

TOMOGRAFÍA COMPUTADA DE RAYOS X PARA LA EVALUACIÓN DE ABERTURAS Y DE OJOS EN QUESOS



RESUMEN

La formación de aberturas y ojos en ciertas variedades de quesos, tales como los suizos, es un factor clave para su calidad, pero una vez que la cuajada se moldea es imposible examinar directamente lo que sucede dentro de la horma. El control del proceso de formación de ojos se realiza tradicionalmente escuchando el sonido que se produce al golpear suavemente la superficie del queso con un martillo especial, o inspeccionando visualmente la masa luego del corte o muestreo de la horma, lo que implica la interrupción de la maduración. Estas metodologías son imprecisas, subjetivas y no cuantitativas. En los últimos años se han propuesto como alternativa metodologías no destructivas, tales como la tomografía computada de rayos X (TC). La TC permite distinguir zonas de diferente densidad dentro del espécimen. Durante el escaneo de una muestra se obtiene una serie de imágenes bidimensionales que se procesan para obtener un modelo tridimensional, en el que es posible visualizar la distribución de ojos/aberturas. Además, se puede realizar un análisis cuantitativo (número, tamaño y volumen de ojos) cuya exactitud dependerá de un correcto procesamiento de las imágenes.

El objetivo de este trabajo fue implementar la TC de rayos X en quesos para evaluar formación de ojos. Se realizó la validación de la cuantificación del volumen de ojos por TC a través de la evaluación de quesos modelo (diámetro: 13cm - alto: 8cm) con la incorporación de esferas de vidrio ($\varnothing=16\text{mm}$) para simular la presencia de ojos aportando un volumen conocido. La metodología fue posteriormente utilizada para evaluar la evolución de la formación de ojos duran-

Giménez P.^{1*}; Perotti M.C.^{1,2}; Leturia M.P.³; George G.¹; Peralta G.H.¹; Hynes E.R.^{1,2}; Bergamini C.V.^{1,2}

¹Instituto de Lactología Industrial - UNL/CONICET. Santa Fe, Argentina.

²Facultad de Ingeniería Química -

Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina

³Diagnóstico por Imágenes Junín. Santa Fe, Argentina

*paula.gimenez92@gmail.com

te la maduración en quesos tipo suizo elaborados en la planta piloto del INLAIN. Los quesos fueron tomografiados (Toshiba Activion 16) usando los siguientes parámetros de escaneo: 120kV, 70mA y 0,5mm de espesor de corte. Las imágenes obtenidas se procesaron mediante el software 3D Slicer 4.8.1 y se cuantificó el volumen total de ojos. Se obtuvo una buena correlación entre el volumen calculado para los ojos artificiales y el volumen estimado de las esferas en los quesos de validación, indicando la buena performance del procesamiento de imágenes aplicado.

En las imágenes de TC obtenidas de los quesos suizos se visualizó la presencia y distribución de ojos pequeños a medianos al final de la cámara caliente, indicando una buena elasticidad de la masa del queso en este punto, ya que la apertura fue correcta y no hubo defectos de grietas. El volumen de ojos estuvo entre 5,9-7,6% al final de la cámara caliente y aumentó al doble al final de la maduración (60 días). En uno de los quesos se pudo visualizar la formación de grietas en este punto del muestreo, lo que revela que la masa no tuvo la elasticidad necesaria para soportar la gran producción de gas al final de la maduración.

La TC de rayos X es una herramienta novedosa y eficaz para el control de calidad de quesos, tanto para detectar la correcta formación de ojos durante la maduración, estableciendo su evolución y permitiendo el alcance de la calidad óptima, como para evaluar tempranamente la aparición no deseada de los mismos en variedades que no deben presentarlos. Esta metodología no se hallaba disponible en la Argentina para su aplicación en quesos y se encuentra aún en optimización en varios países.

INTRODUCCIÓN

Ciertas variedades de quesos se caracterizan por la presencia de ojos, que se originan como consecuencia de la producción de gas por la microflora presente. En particular, en los quesos tipo suizos, las bacterias propiónicas incorporadas en el fermento de quesería metabolizan el lactato y producen CO_2 que da lugar a la formación de ojos característicos, además de ácido propiónico y otros compuestos que influyen en el flavor (Bachmann y col., 2011). La elaboración y maduración de este tipo de queso es una de las más complejas, ya que una gran cantidad de parámetros deben ser estrictamente controlados para obtener una textura adecuada que permita, entre otros factores, una buena formación de ojos, sin el desarrollo de defectos (Furtado, 2008; Polychroniadou y col., 2001).

El número, tamaño, forma y distribución espacial de los ojos representan uno de los parámetros de calidad más importantes en estos quesos (Guggisberg y col., 2015; Huc y col., 2014). De esta manera, es indispensable el control de su producción y evolución durante la maduración. Sin embargo, una vez que la cuajada se moldea es imposible examinar directamente lo que sucede dentro de la horma del queso. El control de este proceso se realiza tradicionalmente escuchando el sonido producido cuando se golpea suavemente la superficie del queso con un martillo especial o inspeccionando visualmente la masa del mismo luego del corte o muestreo de la horma; estas metodologías son imprecisas y no cuantitativas, dependen de la experiencia del evaluador y, además, las últimas implican la destrucción del queso (Guggisberg y col., 2015).

En los últimos años, varias metodologías no destructivas, tales como la tomografía computada de rayos X (TC), se han empleado con dicho propósito (Huc y col., 2014, Guggisberg y col., 2013). Si bien la aplicación de la TC está muy difundida como herramienta de diagnóstico en medicina, su uso en matrices alimenticias es más reciente y novedoso. Cabe resaltar que la energía suministrada por el tomógrafo de rayos X es mil veces más baja que la necesaria para inducir la mutación o muerte bacteriana, por lo que la aplicación de esta metodología en alimentos fermentados no tendría influencia en la microflora presente (Huc y col., 2014).

Los rayos X son radiaciones electromagnéticas cuya longitud de onda es del orden del Angströms (10^{-10} m) (Suetens, 2017a). Esta radiación genera un mapa tridimensional del coeficiente de absorción de la muestra, es decir de la atenuación de los fotones, debido a la interacción de los mismos con la materia, por lo que depende de la energía de los fotones y de los ele-

mentos que componen la muestra (número atómico) (Suetens, 2017b). Esta interacción (radiación-muestra) es registrada por los detectores a través de la radiación transmitida luego de atravesar la muestra, obteniéndose una serie de imágenes radiográficas consecutivas, que son planos que representan la distribución del coeficiente de absorción de la muestra en cada posición (visualizada por la intensidad del tono de gris) (Suetens, 2017b). Los datos adquiridos en la medición se recopilan en múltiples direcciones, lo que permite hacer una reconstrucción tomográfica para obtener un modelo 3D virtual (Goy y col., 2014).

El proceso de construcción de este modelo (post-procesamiento) se inicia con la "segmentación". La segmentación es la acción de seleccionar y resaltar las estructuras individuales, en este caso los ojos y la masa del queso, en la serie de cortes tomográficos. Este proceso de reconstrucción es la etapa más laboriosa del análisis, ya que depende de la cantidad de cortes y del contraste entre las diferentes zonas. En el caso particular de los quesos, se tiene un buen contraste por las diferencias de densidad entre la masa y el aire, es por ello que se puede cuantificar y evaluar los mismos sin necesidad de destruir la horma (Guggisberg y col., 2013).



Calcio

CARBOFARMA®

- Carbonato de Calcio Pesado
- Carbonato de Calcio Liviano
- Carbonato de Calcio con densidades específicas

Calcio para compresión directa:

- Carbonato de Calcio CD
- Citrato de Calcio CD

Molinos y Panificados – Alfajores y Galletitas
 Leches y Yogures - Dulces y Postres - Productos Dietéticos
 Fármacos y Cosméticos - Uso veterinario – Alimento balanceado

- Certificación GMP: Good Manufacturing Practice
 - Certificación ANMAT: Ingredientes Farmacéuticos Activos

CAFUNE S.A.: (54 11) 4918-2677 / 2680
 carbofarma@carbofarma.com.ar

www.carbofarma.com.ar

La manipulación de estos datos con software adecuados permite visualizar la distribución y morfología de los ojos y calcular determinados parámetros de los mismos, como el tamaño, cantidad y volumen total (Schuetz y col., 2016); sin embargo, la exactitud de esta herramienta depende en gran medida del correcto procesamiento de las imágenes. En comparación con las radiografías convencionales, la TC permite una extracción precisa de la información de profundidad y distancia a lo largo de la línea de proyección y tiene como ventaja que el análisis puede automatizarse y la cantidad de información accesible excede el potencial de la radiografía (Schuetz y col., 2013).

El objetivo de este trabajo fue implementar la aplicación de la tomografía computada de rayos X para evaluar el proceso de formación de ojos durante la maduración en quesos tipo suizos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Validación del análisis cuantitativo de ojos en quesos por tomografía computada

Para validar el método propuesto, se elaboraron quesos modelo con la incorporación de bolitas de vidrio para simular la presencia de ojos en la masa. Siete quesos (diámetro: 13cm - alto: 8cm) de pasta semidura fueron elaborados en la planta piloto del INLAIN (Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe) a partir de leche pasteurizada (63°C, 30min). Estos quesos fueron producidos sin la adición de bacterias propiónicas, con el objetivo de que no exista un desarrollo espontáneo de ojos. Durante el moldeo se incorporaron esferas de vidrio ($\varnothing=16\text{mm}$), las cuales aportaron un volumen conocido (teórico), calculado previamente a partir de su peso y densidad (2,404 g/mL). Los

quesos se maduraron a 12°C durante 15 días y luego se analizaron mediante tomografía computada. A partir de las imágenes obtenidas, se calculó el volumen total de las esferas incorporadas a cada queso y se correlacionó con el volumen conocido de las mismas.

Elaboración de quesos tipo suizos

Dos quesos tipo suizos (1 y 2) fueron elaborados en la planta piloto del INLAIN a partir de 85 L de leche pasteurizada (63°C-30min) y estandarizada (materia grasa/proteína: 0,92). Se utilizaron los siguientes cultivos: *Streptococcus thermophilus* ST1, *Lactobacillus helveticus* B02 y *Propionibacterium freudenreichii* PS4 (Chr. Hansen, Argentina). La dosis del fermento de *L. helveticus* utilizada en el queso 1 fue 0,5 órdenes logarítmicos mayor que en el queso 2; los otros cultivos fueron utilizados en el mismo nivel en ambos quesos. El coagulante (Chymax, Chr. Hansen) fue adicionado 30 min después del agregado del fermento y cuando la cuajada alcanzó la firmeza adecuada fue cortada en granos de 5 mm³, aproximadamente. Se realizó un lavado de la cuajada (20%) y una posterior etapa de calentamiento del grano bajo agitación hasta 47°C a razón de 1°C/min. Se retiró la cuajada con tela y se moldeó. Luego, las hormas fueron llevadas a prensa hasta llegar a pH 5,3 (aproximadamente 5 h). Pasado este tiempo, se llevó a cámara fría (11°C) con el objetivo de orear la horma (12 h) y posteriormente se colocó en salmuera (20% p/v, pH 5,4, 10°C) durante 10 h. Los quesos (25 cm de diámetro, 6 kg) se maduraron en tres etapas: 10 días a 11°C, 23 días en cámara caliente (22-24°C) hasta alcanzar el nivel de hinchazón adecuado y por último cámara fría (12°C) hasta los 60 días de maduración. Con el objetivo de conocer el proceso de formación de

ojos, se realizó un seguimiento tomográfico de los quesos en tres momentos durante el período de maduración: antes del ingreso a la cámara caliente (10 días), luego de la salida de la cámara caliente (33 días) y al final de la maduración (60 días). El pH y la composición global (humedad, materia grasa y proteínas) de los quesos se determinaron a los 60 días de maduración utilizando metodologías normalizadas (Bradley y col., 1993, ISO 5534:2004, ISO 3433:2008, ISO 8968-1/IDF 20-1:2011). El contenido de ácidos

FIGURA 1 - Tomógrafo utilizado para el análisis de los quesos.



FIGURA 2 - Queso con la incorporación de bolitas de vidrio y modelo 3D de la horma de queso

láctico y propiónico y de lactosa y galactosa fue determinado por HPLC según Peralta y col. (2017).

Análisis de los quesos por tomografía computada

Las mediciones de TC de rayos X se llevaron a cabo utilizando un escáner Toshiba Activion 16 (Otawara-shi, Tochigi, Japón) con los siguientes parámetros de escaneo: 120kV, 70mA y 0,5 mm de espesor de corte. El queso se apoyó sobre un soporte de poliestireno (Figura 1). Las imágenes obtenidas se procesaron mediante el software 3D Slicer 4.8.1 (Fedorov y col., 2012), que permitió obtener el modelo 3D de la horma de queso y cuantificar el volumen total de masa y ojos. Con estos datos se calculó el porcentaje de ojos en relación al volumen total del queso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación de la metodología

La Figura 2 muestra el queso que fue elaborado para la validación de la metodología y el modelo 3D de la horma a partir de los tomogramas. Mediante el análisis del modelo obtenido se calculó el volumen de las bolitas incorporadas (ojos artificiales) en cada queso que se comparó con el volumen teórico aplicando

Regresión Lineal Simple (Figura 3). La buena correlación R^2 obtenida ($R^2 > 0,99$) indica una adecuada performance del procesamiento de imágenes aplicado para la evaluación cuantitativa del volumen de ojos en quesos.

Composición fisicoquímica de los quesos y evaluación de la formación de ojos

El pH y composición global de los dos quesos fue similar y estuvo dentro de los parámetros normales para esta variedad. Los valores promedios del contenido de grasa, proteína y humedad y el pH fueron 31,6%, 25,5%, 39,0% y 5,3, respectivamente. El contenido de ácido láctico y propiónico fue diferente en ambos quesos; el nivel de láctico fue de 122,3 y 85,0 mmol/kg y el de propiónico de 43,2 y 61,0 mmol/kg para el queso 1 y 2, respectivamente. La lactosa no fue detectada, mientras que el nivel de galactosa fue muy bajo (entre 0,8 y 1,2 mmol/kg), lo que indica un adecuado perfil de fermentación. La formación de ojos en los dos quesos elaborados se evaluó mediante TC en tres momentos durante la maduración. A modo de ejemplo, se muestran en las Tablas 1a y 1b las imágenes obtenidas de un corte de las hormas enteras (tomogramas); también se muestran los modelos 3D y las imágenes obtenidas luego del corte destructivo, y se indica el volumen y porcentaje de ojos calculado en cada caso.

Del análisis de las imágenes tomográficas y los cálculos realizados, se evidenció la evolución del aumento del volumen total de ojos durante la maduración. En la primera etapa en cámara fría (11°C/10 días) no hubo formación de ojos; durante los 22 días de cámara caliente se vio un aumento progresivo del volumen de las hormas, que se correlacionó con las imágenes obtenidas al final de dicha etapa. En dichas imágenes se observaron ojos esféricos, de pequeño a mediano tamaño de 4,5 a 9,0 mm en el queso 1 y de 6,0 a 10,0 mm de diámetro en el queso 2, distribuidos en

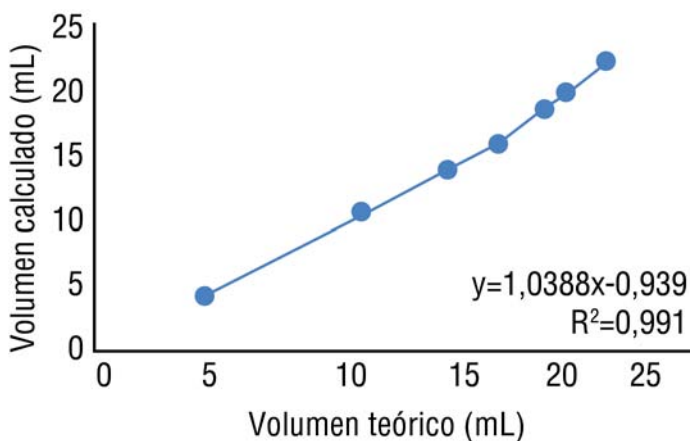
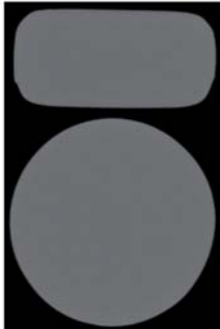
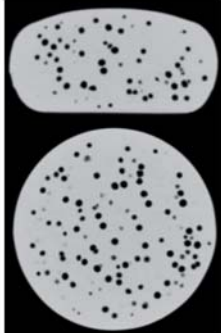
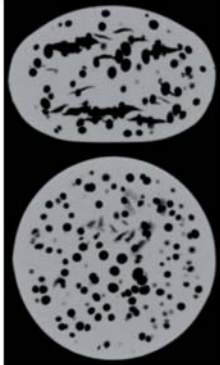

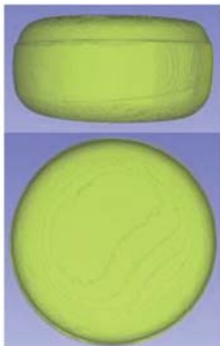
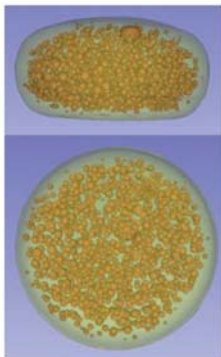
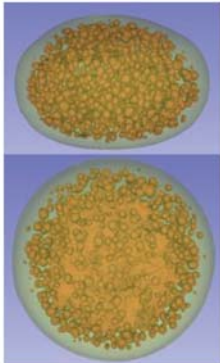
FIGURA 3 - Correlación entre el volumen teórico de bolitas y el calculado por el análisis de las imágenes tomográficas

TABLA 1A -

Imágenes del corte destructivo, tomogramas y modelos 3D del queso 1. Volumen y porcentaje de ojos calculados.

QUESO 1

	Antes de Cámara Caliente (10d)	Salida de Cámara Caliente (33d)	Fin de maduración (60d)	Corte destructivo
Tomogramas				
Modelos 3D				
Volumen y Porcentaje de ojos	0 mL 0 %	310,9 mL 5,9 %	700,7 mL 11,8 %	

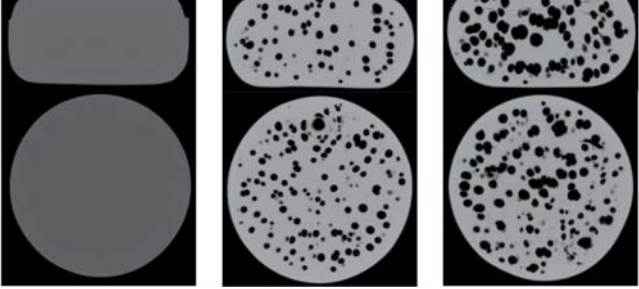

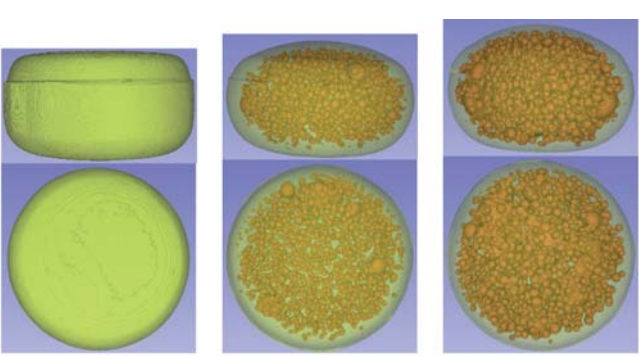
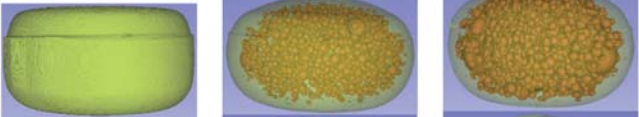
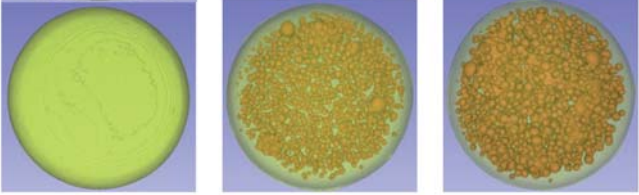
forma homogénea en la horma; además, no se observaron grietas ni ningún otro defecto en la masa. Estas imágenes indican una buena producción de CO₂ por parte del fermento propiónico y una excelente elasticidad de la masa del queso, la que permitió una buena apertura de ojos. El porcentaje de ojos en relación a la masa total del queso fue diferente entre los dos quesos: 5,9 y 7,6%. Durante la etapa final de maduración en cámara fría (12°C), se observó un incremento del doble del porcentaje de ojos y del volumen de los mismos, llegando a niveles de 11,8 y 15,4% para el queso 1 y 2, respectivamente. Los diámetros de los ojos variaron entre 7,5 y 12,5 mm para el queso 1 y entre 8,0 y 15,0 mm para el queso 2.

La capacidad de crecimiento y producción de gas de las bacterias propiónicas durante la maduración en cámara fría depende de la cepa (Rehn y col., 2011). En nuestro caso, la elevada producción de gas en la etapa final de maduración puede atribuirse a la capacidad del fermento propiónico utilizado de mantener su

actividad metabólica a temperaturas cercanas a las utilizadas en la cámara fría. En el queso 1, se observó la aparición de grietas en la última etapa de maduración, las que no estaban presentes al final de cámara caliente. La elasticidad de la masa en este tipo de queso es fundamental para que el CO₂ producido pueda dar lugar a la formación correcta de ojos, sin llegar a la aparición de defectos en la masa (Goy y col., 2014). En el queso 2, en el que hubo mayor producción de gas y formación de ojos, se verificaron solamente algunas grietas pequeñas. Como ya fue mencionado, la única diferencia en el proceso de elaboración de los quesos fue la dosis de *L. helveticus*. La mayor dosis utilizada en el queso 1 condujo a una mayor producción de ácido láctico, lo que podría haber ejercido cierta inhibición (comparativamente al queso 2) de la actividad metabólica de las bacterias propiónicas (producción de ácido propiónico y CO₂) y cambios en la elasticidad de la masa del queso, que condujeron a que la misma no soporte la apertura correcta de los ojos (Fröhlich-Wyder, y col., 2017,

TABLA 1B -

Imágenes del corte destructivo, tomogramas y modelos 3D del queso 2. Volumen y porcentaje de ojos calculados.

		QUESO 2			
		Antes de Cámara Caliente (10d)	Salida de Cámara Caliente (33d)	Fin de maduración (60d)	Corte destructivo
Tomogramas					
					
Modelos3D					
					
Volumen y porcentaje de ojos		0 mL 0 %	459,9 mL 7,6 %	980,6 mL 15,4 %	

Furtado, 2008). La elaboración y maduración de quesos tipo suizo es uno de los desafíos más complejos de los queseros, ya que hay múltiples factores que deben ser rigurosamente controlados para la obtención de un queso de buena calidad (Furtado, 2007). El seguimiento de la formación de ojos durante la maduración mediante una metodología no destructiva aporta datos que facilitan el planteo de ajustes en el proceso cuando se producen defectos. En el caso del queso 1, los resultados obtenidos sugieren que las grietas se produjeron en la etapa final de maduración (luego de la cámara caliente). Por lo tanto, se podrían plantear modificaciones en esta última etapa para evitar la aparición de las grietas; algunas opciones posibles podrían ser el uso de una menor temperatura al final de la maduración o acortar el tiempo total de este proceso.

CONCLUSIONES

La tomografía computada de rayos X puede ser utilizada para el análisis de ojos y aberturas en quesos sin necesidad de destruir la horma. Esta metodología permite detectar y controlar en quesos tipo suizos la

correcta evolución de la formación de los ojos durante la maduración, mientras que también posibilita la evaluación temprana de la aparición de ojos/aberturas en variedades que no deben presentarlos, tales como los quesos cremosos. De esta manera, la TC podría ser empleada como herramienta para la toma de decisiones. Si hay fallas que originen defectos de ojos en quesos, la TC facilita la identificación de la etapa de aparición de los mismos y el consiguiente planteo de modificaciones de los parámetros de elaboración o maduración para evitarlos. Asimismo, la detección precoz de defectos de ojos en quesos permitiría la toma de decisiones inmediatas sobre el destino de los mismos, minimizando pérdidas económicas. Esta metodología no se hallaba disponible en la Argentina para su aplicación en quesos y se encuentra aún en optimización en varios países.

AGRADECIMIENTOS

A José Luis Sañudo, director de Diagnóstico por Imágenes Junín, por su colaboración en la realización de las tomografías.



*difundiendo ciencia
y tecnología alimentaria*

**On line en
www.publitem.com.ar**

**Tejedor 557 (C1424CLK)
CABA - ARGENTINA**

**Tel.: 54-11-4922-6881/5137/3849/4885
info@publitem.com.ar**

BIBLIOGRAFÍA

- Bachmann HP, Bütikofer U, Fröhlich-Wyder MT, Isolini D, Jakob E. 2011. Cheese: Swiss-Type Cheeses. Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition. p 712-720.
- Bradley, R.L., Arnold, E., Barbano, D.M., Semerad, R.G., Smith, D.E., Vines, B.K. 1993. Chemical and physical methods. In: Marshall, R. (Ed), Standard methods for the examination of dairy product. American Public Health Association, Washington, USA. P 433-531.
- Fedorov A, Beichel R, Kalpathy-Cramer J, Finet J, Fillion-Robin JC, Pujol S, Bauer C, Jennings D, Fennessy F, Sonka M and others. 2012. 3D Slicer as an image computing platform for the Quantitative Imaging Network. Magnetic Resonance Imaging 30(9):1323-1341.
- Fröhlich-Wyder MT, Bisig W, Guggisberg D, Jakob E, Turgay M, Wechsler D. 2017. Cheeses With Propionic Acid Fermentation. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: Fourth Edition. p 889-910.
- Furtado M. 2008. Formación de ojos en quesos: aspectos cruciales. 1era. parte. Tecnología Láctea Latinoamericana. N° 51, p 8-15.
- Furtado M. 2007. Principais defeitos dos Queijos de estilo suíço. En: Queijos com olhaduras. Fonte Comunicações e Editora Ltda. p 143-158.
- Goy D, Guggisberg D, Haldemann J, Jakob E, Wechsler D. 2014. Formation d'ouverture indésirable dans le Gruyère AOP. Agroscope Transfer, 23, 1-16.
- Guggisberg D, Fröhlich-Wyder MT, Irmiler S, Greco M, Wechsler D, Schuetz P. 2013. Eye formation in semi-hard cheese: X-ray computed tomography as a non-invasive tool for assessing the influence of adjunct lactic acid bacteria. Dairy Science and Technology 93(2):135-149.
- Guggisberg D, Schuetz P, Winkler H, Amrein R, Jakob E, Fröhlich-Wyder MT, Irmiler S, Bisig W, Jerjen I, Plamondon M and others. 2015. Mechanism and control of the eye formation in cheese. International Dairy Journal 47:118-127.
- Huc D, Challos S, Monziols M, Michon C, Mariette F. 2014. Spatial characterisation of eye-growing kinetics in semi-hard cheeses with propionic acid fermentation. International Dairy Journal 39(2):259-269.
- Peralta GH, Bergamini CV, Audero G, Páez R, Wolf IV, Perotti MC, Hynes ER. 2017. Spray-dried adjunct cultures of autochthonous non-starter lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology 255:17-24.
- Polychroniadou A. 2001. Eyes in cheese: A concise review. Milchwissenschaft 56(2):74-77.
- Schuetz P, Guggisberg D, Jerjen I, Fröhlich-Wyder MT, Hofmann J, Wechsler D, Flisch A, Bisig W, Sennhauser U, Bachmann HP. 2013. Quantitative comparison of the eye formation in cheese using radiography and computed tomography data. International Dairy Journal 31(2):150-155.
- Schuetz P, Guggisberg D, Fröhlich-Wyder MT, Wechsler D. 2016. Software comparison for the analysis of cheese eyes in X-ray computed tomography. International Dairy Journal 63:62-69.
- Suetens P. 2017a. Radiography. In: Suetens P, editor. Fundamentals of Medical Imaging. 3 ed. Cambridge: Cambridge University Press. p 15-32.
- Suetens P. 2017b. X-ray Computed Tomography. In: Suetens P, editor. Fundamentals of Medical Imaging. 3 ed. Cambridge: Cambridge University Press. p 33-70.
- Rehn U, Vogensen FK, Persson SE, Hallin Saedén K, Nilsson BF, Ardö Y. 2011. Influence of microflora on texture and contents of amino acids, organic acids, and volatiles in semi-hard cheese made with DL-starter and propionibacteria. Journal of Dairy Science 94(3):1098-1111.