran importancia en la eficiencia del proceso de concentración. Todos los ensayos se realizaron a una temperatura constante de 48°C, según lo planteado por Barba, *et al.*, (2001), Butylina, *et al.*, (2009) y Bipasha Das, *et al.*, (2015).

$$R_p = \left(1 - \frac{C_p}{C_r}\right) * 100$$

Eq.1

Siendo R_p : Coeficiente de retención de la proteína; C_p : Solute en el permeado; C_r : Solute en el retenido

$$J_p = V / (A * t)$$

Eq.2

Siendo J_p = Flujo de permeado ($L \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$); V = Volumen de permeado (L); A = área efectiva de filtración (m^2); t = Tiempo (h)

$$Y = \frac{V_r * C_r}{V_f * C_f}$$

Eq. 3

Siendo Y = Rendimiento; V_r = Volumen del retenido; C_r = Concentración del soluto en el retenido; V_f = Volumen de la solución de alimentación; C_f = Concentración de soluto en la solución de alimentación

Caracterización físico-química de concentrado de proteínas de suero (WPC). Se determinó el contenido de lactosa por HPLC, proteína, pH, acidez, sólidos totales, grasa, potencial zeta (ζ), α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina según las metodologías descritas previamente. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado (Elgar *et al.*, 2000).

Diseño y análisis estadístico.

Se usó un diseño central compuesto ortogonal para optimizar las variables dependientes (VCF y PTM) en función de las variables respuesta R_p , J_p , Y retención de la proteína en el concentrado obtenido por UF. Las variables independientes fueron seleccionadas por

ensayos previos y las limitaciones del equipo de proceso. Se realizó una optimización para cada variable independiente para luego realizar un análisis de optimización por múltiples respuestas con el objetivo de maximizar la función de deseabilidad para encontrar el máximo valor de cada variable independiente. Los datos fueron analizados en el paquete estadístico Statgraphics Centurion 16.1 (Statpint Technologies, INC).

Resultados y discusión

La PTM tuvo efecto significativo ($P < 0,05$) en J_p como se muestra en la figura 1A porque J_p a una PTM de 2 bar no excedió $37,5 \text{ L m}^2 \text{ h}^{-1}$, pero cuando subió a 5 bar fue significativamente mayor, excediendo $41 \text{ L m}^2 \text{ h}^{-1}$. Baldasso *et al.*, (2011) afirman que el J_p se afecta por fenómenos de concentración-polarización, los cuales se basan en la acumulación de una capa de solutos en la superficie y poros de la membrana, y por interacciones entre los solutos y la superficie de la membrana, respectivamente. Este proceso aumenta con la concentración del lactosuero (Nath *et al.*, 2014). Sin embargo, J_p está relacionado con la resistencia intrínseca de la membrana (R_m) y la resistencia debido a taponamiento de la misma (R_f) (Barba *et al.*, 2000), lo cual incrementa debido a la concentración de la proteína y el VCF (Baldasso *et al.*, 2011). Por otro lado, TPM fue efectiva en aumentar J_p en el rango de trabajo estudiado, este fenómeno fue reportado por otros autores (Itchenco *et al.*, 2018; Barba *et al.*, 2000). La TPM no tuvo efecto significativo ($P > 0,05$) sobre R_p (figura 1B), lo que indica que la membrana no dejó escapar las fracciones de proteína incluso con el aumento de el parámetro presión. Itchenco *et al.* (2018) y Barba *et al.* (2000) reportaron que la presión y la temperatura no afectan estas variables cuando se usaron membranas de 10 kDa de tamaño molecular de corte (MWCO) para la concentración de proteínas de lactosuero.

La VCF tuvo efecto significativo ($P < 0,05$) sobre R_p ; sus valores se encontraron entre 0,6 y 0,73 (figura 1B), siendo similar a los reportes de la literatura (Galanakis *et al.*, 2014). Itchenco *et al.* (2018) reportaron valores entre 0,68 y 0,84 usando un MWCO entre 1 y 100 kDa es membranas de polisulfona y polietersulfona y De Souza *et al.* (2010) reportó 0,84 en condiciones similares de proceso. Con mayores valores de VCF, el contenido de proteína (% v/v) del permeado aumenta, lo cual está representado por péptidos, aminoácidos libres y nitrógeno no proteico (Butylina *et al.*, 2006). Sin embargo, Barba *et al.* (2000) determinó que proteínas nativas, como la β -lactoglobulina and α -lactoalbumina podrían incluso permear, y este fenómeno se incrementan cuando aumenta la concentración de la proteína y en consecuencia el desequilibrio osmótico. Los valores de

Rp indican que el MWCO de la membrana usada fue el principal fenómeno durante el proceso de separación y concentración (Galanakis et al., 2014) debido al tamaño molecular de las proteínas del lactosuero, las cuales son mayores de 14 kDa (Jelen, 2011) y el tamaño de los poros de la membrana que están alrededor de 10 kDa.

Hubo una retención eficiente del soluto en el proceso de concentración de la proteína por UF usando la membrana con MWCO de 10 kDa. Sin embargo, pequeñas fracciones como péptidos e incluso proteínas nativas como la β -lactoglobulina y α -lactoalbumina (Barba et al. 2000) pueden permear a través de la membrana. El rendimiento no estuvo afectado por la PTM y la VCF ($P > 0,05$) y estuvo en un rango entre 0,51 y 0,84 (figura 1C). Estos valores concuerdan con reportes como el de Nath et al. (2014) que encontró rendimientos entre 0,6 y 0,85 para la separación de proteínas de lactosuero de forma individual y la lactosa desde el lactosuero obtenido de la elaboración de caseína, por medio de una cascada de membranas de UF con diferentes MWCO. Kukučka and Kukučka (2013) reportaron un rendimiento entre 0,4 y 0,65 para la separación de proteínas de lactosuero dulce usando UF en membrana de polisulfona usada para el tratamiento comercial de agua; y Marella et al. (2011) reportó mayor rendimiento en la elaboración de un WPC enriquecido en α -lactoalbumina. El uso de una PTM mayor a 2,06 bar ayuda en la premiación de algunas moléculas de alto peso molecular como las proteínas (Nath et al., 2014). La optimización se llevó a cabo maximizando el parámetro de deseabilidad tomando en cuenta Rp, Jp y el contenido de proteína del concentrado (%). Dentro de la optimización, se dio mayor peso al contenido de proteína del concentrado (5 puntos) porque el interés fue obtener un producto con el mayor contenido posible para ser usado en la elaboración de quesos, mientras que para Rp y Jp el impacto fue de 3 puntos cada uno. La deseabilidad resultó en 0,61, y los valores de optimización para la PTM y VCF fueron 2 bar y 18, respectivamente. Y los valores en estas condiciones para Jp, Rp y el contenido de proteína del producto fue $42,97 \text{ L m}^{-2}\text{h}^{-1}$, 0,54 y 9,08%, respectivamente.

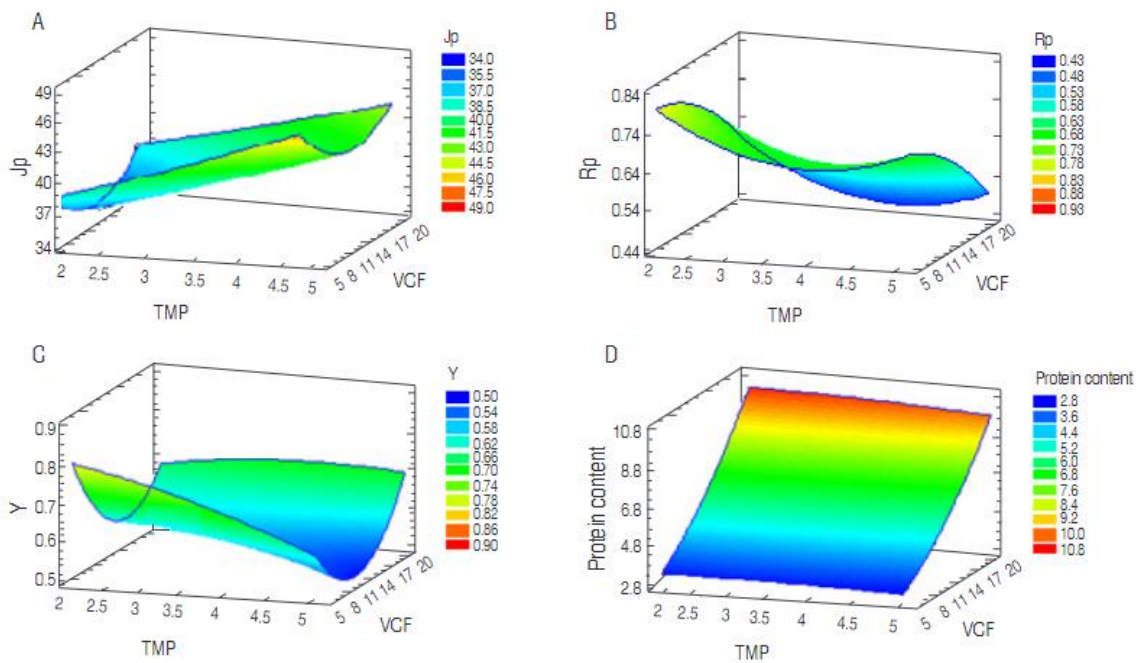


Figura 1. Efecto de la PTM y el VCF en (A) J_p : flujo de permeado ($L m^{-2} h^{-1}$); (B) R_p : coeficiente de retención de la proteína; (c) Y : rendimiento; y (D) contenido de proteína del concentrado (%)

Existieron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el lactosuero y el WPC en valores como lactosa, proteína, acidez, sólidos totales grasa, potencial Zeta, β -lactoglobulina y α -lactoalbumina (tabla 2). Los WPC están disponibles con diferentes concentraciones de proteína como el 34% (WPC34), 45, 50 o 80%, y esta denominación se realiza con base a la relación entre el contenido de proteína y de sólidos totales (Gangurde et al., 2011). EL contenido de proteína del WPC fue de 8,27% (figura 1D) y el de sólidos totales 18,21%, por lo tanto, la proteína representó el 45% de los sólidos totales. Entonces, este producto se puede clasificar como un WPC45 obtenido a partir de lactosuero dulce, el cual es un ingrediente interesante para la industria de alimentos porque es un contenido importante de proteína, minerales y lactosa, que puede influenciar la estructura, apariencia, textura, viscosidad, sensación en boca, o retención del sabor en los productos lácteos (Królczyk et al., 2016). La grasa y la proteína fueron concentradas por la UF, sin embargo, fue un sistema menos estable, según los datos de potencial Zeta. Como resultado del proceso de separación de las caseínas de la leche, se pueden obtener dos tipos de lactosuero, el ácido ($pH < 6$) y dulce ($pH > 6$) (Panesar et al., 2007; Parra, 2009), lo que clasifica la materia prima usada como lactosuero dulce.

Tabla 1. Efecto de la PTM y el VCF, a Rp, Y, Jp y contenido de proteína del concentrado.

PTM (bar)	VCF	Jp (L m ⁻² h ⁻¹)	Rp	Y	Contenido de proteína del concentrado (%)
5	5	44,6	0,72	0,63	2,84
3,5	5	43,9	0,73	0,66	2,96
5	18	41,4	0,6	0,59	8,46
3,5	11,5	37,1	0,61	0,59	5,39
2	11,5	35,8	0,81	0,54	5,61
5	11,5	44,8	0,6	0,51	5,23
2	18	36,4	0,62	0,62	8,94
2	5	37,5	0,73	0,84	2,95
3,5	18	41,2	0,45	0,64	9,21
3,5	11,5	35,8	0,63	0,6	5,17

Tabla 2. Caracterización del lactosuero de queso blanco y el concentrado de proteínas

Característica	Concentrado de proteínas de lactosuero (WPC)	Lactosuero del queso blanco	Lactosuero dulce*
Lactosa (%)	3,9±0,1a	4,6±0,2b	4,6-5,2
Proteína (%)	8,27±0,5a	0,85±0,03b	0,6-1
pH	6,24±0,3a	6,52±0,3b	6--7
Acidez (%)	0,43±0,02a	0,08±0,01b	0,2
Sólidos totales (%)	18,21±0,4a	6,98±0,4b	6,3-7
Grasa (%)	2,41±0,2a	0,08±0,01b	
Potencial Zeta (mV)	(23,44±0,7a)	(31,33±0,8b)	
β-lactoglobulina (%)	4,71±0,3a	0,4±0,01b	
α-lactalbumina (%)	1,38±0,1a	0,153±0,01b	

*tomado de Jelen (2011).

Medias ± desviaciones estándar de las medidas. Valores en la misma fila con diferente letra indica diferencias significativas (P<0,05)

De acuerdo con Jelen (2011), el lactosuero usado en este estudio tuvo un bajo contenido de calcio y acidez (porcentaje de ácido láctico), este fenómeno se explica en que la tecnología de elaboración del queso genera lactosuero dulce. En otros países, los quesos coagulados enzimáticamente, incluyen el uso de bacterias (quesos como el cheddar, gouda y Edam) y actúan con una fermentación ligera de la leche. Este proceso difiere a lo que se realiza en Colombia porque los quesos son el resultado de la coagulación

enzimática de la leche sin adición de bacterias (cuajadas frescas). Adicionalmente, el calcio coloidal es solubilizado a bajos valores de pH y condiciones de mayor acidez (Panesar et al., 2007), por lo tanto, se explica el bajo nivel de calcio en el lactosuero dulce con respecto a lo reportado en la literatura (Jelen, 2011) (tabla1). De acuerdo con Carvalho et al. (2013), el lactosuero derivado de leche bovina, contiene típicamente, en base seca, entre 70 a 80% de lactosa, 10-12% de proteína y entre el 8 al 20% de minerales, además de presentar un pH de 6,6 (De Wit, 2001; Muro-Urista et al., 2010). Estos valores son similares a los resultados de este trabajo, siendo un 66% de lactosa, 12% de proteína y 7,6% de minerales. La β -lactoglobulina y la α -lactalbumina se encuentran en niveles similares a los reportados por otros autores de 0,3 y 0,1%, respectivamente (Madureira et al., 2010, Almécija et al., 2007).

El concentrado presentó diferencias significativas ($P < 0,05$), con respecto al lactosuero sin concentrar, en el contenido de lactosa, proteína, pH, sólidos totales, grasa, potencial ζ , β -lactoglobulina y α -lactoalbumina. El lactosuero contiene entre el 10 al 12% de proteína (b.s.), las cuales presentan un tamaño entre 8,6 a 150 kDa (Carvalho et al., 2013): Por lo tanto, al usar una membrana de UF con un tamaño molecular de corte de 10kDa, se pueden retener gran parte de estas, explicando así el aumento del contenido de proteína total e individual. Este mismo principio aplica para la materia grasa, que es retenida por esta membrana. Gracias a la retención de la proteína, se aumentó su concentración con respecto a los demás sólidos del lactosuero, obteniendo así un WPC 45, logrando el objetivo de la UF aplicada a este, que según Arunkumar y Etzel (2015). El potencial Zeta estuvo más cercano a cero en el concentrado, lo cual indica que es un sistema menos estable que el lactosuero sin concentrar, porque al tener mayor concentración de solutos, hay mayor posibilidad de colisiones entre moléculas, generando floculación (Kaewkannetra et al., 2009). Adicionalmente, la acidez fue mayor en el concentrado debido a la temperatura de concentración de 43°C, que permitió el posible crecimiento de microorganismos termófilos que produjeron ácido láctico, bajando así el pH de 6,5 a 6,2 como reportó De Wit (2011) para WPC

Conclusiones

La UF es una tecnología adecuada para la concentración del lactosuero dulce obtenido de la elaboración de quesos frescos coagulados enzimáticamente sin adición de bacterias,

proceso típico de los quesos colombianos. A partir de este lactosuero es posible obtener un WPC 45 con el cual se pueden desarrollar ingredientes para la industria de alimentos. El WPC debe ser usado rápidamente, porque tiende a generarse una floculación de las proteínas de lactosuero. Bajo las condiciones de proceso propuestas, el punto óptimo para la concentración de proteínas de lactosuero, determinado por el contenido de estas en el concentrado, fue de 2 bar de PTM y un VCF de 18

REFERENCES

A.O.A.C. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. EUA. 1997.

Alkhatim HS, Alcaina M-I, Sorianos E, Iborra M-I, Lora J and Arnal J. 1998. Treatment of whey effluents from dairy industries by nanofiltration membranes. *Desalination* 119, p 177-184. [https://doi.org/10.1016/S0011-9164\(98\)00142-8](https://doi.org/10.1016/S0011-9164(98)00142-8).

Almécija M-C, Ibáñez R, Guadix A and Guadix E. 2007. Effect of pH on the fractionation of whey proteins with a ceramic ultrafiltration membrane. *Journal of Membrane Science* 288, p 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.10.021>.

Arunkumar A and Etzel M. 2015. Negatively charged tangential flow ultrafiltration membranes for whey protein concentration. *Journal of Membrane Science* 475, p 340-348. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.10.049>.

Baldasso C, Barros T-C and Tessaro I-C. 2011. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination* 278, p 381-386. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.05.055>.

Barba D, Beolchini F, Cifoni D and Veglió F. 2001. Whey protein concentrate production in a pilot scale two-stage diafiltration process. *Separation Science and Technology* 36(4), p 587-603. <https://doi.org/10.1081/SS-100102948>.

Barba D, Beolchini F and Veglió F. 2000. Minimizing water use in diafiltration of whey protein concentrates. *Separation Science and Technology*, 35(7), p 951–965. <https://doi.org/10.1081/SS-100100204>

Bansal N and Bhandari B. 2016. Functional milk proteins: production and utilization - whey-based ingredients. pp. 67–98. In: McSweeney O'Mahony, J.A. (ed.). *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B: Proteins: Applied Aspects*. Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2800-2_3

Bipasha D, Sarkar S, Sarkar A, Bhattacharjee S and Bhattacharjee C. 2016. Recovery of whey proteins and lactose from dairy waste: A step towards green waste management.

Process Safety and Environmental Protection 101, p 27-33.
<https://doi.org/10.1016/j.psep.2015.05.006>.

Butylina S, Luque S and Nyström M. 2006. Fractionation of whey-derived peptides using a combination of ultrafiltration and nanofiltration. Journal of Membrane Science 280(1-2), p 418-426. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.01.046>.

Carvalho F, Prazeres A and Rivas J. 2013. Cheese whey wastewater: characterization and treatment. Science of the Total Environment, 445-446(15), p 385-396.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.038>.

Cortés M, García A and Suárez H. 2007. Fortificación de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) con calcio, selenio y vitamina C. Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica 14(1), p 16-24. Available at:
<http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v14n1/v14n1a03.pdf>.

Cowan S and Ritchie S. 2007. Modified polyethersulfone (PES) ultrafiltration membranes for enhanced filtration of whey proteins. Separation Science and Technology 42, p 2405-2418. <https://doi.org/10.1080/01496390701477212>.

De Souza R-R, Bergamasco R, Da Costa S-C, Feng X, Faria S-H and Gimenes M-L. 2010. Recovery and purification of lactose from whey. Chemical Engineering and Processing 49, p 1137-1143. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2010.08.015>.

De Wit J N. 2001. Lecturer's Handbook on whey and whey products. European Whey Products Association. Brussels, Belgium, 1st edition. In:
https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0,5&q=Lecturers+Handbook+on+whey+and+whey+products. 91 p.; accessed: May 2021

Elgar D-F, Norris C-S, Ayers J-S, Pritchard M, Otter D-E and Palmano K-P. 2000. Simultaneous separation and quantitation of the major bovine whey proteins including proteose peptone and caseinomacropeptide by reversed-phase high-performance liquid chromatography on polystyrene-divinylbenzene. Journal of Chromatography 878(2), p 183-196. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00288-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00288-0).

Galanakis C, Chasiotis S, Botsaris G and Gekas V. 2014. Separation and recovery of proteins and sugars from Halloumi cheese whey. Food Research International 65, p 477-483. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.060>.

Gangurde, H., Chordiya, M., Patil, P. and Baste. 2011. Whey proteins. Scholars' Research Journal 1 (2), p 69 – 77. DOI: 10.4103/2249-5975.99663

- Gómez Soto J A and Sánchez Toro O J. 2019. Producción de galactooligosacáridos: alternativa para el aprovechamiento del lactosuero. Una revisión. *Ingeniería y Desarrollo* 37(1), p 129-157. <https://doi.org/10.14482/inde.37.1.637>
- Giroux H, Geneviève L and Britten M. 2015. Effect of whey protein aggregates of various sizes on the formation and properties of rennet-induced milk gels. *Food Hydrocolloids* 45, p 272-278. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.004>.
- Hernandez-Quiroz L M and Rodriguez G. 2020. Cadena láctea. Dirección de Cadenas Pecuarias, Pesqueras y Acuicolas. In: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, https://sioc.minagricultura.gov.co/SICLA/Documentos/2019-03_30%20Cifras%20Sectoriales.pdf 25 p.; accessed: May 2021.
- Iltchenco S, Preci D, Bonifacino C, Fraguas E F, Steffens C., Panizzolo L A Colet R, Fernandes I A, Abirached C, Valduga E and Steffens J. 2018. Whey protein concentration by ultrafiltration and study of functional properties. *Ciência Rural* 48(5), p 1-11. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170807>
- Jelen P. 2011. Whey processing: Utilization and products. pp. 731–737. In: Fuquay J W, Fox P.F. McSweeney P L H (eds.). *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. Academic Press, London. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00495-7>.
- Muset G B and Castells M J. 2017. Valorización del lactosuero. Colección Transferencia Tecnológica. 1ra ed. San Martín, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), In: <https://www.inti.gob.ar/publicaciones/descargac/16+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=co>. 94 p.; accessed: May 2021.
- Kaewkannetra P, Garcia-Garcia F J, James A E and Chiu T Y. 2009. Influence of pH and $Al_2(SO_4)_3$ on the stability of whey suspensions. *Separation and Purification Technology* 67(3), p 364-368. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2009.04.013>.
- Królczyk JB, Dawidziuk T, Janiszewska-Turak E and Sołowiej B. 2016. Use of whey and whey preparations in the food industry – a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 66(3), p 157–165. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0052>
- Kushwaha J, Srivastava V and Mall I. 2010. Organics removal from dairy wastewater by electrochemical treatment and residue disposal. *Separation and Purification Technology* 76, p 198-205. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.10.008>.
- Madureira A, Tavares T, Gomes A, Pintado M and Malcata F. 2010. Physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. *Journal of Dairy Science* 93(2), p 437-455. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2566>.
- Muro-Urista C, Díaz-Nava C, García-Gaitán B, Zavala-Arce R E, Ortega-Aguilar R E,

Álvarez-Fernández R and Riera-Rodríguez F. 2010. Recuperación de los componentes del lactolactosuero residual de una industria elaboradora de queso utilizando membranas. *Afinidad* 67(547), p 212–220. Retrieved from <http://www.raco.cat/index.php/afinidad/article/view/269148>

Nath A, Chakraborty S, Bhattacharjee C and Chowdhury R. 2014. Studies on the separation of proteins and lactose from casein whey by cross-flow ultrafiltration. *Desalination and Water Treatment* 54(2), p 481-501. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.888685>.

NTC 4657. 1999. Norma Técnica Colombiana. Alimento para animales. Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda. método Kjeldahl. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). Bogotá. 7 p.

Panesar P, Kennedy J, Gandhi D and Bunko K. 2007. Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry* 105(1), p 1-14. 10.1016/j.foodchem.2007.03.035.

Parra Huertas, R A. 2009. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín* 62(1), p 4967-4982. [Fecha de Consulta 26 de mayo de 2021]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S030428472009000100021&lng=en&tlng=es.

Prazeres A-R, Carvalho F and Rivas J. 2012. Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management* 110, p 48-68. <https://doi:10.1016/j.jenvman.2012.05.018>.

Rastogi, Y., Priya, Gogate, P. 2022. Intensified recovery of whey proteins using combination of enzyme in free or immobilized form with ultrafiltration. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.109076>

Rektor A and Vatai G. 2004. Membrane filtration of Mozzarella whey. *Desalination* 162(1), p 279-286. 10.1016/S0011-9164(04)00052-9.

Vourch M, Balannec B, Chaufer B and Dorange G. 2008. Treatment of Dairy industry wastewater by reverse osmosis for water reuse. *Desalination* 219, p 190-202. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.05.013>.

Tarapa, J., Dybowska, B., Zulewska, J. 2022. Evaluation of fouling during ultrafiltration process of acid and sweet whey. *Journal of Food Engineering*. 328, p 111059.

Wang, W., Li, J., Zhou, J., Song, M., Wang, J., Li, X., Tang, C., Lu, M. and Gu. 2022. The effect of ion environment changes on retention protein behavior during whey ultrafiltration process. *Food Chemistry: X*. 15, p 100393. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100393>

Yorgun M-S, Balcioglu I-A and Saygin O. 2008. Performance comparison of ultrafiltration,

nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment. Desalination 229, p 204-216.
<https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.09.008>.

3. Capítulo 2: Características físicas y composicionales del queso y yogurt elaborados a partir de un concentrado de proteínas de leche parcialmente desmineralizado

Edinson Bejarano Toro; Eduardo Rodríguez Sandoval; José Uriel Sepúlveda Valencia

Resumen

El objetivo fue aplicar dos ciclos de diafiltración (DF) a un concentrado de proteínas de leche (MPC) obtenido por ultrafiltración (UF) para evaluar el efecto de la DF sobre el contenido de minerales, específicamente el calcio de un MPC y estudiar el efecto de la desmineralización parcial de los MPC en las características composicionales y texturales de un queso fresco, un yogurt firme y uno batido. La aplicación de un ciclo de DF removió el 22.2% de las cenizas y el 8.12% del calcio del MPC, pero no se presentaron diferencias ($P > 0.05$) con respecto a la aplicación de dos ciclos de DF, por lo tanto, para desmineralizar un MPC es suficiente un solo ciclo de DF. Los quesos elaborados con MPC sometidos a un ciclo y dos ciclos de DF fueron menos duros y presentaron menor resistencia a la masticación debido a la falta de calcio soluble, mineral básico en el fenómeno de coagulación enzimática, y al aumento de caseínas en solución, fenómenos que generan aumento en el tiempo de coagulación y geles débiles. La ausencia de calcio y cenizas en los yogures no tuvo efectos sobre sus características texturales debido a que la coagulación de las caseínas se da por agregación de éstas cuando están en su punto isoelectrónico. En conclusión, la DF logra un máximo de desmineralización de la leche en un solo ciclo y los geles enzimáticos obtenidos a

partir de los MPC diafiltrados son menos duros, efecto que no se observa en las coagulaciones ácidas como la que se presenta en los yogures.

Introducción

La tecnología de membranas como una técnica de filtración y concentración selectiva aplicada a la industria láctea ha generado beneficios desde el desarrollo de procesos tecnológicos como la remoción de agua, separaciones sólido-líquido o líquido-líquido (Pouliot, 2008). El proceso de ultrafiltración (UF) es clave en la industria láctea porque facilita la concentración de las proteínas, removiendo lactosa, minerales, péptidos, agua y otros solutos de bajo peso molecular (Kenneth *et al.*, 2017). Como resultado de este proceso, se obtiene concentrados de proteína de leche (MPC), donde se concentran las proteínas séricas y las caseínas, manteniendo las proporciones de la leche entera (80:20). Este tipo de productos generalmente son secados por aspersión y contienen niveles de proteína desde 42% hasta el 85% sobre la base seca, y generalmente, son usados como fuentes de proteína para la elaboración de otros derivados lácteos como bebidas fermentadas, quesos, helados, entre otros (Patel & Patel, 2014). Los MPC líquidos también tienen aplicación en la industria quesera porque al concentrar la leche se puede mejorar la calidad nutritiva del producto final por mayor retención de componentes, además de mantener una composición estándar de la materia prima y aumentar el rendimiento quesero. Por otro lado, al aumentar los sólidos totales de la leche se pueden aprovechar de manera más eficiente las instalaciones industriales y materiales involucrados en la elaboración de quesos, como las enzimas coagulantes y cultivos iniciadores (Kumar *et al.*, 2013). El primer proceso desarrollado y patentado fue la metodología MMV (llamado así por sus inventores Maubois, Mocquot & Vassal), donde se logró la producción industrial de un queso con base en una leche concentrada entre 5 a 7 veces por UF, obteniendo una cuajada de alta calidad (Maubois *et al.*, 1969). De manera general, por concentración de la leche con UF se pueden obtener los siguientes tipos de retenidos: de baja concentración (VCF: 1.2-2X) conocidos como LCR; de media concentración (VCF: 2-6X) también conocido como MCR y los pre-quesos líquidos (VCF: 6-8X) (Mistry & Maubois, 2004).

En un MPC obtenido por UF se aumenta la concentración de los minerales asociados a las caseínas (Ca, P y Mg), y así su capacidad buffer, generando sabores y texturas anormales en los productos que se elaboren con el MPC (Mistry & Maubois, 2004). En la diafiltración (DF) los solutos permeables por la membrana son diluidos en el concentrado por medio de la adición de agua y reconcentración de este en etapas sucesivas. Por esto, la DF es usada para aumentar el contenido de proteína en los concentrados de UF, retirando la lactosa, minerales solubles e insolubles (Cheyran, 1998; Brans *et al.*, 2004; Singh, 2007).

La aplicación de la DF a la leche puede generar modificaciones de las micelas de caseína por alteración de los minerales asociados a esta estructura y por lo tanto en las características de los derivados lácteos elaborados a partir de este concentrado (Sandra & Correding, 2013). Esta tecnología ha sido usada para obtener MPC con diversos contenidos de proteína que son secados por aspersion para su posterior aplicación en la elaboración de derivados lácteos como quesos, yogures y helados (Francolino *et al.*, 2010; Eshpari *et al.*, 2014; Bruzantin *et al.*, 2016; Lu *et al.*, 2017). Así mismo, la DF se ha aplicado para la obtención de concentrados de proteínas de suero en polvo (WPC) a partir de suero de mantequilla y leche descremada para evaluar sus propiedades funcionales (Svanborg *et al.*, 2015) y estos productos concentrados en polvo han sido evaluados en diferentes condiciones de procesamiento para mejorar sus características funcionales (Mao *et al.* 2012; Banach *et al.*, 2013; Cao *et al.*, 2015; Chenchaiiah *et al.*, 2015). A pesar de la literatura existente en este campo, el uso de los MPC líquidos y desmineralizados en productos coagulados ha sido poco explorada y por esto, el objetivo de este trabajo fue aplicar un MPC sometido a varios ciclos de DF en la elaboración de productos lácteos como queso tipo Burgos, yogurt firme y batido evaluando sus características composicionales y texturales.

Materiales y métodos

Proceso de obtención del MPC. Para cada experimento se usaron 320 L de leche descremada, que fueron caracterizados por medio de espectrometría infrarroja con transformada de Fourier FTIR (Milkoscan Foss Instruments, Hillerød, Dinamarca) en su contenido de proteína, cenizas, grasa y lactosa. Para la concentración de la leche se usó una planta piloto de filtración APV (Silkeborg, Dinamarca) equipada con dos membranas de ultrafiltración (UF) (UF-pHt Series

GR81PP, Alfa Laval, Lund, Suecia) de polietersulfona (PES) en paralelo con peso molecular de corte de 10 kg mol^{-1} y un área efectiva de filtrado de 13.6 m^2 . El proceso de UF se realizó en modo concentración a una presión transmembrana (PTM) de 4 bar, una temperatura de 20°C y un factor de concentración volumétrico (FCV) de 4, por lo tanto, se obtuvieron 80 L de MPC y 240 L de permeado. Para el MPC y los tratamientos se determinó el contenido de cenizas por el método de incineración a 550°C (IDF 27, 1964); el calcio por la técnica ICP masas (ISO 17294-2, 2003) y la proteína por el método Kjeldahl (IDF3 20B, 1993) previo a ser usados en la elaboración de los derivados lácteos. Los análisis se realizaron por triplicado.

Para la aplicación de la DF al MPC, se determinaron las condiciones de procesamiento (temperatura y presión transmembrana) por ensayos previos. El MPC se sometió a un ciclo (M1DF) y a dos ciclos (M2DF) de DF. En cada uno se adicionaron 240 L de agua osmotizada (factor de dilución 4) y se concentró nuevamente por UF con un FCV igual a 4. Se recuperaron 80 L de cada producto diafiltrado. Los ciclos de DF fueron sucesivos y la membrana se limpió químicamente al final de cada experimento.

Elaboración del queso tipo burgos. El queso se elaboró usando la metodología MMV (Maubois *et al.*, 1969), donde se estandarizó el contenido de proteína a 12% (p/v) en cada uno de los MPC usados, se pasteurizaron a 75°C por 5 min y fueron enfriados a 35°C . Luego se adicionó 0.02% de CaCl_2 y se aplicó la enzima coagulante (Chy-Max. Chr. Hansen, Dinamarca). Al cabo de 30 min, el producto fue almacenado en una cámara frigorífica a 5°C hasta realizar los análisis.

Elaboración de yogurt firme y batido. Cada uno de los MPC obtenidos fueron estandarizados a 4% (p/v) de proteína, se calentaron a 75°C , se homogenizaron a 200 bar y se pasteurizaron a 95°C por 5 min. Luego se enfriaron a 43°C , se inocularon con *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* y se incubaron a 42.5°C hasta alcanzar un pH de 4.6. Posteriormente, fueron almacenados a 5°C en una cámara frigorífica hasta efectuar los análisis. Para obtener el yogurt batido, luego del almacenamiento a 5°C por 12 h, se rompió el coágulo manualmente y se almacenó en refrigeración hasta realizar los análisis.

Propiedades texturales del yogurt y queso. El análisis textural del yogurt firme se realizó en el envase donde fue fermentado usando un analizador de textura

(TA-XTplus, Stable Micro Systems, Godalming, UK) con una sonda de 0.5 mm (SMSP/0.5). Las características que se obtuvieron fueron dureza (g), elasticidad y cohesividad. Los parámetros empleados en la prueba fueron: velocidad pre-ensayo de 1 mm/s, velocidad en el ensayo de 0.5 mm/s, velocidad pos-ensayo de 0.5 mm/s, modo de medición por distancia de 15 mm, tiempo de ensayo 5 s, con una celda de carga de 25 kg (Ferragut *et al.*, 2009; Serra *et al.*, 2009). Con respecto al yogurt batido, se realizó una prueba de *back extrusion* empleando el mismo analizador de textura y la misma celda de carga para determinar su firmeza (g), consistencia (g.s), cohesividad e índice de viscosidad (g.s). La sonda empleada fue la back extrusión ring con un disco de 35mm, calibrada a una altura de 80 mm. Para este ensayo se llenó el cilindro con la muestra, se refrigeró por 1 h para su reestructuración. Las condiciones de prueba fueron velocidad pre-ensayo de 1 mm/s, velocidad en el ensayo de 1 mm/s, velocidad pos-ensayo de 10 mm/s y modo de medición por distancia de 30 mm (Serra *et al.*, 2009; Najgebauer-Lejko *et al.*, 2014). Se utilizaron 6 muestras por cada ensayo textural para los yogures.

El queso se porcionó en cubos de 2 cm³ para realizar el análisis de perfil de textura (TPA) empleando el analizador de textura previamente descrito, equipado con la sonda de 100 mm (SMSP/100) bajo los siguientes parámetros: velocidad pre-ensayo de 1 mm/s, velocidad en el ensayo de 1 mm/s, velocidad pos-ensayo de 1 mm/s, modo de medición por deformación al 35%, tiempo de espera de 5 s y una celda de carga de 25 kg (Jeon *et al.*, 2012; Gutierrez-Méndez *et al.*, 2013). Previo a realizar la medida, se calibró la sonda a una altura de 25mm. La máxima deformación que soportaban las muestras antes de fracturarse se evaluó en ensayos previos. Las características obtenidas fueron: dureza (N), elasticidad, cohesividad y masticabilidad. Se realizaron 6 repeticiones de cada ensayo textural a las muestras de queso.

Análisis composicional de los productos elaborados. El contenido de cenizas se realizó por el método de incineración a 550°C (IDF 27, 1964), el contenido de calcio por la técnica ICP masas (ISO 17294-2, 2003), el contenido de proteína por el método Kjeldahl (IDF 20B, 1993) y el extracto seco total por el método de desecación en estufa a 100°C según la norma (IDF 4A, 1982). El contenido de grasa para el queso se efectuó por el método soxhlet, (IDF 5B, 1986) y para el yogurt por el método Rose-Gottlieb (IDF 1D, 1996).

Análisis estadístico

Los resultados se presentaron como medias \pm SD. Para las variables respuesta (Características físicas, químicas y composicionales) de cada uno de los productos se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA), considerando como factor el número de diafiltraciones: sin DF (MPC), un ciclo (M1DF) y dos ciclos (M2DF). Para la comparación de diferencias entre medias se usó el LSD Fisher con un nivel de significancia del 5%. Todos los análisis se realizaron usando Statgraphic Centurion 16.1. (Statpoint Technologies, INC).

Resultados

Proceso de obtención del MPC. Se partió de una leche descremada compuesta por 33.3 g/L de proteína, 6.6 g/L de cenizas, 0.7 g/L de grasa, 49.3 g/L de lactosa, 92.9 g/L de sólidos totales y 125.83 mg/100 mL de calcio. Las muestras con M1DF y M2DF no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) en composición respecto al contenido proteico, pero si presentaron diferencias ($P<0.05$) en el contenido de cenizas y calcio con respecto al MPC (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización del MPC

Componentes	Tratamientos		
	MPC	M1DF	M2DF
Proteína (g/kg)	122,5 \pm 0,9 ^a	121,2 \pm 1,0 ^a	122,9 \pm 1,2 ^a
cenizas (%)	12,6 \pm 1,1 ^a	9,8 \pm 0,9 ^b	9,6 \pm 1,0 ^b
Calcio (mg/100g)	401,8 \pm 13,3 ^a	369,2 \pm 7,6 ^b	357,5 \pm 12.7 ^b

*Los resultados son la media \pm desviación estándar. Valores en la misma fila con letras diferentes presentan una diferencia estadísticamente significativa ($P<0,05$)

Composición de los productos elaborados. Tanto el queso como el yogurt elaborados con el MPC, M1DF y M2DF no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) en el contenido de proteína. Por otro lado, se presentaron diferencias significativas ($P<0.05$) en el contenido de cenizas y calcio entre los productos elaborados a partir del MPC con respecto a los obtenidos de M1DF y M2DF (Tabla 2).

Tabla 2. Composición del queso tipo Burgos, el yogurt batido y el yogurt cuchareable.

Característica	Tratamientos					
	Queso tipo Burgos			Yogurt		
	MPC	M1DF	M2DF	MPC	M1DF	M2DF
sólidos totales (g/kg)	173,2±5,7 ^a	138,9±2,3 ^b	127,0±7,9 ^c	108,8±10,8 ^a	58,3±5,1 ^b	66,9±0,9 ^b
Proteína (g/kg)	119,4±5,9 ^a	121,1±2,4 ^a	121,9±2,2 ^a	41,7±2,2 ^a	43,9±1,4 ^a	41,2±0,6 ^a
Cenizas (g/kg)	14,2±0,9 ^a	10,8±0,5 ^b	11,5±0,3 ^b	7,9±0,8 ^a	4,3±0,4 ^b	3,5±0,2 ^b
Calcio (mg/100g)	389,6±7,6 ^a	356,2±7,0 ^b	358,6±3,0 ^b	158,8±2,4 ^a	116,8±9,4 ^b	109,1±3,5 ^b

*Los resultados son la media ± desviación estándar. Valores en la misma fila con letras diferentes presentan una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$)

Propiedades texturales de los productos elaborados. Los quesos elaborados con los MPC obtenidos no presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la cohesividad y elasticidad. Pero si fueron más duros y generaron mayor dificultad para su masticación los elaborados con MPC con respecto a M1DF y M2DF (Tabla 3). No se presentaron diferencias significativas en las propiedades texturales de los yogures batidos y firmes elaborados con MPC, M1DF y M2DF, excepto en el valor de la elasticidad del yogurt firme con MPC que fue mayor al resto (tabla 4).

Tabla 3. TPA del queso elaborado con MPC, M1DF y M2DF

Característica	Tratamientos		
	MPC	M1DF	M2DF
Firmeza (N)	349,7±13,4 ^a	290,0±10,5 ^b	261,5±21,0 ^b
Cohesividad	0,87±0,0 ^a	0,87±0,0 ^a	0,86±0,0 ^a
Elasticidad (mm)	0,97±0,0 ^a	0,97±0,0 ^a	0,97±0,0 ^a
Masticabilidad (N)	295,1±21,4 ^a	234,7±19,4 ^b	209,9±16,8 ^b

*Los resultados son la media ± desviación estándar. Valores en la misma fila con letras diferentes presentan una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$)

Tabla 4. Características texturales de los yogures elaborados con MPC, M1DF y M2DF

Producto	Característica	Tratamientos		
		MPC	M1DF	M2DF
Yogurt batido	Firmeza (N)	0,219±0,013 ^a	0,259±0,025 ^a	0,239±0,018 ^a
	Consistencia (N.s)	5,78±0,504 ^a	6,87±0,62 ^a	6,25±0,56 ^a
	Cohesividad**	17,5±1,0 ^a	19,1±1,9 ^a	17,8±1,5 ^a
	Índice de viscosidad(N.s)*	0,29±0,021 ^a	0,356±0,037 ^a	0,265±0,058 ^a
Yogurt firme	Firmeza (N)	0,267±0,025 ^a	0,314±0,031 ^a	0,297±0,029 ^a
	Cohesividad	0,4±0,0 ^a	0,36±0,0 ^a	0,36±0,0 ^a
	Elasticidad (mm)	0,97±0,0 ^a	0,93±0,0 ^b	0,94±0,0 ^b

*Los resultados son la media ± desviación estándar. Valores en la misma fila con letras diferentes presentan una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) **valor absoluto

Discusión

Proceso de obtención del MPC, M1DF y M2DF. La leche usada para el proceso de concentración está dentro de los parámetros exigidos por la legislación colombiana y por otros autores para categorizarla como una leche descremada (Ministerio de la Protección social, 2006; Fox *et al.*, 2015). El contenido de cenizas y calcio de M1DF y M2DF fueron significativamente menores ($P < 0.05$) a los presentados por el MPC. Resultados de otro estudio concuerdan con los de este trabajo cuando aplicaron DF a un MPC y removieron parte de las cenizas, principalmente en su fracción soluble (Banach *et al.*, 2013). Asimismo, se ha reportado una remoción de minerales solubles aplicando DF, principalmente K, Na y Cl (Chenchaiah *et al.*, 2015). Con base en esto se podría indicar que en el primer ciclo de DF se removieron gran parte de la fracción soluble de minerales y para el segundo ciclo quedaron principalmente los minerales coloidales (Ca, Mg y P) que se encuentran asociados a las estructuras de la leche y son solubilizados de forma lenta (Mistry & Maubois, 2004; Gaucheron, 2005). Por consiguiente, no es necesario realizar un segundo ciclo de DF porque no se observó una remoción significativa de los minerales presentes en las muestras.

Composición de los productos elaborados. Entre los quesos y yogures elaborados no se presentaron diferencias significativas ($P>0,05$) en el contenido de proteína, confirmando la correcta estandarización de las leches usadas. Por otro lado, se encontraron diferencias significativas ($P<0,05$) en el contenido de sólidos totales, cenizas y calcio entre los productos elaborados con MPC con respecto a los obtenidos con M1DF y M2DF, confirmando que el proceso de DF fue efectivo en la remoción de solutos permeables por UF, como lactosa y cenizas, destacándose dentro de estos el calcio (Tabla 2). La DF usando la membrana de UF es una tecnología dirigida a la obtención de MPC y WPC con alto contenido de proteína porque al reducir la concentración de iones solubles y lactosa del concentrado aumenta la representación de la proteína dentro de los sólidos totales del producto (Cheyran, 1998; Ferrer *et al.*, 2014). Eshpari *et al.*, (2014) obtuvieron diferencias significativas en el contenido de lactosa entre un MPC (UF) y un MPC (DF) que tuvo un ciclo de DF y Ferrer *et al.*, (2014) redujeron de forma significativa el contenido de calcio soluble e insoluble en un MPC al aplicar diferentes volúmenes de DF, comportamientos similares a los obtenidos en este trabajo.

Propiedades texturales de los productos elaborados. Los quesos elaborados a partir MPC sin DF mostraron mayor dureza y masticabilidad que los elaborados a partir de M1DF y M2DF, lo cual se puede explicar por el menor contenido de calcio en las leches diafiltradas (Tabla 3). Este mineral es importante para la coagulación enzimática de la leche, específicamente su fracción soluble, que se encuentra involucrada en la fase secundaria del proceso de coagulación cuando interactúan las micelas tratadas con renina (Ferrer *et al.*, 2014; Eshpari *et al.*, 2015). A menor contenido de calcio soluble en la leche se obtienen coagulaciones enzimáticas más débiles.

Se comparó la dureza de geles lácteos obtenidos enzimáticamente a partir de un MPC56 y un MPC85 estandarizados a niveles equivalentes de proteína, y se encontró que el gel elaborado con el MPC56 fue más duro debido al mayor contenido de calcio soluble (Sandra & Corredig, 2013). El calcio soluble decrece con la aplicación de DF, por lo tanto, al coagular enzimáticamente la leche se obtienen geles con una menor dureza como en este estudio (Ferrer *et al.*, 2014). Además, el calcio soluble es removido por la DF en su primer ciclo, de ahí la diferencia significativa ($P<0,05$) entre el contenido de este mineral en el MPC con respecto a los productos con DF, pero el calcio insoluble no se reduce

significativamente con la DF, lo cual explicaría el comportamiento del contenido de este mineral entre M1DF y M2DF, donde no se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) (Tabla 1 y 2). La menor dureza en los quesos a partir de M1DF y M2DF también se puede generar porque la DF aumenta la presencia de las caseínas κ , α -s y β en la fase soluble, lo que aumenta el tiempo de gelificación y reduce la dureza de los coágulos obtenidos (Sandra & Corredig, 2013; Ferrer *et al.*, 2014).

Con respecto al yogurt, este es un producto lácteo coagulado obtenido de la fermentación de la leche por medio de bacterias ácido lácticas (Lourens-Hattingh & Vijoen, 2001; Sandoval-Castilla *et al.*, 2004). A diferencia de la coagulación enzimática, típica en los quesos, la del yogurt se da por interacción hidrofóbicas y electrostáticas entre las proteínas cuando la leche está en el punto isoeléctrico de las caseínas (pH= 4,6), incluso en este punto el fosfato de calcio se separa parcialmente de las micelas (Chandan *et al.*, 2006; Fox, 2001). La adición de calcio en la leche no tiene efectos significativos en la coagulación ácida de productos lácteos (Schulz-Collins & Senge, 2004). Por este motivo, la desmineralización de la leche usada para la elaboración de los yogures no generó diferencias ($P > 0,05$) sobre la dureza del producto, a diferencia del comportamiento observado en el queso (Tabla 2). En otros estudios se obtuvieron valores superiores en dureza, adhesividad y elasticidad de yogures firmes debido a que trabajaron con leche descremada estandarizada con 4% de proteína y adicionada con almidones, gelatinas o fibras que ayudaron a mejorar las características generales del producto (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004; Supavitpatana *et al.*, 2008; Hashim *et al.*, 2009). Al elaborar yogurt firme con leches diafiltradas se obtienen productos menos elásticos, efecto atribuido al menor contenido de sólidos totales para los productos de M1DF y M2DF (Tabla 2), debido a que la DF en membranas de UF retira lactosa y minerales de la leche. También, la presencia de calcio facilita un mayor reordenamiento de la estructura micelar, ayudando a una mayor formación de entrecruzamientos entre los hilos de la red del gel de yogurt. Por lo tanto, al remover el calcio de las micelas de caseína se generan geles ácidos con mayores tangentes de pérdida ($\tan \delta$), lo cual explica la menor elasticidad (Ozcan *et al.*, 2011).

Con respecto al yogurt batido, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los productos elaborados en las características evaluadas (firmeza,

consistencia, cohesividad e índice de viscosidad) (tabla 4). Najgebauer-Lejko *et al.*, (2014) elaboró un producto similar con leche semidescremada adicionando té verde, y encontraron valores de firmeza, consistencia, cohesividad e índice de viscosidad menores a los encontrados en este trabajo para todos los tratamientos. En el yogurt batido la reducción del nivel de calcio en la leche no afectó su textura general porque en este tipo de yogures hay una dispersión de partículas de proteínas agregadas y no se forma un gel como en el caso del yogurt firme, donde si hay un rol activo del calcio de la leche (Merle *et al.*, 1999)

Conclusiones

La aplicación de la UF combinada con la DF es efectiva para realizar una desmineralización parcial de los MPC. Sin embargo, aplicar más de un ciclo de DF no generó diferencias significativas en el contenido de minerales. Las diferencias texturales del queso fresco fueron atribuidas al desbalance mineral generado por la DF del MPC, principalmente en el contenido de calcio. En los yogures no se evidenció un efecto importante de la desmineralización parcial del MPC porque prevalecen las coagulaciones ácidas. El efecto de la filtración en las estructuras proteicas y contenido mineral de la leche fue significativo. Se recomienda estudiar las diferencias desde el punto de vista sensorial y otras características fisicoquímicas de los productos lácteos obtenidos a partir de estas leches tratadas.

Bibliografía

- Banach, J.; Lin, Z.; Lamsal, B.P. 2013. Enzymatic modification of milk protein concentrates and characterization of resulting functional properties. *LWT-Journal*. 54(2), p 397-403. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.023>
- Brans, G.; Schroën, C.; Van Der Sman, R.; Boom, R. 2004. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *J.f Membrane Science*. 243(1-2), p 263-272. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.06.029>
- Bruzantin, F.; Daniel, J.; Da Silva, P; Spoto, M. 2016. Physicochemical and sensory characteristics of fat-free goat milk yogurt with added stabilizers and skim milk powder fortification. *J. Dairy Science*. 99(5), p 3316-3324. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10327>
- Cao, J.; Zhang, W.; Wu, S.; Liu, C.; Li, Y.; Li, H.; Zhang, L. 2015. Short communication: Effects of nanofiltration and evaporation on the physicochemical properties of milk protein during processing of milk protein concentrate. *J. Dairy*

- Science. 98(1), p 100-105. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8619>
- Chandan, R.C.; O'Rell, K. R., 2006. Manufacture of Various Types of Yogurt. EN: Chandan, R.; White, C.; Kilara, A. and Hui, Y. (eds). Manufacturing Yogurt and Fermented Milks- Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, p 211-213. doi:10.1002/9780470277812.ch13
- Chenchaiah, M.; Salunke, P.; Biswas, A.; Kommineni, A.; Metzger, L. 2015. Manufacture of modified milk protein concentrate utilizing injection of carbon dioxide. J. Dairy Science. 98(6), p 3577-3589. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8946>
- ESHARI, H.; TONG, P.; CORREDIG, M. 2014. Changes in the physical properties, solubility, and heat stability of milk protein concentrates prepared from partially acidified milk. J. Dairy Science. 97(12), p 7394-7401. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8609>
- Eshari, H.; Jimenez-flores, R.; Tong, P.; Correding, M.; 2015. Partial calcium depletion during membrane filtration affects gelation of reconstituted milk protein concentrates. J. Dairy Science. 98(12), p 8454-8463. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9856>
- Ferragut, V.; Cruz, N.; Trujillo, A.; Guamis, B.; Capellas. M. 2009. Physical characteristics during storage of soy yogurt made from ultra-high pressure homogenized soymilk. J. Food Engineering. 92(1), p 63-69. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.10.026>
- Ferrer, M.; Alexander, M.; Correding, M. 2014. Changes in the physico-chemical properties of casein micelles during ultrafiltration combined with diafiltration. LWT-Food Science and Technology. 59(1), p 173-180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.037>
- Fox, P. 2001. Milk proteins as food Ingredients. Int. J. Dairy Technology. 54(2), p 41-55. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2001.00014.x>
- Fox, P.; Uniacke-low, T.; Mcsweeney, P.; O'Mahony, J. 2015. Production and Utilization of Milk. En: Fox, P., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. and O'Mahony, J. (eds). Dairy Chemistry and Biochemistry. Ed. Springer International Publishing, Suiza. pp. 1-3.
- Francolino, S.; Locci, F.; Ghiglietti, R.; Lezzi, R.; Mucchetti, G. 2010. Use of milk protein concentrate to standardize milk composition in Italian Citric Mozzarella cheese making. LWT-Journal. 43(2), p 310-314. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.08.007>

Gavazzi-April; Benoit, S.; Doyen, A.; Britten, M.; pouliot, Y. 2018. Preparation of milk protein concentrates by ultrafiltration and continuous diafiltration: effect of process design on overall efficiency. *Journal of Dairy Science*. 101, p 9670-9679. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14430>

Gaucheron, F. 2005. The minerals of milk. [Reproduction Nutrition Development](https://doi.org/10.1051/rnd:2005030). 45(4), p 473-483. <https://doi.org/10.1051/rnd:2005030>

Gutiérrez, N.; Trancoso, N.; Leal, M. 2013. Texture profile analysis of Fresh cheese and Chihuahua cheese using miniature cheese models. *Tecnociencia Chihuahua*. 7(2), p 65-74.

Haque, Z.; Sharma, M. 2002. Influence of cation sequestering and pH on quiescent thermal association of lactoglobulin NB from fresh Cheddar whey: an insight into gelation mechanism. *Food Science and Technology Research*. 8(4), p 311-316. <https://doi.org/10.3136/fstr.8.311>

Hashim, I.; Kgalil, A.; Afifi, H. 2009. Quality characteristics and consumer acceptance of yogurt fortified with date fiber. *J. Dairy Science*. 92(11), p 5403-5407. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2234>

IDF International Dairy Federation. 1964. Determination of the ash content of processed cheese products. Standard FIL-IDF 27:1964. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

IDF International Dairy Federation. 1986. Cheese and processed cheese product: determination of fat content- gravimetric method (Reference Method). Standard FIL-IDF 5B:1986. International Dairy Federation, Brussels Belgium.

IDF International Dairy Federation. 1993. Milk: determination of nitrogen content. Standard FIL-IDF 20B:1993. International Dairy Federation, Brussels Belgium.

IDF International Dairy Federation. 1996. Milk: Determination of fat content (Röse-Gottlieb gravimetric method). IDF Standard 1D. Standard FIL-IDF 1D: 1996. International Dairy Federation, Brussels Belgium.

International Standard ISO. 2003. ISO: 17294-2: Water quality: Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), Parte 2: Determination of 62 elements. Ginebra, Suiza.

Kenneth, S.; Malavika, H.; Dalton, J.; Dave, E.; Gregory, J. 2017. Mechanisms of flux decline in skim milk ultrafiltration: A review. *J. Membrane Science*. 523, p 144-162. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2016.09.036>

Kenneth, S.; Dustan, Dave; Martin, Gregory. 2018. Influence of diafiltration on flux decline during skim milk ultrafiltration. *International Dairy Journal*. 87, p 67 – 74. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.07.021>

Kumar, p.; sharma, n.; ranjan, r.; kumarm, s.; bhat, z.; jeong, d. 2013. Perspective of membrane technology in dairy industry: a review. *Asian-Australasian J. Animal Science*. 26(9), p 1347-1358. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2013.13082>

Lauzin, A.; Pouliot, Y.; Britten, M. 2020. Understanding the differences in cheese-making properties between reverse osmosis and ultrafiltration concentrates. *Journal of Dairy Science*. 103, p 201 – 209. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16542>

Lourens-hattingh, A.; Viljoen, B. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy J.* 11(1-2), p 1-17. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00036-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00036-X)

Liu, Dasong; Li, Junke; Jie, Zhang; Liu, Xiaoming; Wang, Miao; Yacine, HEMAR; Regenstein, Joe; Zhou, Peng. 2017. Effect of partial acidification on the ultrafiltration and diafiltration of skim milk: Physico-chemical properties of the resulting milk protein concentrates. *Journal of Food Engineering*. 212, p 55-64. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.05.019

LU, Y.; McMahan, D.; Vollmer, A. 2017. Investigating rennet coagulation properties of recombined highly concentrated micellar casein concentrate and cream for use in cheese making. *J. Dairy Science*. 100(2), p 892-900. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11648>

Marle, M.; Van den ende, D.; De kriuf, C.; Mellema, J. 1999. Steady-shear viscosity of stirred yogurts with varying ropiness. *J. Rheology*. 43, p 1643-1662. <https://doi.org/10.1122/1.551065>

Mao, X.; Tong, P.; Gualco, S.; Vink, S. 2012. Effect of NaCl addition during diafiltration on the solubility, hydrophobicity, and disulfide bonds of 80% milk protein concentrate powder. *J. Dairy Science*. 95(7), p 3481-3488. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4691>

Maubois, J.; Mocquot, G.; Vassal, L. 1969. Procédé de traitement du lait et de sous produits laitiers. Paris, France. Patent 2052121.

MINISTRY OF SOCIAL PROTECTION. 2006. Ordinance 616. Bogotá, Colombia.
MISTRY, V.; MAUBOIS, J. 2004. Application of Membrane Separation Technology to Cheese Production. In “Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology”. El Sevier, Wisconsin, USA, p 261-262.

Najgebauer-Lejko, D.; Żmudziński, D.; Ptaszek, A.; Socha, R. 2014. Textural

- properties of yogurts with green tea and Puerh tea additive. *International J. Food Science and Technology*. 49 (4), p 1149-1158. <https://doi.org/10.1111/iifs.12411>
- Ozcan, T.; Horne, D.; Lucey, J. 2011. Effect of increasing the colloidal calcium phosphate of milk on the texture and microstructure of yogurt. *J. Dairy Science*. 94(11), p 5278-5288. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3932>
- Patel, H.; Patel, S. 2014. Milk protein concentrates: manufacturing and applications. Dairy Research Institute: Technical Report. p.2-3.
- Pouliot, Y. 2008. Membrane processes in dairy technology from a simple idea to worldwide panacea. *Int. Dairy J.* 18(7), p 735-740. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.005>
- Sandoval-castilla, O.; Lobato-calleros, C.; Aguirre-Mandujano, E.; Vernon-carter, E. 2004. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *Int. Dairy J.* 14(2), p 151-159. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00166-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00166-3)
- Sandra, S.; Correding, M. 2013. Rennet induced gelation of reconstituted milk protein concentrates: The role of calcium and soluble proteins during reconstitution. *Int. Dairy J.* 29(2), p 68-74. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.10.011>
- Schulz-collins, D.; Senge, B. 2004. Acid and Acid/Rennet-curd Cheeses Part A: Quark, Cream Cheese and Related Varieties. In "Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology". Ed. By Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T. and Guinee, T. El Servier, Wisconsin, USA, Elsevier. P 303-304.
- Serra, M., Trujillo, B., Guamis, B. and Ferragut, V. 2009. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high-pressure homogenization-treated milk. *Food Hydrocolloids*. 23(1), p 82-91. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.11.015>
- SINGH, H. 2007. Interactions of milk proteins during the manufacture of milk powders. *Le Lait*. 87(4-5), p 413-423.
- Supavitpatana, P., Wirjantoro, T., Apichartsrangkoon, A. and Raviyan, P. 2008. Addition of gelatin enhanced gelation of corn–milk yogurt. *Food Chemistry*. 106(1), p 211-216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.058>
- Svanborg, S., Johansen, A., Abrahamsen, R. and Skeie, S. 2015. The composition and functional properties of whey protein concentrates produced from buttermilk are comparable with those of whey protein concentrates produced from skimmed milk. *J. Dairy Science*. 98(9), p 5829-5840. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9039>

4. Capítulo 3: Artículo: Desarrollo de un microparticulado de proteínas de lactosuero dulce concentrado por ultrafiltración y su aplicación en la elaboración de queso blanco

Edinson Bejarano Toro; Eduardo Rodríguez Sandoval; José Uriel Sepúlveda Valencia

Resumen

Los microparticulados de proteínas de lactosuero (MWP) se obtienen del procesamiento térmico y físico de los concentrados de proteínas de lactosuero (WPC), y se han reportado como ingredientes con potencial para mejorar el rendimiento quesero. Se desarrollaron y optimizaron las condiciones de obtención de un MWP adecuado para su inclusión en la elaboración de queso blanco. Para la optimización del MWP se evaluaron como factores la temperatura y el tiempo del tratamiento térmico y como variables respuesta el potencial Zeta, tamaño partícula, color, coeficiente de retención de proteína y el rendimiento quesero por medio de un diseño de superficie de respuesta con 14 experimentos, de los cuales se obtuvieron unas condiciones óptimas de procesamiento que fueron 93°C por un tiempo de 17 min en retención. Con respecto a la inclusión del MWP en el queso blanco, se probaron dos niveles de inclusión 3% y 5%; y se evaluó su impacto sobre características de rendimiento, retención de la proteína y el perfil de textura con respecto a un queso control que no fue adicionado con MWP. Se encuentra que el 3% de inclusión es más adecuado porque conserva características texturales más cercanas a un queso blanco tradicional.

Abstract

The whey protein microparticulated (MWP) is obtained from whey protein concentrate (WPC) thermal and physical processing, and has been reported as an ingredient with potential to improve the cheese yield. The conditions for obtaining a suitable MWP for its inclusion in white cheese production were developed and optimized. For the optimization of MWP were evaluated the temperature and the thermal treatment time as factors and the zeta potential, particle size, color, protein retention coefficient, and cheese yield as response variables by means of a response surface design with 14 experiments, from which optimal processing conditions were obtained which were 93°C for a retention time of 17 minutes. Regarding the inclusion of the MWP in queso blanco, two levels of inclusion 3% and 5% were tested, and their impact on yield, protein retention and texture profile was evaluated with respect to a control cheese without MWP addition. The 3% cheese was the most adequate treatment because the textural characteristics are more similar to traditional queso blanco.

Introducción

El lactosuero es un co-producto de la producción de quesos o caseínas, y es de gran interés para la industria láctea debido al gran volumen producido y su composición nutricional; la producción de 1-2 kg de queso puede generar entre 8 a 9 kg de lactosuero. Contiene las proteínas séricas de la leche, que representan el 20% del contenido total (Baldasso, Barros & Tessaro, 2011). El lactosuero contiene el 50% de los sólidos totales de la leche, por lo cual este es una fuente viable de nutrientes para el ser humano (Massoti *et al.*, 2017). La producción de este co-producto ha ido creciendo alrededor del mundo, creando importantes problemas ambientales y de salud (Yadav *et al.*, 2015). Por lo tanto, la sociedad requiere metodologías viables para su tratamiento.

El proceso de filtración tangencial, puntualmente la ultrafiltración (UF), evolucionó tecnológicamente en la industria láctea con el tratamiento del lactosuero, específicamente la recuperación de sus proteínas (Kelly, 2019). Gracias a este tipo de procesos se pueden obtener derivados del lactosuero, como los concentrados de proteínas (WPC), que son el resultado de la remoción de constituyentes no proteicos de los concentrados obtenidos por

UF generalmente hasta que esta represente más del 25% de los sólidos totales del producto obtenido. Los WPCs se producen por medio de técnicas de separación como la precipitación, filtración o diálisis (Carter, *et al.*, 2021)

Los microparticulados de proteínas de lactosuero (MWP) son obtenidos de la agregación y homogeneización de las proteínas de lactosuero a partir de WPC con ajustes a pH bajos (<5). Las partículas esféricas resultantes han sido reportadas con tamaños en un rango entre 0,1 – 10 μm y se han usado como sustitutos de grasa (Singer, Yamamoto & Latella, 1988) y mejoradores de rendimiento quesero (Yadav *et al.*, 2015). Las medidas de las partículas en los MWP son específicas según la aplicación objetivo, cuando se destinan a la elaboración de quesos deben ser atrapados en la matriz proteica formada en la coagulación. El uso de estos ha generado aumento en el rendimiento quesero por la mayor retención de humedad y proteínas (Yadav *et al.*, 2015; Stankey, *et al.*, 2017). Los MWP comerciales, tales como el Simplesse® ha sido usado comúnmente como sustitutos de grasa debido a que sus micropartículas de proteína no agregada tienen la propiedad de simular las propiedades de la grasa en productos reducidos o libres de grasa (Desai & Nolting, 1995).

Desde los desarrollos iniciales, se ha explorado el potencial uso de los MWP como sustitutos de grasa en diversos productos, como los yogures (Celigueta *et al.*, 2011; Celigueta *et al.*, 2012; Hossain *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2021), helado (Ohmes, Marshall & Heymann, 1998; Prindiville, Marshall & Heymann, 2000; Yilsay, Yilmaz & Bayizit, 2006; Hossain, *et al.*, 2021); postres (Vidigal, *et al.*, 2012) y quesos (Schenkel, Samudrala, Hinrichs, 2013; Di Cagno, *et al.*, 2014; Masotti, *et al.*, 2017; Giroux, Veillete & Britten, 2018). Adicionalmente, la adición de MWP en la elaboración de quesos representa otra ventaja y es el incremento del rendimiento quesero y del contenido de proteínas de alto valor biológico como lo son las proteínas del lactosuero (Massoti *et al.*, 2017).

El queso campesino es un queso fresco tradicional e importante en Colombia, elaborado a partir de leche fresca. Sensorialmente, tiene una textura semi-blanda y un alto contenido de grasa que lo ubica como semigraso con un sabor lácteo, según la normatividad colombiana (Ministerio de Salud y Protección Social 1986)) (Vasquez, Novoa & Carulla, 2014). El queso campesino tiene un rendimiento entre el 13 a 15%. Actualmente, hasta donde conocen los autores, no hay reportes de investigaciones que hayan incluido un MWP en la elaboración de esta variedad de queso. Por este motivo, se propone evaluar el

desarrollo de un MWP a partir de lactosuero dulce y el efecto de su aplicación sobre el rendimiento, textura y características fisicoquímicas de un queso campesino.

2. Materiales y métodos

2.1 Optimización del proceso de elaboración del MWP

Obtención del concentrado de proteínas de lactosuero (WPC). El proceso de filtración tangencial se realizó en una planta piloto de ultrafiltración con capacidad para 130 L/h de permeado (Perinox, Villa Robledo, España) equipado con una membrana en configuración espiral de polietersulfona con un tamaño molecular de corte de 10 kDa (Koch Membrane System, Wilmington, MA, USA). Se usó un factor de concentración volumétrico (FCV) de 18, una presión transmembrana (PTM) de 2 bar a 48°C según lo encontrado por Bejarano et al., 2021. El lactosuero dulce (pH>6) usado se obtuvo de la elaboración de queso blanco y fue aportado por una industria local, tuvo un contenido de sólidos totales de 6,98% (p/p), proteína del 0,85% (p/p), lactosa del 4,6%, pH de 6,52, acidez de 0,08% (v/v) y grasa de 0,08% (p/p). para este proceso se partió de 800 L de lactosuero, para obtener, con un factor de concentración volumétrico de 18, un volumen de concentrado de 44 L.

Desarrollo del MWP. El proceso de microparticulación se basa en un tratamiento térmico del WPC, que genera una interacción entre las proteínas y se refleja en la formación de agregados, los cuales se homogeneizan y de esta manera se producen coloides esféricos de tamaños entre 1 a 10 μm (Hinrichs, 2001; Kethireddipalli y Hill, 2015; Masotti, et al., 2017). Se tuvieron en cuenta las metodologías desarrolladas por Lebeuf et al., (1998), Sturaro et al., (2015) y Sánchez et al., (2019) con modificaciones, donde se tomaron 44 L de WPC estandarizado a 18% de sólidos totales, con 46% de proteína en base seca (8,28% de proteína en base húmeda), obtenido por medio de la ultrafiltración de lactosuero dulce (Laboratorio de Productos Lácteos, Universidad Nacional de Colombia), se ajustó el pH a 4,2 con ácido láctico grado reactivo (Giroux, et al., 2018), luego se realizó el tratamiento térmico, que varió entre 76°C y 93°C, en una STEPHAN® Universal Machine, UMSK 24E (Schwarzenbek, Alemania) con tiempos de retención entre 3 min y 17 min., al terminar este tiempo, se aplicó un ciclo de homogenización a 1000 psi (ST. Regis, Chicago, EEUU) según las condiciones señaladas por Kelly (2019) y Sanchez et al., (2019). Finalmente, el MWP fue neutralizado con hidróxido de sodio (12,5 N) hasta un pH de 6,7 para poder incorporarlo posteriormente a la leche que se iba a transformar en queso.

Análisis realizados al MWP. Se determinó el tamaño de partícula en un equipo de dispersión de luz, Mastersizer 2000 (Malvern Panalytical, UK), tomando el valor de la distribución total de los tamaños en diámetros [4,3], el resultado fue el promedio de 5 mediciones por muestra (Kulmyrzaev & Schubert, 2004; Narong & James, 2008). El potencial Zeta (ζ) se midió para determinar la estabilidad del MWP y su tendencia a generar separación de fases, usando un equipo de dispersión de luz Zetasizer (Malvern Panalytical). La muestra de lactosuero fue inyectada a la celda de medida y puesta en el equipo, que reporta la densidad de carga de coloides en mV. Los experimentos se realizaron a 25°C (Kulmyrzaev & Schubert, 2004; Narong & James, 2008; Kaewkannetra *et al.*, 2009), el color se determinó en un espectrofotómetro, donde la muestra de suero fue puesta en la celda óptica de vidrio, se calibró el equipo con el blanco, y luego se realizó la medición usando 8 mm de apertura del diafragma. Los resultados se obtuvieron con un iluminador D65. Los parámetros registrados fueron L^* (brillantez), a^* (componente de rojos), b^* (componente de amarillos) (Tárrega y Costell, 2007). Y finalmente, el rendimiento quesero se determinó por medio de una relación entre la cantidad de queso obtenido, luego de estar en refrigeración, con respecto a la leche empleada (sin tener en cuenta el MWP adicionado) para su fabricación según lo realizado por Vasquez, Novoa y Carulla (2014)

Elaboración de queso blanco adicionado con MWP. Se tomó un lote de leche de 60 kg para elaborar el queso control y el queso con inclusión del 5% del MWP obtenido de cada una de las condiciones de temperatura y tiempo de retención establecidas en el diseño experimental. El queso blanco tradicional y el adicionado con MWP se elaboró con base en la metodología de Vásquez, Novoa & Carulla (2014) con modificaciones, adicionando 5% de MWP a la leche, luego la mezcla se pasteurizó a 63°C por 30 min, se enfrió a 35°C y se adicionó 0.01% de quimosina (Maxiren® DSM, Alemania) para coagular en 30 min; finalizado este tiempo, el coagulo formado se cortó y agitó por 10 min. Posteriormente, la cuajada fue desuerada completamente y salada con cloruro de sodio al 1,8% (p/p) y se dejó en moldes por 12 h. El queso fue almacenado en $4\pm 2^\circ\text{C}$ y se evaluó el rendimiento quesero por medio de la relación entre los pesos (kg) de cuajada moldeada y refrigerada ($4^\circ\text{C}\pm 2^\circ\text{C}$) y la cantidad de leche usada en el proceso de elaboración (Di Cagno *et al.*, 2014; Sturaro *et al.*, 2015).

La retención de las proteínas de lactosuero (RPS) microparticuladas en el queso blanco, expresada como porcentaje, se calculó con base a un balance de masas entre el contenido de proteína del MWP, el lactosuero resultado de la elaboración del queso y el queso

obtenido (AOAC 920.53) y se realizó con base en la ecuación 1, usada por el Aula de Productos Lácteos de la Universidad de Santiago de Compostela (2015). Recuperación de la proteína de lactosuero microparticulada:

$$RPS = \frac{(\text{peso suero} * (\text{Prot. sueroMWP} - \text{Prot. lactosuero referencia}))}{\text{peso leche} * \text{Prot. MWP} * \text{porcentaje MWP añadido}}$$

Ecuación 1. Retención de la proteína de lactosuero en el queso

2.2 Evaluación de la inclusión del microparticulado optimizado en la elaboración de queso blanco

Elaboración de queso blanco con adición de MWP. Se tomó un lote de 60 kg de leche para elaborar el queso control y el queso con inclusión del 3% y 5% del MWP estandarizado. El queso blanco tradicional y el adicionado con MWP se elaboraron con base en la metodología de Vásquez, Novoa & Carulla (2014) con modificaciones, según lo descrito previamente. La retención de la proteína y el rendimiento quesero fueron evaluados según la ecuación 1 y 2.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{kg de queso obtenido}}{\text{Kg de leche usada}}$$

Ecuación 2. Rendimiento quesero (Rendimiento)

Características composicionales del queso blanco y el lactosuero. Se analizó el contenido de humedad (AOAC 948.12, 1997), de materia grasa (AOAC 989.04., 1997) y proteína (AOAC 920.123., 1997; NTC 4657., 1999) de los quesos obtenidos. Y el contenido de proteína a los lactosueros del queso control y de los adicionados con el MWP para calcular la retención de las proteínas adicionadas.

Perfil de textura (TPA) del queso blanco. El perfil de textura del queso blanco elaborado con la inclusión de MWP se realizó en un texturometro CT3 Texture Analyzer (Brookfield, Middleboro, MA, USA). La muestra fue tomada en un cuadrado de 20 mm³, para el análisis se usó un porcentaje de compresión del 50% una velocidad de 0,5 mm/s, con dos ciclos de compresión, la sonda usada fue al TA25/1000 con una celda de carga de 10000 g. Se determinó la dureza (g), la cohesividad, la elasticidad (mm) y la masticabilidad (mJ) (Ramos, Valerio & Chamorro, 2015; Guzman *et al.*, 2015).

Diseño experimental. Para evaluar el desarrollo del MWP se usó un diseño central compuesto de superficie de respuesta, obtenido por medio del programa Statgraphic Centurion 16.1. (Statpoint Technologies, INC). Se realizaron 14 experimentos donde se tuvieron en cuenta dos factores que fueron la temperatura del tratamiento térmico desde 76°C hasta 93°C y el tiempo de retención de este tratamiento térmico desde 3 min hasta 17 min, con 6 puntos centrales (84 °C y 10 min), y siete variables de respuesta que fueron el tamaño de partícula (D32), con respecto al color se evaluó la luminosidad (L), a* y b*, el potencial Zeta, la retención de la proteína del MWP (en el queso elaborado) y el rendimiento quesero. Se realizó un ANOVA para cada variable respuesta mediante un algoritmo iterativo implementado en el programa Statgraphic Centurion 16.1. (Statpoint Technologies, INC). Con base a este proceso se realizó una optimización de múltiples respuestas con las variables maximizando la función de deseabilidad del modelo, buscando obtener valores máximos en el tamaño de partícula (D32), la magnitud del potencial Zeta para garantizar mayor estabilidad de producto, la retención de la proteína del MWP en la matriz del queso y el rendimiento quesero, variables de alto interés tecnológico. En el experimento se fijaron como constantes de proceso el pH del WPC en 4,2 y la presión de homogenización en 1000 psi.

Para evaluar la inclusión del microparticulado optimizado en la elaboración del queso blanco se realizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de significancia del 5%. Se consideró como factor el porcentaje de inclusión del MWP: queso control sin adición de MWP (control), el adicionado con 3% de MWP (3%) y con 5% de MWP (5%). Como variables respuesta se tomaron el rendimiento quesero, el porcentaje de proteína retenida en el queso, el análisis de TPA (dureza, cohesividad, elasticidad y masticabilidad), humedad, contenido de proteína y grasa con relación a la materia seca del queso. Se utilizó el test de mínima diferencia significativa cuando se encontraron diferencias para establecer entre que medias existían dichas diferencias. Este diseño fue analizado en el programa Statgraphics Centurion 16.1 (Statpint Technologies, INC).

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos de cada una de las variables respuesta se muestran en la tabla 1. Los factores experimentales no tuvieron efecto significativo sobre parámetros de color L, a*, b* y el potencial Zeta (ζ). Con respecto a las características de color, el WPC es un producto blanquecino, con características y aspecto a leche, lo cual indicó que el MWP no

sufrió procesos de pardeamiento durante el tratamiento térmico, parámetro deseable porque este es adicionado directamente a la leche antes de la pasteurización, y por lo tanto no debe aportar colores extraños. El parámetro luminosidad (L) presentó valores entre 68,27 y 70,86 o sea un producto principalmente blanco. Por otro lado, el parámetro de a^* estuvo entre -1,68 y -1,23 que nos indica una ligera tendencia hacia el color verde y el parámetro b^* entre 7,73 y 10,27, indicando una tendencia hacia el color amarillo que es similar a la descripción realizada por autores como Prazeres, Carvalho y Rivas (2012) y Yasmin *et al.*, (2013) y que lo hacen compatible con el color de la leche. Estos datos se encuentran ligeramente por menores a los reportes de Croissant *et al.*, (2009) y Chung *et al.*, (2014) para WPC al encontrar valores de L, a^* y b^* alrededor de 86,4, 0,18 y 15 respectivamente.

Tabla 1. Factores y resultados obtenidos para tamaño de partícula (D [4,3]), Color (L^* , a^* , b^*), potencial Zeta, retención de la proteína y rendimiento quesero.

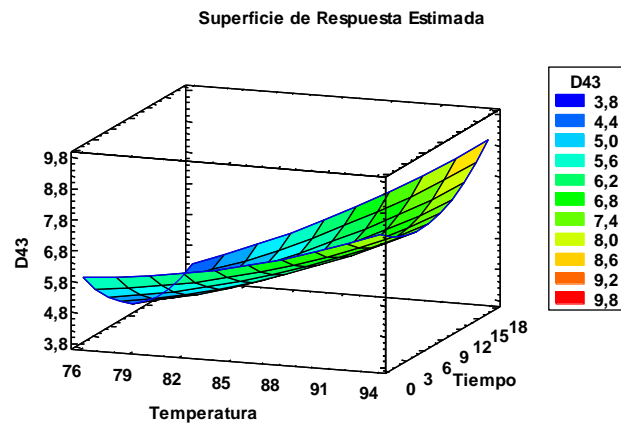
Factores		Variables respuesta						
°T C	Tiempo (min)	Tamaño de partícula (μm)	Color			Potencial Z (mV)	Retención de proteína %	Rendimiento quesero %
		D [4,3]	L^*	a^*	b^*			
84	10	5,94	70,47	-1,31	8,41	5,18	74,07	17,30
90	15	7,65	69,28	-1,45	10,27	7,97	66,6	19,30
84	10	4,97	70,7	-1,3	8,74	1,83	65	17,30
93	10	6,74	68,65	-1,4	8,99	8,74	80,8	19,00
84	10	5,36	70,86	-1,34	8,53	6,79	72,6	17,90
84	3	5,75	69,49	-1,64	8,82	3,58	80,9	18,60
76	10	4,22	70,14	-1,68	10,02	3,74	57	17,10
84	10	5,09	69,36	-1,65	9,26	4,1	81,5	18,60
90	5	6,95	68,62	-1,23	8,12	3,71	78,9	19,30
78	5	4,58	70,83	-1,48	8,87	4,69	60,4	17,30
84	17	5,49	69,7	-1,38	8,41	4,6	81,7	17,80
84	10	4,73	68,27	-1,36	7,73	2,12	76,8	18,20
84	10	4,94	70,12	-1,28	8,29	5,73	72,3	18,60
78	15	4,31	69,83	-1,51	8,75	3,28	59,6	17,90

La temperatura tuvo efecto significativo ($P>0,05$) sobre el tamaño de partícula [D 43], la retención de la proteína y el rendimiento quesero. Con respecto al tamaño de partícula, se obtuvieron valores entre 4,22 μm y 7,65 μm . Las proteínas del lactosuero tienden a formar agregados cuando los WPC son sometidos a tratamientos térmicos (Giroux, *et al.*, 2018).

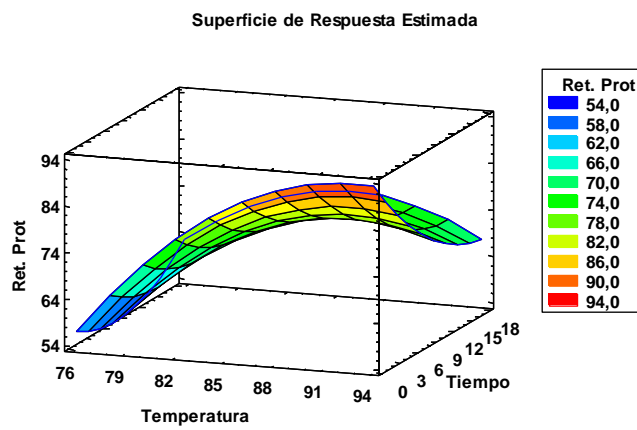
La desnaturalización de las proteínas del lactosuero es dependiente del tiempo y de la temperatura (Guyomarc'h, 2006), inicia a los 40°C y asciende hasta el 95% cuando se alcanzan los 85°C (Kilara y Vaghela, 2004). Además, este proceso reduce la solubilidad de las proteínas por su agregación (Kilara, 2008). Según Wolz, Mersh y Kulozik (2016) la desnaturalización y agregación proteica es un proceso irreversible, que se genera por medio de enlaces disulfuro e interacciones hidrofóbicas, incrementando el tamaño de las partículas al aumentar el nivel de desnaturalización proteica, fenómeno corroborado en esta investigación y que se puede observar en la ilustración 1, donde se muestra que el aumento de la temperatura incrementa el tamaño de partícula resultante. Los valores obtenidos en este parámetro concuerdan con los datos reportados por autores como Spiegel y Huss (2002) e Ipsen (2017) que afirmaron que un MWP debe tener tamaños entre 0,5 µm a 10 µm, debido a que permiten ser atrapados de forma más eficiente por la matriz proteica que se genera en la coagulación enzimática de la leche (Giroux, *et al.*, 2018), pero es clara la tendencia que, a mayor temperatura también hay un mayor tamaño de partícula (ilustración1a).

Por otro lado, la temperatura también tuvo efecto significativo sobre la retención de la proteína y el rendimiento quesero (ilustración1 (b) y (c)), presentando valores entre 57% a 81,7% y 17,1% a 19,3%, respectivamente; Hinrichs (2001) afirmó que en quesos semiduros y semiblandos la retención de las proteínas del lactosuero desnaturalizadas térmicamente podría alcanzar el 70%, en este trabajo se observaron niveles de retención hasta de un 81,7%. También, se logró un rendimiento máximo de 19,3%, siendo en promedio 2,7% superior al del queso control, sin adición de MWP que estuvo en 16,9%. Estas dos variables evaluadas presentaron mayor desempeño a mayor temperatura en el proceso de microparticulación. Este fenómeno está directamente relacionado con el tamaño de partícula que también aumenta con base a este factor. Autores como Giroux *et al.*, (2018) afirman que tamaños cercanos a los 10 µm tienden a ser atrapados de forma más eficiente por la matriz proteica formada en la leche por medio de la coagulación enzimática, entonces al tener tamaños alrededor de 6,44 µm a mayores temperaturas, esto mejoró el índice de retención de la proteína y se reflejó directamente en el rendimiento quesero, debido a que los MWP tienen alta capacidad de retener agua por las características propias de las proteínas de lactosuero que se caracterizan por ser anfifílicas (Adjonu, *et al.*, 2014), y por este motivo, con mayor retención de proteína mayor capacidad

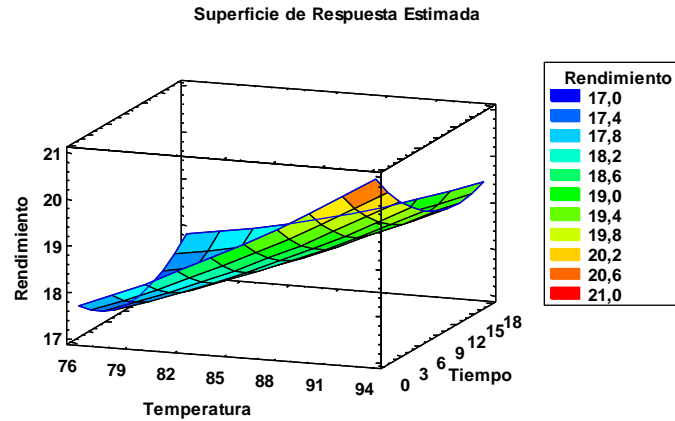
de retener agua en la matriz del queso y en consecuencia se aumenta del rendimiento quesero (Perreault *et al.*, 2016; Mayta, Trujillo y Juan 2019).



(a)



(b)



(c)

Ilustración1. Gráfico de las superficies de respuesta para las variables tamaño de partícula D [4,3] (a), retención de la proteína (%) (b) y el rendimiento quesero (%) (c)

El proceso de optimización se realizó con las variables tamaño de partícula [D 4,3], retención de la proteína y el rendimiento quesero. Se asignó un impacto de 1, 3 y 3, respectivamente, debido a que el rendimiento quesero y la retención de la proteína son variables de alta importancia para las empresas fabricantes de queso. Todas fueron optimizadas con base en la función de deseabilidad de cada una de las soluciones posibles en m respuestas posibles (ecuación 3). Como resultado del análisis la microparticulación del WPC obtenido, las condiciones de proceso óptimas fueron 93°C por un tiempo de 3 min de retención, con una deseabilidad de 0,88 para posteriormente ser sometido a un proceso de homogeneización a una presión de 1000 psi. Coto (2014) trabajó con diferentes valores de pH del WPC (4, 5,5 y 7), una temperatura de 80°C y una presión de homogeneización de 4000 psi, obtuvo tamaños de partícula similares con el ajuste de pH a 4, aunque evidenció que a mayor temperatura también aumentaron los tamaños de los agregados de proteína, respaldando los resultados obtenidos. Con estas condiciones definidas, se obtuvo el MWP óptimo que fue incluido en la elaboración de queso blanco.

$$D = \{d_1^{i1} d_2^{i2} \dots d_m^{im}\} \left(\sum_{j=1}^m I_j \right)$$

Ecuación 3. Ecuación de la función de deseabilidad

Inclusión del MWP desarrollado en la elaboración de queso blanco

Los datos de rendimiento, retención de la proteína y variables de textura obtenidos del experimento de pueden observar en la tabla 1.

Tabla 2. Resultados de recuperación de proteína, rendimiento y TPA de los quesos adicionados con MWP y el queso control

Parámetro	Control	3%	5%
RPS** %	0,00 ^a	58,95 ± 4,97 ^b	49,21 ± 5,9 ^c
Rendimiento %	12,6±0,0017 ^a	14,5±0,0027 ^b	15,1±0,002 ^c
Dureza (N)	20,52±1,55 ^a	16,94±0,67 ^b	13,91±0,66 ^c
Cohesividad	0,66±0,011 ^a	0,56±0,007 ^b	0,51±0,015 ^c
Elasticidad (mm)	8,78±0,046 ^a	8,38±0,07 ^b	8,44±0,1 ^b
Masticabilidad (mJ)	153,11±4,28 ^a	81,53±2,2 ^b	61,92±0,85 ^c

*valores con superíndice de letras diferentes en una fila equivalen a diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$). Si la letra del superíndice igual equivale a diferencias no significativas ($P > 0,05$)

** RPS= retención de la proteína del lactosuero

La inclusión de MWP tuvo efecto significativo ($P < 0,05$) sobre todas las variables RPS, rendimiento quesero, dureza, cohesividad, elasticidad y masticabilidad. La inclusión del 3% presentó mayor RPS al retener en promedio 58,95% con respecto al 5% que solo retuvo el 49,2%, por consiguiente, se tiene mayor eficiencia con la adición de 3% de MWP. Este tipo de productos se usan como materiales sustitutos de grasa en la elaboración de alimentos (Kelly, 2019), particularmente en la leche, se retiene la proteína microparticulada bajo el mismo mecanismo que usan los glóbulos de grasa en la matriz de proteína durante la coagulación, generando sensaciones en boca similares a los productos de leche entera (Hinrichs 2001; Masotti *et al.*, 2017), y que cuando la cuajada es cortada, se puede liberar al lactosuero, generando algunas pérdidas de proteína. Esta retención de proteína del MWP tiene como consecuencia el aumento del rendimiento quesero que pasó de 12,6% para el queso control hasta 14,5% y 15,1% para los tratamientos de 3% y 5% respectivamente. Estas proteínas aumentan el rendimiento quesero no solo por la retención propia de las proteínas, sino porque estas tienen alta capacidad de retener agua (Hinrichs, 2001; Massoti *et al.*, 2017; Kelly, 2019). Este fenómeno está corroborado por el contenido de humedad de los quesos (tabla 2), donde los que fueron adicionados con MWP

tuvieron mayor humedad con respecto al queso control en una magnitud de 4,11% y 5,1% para los tratamientos 3% y 5%, respectivamente. Stankey *et al.*, (2017) aplicó MWP en la elaboración de queso tipo cheddar, aumentando el contenido de humedad y el rendimiento con respecto al queso control y Di Cagno *et al.*, (2014) documentó el mismo fenómeno en su aplicación en queso caciotta. La dureza del queso disminuyó con la inclusión del MWP desde 20,52 N hasta 13,91 N con la inclusión del 5%, este comportamiento se debe al aumento de la humedad, característica propia de las proteínas de lactosuero. Di Cagno *et al.*, (2014), Stankey *et al.*, (2017), Masotti *et al.*, (2017) han reportado reducción de dureza con la inclusión de MWP en la elaboración de quesos debido a que este tipo de materiales se usan como relleno inerte en las matrices de paracaseinato, generando posibles interrupciones en la continuidad de la matriz proteica y creando puntos débiles, lo cual reduce la dureza del producto (Stankey *et al.*, 2017). Este fenómeno explica la reducción de la cohesividad y la elasticidad del queso porque estos mismos puntos débiles en la matriz puede hacerla más fracturable y con menor cohesión entre los componentes que conforman el queso.

Tabla 3. Humedad, proteína en base seca y materia grasa en base seca de los quesos elaborados

Parámetro	Control	3% MWP	5% MWP
Humedad	58,09±1,7 ^a	62,11±1,0 ^b	63,10±1,2 ^b
MG/ES	44,8±0,018 ^a	42,3±0,01 ^b	39,1±0,01 ^c
P/ES	39,5±0,01 ^a	40,7±0,01 ^a	40,5±0,009 ^a

*valores con superíndice de letras diferentes en una fila equivalen a diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$). Si la letra del superíndice igual equivale a diferencias no significativas ($P > 0,05$)

Las variables composicionales se observan en la tabla 2. La humedad fue significativamente mayor en los quesos adicionados con MWP debido a la alta capacidad de retención de agua que tienen las proteínas de lactosuero. Ismail *et al.*, (2011) incluyó proteínas de lactosuero en la elaboración de queso mozzarella y obtuvo resultados similares porque al incluirlas aumentó la humedad del queso, y, en consecuencia, aumentó el rendimiento quesero. La materia grasa en base seca presentó diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el queso control y los quesos adicionados con MWP. La adición de proteínas con tamaños de partícula entre 1 μm y 10 μm permiten que sean atrapadas por los poros de la red de para-caseinato formado durante la coagulación de la

leche, (Kelly, 2019), basado en el mismo sistema de retención de los glóbulos de grasa, que se basa en su atrapamiento en los espacios que quedan entre las caseínas coaguladas (Sturaro *et al.*, 2015), por lo tanto, al retener la proteína en estos poros o también la generación de poros más grandes, lleva a una competencia entre la grasa y el MWP por ocupar dichos espacios, llevando la reducción de la retención de los glóbulos de grasa de los quesos adicionados con 3 y 5% de MWP con respecto al queso control que no fue adicionado con el microparticulado. Este fenómeno fue reportado por Stankey *et al.*, (2017) que adicionó MWP en la elaboración de queso cheddar y por Johnson *et al.*, (2001) en queso cheddar reducido en grasa. Situación contraria se presentó con respecto al contenido de proteína en base seca, donde no hubo diferencias significativas ($P>0,05$) entre el queso control y los tratamientos (3% y 5%); a pesar de que los quesos adicionados con MWP tuvieron mayor contenido de humedad presentando 40,7% y 40,5% de proteína en base seca con respecto al 39,5% en el queso control. Esto indica que hubo una efectiva retención de las proteínas séricas, siendo corroborado por los datos de retención de la proteína adicionada (tabla 1) que fueron de 58,95% y 49,21% para los tratamientos 3% y 5% respectivamente.

CONCLUSIONES

Las condiciones óptimas de obtención del microparticulado fueron a una temperatura de 93°C con una retención de 17 min, buscando generar una alta desnaturalización de las proteínas y una agregación para que luego con el tratamiento mecánico de homogeneización se lograran los tamaños de partícula deseados (1µm – 10 µm). La adición de MWP a la leche destinada a la elaboración de queso blanco tuvo efectos interesantes en variables como el rendimiento quesero, al aumentarlo hasta un 2,7% más con respecto a un queso control. Sin embargo, al evaluar las características de textura, estas presentaron diferencias con respecto al queso control, siendo mucho más alejado el queso con 5% de MWP. Con respecto a la recuperación de la proteína fue más eficiente en los quesos con 3% de MWP. Con base en los resultados se puede sugerir que adicionar 3% de este MWP a la leche destinada a la elaboración de queso blanco puede generar mejoras importantes en el rendimiento quesero, retención de proteínas de lactosuero y por lo tanto de calidad nutricional del mismo. El desarrollo de MWP permite realizar una adecuada valorización de los ingredientes presentes en el lactosuero, porque los microparticulados vienen ganando terreno en el desarrollo de alimentos bajos en grasa por

su aplicación como sustituto y también, como alternativa de recuperación de sólidos del lactosuero y mitigación de su impacto ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

Adjonu, R., Doran, G., Torley, P., Samson, A. 2014. Whey protein peptides as components of nanoemulsions: A review of emulsifying and biological functionalities. *Journal of Food Engineering*. 122, p 15-27. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.08.034>

Cartes, B., Cheng, N., Kapoor, R., Meletharayil, Drake, M. 2021. Invited review: Microfiltration-derived casein and whey proteins from milk. *Journal of Dairy Science* 104, p 2465 – 2479. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18811>

Celigueta, I., Janhøj, T., Mikkelsen, B., Ipsen, R. 2011. Effect of microparticulated whey protein with varying content of denatured protein on the rheological and sensory characteristics of low-fat yoghurt. *International Dairy Journal*. 21, p 645 – 655. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.12.013>

Celigueta, I., Amigo, J., Ipsen, R. 2012. Using fractal image analysis to characterize microstructure of low-fat stirred yoghurt manufactured with microparticulated whey protein. *Journal of Food Engineering*. 109, p 721 – 729. DOI: [10.1016/j.jfoodeng.2011.11.016](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.11.016)

Coto, A. 2014. Microparticulación de proteínas a partir de concentrados proteicos: WPC60. Tesis de maestría. Universidad de Oviedo.

Chung, C., Degner, B., McClements, D. 2014. Development of Reduced-calorie foods: Microparticulated whey proteins as fat mimetics in semi-solid food emulsions. *Food Research International*. 56: 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.034>

Croissant, A., Kang, E., Campbell, R., Bastian, E., and Drake, M. 2009. The effect of bleaching agent on the flavor of liquid whey and whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science*. 92: 5917-5927. DOI: [10.3168/jds.2009-2535](https://doi.org/10.3168/jds.2009-2535)

Desai, N., Nolting, J. 1995. Microstructure studies of reduced-fat cheese containing ft substitute. Book chapter: Chemistry of structure – function relationships in cheese. 1st edition, p, 295 – 302. DOI: [10.3989/gya.106611](https://doi.org/10.3989/gya.106611)

Di Cagno, R., De Pascuale, I., De Angelis, M., Buchin, M., Rizzello, C., Gobbetti, M. 2014. use of microparticulated whey protein concentrate, exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus*, and adjunct cultures for making low-fat Italian Caciotta-type cheese. *Journal of Dairy Science*. 97, p 72-84. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7078>

- Giroux, H., Veillete, N., Britten, M. 2018. Use of denatured whey protein in the production of artisanal cheeses from cow, goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 161, p 32-42. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7078>
- Guerrero, C., Salas, W., Baldeón, E. 2015. Evaluación instrumental de la textura del queso elaborado con suero concentrado por ultrafiltración. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 81 (3), p, 273 – 282.
- Guyomarc'h, F. 2006. Formation of heat-induced protein aggregates in milk as a means to recover the whey protein fraction in cheese manufacture, and potential of heat-treating milk at alkaline pH values in order to keep its rennet coagulation properties. A review. *Lait*. 86, p 1-20. DOI: 10.1051/lait:2005046
- Guzman, L., Tejada, C., De la Ossa, Y., Rivera, C. 2015. Análisis comparativo de perfiles de textura de quesos frescos de leche de cabra y vaca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 13 (1), p 139 – 147.
- Hinrichs, J. 2001. Incorporation of whey proteins in cheese. *International Dairy Journal*. 4-7 (11), p 495 – 503. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00071-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00071-1)
- Hossain, M., Keidel, J., Hensel, O., Diakité, M. 2020. The impact of extruded microparticulated whey proteins in reduced-fat, plain-type stirred yogurt: Characterization of physicochemical and sensory properties. *LWT – Food Science and Technology*. 134, p 1 – 8. □ DOI:[10.1016/j.lwt.2020.109976](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109976)
- Hossain, M., Petrov, M., Hensel, O., Diakité, M. 2021. Microstructure and Physicochemical Properties of Light Ice Cream: Effects of Extruded Microparticulated Whey Proteins and Process Design. *Foods*. 10, p 1 – 14. DOI: [10.3390/foods10061433](https://doi.org/10.3390/foods10061433)
- Ipsen, R., 2017. Microparticulated whey proteins for improving dairy product texture. *International Dairy Journal*. 67, p 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.08.009>
- Ismail M., Ammar, E., El-Metwally. 2011. Improvement of low fat mozzarella cheese properties using denatured whey protein. *International Journal of Dairy Technology*. 64 (2), p 207-217. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00654.x>
- Johnson, M., Chen, C., Jaeggi, J. 2001. Effect of Rennet Coagulation Time on Composition, Yield, and Quality of Reduced-Fat Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*. 84, p 1027 – 1033. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74562-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74562-6)
- Kaewkannetra, P., Garcia, F., James, A., Chiu, T. (2009). Influence of pH and Al₂(SO₄)₃ on the stability of whey suspensions. *Separation and Purification Technology*. 67, p 364-368. □ DOI:[10.1016/J.SEPPUR.2009.04.013](https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2009.04.013)

- Kelly, P. 2019. Manufacture of whey protein products: concentrates, isolate, whey protein fractions and microparticulated. Book chapter: whey proteins from milk to medicine, first edition. Editors: Deeth, H., Bansal, N. Elsevier all rights reserved. p, 97 – 119
- Kilara, A., Vaghela, M. 2004. Whey Proteins. Capitulo de libro. Proteins in Food Processing. p 93-126.
- Kilara, A. 2008. Whey and Whey Proteins. Capitulo de libro. Dairy Processing and Quality Assurance. p 337-356.
- Kethireddipalli, P., Hill, A. (2015). Rennet Coagulation and Cheesemaking Properties of Thermally Processed Milk: Overview and Recent Developments. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 63, p 9389-9403. <https://doi.org/10.1021/jf504167v>
- Kulmyrzarev, A., Schubert, H. (2004). Influence of KCl on the physicochemical properties of whey protein stabilized emulsions. Food Hydrocolloids. 18, p 13-19. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(03\)00037-7](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00037-7)
- Li, H., Liu, T., Zou, X., Yang, C., Li, H., Cui, W. 2021. Utilization of thermal-denatured whey protein isolate-milk fat emulsion gel microparticles as stabilizers and fat replacers in low-fat yogurt. LWT – Food Science and Technology. 150, p 1 – 7. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112045>
- Lopez, N., Novoa, C. 2009. Efecto de dos niveles grasa sobre la vida útil sensorial del queso Campesino. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 56, p 32 – 40.
- Masotti, F., Cattaneo, Stuknyté, De Noni, I. 2017. Technological tools to include whey proteins in cheese: Current status and perspectives. Trends in Food Science & Technology. 64, p 102 – 114. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.007>
- Mayta, J., Trujillo, A., Juan, B. 2019. Tecnología de los quesos bajos en grasa. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 30 (4), p 1382-1394. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i4.17357>
- Ministerio de Salud y Protección Social. 1986. Resolución 2310.
- Narog, P., James, A. (2008). Efficiency of ultrafiltration in the separation of whey suspensions using a tubular zirconia membrane. Desalination. 219, p 348-357. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.04.057>
- Ohmes, R., Marshall, R., Heymann, H. 1998. Sensory and Physical Properties of Ice Creams Containing Milk Fat or Fat Replacers. Journal of Dairy Science. 81, p 1222 – 1228.
- DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75682-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75682-6)

- Pazeres, A., Carvalho, F., Rivas, J. 2012. Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental management*. 110, p 48-68. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.018>
- Perreault, V., Turcotte, O., Morin, P., Pouliot, Y., Britten, M. 2016. Combined effect of denatured whey protein concentrate level and fat level in milk on rennet gel properties. *International Dairy Journal*. 55, p 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.11.008>
- Prindiville, E., Marshall, R., Heymann., H. 2000. Effect of Milk Fat, Cocoa Butter, and Whey Protein Fat Replacers on the Sensory Properties of Lowfat and Nonfat Chocolate Ice Cream. *Journal of Dairy Science*. 83, p 2216 – 2223. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75105-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75105-8)
- Schenkel, P., Samudrala, R., Hinrichs, J. 2013. The effect of adding whey protein particles as inert filler on thermophysical properties of fat-reduced semihard cheese type Gouda. *International Journal of Dairy Technology*. 66 (2), p 220 – 230. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12036>
- Sepúlveda J., Jaramillo, M., Mejía, L. 1999. *Quesos Frescos y de Pasta Hilada*. Primera edición, p 254-260.
- Singer, N., Yamamoto, S., Latella, J. 1988. Protein product base. United States Patent. Patent number: 4,734,287.
- Spiegel, T., and Huss, M. 2002. Whey protein aggregation under shear conditions – effects of pH-value and removal of calcium. *International Journal of Food Science and Technology*. 37, p 559-568. DOI:[10.1046/j.1365-2621.2002.00612.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00612.x)
- Stankey, J., Lu, Y., Abdalla, A., Govindasamy, S., Jaeggi, J., Mikkelsen, B., Pedersen, K., Andersen, C. 2017. Low-fat Cheddar cheese made using microparticulated whey proteins: Effect on yield and cheese quality. *International Journal of Dairy Technology*. 70, p 1-11. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12413>
- Sturaro, A., De Marchi, M., Zorzi, E., Cassandro, M. (2015). Effect of microparticulated whey protein concentration and proteinto- fat ratio on Caciotta cheese yield and composition. *International Dairy Journal*. 48, p 46-52. DOI:[10.1016/j.idairyj.2015.02.003](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.02.003)
- Tarrega, A., Costell, E. (2007). Colour and consistency of semi-solid dairy desserts: Instrumental and sensory measurements. *Journal of Food Engineering*. 78, p 655-661. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.003>
- Yadav, J., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R., Surampalli, R. 2015. Cheese whey: a potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology Advances*. 33 (6), p 756 – 774. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.002>

Yasmin, A., Butt, M., Sameen, A., Shahid, M. 2013. Physicochemical and Amino Acid Profiling of Cheese Whey. *Pakistan Journal of Nutrition*. 12 (5): p 455-459. DOI:[10.3923/pjn.2013.455.459](https://doi.org/10.3923/pjn.2013.455.459)

Yilsay, T., Yilmaz, L., Bayizit, A. 2006. The effect of using a whey protein fat replacer on textural and sensory characteristics of low-fat vanilla ice cream. *European Food Research and Technology*. 222, p 171 – 175.

Universidad de Santiago de Compostela. (2015) Efficiency increase of wastewater treatment. *Aula de Productos Lácteos y Tecnologías Alimentarias*. p 40-44.

Vasquez, J., Novoa, D., Carulla, J. 2014. Efecto del recuento de células somáticas sobre la aptitud quesera de la leche y la calidad fisicoquímica y sensorial del queso campesino. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 61 (2), p 171 – 185.

Vigidal, M., Minim, V., Ramos, A., Ceresino, E., Diniz, M., Camilloto, G., Minim, L. 2012. Effect of whey protein concentrate on texture of fat-free desserts: sensory and instrumental measurements. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*. 32 (2), p 412 – 418. DOI:[10.1590/S0101-20612012005000047](https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000047)

Wolz, M., Mersch, E., Kulozik, U. 2016. Thermal aggregation of whey proteins under shear stress. *Food Hydrocolloids*. 56, p 396 – 404. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.036>

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

- En Colombia se produce un volumen importante de lactosuero dulce que actualmente no se está valorizando de forma integral. Por este motivo los procesos de concentración selectiva (filtración por membranas) de componentes para el desarrollo de ingredientes útiles para la industria alimentaria y no alimentaria son altamente relevantes como se demostró en esta investigación.
- La tecnología de filtración tangencial permite realizar modificaciones de composición original de la leche y el lactosuero, permitiendo la producción de concentrados de proteína de leche con diferentes niveles de contenido de lactosa, minerales, grasa, proteína, según las necesidades de textura y funcionalidad del alimento.
- El lactosuero dulce obtenido de la elaboración de quesos frescos tipo cuajada, queso blanco o quesito antioqueño, es adecuado, según los resultados obtenidos, para ser concentrado por tecnologías de filtración tangencial (ultrafiltración). La filtración tangencial es una tecnología que permite procesos de concentración de las fracciones de proteína, grasa, lactosa e incluso minerales. En esta investigación se logró desarrollar un WPC45 que es un ingrediente con amplia aplicación en la industria alimentaria y no alimentaria.
- A partir de los concentrados de proteínas de lactosuero obtenidos, es viable el desarrollo de un microparticulado con tamaño de partícula ideal (1 – 10 μm) para ser adicionados a la leche que se destina a la elaboración de queso blanco. La adición de microparticulados se asocia con el aumento de rendimiento quesero, como se observó en esta investigación. Sin embargo, también impacta la calidad sensorial del producto por el aumento en la retención de humedad debido a las proteínas de lactosuero adicionadas. El microparticulado es un ingrediente que permite aumentar el rendimiento del queso blanco, sin impactar de forma negativa los parámetros evaluados. Por todo lo anterior, la fabricación de este tipo de ingredientes es una metodología efectiva para la valorización del lactosuero, específicamente su fracción proteica. Este proceso permite valorizar de una forma efectiva los componentes del lactosuero, específicamente la proteína.

5.2. Recomendaciones

- El microparticulado es usado comúnmente para mejorar la calidad sensorial de productos lácteos bajos en grasa. Por lo tanto, es importante realizar investigaciones enfocados a su aplicación en productos de este tipo.
- A pesar de que se evaluó el efecto de la inclusión de MWP sobre las características de rendimiento y textura, se deben validar características sensoriales debido al posible efecto e impacto de su aplicación.
- Este microparticulado se desarrolló a partir de lactosuero dulce. Sin embargo, este tipo de lactosuero solo representa una parte de los vertimientos de la industria láctea, por lo tanto, sería importante explorar las posibilidades de obtener este tipo de ingredientes a partir de lactosuero ácido.
- Es importante evaluar la inclusión del microparticulado en la elaboración de otros quesos frescos colombianos.
- Los concentrados de proteínas de lactosuero son ingredientes con valor agregado que son útiles en la industria láctea u otras industrias alimentarias. La concentración selectiva de las proteínas de lactosuero de forma individual podría permitir el desarrollo de ingredientes funcionales que tienen mayor valor en el mercado.
- Este microparticulado tiene gran potencial para el desarrollo de productos alimenticios reducidos en grasa, por lo tanto, el mercado colombiano tiene aún una oportunidad importante para ocupar este mercado que aún no está ampliamente explorado por la industria láctea.
- Se deben explorar alianzas para realizar el desarrollo de este tipo de tecnología acá en el país para hacerla más accesible para la industria láctea.

Bibliografía

- Alkhatim, H., Alcaina, M., Soriano, E., Iborra, M., Lora, J., & Arnal, J. 1998. Treatment of whey effluents from dairy industries by nanofiltration membranes. *Desalination*. 119, p 177-184. [https://doi.org/10.1016/S0011-9164\(98\)00142-8](https://doi.org/10.1016/S0011-9164(98)00142-8)
- Al-Nabulsi, A., & Holley, R. 2005. Effect of bovine lactoferrin against *Carnobacterium viridans*. *Food Microbiology*. 22, p 179-187. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.06.001>
- Arnold, D., Di Biase, A. M., Marchetti, M., Pietrantoni, A., Valenti, P., Seganti, L., et al. 2002. Antiadenovirus activity of milk proteins: lactoferrin prevents viral infection. *Antiviral Research*. 53 (2), p 153-158. [10.1016/S0166-3542\(01\)00197-8](https://doi.org/10.1016/S0166-3542(01)00197-8)
- Atra, R., Vatai, G., Bekassy-Molnar, E., & Balint, A. 2005. Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *Journal of Food Engineering*. 67, p 325-332. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.04.035>
- Baldasso, C., Barros, T., & Tessaro, I. 2011. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*. 278, p 381-386. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.05.055>
- Bayford C. Whey Protein: A Functional Food. *The Nutrition Practitioner*, 1-10
- Beulens, J., Bindels, J., de Graaf, C., Alles, M., & Wouters-Wesseling, W. 2004. Alpha-lactalbumin combined with a regular diet increases plasma Trp–LNAA ratio. *Physiology & Behavior*. 81 (4), p 585-593. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.027>
- Brans, G. 2006. Design of membrane systems for fractionation of particle suspensions. Wageningen Universiteit.
- Butylina, S., Luque, S. & Nystrom, M. 2006. Fractionation of whey-derived peptides using a combination of ultrafiltration and nanofiltration. *Journal of Membrane Science*. 280 (1-2), p 418–426. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.01.046>
- Campbell, R., Kang, E., Bastian, E., & Drake, M. 2012. the use of lactoperoxidase for the bleaching of fluid whey. *Journal Of Dairy Science*. 95 (6), p 2882-2890. [10.3168/jds.2011-5166](https://doi.org/10.3168/jds.2011-5166)

- Carvalho, F., Prazeres, A., & Rivas, J. 2013. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. *Science of the Total Environment*. 445-446, p 385-396. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.038>
- Cheryan, M., & Alvarez, J. 1995. Food and beverage industry. In R. Noble, & S. Stern, *Membrane Separations Technology. Principles and Applications*. p 415-465. Elsevier.
- Cheryan, M. 1998. *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*. Segunda edición. CRC Press. p 185-193.
- Codex Standard 283-1978. 2013. NORMA GENERAL DEL CODEX PARA EL QUESO. *Codex Alimentarius*, 1-3
- Cowan, S. & Ritchie, S. 2007. Modified Polyethersulfone (PES) Ultrafiltration Membranes for Enhanced Filtration of Whey Proteins. *Separation Science and Technology*. 42 (11), p 2405–2418. <https://doi.org/10.1080/01496390701477212>
- Cuartas-Uribe, B., Alcaina-Miranda, M., Soriano-Costa, E., & Bes-Piá, A. 2006. Comparison of two nanofiltration membranes NF200 and Ds-5 DL to demineralize whey. *Desalination*. 199 (1-3), p 43-45. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.03.016>
- Curtis, P., Bastian, E., Farkas, B., Drake, M. 2014. The effect of acidification of liquid whey protein concentrate on the flavor of spray-dried powder. *American Dairy Science Association*. 97 (7), p 4043-4051. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7877>
- Custódio, M. F., Goulart, A. J., Marques, D. P., Giordano, R., Giordano, R. C., & Monti, R. 2005. Hydrolysis Of Cheesewhey Proteinswith Trypsin, Chymotrypsinand Carboxypeptidasea. *Alimentación Y Nutrición*. 16 (2), p 105-109.
- Del Re, G., Di Giacomo, G., Aloisio, L., & Terreri, M. 1998. RO treatment of waste waters from dairy industry. *Desalination*. 119 (1-3), p 205-206. [https://doi.org/10.1016/S0011-9164\(98\)00154-4](https://doi.org/10.1016/S0011-9164(98)00154-4)
- Chavan R.S., Khedkar C.D. and Bhatt S. 2016. Fat Replacer. In: Caballero, B., Finglas, P., and Toldrá, F. (eds.) *The Encyclopedia of Food and Health* vol. 2, pp. 589-595. Oxford: Academic Press.
- De Souza, R. R., Bergamasco, R., da Costa, S. C., Feng, X., Bernardo, S. H., & Gimenes, M. L. 2010. Recovery and purification of lactose from whey. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 49 (11), p 1137-1143. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2010.08.015>
- De Wit, J. (2001). *lecture's Handbook On Whey and Whey Products*. Eindhoven: European Whey Products Association.

- Diarra, M., Petitclerc, D., Deschenes, E., Lessard, N., Grondin, G., Talbot, B., et al. 2003. Lactoferrin against *Staphylococcus aureus* Mastitis Lactoferrin alone or in combination with penicillin G on bovine polymorphonuclear function and mammary epithelial cells colonisation by *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 95 (1-2), p 33-42. [10.1016/s0165-2427\(03\)00098-9](https://doi.org/10.1016/s0165-2427(03)00098-9)
- Di Cagno, R., Pasquale, I., Angelis M., Buchin, S., Rizzello, C. y Gobbetti, M. 2014. Use of microparticulated whey protein concentrate, exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus*, and adjunct cultures for making low-fat Italian Caciotta-type cheese. *Journal of Dairy Science*. 97 (1), 72-84. [http://dx.doi.org/ 10.3168/jds.2013-7078](http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7078).
- Di Giacomo, G., Del Re, G., & Spera, D. 1996. Milk whey treatment with recovery of valuable products. *Desalination*. 108 (1), p 273-276. [10.1016/S0011-9164\(97\)00035-0](https://doi.org/10.1016/S0011-9164(97)00035-0)
- Di Mario, F., Aragona, G., Dal Bo, N., Cavestro, G., Cavallaro, L., Iori, V., et al. 2003. Use of bovine lactoferrin for *Helicobacter pylori* eradication. *Digestive and Liver Disease*. 35 (10), p 706-710. [10.1016/s1590-8658\(03\)00409-2](https://doi.org/10.1016/s1590-8658(03)00409-2)
- Domingues, L., Lima, N., & Teixeira, J. 1999. *Novas Metodologias Para A Fermentação Alcoólica Do Soro De Queijo*. Braga.
- Dunlap, C., & Cote, G. 2005. b-Lactoglobulin-Dextran Conjugates: Effect of Polysaccharide Size on Emulsion Stability. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (2), p 419-426. <https://doi.org/10.1021/jf049180c>
- Ebersold, M. F., & Zydney, A. (2004). The effect of membrane properties on the separation of protein charge variants using ultrafiltration. *Journal of Membrane Science*. 243 (1-2), p 379-388. [10.1016/j.memsci.2004.06.043](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.06.043)
- Ergüder, T., Tezel, U., Güven, E., & Demirer, G. (2001). Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. *Waste Manage*. 21 (7), p 643-650. [https://doi.org/10.1016/S0956-053X\(00\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0956-053X(00)00114-8)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2015). *Food Outlook: Biannual Report on Global Food Markets*. 87-89.
- Farnaud, S., & Evans, R. (2003). Lactoferrin—a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Molecular Immunology*. 40 (7), p 395-405. [10.1016/s0161-5890\(03\)00152-4](https://doi.org/10.1016/s0161-5890(03)00152-4)
- FEDEGAN (2022). *Cifras del sector*. <https://www.fedegan.org.co/estadisticas/general>.
- Fox, P. & McSweeney. (1992). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. University College Cork, Irlanda. Blackie Academic & Professional. p 267-270

- Fuquay. (2011). Encyclopedia of Dairy Science. Mississippi: ELSERVIER.
- Galaris, D., Skiada, V., & Barbouti, A. (2008). Redox signaling and cancer: The role of “labile” iron. *Cancer Letters*. 266 (1), p 21-29. [10.1016/j.canlet.2008.02.038](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.02.038)
- Galanakis, C., Chasiotis, S., Botsaris, G. & Gekas, V. (2014) Separation and recovery of proteins and sugars from Halloumi cheese whey. *Food Research International*. 65, p 477–483. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.060>
- García-Montoya, I. A., Cendón, T. S., Arévalo-Gallegos, S., & Rascón-Cruz, Q. (2012). Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1820 (3), p 226-236. [10.1016/j.bbagen.2011.06.018](https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.06.018)
- Gautam, A., Menkhaus, T.J. 2014. Performance evaluation and fouling analysis for reverse osmosis and nanofiltration membranes during processing of lignocellulosic biomass hydrolysate. *Journal of Membrane Science*. 451, p 252–265. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2013.09.042>
- GEA Process Engineering. 2012. Membrane Filtration in the Dairy Industry. *GEA Filtration*, 6-14.
- González, M. 1996. The Biotechnological Utilization Of Cheese Whey: A Riview. *Bioresource Technology*. 57, p 1-11. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00036-3](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00036-3)
- Hinrichs, J. 2001. Incorporation of whey proteins in cheese. *International Dairy Journal*. 11 (4-7), p 495-503. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00071-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00071-1)
- Hossain, M., Keidel, J., Hensel, O., Diakité, M. 2020. The impact of extruded microparticulated whey proteins in reduced-fat, plain-type stirred yogurt: Characterization of physicochemical and sensory properties. *LWT-Food Science and Technology*. 134, 109976. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109976>.
- Hossain, M., Petrov, M., Hensel, O., Diakité, M. 2021. Microstructure and Physicochemical Properties of Light Ice Cream: Effects of Extruded Microparticulated Whey Proteins and Process Design. *Foods*. 10, 1-14. <https://doi.org/10.3390/foods10061433>.
- Ipsen, R. (2017). Microparticulated whey proteins for improving dairy product texture. *International Dairy Journal*. 67, 73 – 79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.08.009>
- Jervis, S., Campbell, Wojciechowsk, K., Foedefing, E., Drake, M., Barbano, D. 2012. effect of bleaching whey on sensory and functional properties of 80% whey protein concéntrate. *American Dairy Science Association*. 95 (6), p 2848-2862. [10.3168/jds.2011-4967](https://doi.org/10.3168/jds.2011-4967)

- Kaeriyama, E., Imai, S., Usui, Y., Hanada, N., & Takagi, Y. 2007. Effect of bovine lactoferrin on enamel demineralization and acid fermentation by *Streptococcus mutans*. *Pediatric Dental Journal*. 17(2), p 118-126. <https://doi.org/10.11411/pdj.17.118>
- Kosikowski, F. (1982). *Cheese And Fermented Milk Food*. Nebraska.
- Kushwaha, J. P., Srivastava, V. C., & Mall, I. D. 2010. Organics removal from dairy wastewater by electrochemical treatment and residue disposal. *Separation and Purification Technology*. 76 (2), p 198-205. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.10.008>
- Law, B., & Tamime, A. 2010. *Technology of Cheesemaking*. Chichester: Blackwell Publishing Ltd.
- Lee, S., Buwalda, R., Euston, S., Foegeding, E., & McKenna, A. 2003. Changes in the rheology and microstructure of processed cheese during cooking. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*. 36 (3), p 339-345. [10.1016/S0023-6438\(03\)00012-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00012-4)
- Lonnerdal, B., & Iyer, S. (1995). Lactoferrin: Molecular Structure And Biological Function. *Annual Reviews of Nutrition*. 15, 93-110. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.15.070195.000521>
- Li, H., Liu, T., Zou, X., Yang, C., Li, H., Cui, W., Yu, J. 2021. Utilization of thermal-denatured whey protein isolate-milk fat emulsion gel microparticles as stabilizers and fat replacers in low-fat yogurt. *LWT-Food Science and Technology*. 150, 112045. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112045>.
- Ma, J., Guan, R., Shen, H., Lu, F., Xiao, C., Liu, M., et al. 2013. Comparison of anticancer activity between lactoferrin nanoliposome and lactoferrin in Caco-2 cells in vitro. *Food and Chemical Toxicology*. 59, p 72-77. DOI: 10.1016/j.fct.2013.05.038
- Madureira, A., Pereira, C., Gomes, A., Pintado, M., & Malcata, X. 2007. Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. *Food Research International*. 40 (10), p 1197-1211. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.005>
- Madureira, A., Tavares, T., Gomes, A., Pintado, M., & Malcata, F. 2010. Invited review: physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. *Journal Of Dairy Science*. 93 (2), p 437-455. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2566>
- Marshall, K. 2004. Therapeutic Applications of Whey Protein. *Alternative Medicine Review*. 9 (7), p 136-156. [10.20546/ijcmas.2020.907.036](https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.907.036)
- Marcelo, P. & Rizvi, S. 2008. Physicochemical properties of liquid virgin whey protein isolate. *International Dairy Journal*. 18(3), p 236-246. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.08.011>

McIntosh, G., Royle, P., Le Leu, R., Regester, G., Johnson, M., Grinsted, R., et al. 1998. Whey Proteins as Functional Food Ingredients? *International Dairy Journal*. 8 (5-6), p 425-434. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00065-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00065-X)

Ministerio de Salud y Protección Social. 1986. Resolución 2310 de 1986: Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979, en lo referente a procesamiento, composición, requisitos, transporte y comercialización de los Derivados Lácteos.

Morr, C. V., German, B., Kinsella, J. E., Regenstien, J. M., Van Buren, J. P., Kilara, A., Lewis, B. A., & Mangino, M. E. 1985. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *Journal of Food Science*. 50 (6), p 1715–1718. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb10572.x>

Mistry, V., & Maubois, J. 2004. Application of Membrane Separation Technology to Cheese Production. In P. Fox, P. McSweeney, T. Cogan, & T. Guinee, *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (pp. 261-285). BROOKINGS : ELSERVIER.

Nicolai, T., Durand, D. 2013. Controlled food protein aggregation for new functionality. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 18(4), 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2013.03.001>

O'Regan, J., & Mulvihill, D. 2010. Sodium caseinate–maltodextrin conjugate hydrolysates: Preparation, characterisation and some functional properties. *Food Chemistry*, 21-31. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.115>

Orosco, M., Rouch, C., Beslot, F., Feurte, S., Regnault, A., & Dauge, V. 2004. Alpha-lactalbumin-enriched diets enhance serotonin release and induce anxiolytic and rewarding effects in the rat. *Behavioural Brain Research*. 148(1-2): 1-10. DOI: [10.1016/s0166-4328\(03\)00153-0](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(03)00153-0)

Patel, M. T., & Kilara, A. 1990. Studies on whey protein concentrates. 2. Foaming and emulsifying properties and their relationships with physicochemical properties. *Journal of Dairy Science*. 73(10), p 2731–2740. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78958-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78958-8)

Pattnaik, R., Yost, R., Porter, G., Masunaga, T., & Attanandana, T. 2007. Improving multi-soil-layer (MSL) system remediation of dairy effluent. *Ecological Engineering*. 32(1), p 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2007.08.006>

Pereira, C., Diaz, O., & Cobos, A. 2002. Valorization of by-products from ovine cheese manufacture: clarification by thermocalcic precipitation/microfiltration before ultrafiltration. *International Dairy Journal*. 12(9), p 773-783. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00070-](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00070-5)

- Prazeres, A., Carvalho, F., & Rivas, J. 2012. Cheese Whey Management: A Review. *Journal Of Environmental Management*. 110, p 10. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.018>
- Rektor, A., & Vatai, G. 2004. Membrane filtration of Mozzarella whey. *Desalination*. 162, p 279-286. [https://doi.org/10.1016/S0011-9164\(04\)00052-9](https://doi.org/10.1016/S0011-9164(04)00052-9)
- Renhe, I. & Corredig, M. 2018. Effect of partial whey protein depletion during membrane filtration on thermal stability of milk concentrates. *Journal of Dairy Science*. 101 (10), 8757-8766. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14407>
- Rivas, J., Prazeres, A., & Carvalho, F. 2011. Aerobic Biodegradation of Precoagulated Cheese Whey Wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59 (6), p 2511-2517. <https://doi.org/10.1021/jf104252w>
- Rosenberg, M. 1995. Current and future applications for membrane processes in the dairy industry. *Trends in Food Science & Technology*. 6 (1), p 12-19. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)88912-8](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)88912-8)
- Ryhanen, E.-L., Pihlanto-Leppala, A., & Pahkala, E. 2001. A new type of ripened, low-fat cheese with bioactive properties. *International Dairy Journal*. 11 (4-7), p 441-447. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00079-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00079-6)
- Sánchez, G. L., Gil, M. J., Gil, M. A., Giraldo, F. J., Millán, L., & Villada, M. E. 2009. Aprovechamiento del suero Lácteo de una empresa del norte antioqueño mediante microorganismos eficientes. *La Sallista*. P 66-74. <http://hdl.handle.net/10567/551>
- Sepúlveda, J., 2007. Desarrollo de quesos frescos con adición del cultivo probiótico: *Lactobacillus casei*.
- Sanchez-Obando, J., Cabrera-Trujillo, M., Olivares-Tenorio, M., Klotz, B. 2020. Use of optimized microparticulated whey protein in the process of reduced-fat spread and petit-suisse cheeses. *LWT-Food Science and Technology*. 120, 108933. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108933>.
- Sgarbieri, C. V. 2006. Physiological-functional properties of milk whey proteins. Campinas: Universidade Estadual de Campinas.
- Sturaro, A., De Marchi, M., Zorzi, E., Cassandro M. 2015. Effect of microparticulated whey protein concentration and protein to-fat ratio on Caciotta cheese yield and composition. *International Dairy Journal*. 48, p 46-52. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.02.003>

- Suárez, E., Lobo, A., Álvarez, S., Riera, F., & Álvarez, R. 2006. Partial demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate by nanofiltration at pilot-plant scale. *Desalination*. 198(1-3), p 274-281. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.12.028>
- Tarapata, J., Dybowska, B., Zulewska, J. 2022. Evaluation of fouling during ultrafiltration process of acid and sweet whey. *Journal of Food Engineering*. 328, 111059. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111059>
- Wang, Q., CHen, G. & Kentish, S. 2020. Isolation of lactoferrin and immunoglobulins from dairy whey by an electrodialysis with filtration membrane process. *Separation and Purification Technology*. 233, p 115987. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.115987>
- Vourch, M., Balannec, B., Chaufer, B., & Dorange, G. 2005. Nanofiltration and reverse osmosis of model process waters from the dairy industry to produce water for reuse. *Desalination*. 172(3), p 245-256. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2004.07.038>
- Yu-tang , t., Hsiao-Ling , C., Chih-Ching , Y., po-Ying , L., Hsin-Chung , t., ming-Fong , L., et al. 2013. Bovine lactoferrin inhibits lung cancer growth through suppression of both inflammation and expression of vascular endothelial growth factor. *Journal of Dairy Science*. 96(4), p 2095-2106. DOI: [10.3168/jds.2012-6153](https://doi.org/10.3168/jds.2012-6153)
- Zydney, A. (1998). Protein Separations Using Membrane Filtration: New Opportunities for Whey Fractionation. *International Dairy Journal*. 8(3), p 243-250. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00045-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00045-4)