

**UCLV**  
Universidad Central  
"Marta Abreu" de Las Villas



**FQF**  
Facultad de  
Química y Farmacia

Departamento de Química

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

Propuesta de metodología para analizar el suero lácteo obtenido de la elaboración de quesos en la UEB Pasteurizadora Sagua

Autor: Darlene Lugo Ramírez

Tutores: MSc. Osmany Cruz Rodríguez

MSc. Jorge Basilio de la Torre López

Santa Clara, Noviembre 2021  
Copyright©UCLV

**UCLV**  
Universidad Central  
"Marta Abreu" de Las Villas



**FQF**  
Facultad de  
Química y Farmacia

Department of Chemistry

## **BACHELOR THESIS**

Proposal for a methodology to analyze the whey  
obtained from the production of cheeses at the UEB  
Pasteurizadora Sagua

Author: Darlene Lugo Ramírez

Tutors: MSc. Osmany Cruz Rodríguez

MSc. Jorge Basilio de la Torre López

Santa Clara, November 2021  
Copyright©UCLV

Este documento es Propiedad Patrimonial de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y se encuentra depositado en los fondos de la Biblioteca Universitaria “Chiqui Gómez Lubián” subordinada a la Dirección de Información Científico Técnica de la mencionada casa de altos estudios.

Se autoriza su utilización bajo la licencia siguiente:

**Atribución- No Comercial- Compartir Igual**



Para cualquier información contacte con:

Dirección de Información Científico Técnica. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní. Km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP. 54 830

Teléfonos.: +53 01 42281503-1419

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Dios, que trazó este camino para mí y me dio la capacidad y las fuerzas para no rendirme.

A mi madre y mi padre, que caminaron conmigo, se desvelaron conmigo, se emocionaron conmigo, que no me dejaron flaquear, que estuvieron allí para sostenerme y no se desvivieron para que pudiera tener este título que siempre soñé.

A mi princesita Liah, mi guerrera favorita, mi inspiración, la que no entendía por qué mamá se iba por horas a estudiar, pero nunca hizo un problema de eso; la que merece ver a mamá triunfar y tomarlo como ejemplo.

A mis hermanos por estar siempre pendientes de mí, por sus ayudas, por sus ejemplos, por sus palabras de aliento.

Al resto de mi familia, que han estado conmigo, recordándome que es lo que realmente importa en la vida, y nunca le faltan las fuerzas para estar firmes a mi lado y ser mi apoyo.

A Manda, Lauren y Lachi que han hecho posible esto, que me han tendido la mano, que me han alegrado el alma, que son parte de mí.

Al resto de mis amigos, que, aunque los deje en visto, no dejan de interesarse por mi bienestar.

A Nancy, que siempre está pendiente, que me habla con sabiduría y me hace sentir orgullosa de ser parte de la gran familia que es la UCLV nuestra.

A mis tutores Osmany y Jorge, que trabajaron codo a codo junto a mí, para llevar a cabo esta propuesta y siempre creyeron en mí.

A mis profesores, que forjaron en mí una nueva personalidad, retándome a sacar fuera una mujer capaz y valiente.

A todos los que de una forma u otra contribuyeron a hacer este sueño realidad.

## RESUMEN

El suero de leche o lactosuero de quesería es la fracción líquida obtenida durante la coagulación de la leche en el proceso de fabricación del queso y de la caseína, después de la separación del coágulo o fase micelar. Contiene principalmente lactosa, proteínas de importante valor nutritivo, minerales, vitaminas y grasa. En el presente trabajo se analizan los métodos empleados internacionalmente en el estudio del suero de la leche, así como un diagnóstico de las técnicas analíticas que se utilizan en este sentido en la Empresa de Productos Lácteos Villa Clara, UEB Pasteurizadora Sagua.

Los resultados arrojan que la empresa no cuenta con análisis de humedad, pH, sólidos totales, proteínas y lactosa, proponiéndose el método de destilación azeotrópica, el uso de un pH-metro, la ecuación de Babcock, el método Sorensen-Walker y el método enzimático respectivamente para cada parámetro; de forma tal que se obtengan productos con mejores características fisicoquímicas, sensoriales, de mayor calidad y de vida útil más prolongada.

## ABSTRACT

Whey or cheese serum is the liquid fraction obtained during the coagulation of milk in the cheese and casein manufacturing process, after separation of the coagulum or micellar phase. It contains mainly lactose, proteins of important nutritional value, minerals, vitamins and fat. In the present work, the methods used internationally in the study of milk whey are analyzed, as well as a diagnosis of the analytical techniques used in this sense in the Villa Clara Dairy Products Enterprise, UEB Pasteurizadora Sagua.

The results show that the company does not have analysis of moisture, pH, total solids, proteins and lactose, proposing the azeotropic distillation method, the use of a pH meter, the Babcock equation, the Sorensen-Walker method and the enzymatic method respectively for each parameter, so as to obtain products with better physicochemical and sensory characteristics, higher quality and longer shelf life.

Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN.....	11
1. ESTADO DEL ARTE .....	16
1.1. Suero de leche .....	16
1.2. Composición nutricional del suero.....	17
1.2.1. Proteínas del suero .....	19
1.2.2. Lactosa .....	20
1.2.3. Sales minerales .....	20
1.3. Tipos de suero .....	21
1.3.1. El suero dulce.....	22
1.3.2. El suero ácido.....	23
1.4. Aplicaciones .....	23
Descremado .....	25
Obtención de proteínas precipitadas.....	25
Concentrados y cristalizados de proteínas.....	25
Obtención de ácidos .....	26
Producción de alcohol: .....	26
Producción de vinagre de suero.....	26
Queso crema .....	26
Fórmulas y alimentación para bebés .....	26

Productos fermentados con probióticos.....	26
Extracción de proteínas de suero como vehículo para liberación de agente activo .....	26
Concentrados de proteína de suero.....	27
Productos cárnicos.....	27
Hidrolizados .....	27
Productos de panadería, pastelería, confitería y aperitivos .....	28
1.5. Beneficios.....	28
1.6. Requerimientos físicos-químicos .....	29
2. MÉTODOS DE ANÁLISIS .....	35
2.1. Características sensoriales.....	35
Aspecto.....	35
Textura.....	35
Conjunto olfato-gustativo.....	35
2.2. Determinación de humedad.....	36
Medición termogravimétrica .....	36
Métodos espectroscópicos .....	36
Titulación de Karl Fischer .....	38
Método fosforado del pentóxido .....	38
Destilación azeotrópica .....	38
2.3. Determinación de sólidos totales .....	39

Métodos Gravimétricos .....	39
Métodos Volumétricos .....	40
Métodos indirectos .....	40
2.4. Determinación del pH .....	40
Método potenciométrico.....	40
2.5. Determinación acidez titulable.....	41
Método volumétrico .....	41
Método conductimétrico.....	41
2.6. Determinación de densidad .....	42
Método del picnómetro.....	42
Método de aerometría.....	42
Métodos matemáticos .....	42
2.7. Determinación de cenizas .....	43
2.8. Determinación de la grasa.....	44
Métodos Gravimétricos .....	44
Método Volumétrico .....	45
Métodos Instrumentales.....	45
2.9. Determinación de nitrógeno en proteínas .....	46
Método Dumas .....	46
Método volumétrico ácido-base .....	47

Métodos espectrofotométricos.....	48
Métodos colorimétricos .....	50
Métodos electroforéticos .....	51
Método polarográfico .....	51
2.10. Determinación de minerales .....	52
Espectrofotometría de absorción atómica .....	53
Fluorescencia de rayos X.....	54
2.11. Determinación del porcentaje de lactosa.....	55
Métodos químicos .....	55
Métodos enzimáticos .....	56
Métodos físicos.....	56
Métodos cromatográficos .....	57
3. PROPUESTA DE TÉCNICAS ANALÍTICAS .....	60
CONCLUSIONES .....	64
RECOMENDACIONES.....	65
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	66

## INTRODUCCIÓN

La industria láctea es uno de los sectores más importantes de la economía de países industrializados y en desarrollo. Las tendencias de los consumidores a nivel mundial se han enfocado al consumo de productos saludables, tales que además de su contribución nutricional, ofrezcan beneficios a la salud por lo que, es un alimento el cual debe ser considerado [1].

Aproximadamente el 90 % del total de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero, el cual retiene cerca de 55 % del total de nutrientes de la leche [2]. El suero de leche de vaca aporta con un valor significativo de proteínas, aproximadamente de 0,85 a 1 gramo de suero en 100 g y con un alto valor biológico por parte del organismo humano. Contiene de las vitaminas liposolubles a la vitamina A, con un contenido de 16 mg en 100 g de suero de leche; seguido de las vitaminas hidrosolubles del complejo B como el ácido pantoténico (B5) con un contenido de 0,383 mg, cianocobalamina (B12) con 0,277 mg, riboflavina (B2) con 0,158 mg, niacina (B3) con 0,074 mg, tiamina (B1) con 0,036 mg, piridoxina (B6) con 0,031 mg y 0,10 mg de ácido ascórbico (vitamina C) en 100 g de lactosuero. Además, proporciona bajo contenido en grasa con un contenido de 0,36 g en 100 g de lactosuero y bajo contenido calórico de 27 kcal, siendo aproximadamente la mitad del que proporciona la leche (61 kcal). Tiene sales minerales de gran biodisponibilidad para el organismo en el que se destaca el contenido de potasio, lo que favorece a la eliminación de líquidos y toxinas. Con respecto al potasio, contiene 161 mg del mineral en 100 g de suero de leche, seguido de calcio con 47 mg, sodio 54 mg, fósforo 46 mg, magnesio 8 mg, zinc 0,13 mg y hierro con 0,06 mg [3].

Dentro de las posibles aplicaciones del suero de leche en la elaboración de alimentos, se considera al lactosuero tanto líquido como en polvo. En el mercado internacional se obtiene en bebidas proteicas en formas de concentrado proteico y aislados. En cuanto a la industria láctea se utiliza para la elaboración de helados, yogures, productos untables de bajas calorías y quesos; en productos cárnicos en carnes procesadas y embutidos. También en la industria molinera para productos de panificación como base para pasteles, galletas y barras nutritivas; en confitería, en chocolates, coberturas, caramelos y en la industria de bebidas como mezclas con cacao, crema para café, y sobre todo en bebidas para deportistas por su alto contenido de electrolitos; por su contenido de lactosa y sólidos se utiliza para alimentos dietéticos, dulces y productos farmacéuticos [4].

La industria de productos lácteos está considerada como la fuente más grande de aguas residuales del procesado de alimentos; tiene cargas orgánicas relativamente altas, siendo los principales contribuyentes de lactosa, grasa y proteína, así como altos niveles de nitrógeno y fósforo que se asocian con las proteínas de la leche. Otro control que se debe tomar en cuenta es la alta cantidad de sólidos totales en el suero, ya que el suero de queso sin tratar contiene 0,0032 g/L [5].

Debido al aumento de la disponibilidad a partir del incremento de la producción láctea; la capacidad contaminante de la materia orgánica, mediante procesos biológicos aerobios y al valor nutritivo de los componentes del suero de leche en todo el mundo se ha dirigido su aprovechamiento tanto a nivel industrial como tecnológico, para que de esta forma se incentive en las industrias hacer uso de este subproducto, evitando que sea vertido al seno de cursos acuíferos donde resulta perjudicial [6].

La producción mundial anual estimada de lactosuero es de aproximadamente 145 millones de toneladas, de las cuales 6 millones son de lactosa que se distribuyen en: Europa 53 %, América del Norte y central 28 %, Asia 6 %, África 5 %, Oceanía 4 %, América del Sur 4 % [7].

En Cuba, el despegue de esa importante industria es ya una realidad, debido a la preocupación del gobierno por fomentar el desarrollo de la ganadería y la agricultura, renglones económicos vitales para el país [8]; aunque se debe señalar que la producción de quesos es bastante reducida y en los últimos cinco años ha fluctuado entre 12 y 19 mil toneladas /año lo que no cubre, de ninguna forma, la demanda local, principalmente basada en el turismo internacional. Esto representa una producción de lactosuero entre 10 800 y 17 100 toneladas al año [9].

En la UEB Pasteurizadora Sagua, se generan anualmente más de 3 millones litros de suero proveniente de la elaboración de quesos, destinando actualmente más del 50 % para la fabricación de alimentos para el consumo humano, siendo el destino del resto la venta a entidades de producción porcina para ser utilizado para alimentación animal, o bien, desechado como efluente líquido, provocando un incremento de los niveles de contaminación ambiental. De esta manera, se desaprovecha una importante fuente de proteínas y de macro y micronutrientes que pueden emplearse como alimento humano.

Con este proyecto se pretende dar la suficiente información a la UEB Pasteurizadora Sagua para que los diferentes procesos de los tipos de lactosuero sean más eficientes a través de un diagnóstico, con el fin de tener mejor control de las técnicas analíticas y así obtener productos con mejores características fisicoquímicas, sensoriales, de mayor calidad y de vida útil más prolongada.

Por todo lo antes mencionado se ha identificado la siguiente **Problemática de Investigación:**

En la Empresa de Productos Lácteos Villa Clara, UEB Pasteurizadora Sagua existe un desconocimiento técnico en el proceso del suero de leche de vaca y carencia de análisis físico-químicos como métodos de control de la calidad.

Para darle solución a esta problemática científica se plantea el siguiente **Objetivo General:**

Proponer una nueva metodología de análisis del suero lácteo obtenido de la elaboración de quesos en la UEB Pasteurizadora Sagua.

**Específicos:**

- Realizar una revisión bibliográfica que permita actualizar los procedimientos empleados internacionalmente en el proceso de análisis del suero obtenido como resultado de la fabricación del queso.
- Diagnosticar la situación que presenta la planta en estudio en relación a los análisis a realizar para caracterizar el suero lácteo.
- Proponer nuevos análisis que permitan perfeccionar el proceso, de manera que se logre una descripción más específica del producto.

Capítulo 1:  
Estado del Arte

## 1. ESTADO DEL ARTE

### 1.1. Suero de leche

El lactosuero o suero de leche se define como un producto lácteo obtenido de la separación del coágulo de la leche, de la crema o de la leche semidescremada durante la fabricación del queso, mediante la acción ácida o de enzimas del tipo del cuajo (renina, enzima digestiva de los rumiantes) que rompe el sistema coloidal de la leche en dos fracciones: una fracción sólida, compuesta principalmente por proteínas insolubles y lípidos, las cuales en su proceso de precipitación arrastran y atrapan minoritariamente algunos de los constituyentes hidrosolubles; y una fracción líquida, correspondiente al lactosuero, en cuyo interior se encuentran suspendidos todos los otros componentes nutricionales que no fueron integrados a la coagulación de la caseína. De esta forma, se encuentran en el lactosuero partículas suspendidas solubles y no solubles (proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales), y compuestos de importancia biológica-funcional (triptófano, lisina y aminoácidos azufrados) [10].

El suero en consecuencia, no constituye un sustituto integral de la leche por ser una fracción de la misma, pero contiene nutrientes y compuestos con potenciales beneficios nutricionales y de salud.

En la UEB Pasteurizadora Sagua, se generan anualmente más de 3 millones de litros de suero proveniente de la elaboración de quesos, destinando actualmente más del 50 % para la fabricación de alimentos para el consumo humano, siendo el destino del resto la venta a entidades de producción porcina para ser utilizado para alimentación animal, o bien, desechado como efluente líquido, provocando un incremento de los niveles de contaminación

ambiental. De esta manera, se desaprovecha una importante fuente de proteínas y de macro y micronutrientes que pueden emplearse como alimento humano.

A continuación, en la tabla 1 se muestran las producciones de suero natural durante los años 2020 y 2021 de la UEB Pasteurizadora Sagua.

Tabla 1 Suero obtenido en el año 2020 y 2021 en la Pasteurizadora Sagua

Meses	Ene	Feb	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Sept.	Oct.	Nov.	Dic.
<b>Litros</b> <b>2020</b>	24730	52165	60488	40884	84108	413115	576910	773362	537193	478296	136147	50840
<b>Litros</b> <b>2021</b>	29564	47782	63142	39171	56158	162790	263546	393660	324846			

### 1.2. Composición nutricional del suero

La composición nutricional del lactosuero puede variar considerablemente dependiendo de las características de la leche utilizada para la elaboración del queso, el tipo de queso producido y del proceso de tecnología empleado en su elaboración. Se estima que por cada kilogramo de queso se producen nueve kilogramos de lactosuero, esto representa cerca del 85-90 % del volumen de la leche de vaca y contiene aproximadamente el 55 % de sus nutrientes. Entre los más abundantes de estos nutrientes están la lactosa (4,5-5 % p/v), proteínas solubles (0,6-0,8 % p/v), lípidos (0,4-0,5 % p/v) y sales minerales (8-10 % de extracto seco) [2], [10].

En cuanto a minerales, el lactosuero puede contener aproximadamente el 90 % del calcio, potasio, fósforo, sodio y magnesio presente en la leche. Estos minerales se transfieren al suero después de la coagulación de la proteína en la producción de la cuajada [11].

Cuenta también con vitaminas del grupo B (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, cobalamina) y ácido ascórbico [12]. En la Tabla 2 se registran los contenidos de vitaminas, su concentración y necesidades diarias, encontrándose con que el

ácido pantoténico presenta la mayor concentración con 3,4 mg/mL seguido de ácido ascórbico con 2,2 mg/mL.

Tabla 2 Contenidos en vitaminas del lactosuero [2].

<b>Vitaminas</b>	<b>Concentración (mg/mL)</b>	<b>Necesidades diarias (mg)</b>
Tiamina	0,38	1,5
Riboflavina	1,2	1,5
Ácido nicotínico	0,85	10-20
Ácido pantoténico	3,4	10
Piridoxina	0,42	1,5
Cobalamina	0,03	2
Ácido ascórbico	2,2	10-75

El suero lácteo también contiene compuestos biológicamente activos y péptidos bioactivos definidos, como fragmentos específicos de proteínas, que tienen un impacto positivo sobre funciones o condiciones corporales y que pueden influir sobre la salud humana, más allá de una nutrición normal y adecuada. Estos péptidos son resistentes a la acción de peptidasas digestivas, lo que le permite su absorción y paso al torrente sanguíneo sin ninguna alteración estructural para ejercer determinados efectos biológicos y fisiológicos [13].

Este gran contenido de nutrientes genera aproximadamente 3,5 kg de demanda biológica de oxígeno (DBO) y 6,8 kg de demanda química de oxígeno (DQO) por cada 100 kg de lactosuero líquido, siendo la lactosa, el principal componente de sólidos que contribuye a la alta DBO y DQO [14].

### 1.2.1. Proteínas del suero

Son denominadas proteínas séricas, con excelentes propiedades funcionales y un alto valor nutritivo, comparables con las proteínas de la carne e incluso con las proteínas del huevo. Estas proteínas precursoras se caracterizan por ser una fuente importante de péptidos bioactivos que se encuentran codificados en las proteínas de la leche y que se liberan durante los procesos a los que esta es sometida; principalmente mediante hidrólisis química o enzimática. Son consideradas de alta calidad, y sus aminoácidos (lisina, triptófano y aminoácidos azufrados) son considerados biológicamente óptimos y altamente utilizados en la industria alimentaria [15].

Las proteínas más utilizadas del suero son la alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina [16].

*Alfa-lactoalbúmina:* contiene un 25 % del total de la proteína del suero. El alfa-lactoalbúmina es adicionado a fórmulas infantiles para hacerlas similares al patrón aminoacídico de la leche humana. Por su alto contenido de aminoácidos de cadenas ramificadas es utilizado también en suplementos para deportistas.

*Beta-lactoglobulina:* contiene de un 50 a 60 % del total de la proteína del suero. Es una fuente rica en cisteína considerado como un aminoácido esencial para la síntesis de glutatión. Según Cribbs el glutatión es la pieza central de los sistemas de defensa antioxidante e inmune del cuerpo. De igual forma también une minerales, vitaminas liposolubles y lípidos. Contiene una gran cantidad de aminoácidos ramificados incrementando la protección frente al cáncer de colon.

### 1.2.2. Lactosa

Es el azúcar que se encuentra únicamente en la leche, es un disacárido compuesto por dos moléculas de galactosa y glucosa (monosacáridos) y son fuente principal de energía en la dieta del ser humano, presente en el suero en un 4,99 % [17].

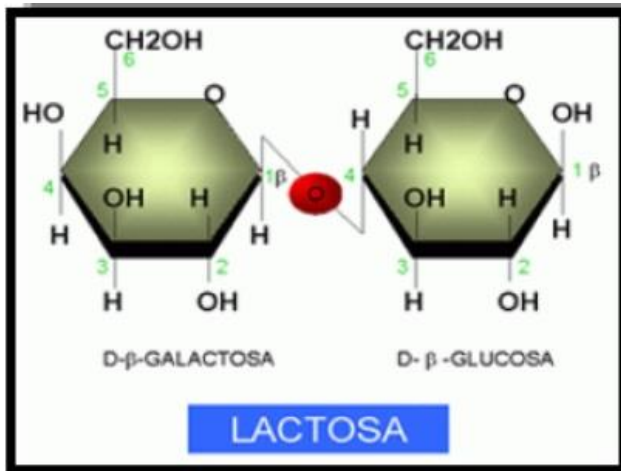
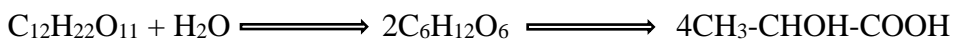


Figura 1 Lactosa Fuente: [2]

Ciertos microorganismos, bacterias y levaduras, como bacterias del género lactobacillus, son capaces de fermentar la lactosa produciendo ácido láctico como se muestra en la siguiente reacción:



Muchas veces estas fermentaciones son producidas por bacilos anaerobios, apreciándose un olor desagradable y abundante formación de gas. El ácido láctico puede ser consumido por levaduras *saccharomyces fragilis*, por acción aeróbica que crecen hasta convertirse en una biomasa que se puede concentrar y secar para producir un pienso rico en proteínas [3].

### 1.2.3. Sales minerales

El suero de leche contiene minerales entre los cuales tiene cantidades de potasio, en una proporción de 3 a 1 respecto al sodio, lo que favorece a la eliminación de líquidos y toxinas.

También, se destaca por su elevado contenido de calcio, fósforo, magnesio y oligoelementos como el zinc, hierro y cobre; formando todos ellos sales de gran biodisponibilidad para el buen funcionamiento del organismo. El calcio es un elemento principal de los huesos como hidroxapatita. Es imprescindible para llevar a cabo muchas funciones del cuerpo, como funciones metabólicas, actividades enzimáticas, hormonales, en el transporte de oxígeno, la coagulación de la sangre, el funcionamiento de los nervios y músculos; para que junto con el fósforo cumplan estas distintas actividades en el organismo. El magnesio interviene en la correcta asimilación del calcio y además participa en el correcto funcionamiento del músculo cardíaco. El fósforo mejora la capacidad de concentración, la memoria y puede fortalecer el sistema nervioso. El zinc, el hierro y el cobre actúan de forma sinérgica como potentes antioxidantes, protegiendo las membranas celulares, mejorando el sistema inmunitario y favoreciendo el proceso digestivo [10].

### 1.3. Tipos de suero

Existen varios tipos de lactosuero dependiendo principalmente de la eliminación de la caseína, el primero denominado dulce, está basado en la coagulación en la renina a pH 6,5. El segundo llamado ácido resulta del proceso de fermentación o adición de ácidos orgánicos o ácidos minerales para coagular la caseína como en la elaboración de quesos frescos [18]. En la Tabla 3 se puede detallar la composición nutricional del lactosuero dulce y ácido, observándose que el dulce tiene mayor lactosa y mayor proteína respecto al ácido.

Tabla 3 Composición de lactosuero dulce y ácido [15], [19].

<b>Componente</b>	<b>Lactosuero dulce</b>	<b>Lactosuero ácido</b>
Sólidos totales %	6,4	6,5

Lactosa (g/L)	46,0- 52,0	44,0- 46,0
Proteína (g/L)	6,0- 10,0	6,0- 8,0
Calcio (g/L)	0,4- 0,6	1,2- 1,6
Fosfatos (g/L)	1,0- 3,0	2,0- 4,5
Lactato (g/L)	2,0	6,4
Cloruros (g/L)	1,1	1,1
Nitrógeno %	0,18	0,18
Sodio %	0,05	0,05
Potasio %	0,16	0,16
Ácido Láctico %	0,2-0,3	0,7-0,8
Gravedad Específica (kg/l)	1,026	1,024 – 1,025
Agua %	93 – 94	94 – 95
pH	5,8 – 6,6	4,5 – 5,0
Grasa %	0,3	0,1
Cenizas %	0,56	0,46
Minerales %	0,5 - 0,7	0,7 – 0,8

### 1.3.1. El suero dulce

El suero es la fase acuosa que se separa de la cuajada en el proceso de la elaboración del queso o la caseína, de color amarillo verdoso con un pH entre 5,8-6,6. Según Parzanese, es resultado de la acción proteolítica de enzimas coagulantes sobre las micelas de caseína (CN) de la leche, las cuales catalizan la ruptura del enlace peptídico de la  $\kappa$ -CN entre los aminoácidos

fenilalanina en la posición 105 y metionina en la posición 106, provocando la precipitación de las CN para obtener el queso [20].

Como se puede observar en la tabla 3 presenta menor contenido de calcio, fosfatos, ácido láctico y sólidos totales, mientras el pH es superior con respecto al lactosuero ácido.

A partir del lactosuero dulce se obtienen los siguientes sueros: suero líquido clarificado, suero líquido pasteurizado, concentrado de ultrafiltración, suero líquido desmineralizado y crema de suero. Parzanese menciona que, de los dos tipos de suero, el dulce posee mejores aptitudes para el procesamiento y obtención de subproductos de mayor valor agregado.

#### 1.3.2. El suero ácido

Es el que se produce en las industrias lácteas cuando la coagulación se lleva a cabo con un ácido, disminuyendo el valor del pH hasta 5,1. Este, contiene más del 80 % de los minerales de la leche de partida por lo que para la mayoría de sus aplicaciones debe neutralizarse, además su contenido en lactosa se ve reducido a causa de la fermentación láctica. También es rico en fósforo, (unas 10-12 veces más que el que puede estar presente como promedio en un residuo acuoso) igualmente tiene un alto contenido de calcio [3].

#### 1.4. Aplicaciones

El lactosuero tiene diversas aplicaciones en la industria alimenticia, agropecuaria, farmacéutica, por sus grandes ventajas en cuanto aspectos nutricionales y por sus altos contenidos en proteína y minerales. El uso más extendido del suero de quesería que se ha observado a nivel mundial es como complemento alimenticio animal donde se utiliza de forma natural, sin tratamiento previo coadyuvando con la ganancia de peso en especial de lechones con problemas digestivos [2].

La política estatal cubana enfatiza en este sentido en trabajar en la producción y diversificación de productos derivados del suero, ya sea las bebidas fermentadas o no fermentadas y los requesones. Las bebidas a base de suero comerciales contienen hasta un 90 % de lactosuero en su formulación y concentraciones menores de azúcares, estabilizantes, acidulantes, saborizantes, colorantes y zumos de frutas, entre otros. Por lo tanto, es posible obtener una gran variedad de este tipo de bebidas a partir de diferentes formulaciones y procesos tecnológicos [6].

El alto contenido de lactosa del lactosuero junto a otros nutrientes, lo convierten en una materia prima con gran potencial para el desarrollo de productos fermentados. Esta aplicación tiene la ventaja de que el proceso productivo es similar al de elaboración de un yogurt batido convencional.

En la UEB sagüera se obtienen este tipo de bebidas, y dichos productos se comercializan como suero saborizado, miragurt y bebida de suero con pulpas de frutas. Por otro lado, el requesón o queso Ricotta representa una alternativa interesante de aprovechamiento del suero dulce en la empresa, sin requerir grandes instalaciones o equipos, ni gastos de elaboración.

Este queso es un precipitado de proteínas séricas, albúmina y lactoglobulina que atrapan en su estructura a la lactosa y a la materia grasa remanente en el suero de quesería, obteniéndose por cada 100 kg de suero entre 4 y 5 kg del producto. Se compone aproximadamente de 68,3 % de agua, 14,9 % de proteínas, 12,6 % de grasa, 2,7 % de carbohidratos y 1,5 % de minerales. Posee una concentración de proteínas de buena calidad, 3 veces mayor que en la leche, pudiendo ser el doble dependiendo de la variedad escogida. Su aporte de vitaminas y minerales es muy valioso para el organismo, pues su contenido en calcio, potasio, fósforo, vitamina A y del complejo B, son ingredientes esenciales para el correcto funcionamiento

neuromuscular. Además, su contenido y calidad de proteínas es similar a la de los quesos, pero su aporte de grasas es significativamente menor [5].

La elaboración de Ricotta no resulta una solución completa al uso del suero, ya que supone la generación de otro subproducto, como es el suero de Ricotta, que aún contiene valores altos de materia orgánica debido a la gran concentración de lactosa y ácido láctico remanente. Encontrar un uso económicamente factible al suero de Ricotta es aún un desafío; donde la generación de biogás puede ser una alternativa viable dependiendo de la escala, la inversión y los costos relativos de la energía.

En la actualidad se siguen desarrollando nuevos estudios e innovando con distintos productos con la finalidad de aprovechar al máximo posible las propiedades funcionales de las proteínas séricas tales como su capacidad de retención de agua, solubilidad, absorción y retención de lípidos, gelificación, espumado, emulsificación, etc.

Por tener diversas aplicaciones las empresas deben buscar nuevas alternativas en el uso del lactosuero para tener mayor rentabilidad y ofertas en la industria, como refieren [2], [4], [15].

Descremado: la crema o nata obtenida a partir del suero lácteo es rica en grasa y se utiliza para la elaboración de mantequilla de suero, crema agria, adición en diferentes productos lácteos para aumentar sólidos y elaboración de postres.

Obtención de proteínas precipitadas: a partir del calentamiento del suero a una temperatura de 95 °C se obtiene la  $\alpha$  lacto-albúmina e hidrolizados.

Concentrados y cristalizados de proteínas: este proceso permite recuperar lactosa, sueros deslactosados y lactosa en pasta.

Obtención de ácidos: el lactosuero es utilizado para la producción de varios ácidos como el láctico, acético, propiónico, cítrico y glucónico, a través de la fermentación de la lactosa, principal componente del suero. Todos estos de gran utilidad para la industria conservera y textil.

Producción de alcohol: a través de la fermentación con levaduras. Con este tipo de fermentación se obtiene cerveza de suero y disolvente industrial.

Producción de vinagre de suero: Originada por un proceso de fermentación por bacterias acéticas.

Queso crema: De acuerdo con el Codex Alimentarius el queso crema (queso de nata) es un queso blando, untable, no madurado y sin corteza, su textura es suave o ligeramente escamosa y sin agujeros, se puede untar y mezclar fácilmente con otros alimentos. Este tipo de queso tiene alto contenido de grasa, su textura es homogénea y cremosa [21].

Fórmulas y alimentación para bebés: para ser administradas en las dos primeras semanas de vida; contiene proteína (caseína bovina, proteína de suero, inmunoglobulinas, entre otras).

Productos fermentados con probióticos: Consiste en productos fermentados no sólidos que contienen bifidobacterias con actividad probiótica. Este producto se puede utilizar en jugos y bebidas a base de leguminosas con el objetivo de mejorar el movimiento y la función intestinal.

Extracción de proteínas de suero como vehículo para liberación de agente activo: consiste en la recuperación de micelas de proteínas de suero que incorporan un agente activo que puede ser: vitaminas, minerales, antioxidantes (compuestos bioactivos). Pueden ser compuestos

solubles o insolubles en agua o en grasa. Se utilizan para mejorar la biodisponibilidad de los compuestos.

Concentrados de proteína de suero: los concentrados de lactosuero (WPC) son elaborados mediante el proceso de ultrafiltración. El tratamiento se realiza a través de una membrana semipermeable selectiva, la cual deja pasar moléculas de bajo peso molecular como lactosa, agua, iones y retiene las proteínas. Los WPC no solo proporcionan una fuente pura de proteína, sino también están bioquímicamente diseñados para promover una inmunidad fuerte, una eficiente recuperación del músculo y expandir el beneficio de la actividad física en salud de manera global. La mayoría de los concentrados del lactosuero del mercado contiene desde un 35 hasta un 80 % de proteína. Además, estos tienen diversas aplicaciones como en la elaboración de bebidas lácteas fermentada, quesos, salsas, galletas, productos cárnicos y formulaciones infantiles.

Productos cárnicos: Las proteínas de suero se utilizan como agentes aglutinantes, modifican su textura, intensifican el sabor del producto, poseen un alto valor nutritivo, contienen aminoácidos esenciales digeribles y biodisponible. También poseen propiedades funcionales: capacidad de retener agua y la capacidad de formar y estabilizar emulsiones cárnicas. Estos concentrados son utilizados en diversos productos como carnes procesadas, carnes de ave de corral, pescados y mariscos.

Hidrolizados: Son las proteínas que pasan por un proceso de hidrólisis, las cadenas más largas de proteína se descomponen en péptidos o aminoácidos por acción de enzimas proteolíticas. Estos representan una mejor forma de utilización de las proteínas y se utilizan como suplementos dietéticos, para necesidades fisiológicas en personas de la tercera edad, bebés prematuros o lactantes con síndromes de mala absorción y deportistas que controlan su peso.

Son muy utilizados debido a su rápida y completa absorción a nivel digestivo en comparación a la proteína intacta sin hidrolizar.

Productos de panadería, pastelería, confitería y aperitivos: Los concentrados de proteína de suero son ingredientes muy comunes en la industria panadera y pastelera debido en buena parte al sabor lácteo, a la blandura que imparten los productos, además de mejorar el valor nutritivo, el color y la apariencia. Sirven también para reemplazar total o parcialmente a los huevos en la elaboración. Una aplicación importante es la coloración de los caramelos y dulces de chocolate, es causada principalmente por reacciones químicas de caramelización y de Maillard, ambas reacciones necesitan disponer de una fuente de azúcares reductores (glucosa, lactosa, etc.). La reacción de Maillard, además, necesita disponer de una fuente de aminoácidos, péptidos o proteínas, ya que se produce por unión no enzimática del grupo carbonilo, de azúcares reductores como glucosa y fructosa, con el grupo amino de proteínas y ácidos nucleicos. Los productos del lactosuero suministran los ingredientes apropiados para esta reacción: la proteína y la lactosa. [22]

#### 1.5. Beneficios

El lactosuero posee diversos beneficios de los cuales se destaca su característica soluble y estabilidad a pH bajos por lo que es apropiado su uso en productos acidificados, de igual modo es también estable a altas temperaturas. Es importante resaltar que la desnaturalización y pérdida de solubilidad ocurre a una temperatura mayor a 60 °C y a un rango de pH de 4,6 a 6,0. De otro lado, posee una muy buena capacidad de gelatinización y su resistencia está influenciada principalmente por la concentración de proteína. Además, provee textura, tiene un sabor neutro, tiene alta digestibilidad, es una fuente rica en proteína y puede reemplazar la leche en polvo descremada en la elaboración de helados para reducir costos [23].

También, dispone de una buena capacidad para aumentar la viscosidad, lo que permite estabilizar emulsiones en los productos horneados. Puede ser utilizado como remplazo del huevo “La cantidad de espuma, el tamaño pequeño de las celdas de aire, se incrementan al aumentar las concentraciones de proteína disminuye por la desnaturalización de las proteínas y la concentración de productos no proteicos como lípidos” [24].

La proteína de suero de leche y los aislados de proteína satisface los requerimientos de las personas que llevan a cabo el ejercicio de manera regular.

Se debe tener en cuenta que el perfil del aminoácido del suero de la leche es idéntico al del esqueleto humano, de manera que la proteína de suero contribuye y proporciona todos los aminoácidos correctos (material básico de las proteínas en una proporción aproximada a la proporción que estas tienen en el músculo esquelético).

Otro de sus beneficios es que ayuda al sistema inmunológico a través de las proteínas de suero que están involucradas en los efectos prebióticos, la generación de la reparación del tejido, el mantenimiento de la integridad intestinal, la destrucción de patógenos y la eliminación de toxinas [25].

#### 1.6. Requerimientos físico-químicos

Las características físico-químicas del suero de queso podrían determinar el destino último de este subproducto en la producción de alimentos tanto para el consumo humano como animal. Su composición varía en función del proceso tecnológico utilizado en la elaboración de queso y de la leche de partida, la que cambia según sea la raza del animal, el tipo de alimentación suministrada y el período de recolección.

El suero debe cumplir con requisitos físico-químicos mínimos para ser procesados. Los mismos no se especifican en el “Registro Sanitario de alimentos, cosméticos, juguetes y otros

productos de interés sanitario: Regulaciones e Indicadores” [26]. Al ser este un subproducto de la elaboración de quesos, no tiene normas específicas para su caracterización, por lo que en este trabajo se toman como referencia las normas nacionales e internacionales, definidas para leches y productos lácteos.

De manera general para todos los productos lácteos se exige indicadores generales químicos que son pH, acidez, grasa, proteína y caracteres organolépticos. De manera específica es necesario análisis de humedad y densidad para obtener leche en polvo y quesos; sólidos totales para el caso del helado, leche pasteurizada y yogurt; cloruros y cenizas para todas las variantes de quesos [26].

El pH que se determina tras el procesamiento del suero inmediatamente después de haber sido recuperado de la industria quesera y es el indicador que le da a esta materia prima la categoría de suero dulce o ácido [27].

La acidez del suero depende del grado de acidificación que se haya dado durante el proceso de elaboración y varía según el tipo de queso que se procese. Aquellos tipos de queso que utilizan cultivos lácticos en su elaboración pueden presentar valores altos de acidez. Al respecto Viteri [28] manifiesta que la acidez de los productos lácteos es debida a la fermentación de la lactosa a ácido láctico, en la que intervienen bacterias acidificadoras. La baja acidez favorece la calidad del suero, porque interfiere en el proceso de precipitación de las seroproteínas y, por ende, permite un mejor aprovechamiento de éste, tanto para la alimentación humana como la alimentación animal.

El contenido de grasa en el suero varía en función de la calidad composicional de la leche y el tipo de trabajo mecánico antes y después de la coagulación del líquido; encontrándose que altos contenidos de grasa y caseína en el suero traen consigo disminución en el rendimiento

quesero. Para la obtención de concentrados proteicos y lactosa de excelente calidad y alto valor agregado, es importante la eliminación de grasas del suero de queso. Esta eliminación es considerada esencial porque las grasas constituyen uno de los agentes de saturación que pueden contribuir, por ejemplo, para la disminución del flujo en el proceso con membranas, lo que puede ocasionar la obtención de productos con sabores y aromas alterados durante el almacenamiento [29].

Las proteínas en el suero es uno de los elementos con mayor potencialidad para su obtención y posterior uso industrial. Se afecta por las transformaciones químicas que ocurren por el desdoblamiento de las proteínas cuando estos subproductos son fermentados producto de la adición de bacterias ácido lácticas, por lo que el suero más utilizado para la obtención de proteínas es el suero dulce que procede de la coagulación enzimática de la leche [25].

La evaluación sensorial como disciplina científica sirve para analizar e interpretar las reacciones que tienen los consumidores frente a los alimentos. En este contexto, Teniza Garcia [14], definió a la evaluación sensorial "como un conjunto de técnicas de medida y evaluación de determinadas propiedades de los alimentos, por medio de uno o más de los sentidos humanos".

La humedad del suero de leche de vaca es una variable difícil de controlar ya que varía mucho dependiendo del contenido de agua inicial, la manipulación de la cuajada y las condiciones de almacenamiento. Una mayor cantidad de agua demerita al suero como posible alimento, y conspira de forma negativa llegada la hora de la transportación [30].

La densidad se relaciona con las partículas que puedan pasar de la masa de cuajada al suero al momento del desuere, lo que puede darse por el trabajo mecánico fuerte que se le dé a la

cuajada durante la agitación en la tina quesera, o a temperaturas bajas de coagulación de la leche por debajo de 32 °C [15].

El contenido de sólidos totales puede variar dependiendo del contenido de proteína, lactosa, sales minerales que tenga el suero analizado y puede estar sujeto también, al tipo de proceso utilizado en la elaboración del queso; en donde la materia seca del suero consigue quedarse en la masa de cuajada obtenida [18]. A mayor cantidad de sólidos totales del suero, mayor será el rendimiento de producción de queso Ricotta [31].

El contenido de cenizas está estrechamente relacionado con la densidad y los sólidos no grasos para todos los sueros, ya que, a mayor contenido de cenizas, existe mayor contenido de densidad y sólidos, mientras que el contenido de grasa es menor al igual que menos minerales en su composición [4].

Por otro lado, todo proceso que incluye el fraccionamiento y la concentración de las proteínas del suero debe considerar también cuantificar la lactosa, que es el componente que se encuentra en mayor cantidad y la principal responsable por la elevada carga orgánica del suero. Para elaborar quesos con coagulación ácida los contenidos de lactosa son menores y para coagulación enzimática mayores. Se tiene también que valores menores en el contenido de lactosa se relacionan con la capacidad de transformarse en ácido láctico, a medida que avanza el tiempo de recolección del suero y por ello, es necesario que se trate adecuada y de manera rápida en lo referido con el enfriamiento y eliminación de partículas de queso para evitar la transformación de la lactosa en ácido láctico [32].

Referencias internacionales como la AOAC, INEN, COVENIN también incluyen análisis de minerales del suero donde sobresale el potasio en una proporción de 3 a 1 respecto al sodio, lo que favorece a la eliminación de líquidos y toxinas. También, se destaca por su elevado

contenido de calcio, fósforo, sodio, magnesio y oligoelementos como el zinc, hierro y cobre; formando todos ellos sales de gran biodisponibilidad para el buen funcionamiento del organismo [33].

Capítulo 2:  
Métodos de análisis

## 2. MÉTODOS DE ANÁLISIS

En el presente capítulo se analizarán las técnicas analíticas que se utilizan según las normas internacionales y nacionales, para determinar cada uno de los requisitos fisicoquímicos mínimos que caracterizan al suero lácteo, como se planteó en el capítulo anterior.

### 2.1. Características sensoriales

Para la industria alimentaria la evaluación sensorial es de vital importancia, por cuanto a través de ella se puede conocer y valorar las características organolépticas de cualquier producto, por tal motivo se constituyen grupos catadores y de expertos. La aceptación de un producto depende de muchos factores, de ahí la importancia de conocer los gustos y preferencias de los consumidores.

Para establecer la aceptación de productos de esta naturaleza se sugiere realizar pruebas de evaluación sensorial tomando como referente las pruebas de aceptación o hedónicas, pudiendo optarse por la prueba de aceptabilidad por ordenamiento. Los resultados obtenidos deberán ser sometidos a análisis estadísticos [15].

**Aspecto** En este acápite se toman en cuenta la forma, el tamaño, el color y el aspecto externo; esta es una etapa anterior a la degustación.

**Textura** Se valoran las características mecánicas, geométricas y otras sensaciones bucales. Las características mecánicas encierran la elasticidad, firmeza, debilidad y adherencia del producto; las geométricas hacen referencia a la presencia de grumos; las otras sensaciones bucales incluyen la solubilidad; es decir si el producto se funde en la boca de manera rápida.

**Conjunto olfato-gustativo** Se utiliza este indicador para analizar el olor, sabor y aroma, la persistencia y gusto residual. Describe la sensación de olor en cuanto a su intensidad y a la

calidad del mismo; en cuanto al sabor y aroma, persistencia y gusto residual se valora en su conjunto la intensidad y calidad del sabor y aroma, así como la persistencia en boca o permanencia de la sensación del producto en boca y el gusto residual.

## 2.2. Determinación de humedad

**Medición termogravimétrica** La mayoría de los métodos tradicionales para determinar el contenido de humedad son demorados, invasivos y requiere mano de obra intensiva. El método más común y de referencia en Cuba para determinar el contenido de humedad es analíticamente midiendo la pérdida de peso a través del secado en mufla o estufa, en el cual, se reporta un cambio de peso de la muestra después de la evaporación del agua absorbida en el horno [34]. En el protocolo existen actividades que pueden afectar dicha determinación como pueden ser la tara de crisoles, la manipulación de la muestra y el medio ambiente, los cuales son factores que influyen directamente en la determinación del porcentaje de humedad ocasionando mediciones del peso incorrectos. Esta técnica requiere normalmente de varias horas para conocer los resultados y se pierden compuestos volátiles junto con el agua.

El método de secado en termobalanza se basa en evaporar de manera continua la humedad de la muestra y anotar el registro continuo de la pérdida de peso, hasta que la muestra se sitúe a peso constante. El error de pesada en este método se minimiza cuando la muestra no se expone constantemente al ambiente [17].

**Métodos espectroscópicos** El uso de la espectroscopia en análisis de la humedad incluye infrarrojo, microonda, y la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) para determinar la humedad superficial y total, respectivamente. Éstos son métodos de medición indirectos que pueden tardar un tiempo largo para la determinación debido a la necesidad de

calibrar usando muestras múltiples, y por lo tanto se utilizan no mucho en análisis industrial de la humedad del suero [34].

La radiación infrarroja se utiliza en muchos analizadores de la humedad, tales como analizadores de la humedad del halógeno que se utilizan para producir la radiación infrarroja de una lámpara del halógeno. El peso de la muestra se mide registrándolo continuamente y una vez que llega a ser constante se para la sequedad. La diferencia en el peso de la muestra en el extremo de la sequedad se utiliza para calcular el porcentaje de la humedad. La luz halógena ha demostrado ser muy preciso, optimizar los gastos energéticos y ser más rápido. Las lámparas del halógeno se utilizan preferentemente a los generadores infrarrojos ordinarios como son mucho más livianas y por lo tanto logran el rendimiento de calor máximo muy rápido, y permiten el mando excelente del proceso de la calefacción mientras que calientan hacia arriba y enfrían hacia abajo rápidamente. Los analizadores de la humedad del infrarrojo y del halógeno son destructivos a la muestra [34].

La radiación del horno microondas es también un método extremadamente rápido de secar una muestra, pero las temperaturas logradas son muy altas, haciéndola conveniente solamente para los materiales muy termoestables. Como el método infrarrojo, la muestra es destruida típicamente por el análisis y el equipo es costoso. Muestras más grandes pueden ser utilizadas pero el nivel de mando de la calefacción se reduce [34]. No es también útil si el contenido de agua está abajo del 2 %.

Los haces del rayo del neutrón y del rayo gamma pueden medir los materiales gruesos y densos del contenido en agua hacia adentro, pero son muy costosos. Son también estrictamente regulado debido a su naturaleza radioactiva.

Titulación de Karl Fischer (KF) es el método de titulación más exacto y más específico para determinar el contenido en agua de una sustancia. Se basa sobre la reacción del yodo con agua de la muestra, en la presencia de disolvente del alcohol, de bióxido de azufre, y de una base. El título del reactivo requerido hasta que se utilice en el punto final es la base sobre la cual el contenido en agua es resuelto. La disolución muestra mantiene un color amarillo canario mientras haya agua, que cambia luego a amarillo cromato y después a pardo en el momento del vire. Las variantes volumétricas y coulombiométricas están disponibles, difiriendo en la talla de la muestra, del contenido en agua medido, de la exactitud y de la manera en encima de los cuales el agua total usada se calcula. La titulación automatizada de KF ha hecho esta técnica conveniente y rápida para la determinación exacta del agua en una muestra. Sus desventajas consisten en que el punto de equivalencia de titulación puede ser difícil de determinar; el reactivo de Fischer es inestable y debe estandarizarse in situ; el dispositivo de la titulación debe protegerse de la humedad atmosférica debido a la excesiva sensibilidad del reactivo a la humedad [17].

Método fosforado del pentóxido es un agente de desecación potente si está colocado en proximidad a los materiales con los cuales es químicamente no-reactiva y, por tanto, absorbe el agua de la muestra. En este método, el pentóxido fosforado se coloca con la muestra en un frasco de contenedor cerrado que entonces se calienta. El aumento final en el peso de la sustancia química se mide para dar el contenido de agua de la muestra desecada [35]. El pentóxido fosforado es una sustancia química peligrosa.

Destilación azeotrópica se basa en la destilación simultánea del agua con un líquido inmiscible de alto punto de ebullición, como son tolueno y xileno, en proporciones constantes. Este

método es más preciso que el secado en estufa ya que no afecta la humedad del ambiente. El dispositivo es sencillo de manejar, toma poco tiempo la determinación y se previene la oxidación de la muestra. Tiene como desventajas que los disolventes inmiscibles como tolueno son inflamables; se puede registrar altos residuos debido a la destilación de componentes solubles en agua, como glicerol y alcohol; cualquier impureza puede generar resultados erróneos [17].

### 2.3. Determinación de sólidos totales

Métodos Gravimétricos: Es fundamentado en la evaporación del agua de una muestra de peso conocido y la pesada del residuo seco. La evaporación puede hacerse por diferentes técnicas como son el calentamiento preliminar en baño de vapor, seguido de desecación a 98-100 °C, en estufa hasta peso constante (método oficial de la Association of Official Analytical Chemists A.O.A.C 19th 948.12.); la evaporación preliminar sobre una placa termoeléctrica hasta la aparición de las primeras trazas de color marrón, seguido de desecación al vacío a 100 °C (método de Mojonier, 1925); y el calentamiento con una lámpara de rayos infrarrojos o por el calor irradiado de una resistencia eléctrica (técnicas aplicadas en las Balanzas de Ohaus, Cenco, y similares). Los resultados obtenidos en el método de Mojonier son más exactos que los arrojados por el método de la A.O.A.C., debido principalmente a las altas temperaturas alcanzadas en este último, que conlleva a la formación de una película superficial que dificulta mucho la evaporación, impidiendo muchas veces la total eliminación del agua. A las temperaturas próximas a los 100 °C, se pierden junto con el agua ciertos componentes volátiles como ácidos grasos de cadena corta. [36]

Métodos Volumétricos: permiten la determinación del agua contenida en la muestra de suero, por técnicas volumétricas tal como la destilación y subsiguiente medición del agua destilada en un tubo colector graduado, como en el método de destilación con tolueno aplicado en el análisis de leche en polvo.

Métodos indirectos. En este grupo encontramos la determinación de peso específico, cuyo valor conocido de porcentaje de grasa, permite calcular, mediante fórmulas especiales tanto el porcentaje de sólidos totales como el de sólidos no grasos. Esta determinación puede hacerse utilizando diversas técnicas como aquellas que emplean la balanza de Mohr-Westphal, el picnómetro, el lactómetro o las técnicas de la esfera plásticas [36]. Las fórmulas simplificadas de Babcock como métodos indirectos se muestran a continuación, donde % ST: porcentaje de sólidos totales, % SNG: porcentaje de sólidos no grasos, L: lectura lactométrica corregida (15 °C) en grados Quévenne y G: porcentaje de grasa.

$$\%ST = (0,25 * L) + (1,22 * G) + 0,55 \qquad \%SNG = (0,25 * L) + (0,22 * G) + 0,55$$

#### 2.4. Determinación del pH

Método potenciométrico: La determinación de pH según la norma NC 781103 [37] se basa, en la diferencia del potencial establecido entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia, usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH una solución reguladora del pH. Los electrodos limpios y secos se introducen en la porción de ensayo y se procede a la determinación con el potenciómetro. Se calcula el promedio de tres determinaciones y el resultado se expresa en unidades de pH [38].

Otro método para medir pH es el uso de papeles o cintas indicadoras embebidas en soluciones colorantes que cambian de color según el pH del suero. Estos resultados son muy aproximados y dependen de la agudeza visual del operador.

#### 2.5. Determinación acidez titulable

Método volumétrico: La acidez de la muestra se expresa en % de ácido láctico como establece la NC 71: 2000 [39]. Este método se basa en la neutralización de la acidez de la leche mediante la adición de una base en presencia de un indicador cromático, cuyo cambio de color evidencia el punto final de la reacción. Se calcula utilizando el miliequivalente gramo del ácido láctico que es 0,090 según la ecuación:

$$Acidez \% = c(NaOH) * V(NaOH) * 0,090 * \frac{100}{V(suero)}$$

Si bien la medición de la acidez del suero es muy sencilla puede haber cierta imprecisión debida a la cantidad de indicador utilizado, a que el punto final de la titulación no sea claro porque depende de la agudeza visual del operador, y a que la coloración rosa desaparece progresivamente [38].

Método conductimétrico: Existen medidores para la acidez como el refractómetro PAL-Easy ACID91 que mide la acidez total del suero mediante su relación con el flujo de corriente eléctrica y la convierte en concentración de ácido láctico. Este equipo no requiere absolutamente ningún tipo de reactivo ni gastos adicionales para la medición de los niveles de acidez; los procedimientos de medición son simples y rápidos; es ligero y fácil de transportar; y los valores de medición son fáciles de leer [40].

## 2.6. Determinación de densidad

Método del picnómetro: La densidad o masa específica de una sustancia se define como la masa de su unidad de volumen [g/mL] y se determina por pesada. La densidad depende de la temperatura, la cual debe ser especificada en el resultado. Para determinar la densidad empleando el picnómetro se debe restar el peso del picnómetro con la muestra, del peso del picnómetro vacío, obteniendo el peso de la muestra; el cual se divide entre el volumen del picnómetro que está impreso en la pared del frasco, dando como resultado la densidad de la muestra [41].

Método de aerometría: se basa en el principio de Arquímedes, según el cual un cuerpo sumergido en un líquido es impulsado por éste en un sentido de abajo hacia arriba con una fuerza igual al peso del líquido que desplaza. Los tipos de aerómetros utilizados son el alcoholímetro (grados Gay Lussac) y el lactodensímetro (grados Quévenne). Este último es el utilizado según la [42], calibrado a 15 °C o a 20 °C con escala graduada en 0,5 o 1 grado lactodensímetro. La lectura a la temperatura de calibración del termolactodensímetro se realiza de forma tal que el límite superior del menisco que forma el líquido, corta la escala graduada del instrumento en grados lactodensimétricos. La densidad del suero  $D$  expresada en  $\text{g/cm}^3$  a 15 °C o 20 °C se calculará mediante la siguiente expresión, donde  $L$  son los grados lactodensímetros de la lectura del termolactodensímetro.

$$D = 1,0 + 0,001 L$$

Métodos matemáticos: Para los derivados de la leche, por técnicas de regresión múltiple y considerando 146 observaciones de muestras de leche analizadas durante 5 años, en un intervalo de 10 °C a 80 °C; Alvarado (1987) [43], obtuvo una primera ecuación que considera

como variable dependiente a la densidad y como variables independientes el porcentaje de sólidos totales y a la temperatura, donde: D: Densidad de la muestra ( $\text{kg/m}^3$ ), T: Temperatura de la medición ( $^{\circ}\text{C}$ ), S: Porcentaje de sólidos totales de la muestra.

$$D = 1011 - 0,7184 * T + 2,5893 * S$$

Otra ecuación para la determinación de la densidad en función de sus componentes lo constituye la siguiente; donde P: % proteína, F: % grasa y L: % lactosa.

$$D = 1,007125 + 0,0001227 * F + 0,00327 * P + 0,00281 * L$$

## 2.7. Determinación de cenizas

El residuo por incineración del suero está constituido principalmente por óxidos de potasio, sodio, calcio, magnesio, fósforo y por cloruros. Para la determinación de cenizas se siguen métodos para determinación en seco y en húmedo [15].

La determinación en seco es el método más común para determinar la cantidad total de minerales en alimentos y este método se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica en la muestra, este método es eficiente ya que determina tanto cenizas solubles en agua, insolubles y solubles en medio ácido. Sus ventajas radican en que es simple, no requiere atención durante la generación de cenizas, no requiere reactivos, se pueden manejar muchas muestras y es un método estándar para la determinación de cenizas. Sus desventajas son que se requiere alta temperatura, el equipo es caro, hay pérdidas por volatilización, hay interacciones entre minerales y recipientes, hay absorción de elementos traza por recipientes de porcelana o sílice y el calentamiento excesivo puede hacer ciertos componentes insolubles [33].

Por otro lado, la determinación húmeda se basa en la descomposición de la materia orgánica en medio ácido por lo que la materia inorgánica puede ser determinada por gravimetría de las sales que precipiten, y también por algún otro método analítico para las sales que permanezcan en disolución acuosa o ácida. Para la determinación húmeda se dan cenizas alcalinas, ácidas y neutras y esto se basa en el tipo de anión o catión ya sea metálico o complejo de tal suerte que hay cenizas como tartratos, citratos que producirán cenizas con un carácter alcalino, esto es demostrable para otros compuestos minerales. Es necesario tomar en cuenta que también un índice de alcalinidad de cenizas es muestra del contenido de carbonatos en disolución acuosa. Relativamente no se requiere alta temperatura, pero sí altas cantidades de materiales corrosivos, que hacen que las reacciones sean fumantes. El dispositivo es simple y la oxidación es rápida, aunque el procedimiento es tedioso y gasta mucho tiempo. Se mantiene la disolución acuosa lo cual es bueno para análisis mineral. También requiere estandarizar los reactivos [33].

## 2.8. Determinación de la grasa

Métodos Gravimétricos: El contenido de materia grasa es expresado como porcentaje m/m y es determinado gravimétricamente por extracción de la grasa de una solución alcohólica amoniacal del suero de leche, utilizando éter etílico y éter de petróleo; los solventes son removidos por destilación o evaporación, determinándose la masa de las sustancias extraídas. Este principio es conocido como de Rose Gottlieb, y es un método de referencia que se describe en la NC-ISO 1211: 2001 [44]. La muestra no puede mostrar separación apreciable de grasa ni ocurrencia de lipólisis. La extracción se realiza por agitación de la muestra con los reactivos en un frasco especial que facilita la decantación del extracto etéreo superior, el cual

se separa arrastrando la grasa disuelta. El extracto etéreo se coloca en un plato de aluminio previamente pesado y tarado, donde por calentamiento en una plancha eléctrica se evapora la mezcla de solventes, seguidamente el residuo se somete a desecación al vacío, se enfría en un desecador y se pesa. El porcentaje de grasa en la mezcla se calcula por diferencia de peso.

Método Volumétrico: El método de Gerber perfeccionado por el químico Suizo N. Gerber, en 1892, se fundamenta al igual que el de Babcock, en el empleo del ácido sulfúrico y la fuerza centrífuga para separar la grasa de la leche o sus derivados en unas botellas especiales que permite medir directamente el porcentaje de grasa por volumen. El valor obtenido en la escala del lactobutirómetro corresponde directamente al porcentaje de grasa, cuya lectura debe realizarse en el menisco inferior. Este método es mucho más rápido, pero menos preciso. A diferencia del método de Babcock, el método de Gerber utiliza alcohol isoamílico, el cual ayuda a disminuir la tensión interfacial favoreciendo la ruptura de la emulsión, la separación de la grasa, además de prevenir la sulfonación y carbonización de la misma. El método de Gerber tiene las siguientes ventajas sobre el de Babcock: es más rápido, requiere menor cantidad de ácido y sus resultados no son afectados por la homogenización y son ligeramente superiores. Sin embargo, tiene la desventaja de necesitar otro reactivo, tapones especiales que deben ser reemplazados con el uso y es más peligroso [36].

Métodos Instrumentales: fundamentados en la determinación de la medición de la turbidez en condiciones controladas, siendo proporcional en algún sentido a su contenido de grasa. Equipos especiales de lectura rápida lo constituyen el analizador de lácteos Milkotester y el Lactronic. Los resultados de estos equipos son confiables y comparables con los obtenidos

analíticamente con cualquier otra técnica. De igual manera, el equipo Near Infrared Reflectance (NIR) es muy rápido, pero tiene un costo muy alto y requiere calibración [35].

## 2.9. Determinación de nitrógeno en proteínas

Existe gran variedad de métodos de análisis para proteínas, algunos cuantifican a través del contenido de nitrógeno y otros a través del contenido de proteínas. El factor por el cual hay que multiplicar el valor del nitrógeno para obtener la proteína de los sueros de leche es 6,38.

Método Dumas, también conocido como método de combustión, es un método primario de determinación de nitrógeno y proteínas que garantiza resultados rápidos, facilidad de uso y seguridad. La determinación de nitrógeno con la técnica Dumas requiere muestras bien homogeneizadas, calentadas en un horno de alta temperatura donde la combustión ocurre rápidamente a más de 1 000 °C en presencia de oxígeno puro. Esto produce principalmente agua, dióxido de carbono y nitrógeno en forma de diferentes óxidos. Esta mezcla de gases pasa a través de una cámara de reducción que contiene cobre calentado a unos 650 °C. Este paso convierte los óxidos de nitrógeno en nitrógeno elemental y recoge el exceso de oxígeno. Las trampas específicas eliminan el agua residual y el dióxido de carbono. El contenido total de nitrógeno se mide con un detector de conductividad térmica [45].



## Figura 2 Analizador Dumas

Fuente: <https://www.velp.com/es-sa/analisis-elemental-metodo-dumas-1.aspx>

Método volumétrico ácido-base El método más comúnmente utilizado es el llamado método Kjeldahl. El procedimiento es directo, el material necesario es muy simple (aparato de destilación Kjeldahl), y es fácilmente adaptable al análisis rutinario de un gran número de muestras. Es el método estándar para la determinación del contenido proteico. Sus desventajas están en que es un método no tan sensible, largo, que utiliza reactivos corrosivos y pueden ocasionarse pérdidas de nitrógeno durante la digestión o durante la destilación. En él, la muestra se descompone en caliente medio sulfúrico, en presencia de un agente reductor, (sulfato de cromo, zinc, sucrosa o ácido salicílico) catalizador (mercurio, cobre o selenio). También suele adicionarse una sal neutra para aumentar el punto de ebullición de la disolución de ácido sulfúrico, con lo cual se favorece la descomposición. El tratamiento transforma el nitrógeno de la muestra en  $\text{NH}_4^+$ . La posterior adición de una base fuerte libera el  $\text{NH}_3$ , que es arrastrado hasta un frasco colector por destilación en corriente de vapor. El frasco colector contiene un volumen medido de una disolución estándar de ácido, de forma que una fracción de ácido es neutralizada por el  $\text{NH}_3$ . Al finalizar la destilación se procede a valorar el ácido no consumido con una disolución de base patrón. El volumen de disolución básica consumido hasta llegar al punto de equivalencia permite conocer la cantidad de  $\text{NH}_3$ , y de esta forma, la cantidad de nitrógeno en la muestra [46].

La determinación de proteínas mediante el método del ácido tricloroacético, presenta una fuerte correlación con el método de Kjeldahl; elevada precisión; rapidez (menos de 15 minutos) y sencillez en la realización del análisis; razones por las que se aconseja este método para el control de proteínas en forma de nitrógeno no proteico del suero de leche. Así mismo,

este procedimiento, es de gran utilidad para la determinación de proteínas en muestras utilizadas para electroforesis. A la muestra de suero se le dispersa en agua, para añadirle el ácido y luego homogeneizar y centrifugar. Se procede a determinar nitrógeno como mismo se realiza el método de Kjeldahl.

Método de Kofranyi o del nitrógeno álcali lábil es un método rápido basado en la liberación de amoníaco cuando el suero es calentado a ebullición en solución alcalina. La destilación se realiza durante seis minutos exactamente medidos a partir del inicio de la ebullición, recogidos sobre  $H_3BO_3$  4 %, y titulando el destilado con  $H_2SO_4$  0,1N; con el uso de los indicadores rojo de metilo y verde de bromocresol en alcohol. La mayor parte del amoníaco liberado proviene de la rápida hidrólisis de los residuos que contienen función amida (glutamina y asparagina). El porcentaje de proteína se realiza utilizando una curva de calibración que lo relaciona con los mL de  $H_2SO_4$  gastados, con lo cual, existe la necesidad de tener un patrón de proteínas conocidas [25].

Método Sorensen-Walker: tras la adición de formol a la muestra de suero, el formaldehído se une a los grupos amino de los aminoácidos de las proteínas, dejando los grupos carboxilos libres. Este hecho, produce cambios en la acidez titulable del suero, siendo valorada con hidróxido sódico. La cantidad de hidróxido sódico utilizado en la neutralización es utilizada para calcular la cantidad de proteínas presente en la muestra. Este principio es de muy bajo costo y útil como método alternativo porque sus resultados son más bajos que el método oficial. [33], [47]

$$\%N = V(NaOH) * N(NaOH) * 0,014 x 100 / \textit{peso de muestra}$$

Métodos espectrofotométricos: La mayoría de las proteínas del suero de leche muestran una absorción (A) a 280 nm, la cual se atribuye al grupo fenólico de la tirosina y al grupo indólico

del triptófano. Tiene la ventaja de que no es necesario utilizar reactivos y la muestra no se daña o destruye durante la determinación. Si se conoce el valor del coeficiente de extinción molar ( $\epsilon$ ) y la longitud de la celda ( $l$ ), se puede determinar la concentración de la proteína ( $c$ ) de forma exacta, mediante la ley de Lambert –Beer:

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

El valor del coeficiente de extinción molar se conoce determinando la absorbancia de una solución proteica de concentración conocida [48].

La técnica de Espectrofotómetro infrarrojo de Transformada Rápida de Fourier (FTIR), ha sido utilizada para analizar hidrolizados de caseína y proteínas del suero en relación a sus propiedades funcionales. El espectro obtenido con un equipo de FTIR muestra picos de intensidad asociados a los modos fundamentales de vibración de cada enlace molecular presente en la muestra analizada, la presencia e intensidad de este pico nos indica la presencia de una determinada molécula. La mayor ventaja de la técnica de espectroscopia de infrarrojo es que usualmente las muestras a analizar no necesitan preparación y hacen que el análisis sea simple y rápido, además de que puede ser realizado en línea. Otra ventaja es que la espectroscopia de infrarrojo permite el análisis de diversos constituyentes en una misma muestra. Para validar el proceso de medición, es necesario el apoyo de técnicas cuantitativas que permiten hacer de la técnica cualitativa FTIR, una técnica cuantitativa también. Para realizar las mediciones mediante el modo de muestreo por Reflectancia Total Atenuada (ATR), utilizando un FTIR se mide primeramente la reflectancia de referencia (la del cristal de selenuro de zinc (ZnSe) solo). Esto sirve para registrar la reflectancia asociada al sistema. Posteriormente se mide la reflectancia de la muestra colocando ésta sobre el cristal y el sistema elimina de esta medición la señal asociada a la referencia de ZnSe, quedándose

solamente con la reflectancia de la muestra. Finalmente se obtienen los espectros ATR-FTIR asociados a las vibraciones de los diferentes grupos funcionales de la estructura química de la muestra a analizar [49].

Métodos colorimétricos: La determinación del contenido de proteínas por estos métodos se basa en la capacidad que tienen las proteínas de unir ciertos colorantes, con lo cual se identifican en el espectro de luz visible y se cuantifican mediante una curva de calibración patrón. Son métodos donde la muestra se destruye [50].

El método de Biuret se basa en la formación de un complejo coloreado entre el  $\text{Cu}^{2+}$  y los grupos  $\text{NH}_2$  de los enlaces peptídicos en medio básico (NaOH o KOH). Color violeta se lee a 540 nm contra curva estándar. La intensidad de coloración es directamente proporcional a la cantidad de proteínas (enlaces peptídicos) y la reacción es bastante específica, de manera que pocas sustancias interfieren. La sensibilidad del método es muy baja, aunque es muy barato.

El método de Lowry combina la reacción del Biuret con la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu en medio básico, por los grupos aromáticos de residuos de tirosina, triptófano, cistina, cisteína e histidina; donde origina un compuesto azul intenso que se mide a 750 nm en el espectrofotómetro. Es bastante sensible, aunque muestra muchas interferencias.

El método de Bradford se basa en la unión de un colorante, Coomassie Blue G-250 (también Serva Blue) a las proteínas. El colorante, en solución ácida, existe en dos formas una azul y otra naranja. Las proteínas se unen a la forma azul para formar un complejo proteína-colorante que puede ser leído a 595 nm, con un coeficiente de extinción mayor que el colorante libre. Este método es sensible (1-15  $\mu\text{g}$ ), simple, rápido, barato y pocas sustancias interfieren en su determinación.

El ácido bicinconínico, BCA, es un compuesto capaz de formar un complejo púrpura intenso con iones  $\text{Cu}^{1+}$  en medio alcalino. Este reactivo forma la base de un método analítico capaz de monitorizar el ion cuproso producido en la reacción de Biuret. La estabilidad del reactivo y el cromóforo proporciona este método sencillo, rápido, muy sensible, y que muestra una gran tolerancia a compuestos que afectan a otros métodos para la cuantificación de proteínas.

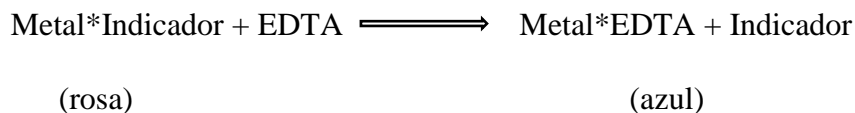
Métodos electroforéticos: Una de las técnicas más sencillas para la separación (y posterior cuantificación) de proteínas es la electroforesis (técnica en la cual una partícula cargada se hace desplazar a través de un medio aplicando un campo eléctrico). El revelado de las proteínas para identificar su presencia y separación se realiza mediante colorantes (ácidos, negro amido, rojo Ponceau) que se fijan sobre las funciones básicas de las proteínas. El exceso de colorante se arrastra con mezclas acético-agua, o metanol-acético, según el colorante utilizado con tal de que se decolore el soporte sin elución del colorante fijado a las proteínas. La cuantificación de las fracciones electroforéticas se logra mediante fotómetros especiales (densitómetros) que permiten cuantificar el colorante fijado a diferentes distancias del punto de aplicación, y con ello la representación gráfica de la separación (proteinograma: gráfica que representa las fracciones proteicas del suero). Los soportes más utilizados para llevar a cabo el desarrollo electroforético del suero, son el de acetato de celulosa "Cellogel" y el gel de poliacrilamida [51].

Método polarográfico: Basándose también en el diferente contenido en C<sub>is</sub> de las proteínas de suero y de las caseínas, se ha desarrollado este método donde, la muestra se suspende en ácido clorhídrico y se disuelve en un tampón que contiene urea y anhídrido sulfuroso que permite la reducción de todos los residuos de C<sub>is</sub> a C<sub>ys</sub>, la cual se hace reaccionar posteriormente con el

cloruro de metil mercurio. La polarografía se usa para determinar la cantidad residual de cloruro de metil mercurio no consumida por los grupos SH libres y los procedentes de la cistina después de la adición del sulfuroso. El método ha sido validado y es oficial en Alemania (DIN, 1994). Aunque es útil para una gran variedad de muestras, su principal inconveniente es la toxicidad del cloruro de metil mercurio [51].

#### 2.10. Determinación de minerales

Los métodos de determinación más comunes de los minerales del suero se basan en la titulación complejométrica con EDTA (etilendiaminotetraacético) o algún otro quelante y por gravimetría (para cationes metálicos). El final de la titulación se detecta usando indicadores que cambian de color cuando forman complejo con los minerales. Los indicadores que se pueden emplear son la calgamita y el negro de eriocromo, los cuales cambian de azul a rosa cuando forman complejo con el calcio y magnesio.



Hay variantes para elementos con sodio (Na) y potasio (K) que no se pueden titular con EDTA, este método es el de cloroplatinato de Lindo-Gladding. Este método se basa en la insolubilidad del perclorato en alcohol y en otros disolventes orgánicos. Si la determinación es cuidadosa el método de cloroplatinato rinde resultados muy precisos, pero en la actualidad tienden a sustituirse por métodos más precisos y costosos como la fotometría de llama, la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) o la espectrometría de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES). En las muestras de suero es posible determinar el fósforo soluble (P) mediante métodos de resonancia magnética

nuclear (RMN) puesto que las resonancias de este difieren de la del fósforo unido a las caseínas. Recientemente, se ha puesto a punto un método de  $^{31}\text{P}$ -NMR con el que es posible determinar cuantitativamente el P del suero, utilizando patrones externos, en un tiempo de 1.7 h aproximadamente [52].

El Calcio (Ca) se precipita a pH 4 como oxalato (si hay fosfato presente se puede eliminar con ácido acético), posteriormente el oxalato se disuelve en ácido sulfúrico liberando ácido oxálico el cual se titula con una solución valorada de permanganato de potasio.

Para determinar azufre (S) libre se necesita su oxidación antes de la incineración con objeto de determinar azufre como sulfato de bario y para ello se utiliza comúnmente peróxido de sodio, nitrato de magnesio y ácido perclórico [52].

Espectrofotometría de absorción atómica (AAS, por sus siglas en inglés). Se ocupan estándares de cada mineral y cada estándar se diluye en distintas concentraciones para hacer una curva de calibración. A la muestra de suero se le adiciona ácido tricloroacético (TCA) para que ocurra la precipitación, la cual está asociada a un contenido de calcio. Una vez centrifugado se realizan dos diluciones en el caso de los minerales sodio y calcio, mientras que se realizan tres diluciones para el potasio. Se colocan las muestras en el lector de minerales del espectrofotómetro de absorción atómica una a una, cumpliendo las condiciones instrumentales y regulando las longitudes de ondas para el Ca: 422,7 nm, Na: 285,2 nm y 766,5 nm para el K. Entre los materiales utilizados para la caracterización de los minerales en el espectrofotómetro se usa un tanque de gas acetileno debido a que este alcanza la temperatura característica para obtener la niebla en la atomización de los metales en estudio [53].

Para la determinación de fósforo se realiza su conversión a fosfomolibdato. Separado por filtración, el fosfomolibdato amónico puede disolverse en un exceso de álcali patrón que es

luego retrotitulado con ácido o en un exceso de amoníaco para precipitar luego el fósforo como fosfato amónico magnésico, que se incinera y se pesa como pirofosfato magnésico. Cuando se trata de trazas de fósforo se puede reducir el fosfomolibdato a azul de molibdeno y determinar colorimétricamente [33].

Fluorescencia de rayos X (FRX). Se utiliza un espectrómetro dispersivo en longitud de onda (WDS) Philips - PW 1 400, bajo las siguientes condiciones: tubo de rayos X con ánodo de Rh, colimador de alta resolución (150  $\mu\text{m}$  entre líneas). Para Ca y Fe se utiliza el cristal analizador LiF 200 ( $2d = 4,028 \text{ \AA}$ ), detector proporcional de flujo de gas (P10, argón-metano), ancho de ventana 75-25, camino de aire (por la naturaleza líquida de las muestras). El análisis se realiza aplicando el método del agregado patrón, permitiendo en este caso particular dada la baja concentración de los elementos, mantener la matriz de las muestras y realizar las medidas en su estado original [14].

En el caso de P, es necesario trabajar en condiciones de vacío para lograr la sensibilidad adecuada, por lo que no se puede realizar sobre muestras líquidas. Por esta razón, las muestras se trabajaron en condiciones sólidas mediante el calcinado de las mismas (cenizas). Se aplicó una metodología que requiere poca cantidad de muestra pulverizada (150 mg), soportada en una pastilla de ácido bórico o celulosa. Estos materiales son de matriz sumamente liviana y se comportan como blanco frente a las radiaciones X, sin provocar interferencias significativas sobre los especímenes. El mismo fue detectado y analizado con el cristal de Ge ( $2d = 5,5320 \text{ \AA}$ ). Para la cuantificación de dicho elemento se aplica también la metodología de agregado patrón [54].

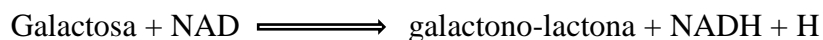
## 2.11. Determinación del porcentaje de lactosa

Métodos químicos: Los principales métodos químicos [17] para el análisis de la lactosa son:

- Reducción de la sal cúprica al óxido cuproso con su determinación gravimétrica (Munson-Walker). Requiere eliminación grasa/proteína.
- Conversión del ácido pícrico (amarillo) a ácido picrámico (rojo caoba) con la eliminación de las dos proteínas.
- Método ácido fenol-sulfúrico donde ocurre la hidrólisis de la lactosa y formación de hexosas. No hay necesidad de eliminar grasa/proteína porque la muestra puede estar muy diluida.
- Cloramina T se determina por valoración con tiosulfato sódico de la cantidad de iodo libre, producido al final de la reacción entre la lactosa y el yoduro potásico-cloramina T.
- Ferricianuro es la determinación colorimétrica en el cambio de absorbancia cuando el ferricianuro (amarillo) se convierte en ferrocianuro (incoloro). Se utiliza citrato sódico para mantener la solución.
- Método de Fehling: es un método volumétrico que requiere entrenamiento, habilidades especiales y mucho tiempo disponible. A la muestra diluida se le agregan 5 ml del reactivo de Courtonne (subacetato de plomo al 30 %), se elimina el exceso de defecante con 5 ml de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (30 %) y se lleva a 100 ml para filtrar por papel. En este líquido se valora la lactosa por el método de Fehling-Causse-Bonnans, que es una prueba química en la cual, reacciona el aldehído (lactosa) cuando se añaden una solución de sulfato de cobre II y una solución alcalina de tatrato sódico 2,3

dihidroxibutanodioato; donde la lactosa pasa a ser ácido láctico y el  $\text{Cu}^{2+}$  se reduce a  $\text{Cu}^+$ . Mediante la titulación del ácido se identifica la cantidad de lactosa que contiene la muestra.

Métodos enzimáticos proporcionan una especificidad que no es posible con los métodos químicos. Determinan niveles muy bajos de lactosa. La lactosa es convertida en glucosa y galactosa por la beta-galactosidasa (beta-gal). A continuación, la galactosa se oxida en presencia de la enzima galactosa dehidrogenasa (Gal-DH) a galactono-lactona y NADH por la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD). La NADH, cuya cantidad es equivalente a la de la lactosa presente en la muestra, se mide 340 nm en mediciones fotométricas. La preparación y análisis de la muestra consiste de varios pasos y podría considerarse que requiere mucho tiempo para el control de calidad ordinario [17].



En la última década se han desarrollado varios tipos de biosensores enzimáticos para la determinación de la lactosa que optimizan la medición en términos de reproducibilidad, precisión y recuperación. Tal es el caso del analizador CDR FoodLab<sup>®</sup> y el analizador Milkoscan; los cuales muestran resultados que se correlacionan con los de los métodos de referencia. Con estos métodos no es necesario personal calificado ni un laboratorio para el análisis; no tiene costos de servicio ni de mantenimiento y el sistema se suministra precalibrado y listo para usar [55].

Métodos físicos Incluyen procedimientos polarimétricos, crioscópicos y espectroscopía infrarroja.[56].

Los métodos polarimétricos parten de la separación por precipitación de la grasa y las proteínas para eliminar posibles interferencias. Conlleva un largo proceso de clarificación para ser utilizado por fotómetros normales, que son equipados con lámparas de tungsteno estándar y un tubo de polarizador de 200 mm, La lectura del polarímetro muestra el poder rotatorio de la solución de lactosa.

Los métodos crioscópicos se proponen para análisis de rutina de los sueros y no requieren la eliminación de proteínas antes de la determinación. Está basado en la adición de lactasa en un buffer midiendo la diferencia en el punto de congelación de la mezcla después del mezclado y la incubación a 37 °C durante una hora. La diferencia en el punto de congelación es proporcional a la concentración de la lactosa.

Los métodos espectroscópicos no se consideran tan precisos como la cromatografía líquida de alta eficacia o los métodos enzimáticos. El método de ATR-FTIR descrito en la determinación de nitrógeno, se utiliza también para muestras que presentan contenido de lactosa, donde el rango de absorción de este compuesto es de 930 a 1 190  $\text{cm}^{-1}$ , con una intensidad suficientemente grande como para enmascarar a la región de los grupos fosfatos (O=P-O). Utilizando espectroscopía infrarroja, se obtiene una curva de calibración construida a partir del ajuste de mínimos cuadrados de los datos experimentales FTIR y la fracción conocida “x” de lactosa en agua. Esta curva de calibración determinada por FTIR sirve como un método alternativo al analizador Milkoscan para estimar el contenido de lactosa, con las ventajas de que este permite percibir cantidades porcentuales mucho menores que Milkoscan [14].

Métodos cromatográficos tienen una importancia particular en la detección y medida de azúcares específicos presentes en una mezcla. Tanto la cromatografía de gases (GC) como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) se han utilizado en la

determinación de lactosa en el suero de leche. Debido a la necesidad de preparar derivados, la GC ha sido reemplazada por la HPLC; la cual ofrece mayores ventajas a todos los métodos en cuanto a especificidad, velocidad, precisión y pequeño tamaño de muestras [19].

Capítulo 3:  
Propuesta de técnicas analítica

### 3. PROPUESTA DE TÉCNICAS ANALÍTICAS

La Empresa de Productos Lácteos Villa Clara, UEB Pasteurizadora Sagua posee un único laboratorio para el análisis de las muestras de leche, suero, yogurt y demás productos que se elaboran allí. En el mismo no existen las condiciones higiénico-sanitarias estipuladas en la Norma Cubana: “Productos lácteos. Requisitos Sanitarios generales” [57], para realizar las caracterizaciones físico-químicas y sensoriales de cada producto, por lo que los resultados que se obtengan allí no serán confiables. La empresa tiene un proyecto aprobado para la realización de otro laboratorio, que debido a la situación epidemiológica y económica que presenta el país, está detenido.

La carencia de análisis físico-químicos como métodos de control de la calidad del suero de leche, viene dada primeramente por el desconocimiento de su considerable contenido nutricional, que permitiría obtener así, productos de mayor calidad y de vida útil más prolongada. A esto se une que la nación cubana se encuentra sumida en una crisis económica desde hace varios años, que se ve agudizada por el recrudecimiento del bloqueo y la COVID-19; lo cual provoca problemas de escasez de divisas y genera importantes impagos a proveedores desde el año 2015/2016, que se refleja en la carencia de equipos, tecnología actualizada y reactivos, a pesar de ser una prioridad en la voluntad política del gobierno.

Las muestras de suero que llegan al laboratorio de la planta en estudio, se analizan sensorialmente por un personal técnico calificado, con experiencia en el trabajo de productos lácteos; y se le determinan los análisis de aspecto, color, textura, olor, sabor y aroma, la persistencia y gusto residual.

Además, se realiza por triplicado los análisis:

- densidad por medio del lactodensímetro, (según establece la NC 119: 2018 [42]) siendo este método muy práctico, sencillo y eficaz en este tipo de determinación;
- la acidez expresada en por ciento de ácido láctico mediante el método volumétrico [39], que es el método de referencia y constituye una medida de la concentración de proteínas y de fosfatos en sueros de buena calidad higiénica-sanitaria.
- el por ciento de grasa utilizando como referencia el método de Gerber que, aunque no es el método de referencia, es una técnica volumétrica de rutina, rápida y precisa.

Estos análisis se hacen insuficientes a la hora de obtener la información necesaria del suero, que por sus posibilidades de empleo en la elaboración de otros productos alimenticios se precisan controlar.

La humedad es un parámetro imprescindible a determinar al igual que los sólidos totales porque da una medida de la cantidad de agua y los nutrientes del suero respectivamente; los cuales lo demeritan o enriquecen en su posterior reuso. De los métodos planteados en el capítulo anterior se propone para que se realice en un futuro, la destilación azeotrópica como técnica para conocer la humedad del suero porque determina el agua directamente y no por pérdida de peso como los métodos de secado en estufa y de termobalanza por lo que es más preciso. El dispositivo es sencillo de manejar y toma poco tiempo. Se previene la oxidación de la muestra y no se afecta con la humedad del ambiente. Los métodos espectroscópicos son muy costosos y el método de Karl Fischer a pesar de ser un método estándar para estos ensayos tiene carencias ya que el dispositivo de la titulación debe protegerse de la humedad atmosférica debido a la excesiva sensibilidad del reactivo a la humedad, el cual es inestable y debe estandarizarse in situ.

El conocimiento del pH del suero tampoco puede faltar; ya que es el que clasifica el tipo de suero y define que aplicación puede tener según esta clasificación; por ejemplo, un suero con pH ácido puede ser utilizado en la elaboración de una bebida cítrica, mientras que con un suero de pH básico se puede hacer queso Ricotta. También es un factor importante para su estabilidad, siendo determinante en el crecimiento de grupos de microorganismos específicos. Para realizar esta determinación en la empresa se propone la inversión en un pH-metro que cumpla con la NC 90-13-13:80 “Aseguramiento metrológico. Medidores de pH. Reglas generales para efectuar mediciones de pH”; con sus respectivas soluciones tampones de referencia, a pH 7 y pH 4. Este es el método que ofrece precisión, pero de no ser posible su adquisición inmediata, deben usar al menos papeles o cintas indicadoras que cambian de color según el pH ofreciendo una aproximación del valor real para obtener una clasificación del suero de leche.

El importante conocer el contenido de sólidos totales que tiene el suero, el cual puede estar sujeto al tipo de proceso utilizado en la elaboración del queso, dando una idea general del contenido de proteína, lactosa y sales minerales que se cuantifican en el destino final que se le dé al producto. Para conocer el contenido de los sólidos totales se recomienda el uso de las ecuaciones de Babcock descrito en el capítulo anterior, que es un método indirecto a partir del conocimiento de la densidad por un lactómetro de Quévenne y el contenido de grasa en por ciento. Si bien, no ofrece resultados precisos, es una manera sencilla y efectiva de estimar el contenido de sólidos, más aún cuando la empresa no cuenta con recursos para realizar otros métodos más precisos.

El análisis de proteínas por ser más complejo y no tener los recursos necesarios en la empresa, puede ser analizado en el destino final que se le dé al suero, previendo que está incluido en el

análisis de los sólidos totales y no grasos; a no ser que se vaya a obtener concentrados de proteínas, donde sí es imprescindible conocer cuál era la cantidad presente en la materia prima. Para este caso recomiendo el uso del método de Sorensen-Walker con la adición de formaldehído a la muestra de suero, siendo valorada con hidróxido sódico. Este principio es de muy bajo costo y útil como método alternativo, aunque sus resultados son más bajos que el método oficial Kjeldahl, el cual no se recomienda porque es más costoso, más demorado, más laborioso y de dudosa rentabilidad bajo el punto de vista industrial. Los métodos espectrofotométricos, colorimétricos, electroforéticos y polarimétricos son de rápida ejecución y por tanto posibilitan analizar gran número de muestras en poco tiempo, pero son demasiados costosos. El método de Dumas pudiese ser una buena opción en caso de que la empresa pudiese adquirir un equipo para determinar el contenido de proteínas.

Lo mismo de las proteínas sucede con el por ciento de lactosa, que se puede analizar en la leche de partida y en el producto final que se realice a partir del suero lácteo. Es necesario destacar que esto no es lo más correcto, pero en vistas a la situación financiera y a los destinos finales que tiene actualmente el suero en la empresa, es lo que más se aplica. Para una futura determinación se propone la utilización de métodos enzimáticos porque proporcionan una especificidad que no es posible con los métodos químicos. Los métodos físicos y cromatográficos se encarecen mucho por sus costo.

El conocimiento del por ciento de cada uno de los minerales, de acuerdo a las aplicaciones reales que tiene el suero en la empresa, no es vital; y al ser muy costosos los métodos analíticos de determinación, no se recomendarán que se realicen en análisis de rutina.

## CONCLUSIONES

- No existen a nivel nacional normas para la caracterización del suero lácteo, aunque diversos estudios tienen tabulada la composición de cada tipo de suero.
- Los parámetros físico-químicos indispensables en el estudio de la composición del suero para su posterior utilización son: humedad, sólidos totales, pH, acidez, densidad, por ciento de grasa; y otros parámetros opcionales a medir de acuerdo al reuso que se le dé al suero, son proteínas, lactosa y minerales.
- La UEB Pasteurizadora Sagua no tiene condiciones en su único laboratorio para realizar todas las técnicas sensoriales y físico-químicas que demanda el proceso de reuso del suero efectuándose solamente los análisis sensoriales y de acidez por volumetría, densidad con el lactodensímetro y el por ciento de grasa con el butirómetro.
- Es necesario completar la caracterización de los sueros generados en la entidad, proponiendo las técnicas del análisis de la humedad por destilación; el pH con un pH-metro; sólidos totales por la ecuación de Babcock; proteínas por el tratamiento con formaldehído y lactosa por el método enzimático; así mismo, la determinación del contenido de minerales no se recomienda como análisis rutinario del suero, pero sí del destino final que tenga este.

## RECOMENDACIONES

1. La inversión por parte de la empresa de un analizador de respuesta rápida para productos lácteos como pueden ser: “Milkoscope Julie c2”, “Milkoscan” y “Milkotester”; le facilitaría el mejor control de las técnicas analíticas, optimizando el tiempo de las determinaciones ya que se pueden medir simultáneamente grasa, lactosa, sólidos, agua, etc., además que se pueden analizar diferentes tipos de muestras.
2. Debido a la capacidad contaminante de la materia orgánica del lactosuero que se produce mediante procesos biológicos aerobios y por el elevado valor nutritivo de sus componentes, es necesario aprovechar tanto a nivel industrial como tecnológico el suero de leche; de esta forma, se incentiva a la industria a hacer uso del subproducto, así sea para la alimentación porcina, evitando que sea vertido al seno de cursos acuíferos donde resulta un medio de contaminación para el medio ambiente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] C. Lobato-Calleros, I. Lozano-Castañeda, y E. J. Vernon-Carter, «Textura y microestructura de quesos tipo panela bajos en grasa y en colesterol: diferentes metodologías».
- <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Sgve1nY2Jr4J:https://revistas.cahapingo.mx/inagbi/phpscript/download.php%3Ffile%3Dcompleto%26id%3DMTIwMA%3D%3D+%&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d> (accedido nov. 15, 2021).
- [2] R. A. P. Huertas, «Lactosuero: importancia en la industria de alimentos.», *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín*, vol. 62, n.º 1, Art. n.º 1, ene. 2009.
- [3] R. F. Riofrío Grijalva, «Caracterización de lactosuero proveniente de cuatro producciones de diferentes tipos de queso», 2014, Accedido: nov. 15, 2021. [En línea]. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/3177>
- [4] M. C. Álvarez Mira, «Caracterización fisicoquímica de los diferentes tipos lactosueros producidos en la Cooperativa Colanta LTDA», Tesis, Corporación Universitaria Lasallista, 2013. Accedido: nov. 15, 2021. [En línea]. Disponible en: <http://repository.lasallista.edu.co/dspace//handle/10567/1036>
- [5] E. M. Real, «Elaboración de quesos fundidos con adición de concentrados de proteínas del suero», *Ciencia y Tecnología de Alimentos.*, 2011.
- [6] O. M. Miranda, P. L. F. Palma, I. P. Palma, C. C. Agramonte, L. S. Rivero, y L. M. Vázquez, «Una bebida probiótica con posibles aplicaciones terapéuticas elaborada a escala industrial a partir del suero de leche», *Rev. Cuba. Aliment. Nutr.*, vol. 29, n.º 2, pp. 347-358, 2019.

- [7] J. L. Carrillo, «Tratamiento y reutilización del suero de leche», vol. Tratamiento y Recuperación, n.º Mundo Lácteo y Cárnico, pp. 27-30, dic. 2006.
- [8] «Persiguen recuperación de industria de quesos en Cuba», *Cubadebate*, mar. 28, 2017. <http://www.cubadebate.cu/noticias/2017/03/28/persiguen-recuperacion-de-industria-de-quesos-en-cuba/> (accedido nov. 15, 2021).
- [9] A. Olaguibel Ibáñez, «El mercado del queso en Cuba», Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en La Habana, La Habana, Resumen ejecutivo, sep. 2020. Accedido: nov. 15, 2021. [En línea]. Disponible en: [https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:\\_cTl2eccPfmJ:https://www.icex.es/icex/GetDocumento%3FdDocName%3DDOC2020861187%26rendition%3DAlternateWeb%26urlNoAcceso%3D/icex/es/registro/iniciarsesion/index.html%3FurlDestino%3Dhttps://www.icex.es:443/icex/es/navegacion-principal/todos-nuestros-servicios/informacion-de-mercados/estudios-de-mercados-y-otros-documentos-de-comercio-exterior/DOC2020861187.html%26site%3DicexES+%&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d](https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:_cTl2eccPfmJ:https://www.icex.es/icex/GetDocumento%3FdDocName%3DDOC2020861187%26rendition%3DAlternateWeb%26urlNoAcceso%3D/icex/es/registro/iniciarsesion/index.html%3FurlDestino%3Dhttps://www.icex.es:443/icex/es/navegacion-principal/todos-nuestros-servicios/informacion-de-mercados/estudios-de-mercados-y-otros-documentos-de-comercio-exterior/DOC2020861187.html%26site%3DicexES+%&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d)
- [10] E. Poveda, «Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad», *Rev. Chil. Nutr.*, vol. 40, n.º 4, pp. 397-403, dic. 2013, doi: 10.4067/S0717-75182013000400011.
- [11] «Suero de quesería - EcuRed». [https://www.ecured.cu/Suero\\_de\\_queser%C3%ADa](https://www.ecured.cu/Suero_de_queser%C3%ADa) (accedido nov. 15, 2021).

- [12] F. Finten, «Evaluación del proceso de elaboración de Ricotta», abr. 2016, Accedido: nov. 15, 2021. [En línea]. Disponible en: <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/handle/123456789/539>
- [13] «Propiedades del suero de leche y todos sus usos», *okdiario.com*, ago. 29, 2018. <https://okdiario.com/salud/suero-leche-usos-propiedades-3055683> (accedido nov. 15, 2021).
- [14] O. Teniza Garcia, «Estudio del suero de queso de leche de vaca y propuesta para el reuso del mismo», Tesis, 2012. Accedido: nov. 15, 2021. [En línea]. Disponible en: <http://www.repositoriodigital.ipn.mx//handle/123456789/8662>
- [15] *Suero de leche la ciencia detrás de su rescate | ISBN 978-9942-770-04-2 - Libro*. Accedido: nov. 15, 2021. [En línea]. Disponible en: <https://isbn.cloud/9789942770042/suero-de-leche-la-ciencia-detras-de-su-rescate/>
- [16] R. E. López-Barreto y M. L. Becerra-Jiménez, «Caracterización físico-química y microbiológica del lactosuero del queso Paipa», *Cienc. Agric.*, vol. 15, n.º 2, pp. 99-106, 2018.
- [17] S. Vázquez Díaz, «Puesta a punto de metodologías analíticas de lactosa en bases lácteas», jul. 2017, Accedido: nov. 16, 2021. [En línea]. Disponible en: <https://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/43653>
- [18] O. M. Miranda, I. P. Palma, P. L. F. Palma, M. C. Espinosa, R. M. D. Lara, y C. C. Agramonte, «Características físico-químicas de sueros de queso dulce y ácido producidos en el Combinado de Quesos de Bayamo», *Rev. Cuba. Aliment. Nutr.*, vol. 19, n.º 1, Art. n.º 1, jun. 2009.

- [19] P. S. Panesar, J. F. Kennedy, D. N. Gandhi, y K. Bunko, «Bioutilisation of whey for lactic acid production», *Food Chem.*, vol. 105, n.º 1, pp. 1-14, ene. 2007, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.03.035.
- [20] M. Parzanese, «Procesamiento de lactosuero», *Tecnologías para la Industria Alimentaria*, vol. Alimentos Argentinos – MinAgri, n.º 13, p. 9, 2008.
- [21] «Norma para el queso crema», Norma, 2018. Accedido: nov. 16, 2021. [En línea]. Disponible en: [http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:gSksTHID50EJ:www.fao.org/fa-o-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/%3Flnk%3D1%26url%3Dhttps%25253A%25252F%25252Fworkspace.fao.org%25252Fsites%25252Fcodex%25252Fstandards%25252FCXS%252B275-1973%25252FCXS\\_275s.pdf+%&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:gSksTHID50EJ:www.fao.org/fa-o-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/%3Flnk%3D1%26url%3Dhttps%25253A%25252F%25252Fworkspace.fao.org%25252Fsites%25252Fcodex%25252Fstandards%25252FCXS%252B275-1973%25252FCXS_275s.pdf+%&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d)
- [22] «Reacción de Maillard». <https://gastronomiaycia.republica.com/2010/03/11/reaccion-de-maillard/> (accedido dic. 05, 2021).
- [23] «Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales», *TSIA*, jun. 07, 2017. <https://tsia.udlap.mx/suero-de-leche-y-su-aplicacion-en-la-elaboracion-de-alimentos-funcionales/> (accedido nov. 16, 2021).
- [24] C. Asas, C. Llanos, J. Matavaca, y D. Verdezoto, «Whey: environmental impact, uses and applications via biotechnology mechanisms», *Agroindustrial Sci.*, vol. 11, n.º 1, pp. 105-116, abr. 2021, doi: 10.17268/agroind.sci.2021.01.13.
- [25] P. J. Cribb, «Las proteínas del suero de leche de los Estados Unidos y la nutrición en los deportes», *Us Dairy Export Council.*, p. 12, 2008.

- [26] M. V. Luna Martínez, O. M. Valdés Almaral, y A. Castillo Pino, «Registro Sanitario de alimentos, cosméticos, juguetes y otros productos de interés sanitario: Regulaciones e Indicadores.» Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos, dic. 2012. Accedido: nov. 16, 2021. [En línea]. Disponible en: <https://www.yumpu.com/es/document/view/32468004/republica-de-cuba-instituto-de-nutrician-e-higiene-de-los-alimentos>
- [27] «Libro: Manual de industrias lácteas.», ISBN: 9788489922815 - *industrias lácteas libros amv ediciones*. <http://www.amvediciones.com/mil.htm> (accedido nov. 16, 2021).
- [28] C. A. Viteri, M. G. de Illera, y J. A. M. Pantoja, «Caracterización fisicoquímica del suero dulce obtenido de la producción de queso casero en el municipio de Pasto.», *Rev. Colomb. Investig. Agroindustriales*, vol. 1, n.º 1, Art. n.º 1, dic. 2014, doi: 10.23850/24220582.110.
- [29] R. R. Souza, M. L. Gimenes, S. C. Costa, y C. M. O. Müller, «Eliminación de grasas del suero de queso para obtener proteínas y lactosa», *Inf. Tecnológica*, vol. 19, n.º 2, pp. 41-50, 2008.
- [30] J. R. Guerrero-Haber, A. L. Ramírez-Perú, y W. Puente-Vidal, «Caracterización del suero de queso blanco del combinado lácteo Santiago», *Tecnol. Quím.*, vol. XXXI, n.º 3, pp. 93-100, 2011.
- [31] J. Monsalve y D. González, «Elaboración de un queso tipo Ricotta a partir de suero lácteo y leche fluida», *Rev. Científica Fac. Cienc. Vet. Univ. Zulia*, vol. 15, n.º 6, Art. n.º 6, 2005, Accedido: nov. 16, 2021. [En línea]. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/15163>

- [32] L. Urribarrí, A. Vielma, G. Paéz, J. Ferrer, Z. Mármol, y E. Ramones, «Producción de ácido láctico a partir de suero de leche, utilizando *Lactobacillus helveticus* en cultivo continuo», *Rev. Científica Fac. Cienc. Vet. Univ. Zulia*, vol. 14, n.º 4, Art. n.º 4, 2004, Accedido: nov. 16, 2021. [En línea]. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/15057>
- [33] O. Zenebon, «Métodos físico-químicos para análisis de alimentos», *Scribd*, 2008. <https://pt.scribd.com/doc/32325444/Apostila-Instituto-Adolfo-Lutz> (accedido nov. 16, 2021).
- [34] D. F. Tirado, P. M. Montero, y D. Acevedo, «Estudio comparativo de métodos empleados para la determinación de humedad de varias matrices alimentarias», *Inf. Tecnológica*, vol. 26, n.º 2, pp. 03-10, 2015, doi: 10.4067/S0718-07642015000200002.
- [35] L. Masson, «Métodos analíticos para la determinación de humedad, alcohol, energía, materia grasa y colesterol en alimentos». <https://www.fao.org/3/ah833s/ah833s16.htm> (accedido nov. 03, 2021).
- [36] «Determinación del contenido de sólidos totales y grasa». [https://nanopdf.com/download/determinacion-del-contenido-de-solidos-totales-y-grasa\\_pdf](https://nanopdf.com/download/determinacion-del-contenido-de-solidos-totales-y-grasa_pdf) (accedido nov. 03, 2021).
- [37] «Determinación del índice de pH», nc781103, mar. 1983
- [38] L. M. Negri, «el pH y la acidez de la leche», *Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad*, pp. 156-161, 2005.
- [39] NC/CTN 35 Leche y Productos Lácteos, «Leche. determinación de acidez», NC 71: 2000, dic. 2000

- [40] «Medidor de acidez en la leche. Ácido láctico. Atago PAL EASY ACID91, tienda On Line».  
[https://www.infoagro.com/instrumentos\\_medida/medidor.asp?id=10556&\\_medidor\\_de\\_acidez\\_en\\_la\\_leche\\_%E1cido\\_lactico\\_atago\\_pal\\_easy\\_acid91\\_tienda\\_on\\_line](https://www.infoagro.com/instrumentos_medida/medidor.asp?id=10556&_medidor_de_acidez_en_la_leche_%E1cido_lactico_atago_pal_easy_acid91_tienda_on_line) (accedido nov. 04, 2021).
- [41] «Densidad de la leche». <https://1library.co/document/4yrm7woq-densidad-de-la-leche.html> (accedido nov. 04, 2021).
- [42] «Leche -Determinación de la Densidad», NC 119: 2018, abr. 2018
- [43] «Determinación de la densidad de la leche | PDF | Densidad | Leche», *Scribd*.  
<https://es.scribd.com/doc/71708225/determinacion-de-la-densidad-de-la-leche> (accedido nov. 17, 2021).
- [44] NC/CTN 35 de Leche y Productos Lácteos, «Leche. Determinación del contenido de materia grasa. Método gravimétrico (método de referencia)», NC-ISO 1211: 2001
- [45] «Análisis elemental, método Dumas, Los analizadores Dumas VELP».  
<https://www.velp.com/es-sa/analisis-elemental-metodo-dumas-1.aspx> (accedido nov. 08, 2021).
- [46] «Determinación de nitrógeno por el método Kjeldahl».  
[https://www.uv.es/gidprl/practica\\_Kjeldahl/index.html](https://www.uv.es/gidprl/practica_Kjeldahl/index.html) (accedido nov. 05, 2021).
- [47] «Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos».  
[http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:ebqmwZaSXfYJ:depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/fundamentosytecnicasdeanalisisdealimentos\\_12286.pdf+&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:ebqmwZaSXfYJ:depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/fundamentosytecnicasdeanalisisdealimentos_12286.pdf+&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d) (accedido nov. 17, 2021).

- [48] V. Morera, «Determinación del coeficiente de absorción específico del factor de crecimiento epidérmico humano recombinante», *Bionatura*, vol. 3, nov. 2018, doi: 10.21931/RB/2018.03.04.5.
- [49] P. Paseiro y J. Simal, «Determinación y tipificación de las proteínas de la leche. Aplicación al estudio de quesos y efecto del agua oxigenada.», *Acta Científica Compostelana*. Accedido: nov. 17, 2021. [En línea]. Disponible en: [https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:GzxXRM4p8\\_cJ:https://www.researchgate.net/profile/Jesus-Simal-Lozano/publication/235700534\\_Determinacion\\_y\\_tipificacion\\_de\\_proteinas\\_de\\_la\\_leche\\_Aplicacion\\_al\\_estudio\\_de\\_quesos\\_y\\_efecto\\_del\\_agua\\_oxigenada/links/09e4151482e5fb90fa000000/Determinacion-y-tipificacion-de-proteinas-de-la-leche-Aplicacion-al-estudio-de-quesos-y-efecto-del-agua-oxigenada.pdf+&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d](https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:GzxXRM4p8_cJ:https://www.researchgate.net/profile/Jesus-Simal-Lozano/publication/235700534_Determinacion_y_tipificacion_de_proteinas_de_la_leche_Aplicacion_al_estudio_de_quesos_y_efecto_del_agua_oxigenada/links/09e4151482e5fb90fa000000/Determinacion-y-tipificacion-de-proteinas-de-la-leche-Aplicacion-al-estudio-de-quesos-y-efecto-del-agua-oxigenada.pdf+&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d)
- [50] E. Fernández Reyes y A. Galván Cejudo, «Métodos para la cuantificación de proteínas», vol. 27, p. 7.
- [51] «Tema 3: Métodos para el análisis de proteínas». <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:DwOr4zhjgo4J:www4.ujaen.es/~esiles/tema3proteinaSalumno.pdf+&cd=3&hl=es-419&ct=clnk&gl=cu&client=firefox-b-d> (accedido nov. 17, 2021).
- [52] A. N. Rinaldoni, E. Perino, M. E. Campderrós, y A. Pérez, «Determinación de calcio, hierro y fósforo en un producto fermentado de soja obtenido por ultrafiltración», *Av. En Cienc. E Ing.*, vol. 2, n.º 1, pp. 79-87, 2011.

- [53] W. Horwitz, «Official methods of analysis of AOAC international». AOAC international suite, 2016. [En línea]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/292783651A.O.A.C\\_2005Article](https://www.researchgate.net/publication/292783651A.O.A.C_2005Article) · February 2016
- [54] 14:00-17:00, «ISO 11816-1:2013», ISO. <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/05/79/57920.html> (accedido nov. 17, 2021).
- [55] «Determinar lactosa en productos lácteos sin lactosa - CDR FoodLab». <https://www.cdrfoodlab.es/certificaciones/determinacion-lactosa-productos-lacteos/> (accedido nov. 10, 2021).
- [56] S. E. Molina, «Técnicas de análisis de alimentos», *Scribd*. <https://es.scribd.com/doc/101532465/tecnicas-de-analisis-de-alimentos> (accedido nov. 17, 2021).
- [57] Comité técnico de normalización NC/CTN 62 de higiene de los y alimentos, «Productos lácteos — Requisitos sanitarios generales», NC 932: 2012, dic. 2012