

Universidad Técnica Particular de Loja
BIBLIOTECA GENERAL



Revisado el X-14-80

Valor \$ 200.00

Nó Clasificación 1980 U297 IA8

Donación



87A

637

Sales de calcio
coagulación de la leche

637.14

637

637x121

Universidad Técnica Particular de Loja

Facultad de Industrias Agropecuarias

**ESTUDIO SOBRE LA INFLUENCIA DE LAS SALES DE CALCIO
EN EL FENOMENO DE COAGULACION DE LA LECHE Y
SU ACCION CONJUNTA CON EL CUAJO**

Investigación Experimental

Tesis previa a la obtención
del Título de Ingeniero en
Industrias Agropecuarias

Francisco Vargas Rivera

DIRECTOR:

DAVID GEREVASI A.

LOJA-ECUADOR

1980



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2015



C E R T I F I C A C I O N

En mi calidad de DIRECTOR DE TESIS, certifico: que el presente trabajo ha sido elaborado en su totalidad por el Señor FRANCISCO VARGAS RIVERA; el mismo que luego de revisado ha merecido su aprobación.


David Gerevasi A.
DIRECTOR DE TESIS

Loja, julio 15 de 1980

C O N T E N I D O

Prólogo

1. INTRODUCCION

2. RESUMEN DE LA INVESTIGACION

3. MATERIALES Y METODOS:
- leche
 - cuajo
 - una sal de calcio

3.1. Empleo de muestras de diferentes regiones:

- leche entera
- leche en polvo

3.2. Determinaciones fundamentales en cada muestra:

- humedad
- grasa
- proteína
- pH
- cenizas
- contenido en calcio

3.3. Las proteínas de la leche:

- caseína
- albúmina
- globulina

3.4. Coagulación de la caseína: Métodos

- coagulación ácida
- " salina
- " láctica
- " enzimática

3.5. Factores que determinan la coagulación de la leche:

- temperatura

- acidez
- agente coagulante
- el contenido en calcio

3.6. La caseína como principal proteína de la leche:

- sus componentes
- su obtención enzimática
- su importancia tecnológica
- determinación del N total
- determinación del N caseínico
- determinación del Ca: - en caseína
 - en suero

3.7. El cuajo como agente coagulante:

- su preparación
- determinación de su fuerza
- determinación de su pH
- sus funciones: - coagulante
 - proteolítica

3.8. Empleo del cuajo preparado en la coagulación de las muestras:

- su acción frente a la caseína
- determinación del t. de coagulación
- influencia de la temperatura en la actividad del cuajo
- el pH óptimo usando cuajo
- influencia de un álcali en la coagulación de la leche por cuajo.

3.9. Importancia de la presencia de sales de calcio, en la leche.

- presencia del calcio en la leche
- efecto temp/sales cálcicas
- efecto del contenido de Ca en la leche para la coagulación
- coagulación añadiendo Cl_2Ca
- pH óptimo usando Cl_2Ca
- tiempos de floculación

3.10. Estudio de la acción conjunta: cuajo/ Cl_2Ca .

- pH óptimo en la coagulación conjunta.
- influencia de la temperatura.
- tiempos de coagulación.

4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

5. ANEXOS

6. BIBLIOGRAFIA

I N D I C E

	Páginas
Certificación	ii
Contenido	iii
Indice	vi
Prólogo	xi
Introducción	1
Resumen de la investigación	4
Empleo de muestras de diferentes regiones	5
Determinaciones fundamentales en cada muestra	6
Las proteínas de la leche	7
Coagulación de la caseína: métodos	11
Separación de la caseína	13
Coagulación ácida	14
Coagulación láctica	15
Coagulación enzimática	16
Coagulación salina	19
Factores que determinan la coagulación de la leche ,	20
La caseína como principal proteína de la leche	23
Formación de complejos entre las caseínas	25
Obtención enzimática de la caseína	26
Importancia tecnológica de la caseína	28
Determinación del N total en la caseína	30
Determinación del N caseínico	30
Determinación del Ca en la caseína y suero	30
El cuajo como agente coagulante	32
Preparación del cuajo	33
Determinación de la fuerza del cuajo preparado	34
Determinación del pH en el cuajo	35
Funciones que cumple el cuajo	35
Empleo del cuajo preparado	37
Acción del cuajo frente a la caseína	38
Determinación del tiempo de coagulación	38
Influencia de la temperatura: sobre el cuajo	38
pH óptimo usando cuajo	40
Influencia de un álcali en la coagulación enzimática.	40
Importancia de las sales cálcicas en la leche	42
Presencia del calcio en la leche	43

	Páginas
Efecto temperatura - sales cálcicas	43
Efecto del contenido de Ca en la coagulación	44
Coagulación añadiendo cloruro de calcio	44
pH óptimo usando cloruro de calcio	45
Tiempos de coagulación con adición de Cl_2Ca	45
Acción conjunta: cuajo-cloruro de calcio	46
Determinaciones fundamentales sobre cada muestra	48
Influencia de la temperatura en la actividad del cuajo	50
Influencia del pH en la coagulación enzimática	51
Influencia de la dosis de agente coagulante	52
Influencia de un álcali en la coagulación enzimática .	53
Influencia del carbonato de calcio en la coagulación .	54
Acción de la temperatura sobre las sales cálcicas	55
Modificación del pH de la leche añadiendo Cl_2Ca	57
Cantidad de cuajo y retención de Ca (muestra 1)	58
Coagulación añadiendo cloruro de Ca (muestra 1)	60
Tiempos de coagulación con cuajo variable y cloruro de calcio constante (muestra 1)	61
Cantidad de cuajo y retención de calcio (muestra 2) ..	63
Coagulación añadiendo cloruro de calcio (muestra 2) ..	64
Tiempos de coagulación con cuajo variable y cloruro de calcio constante (muestra 2)	65
Cantidad de cuajo y retención de calcio (muestra 3) .	67
Coagulación añadiendo cloruro de calcio (muestra 3) ..	68
Tiempos de coagulación con cuajo variable y cloruro de calcio constante (muestra 3)	69
Agregado de solución de cloruro de calcio ó agua al - cuajo	71
Conclusiones	74
Determinación de sólidos totales y humedad	80
Determinación de grasa en la leche	81
Determinación de proteína en la leche	82
Determinación de cenizas en la leche	84
Valoración del calcio con permanganato	85
Determinación de caseína separadamente	86
Bibliografía	87

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico Nº	Páginas
Gráf. 1 Representación esquemática de la coagulación de la caseína (según PAYENS)	10
Gráf. 2 Tiempo- temperatura en la actividad del cuajo	50
Gráf. 3 Tiempo- pH en la coagulación enzimática	51
Gráf. 4 Tiempo- dosis de cuajo en la coagulación ...	52
Gráf. 5 Tiempo- mg NaOH/lit de leche	53
Gráf. 6 Tiempo- mg CO ₃ Ca/lit de leche	55
Gráf. 7 Temperatura- sales cálcicas	56
Gráf. 8 pH-mg Cl ₂ Ca en la leche	58
Gráf. 9 Familia de curvas: mg de Cl ₂ Ca/lit (muestra1)	62
Gráf. 10 Familia de curvas: mg de Cl ₂ Ca/lit (muestra2)	66
Gráf. 11 Familia de curvas: mg de Cl ₂ Ca/lit (muestra3)	70
Gráf. 12 Tiempo-ml de cloruro de calcio ó agua/cuajo.	72

INDICE DE TABLAS

Tabla Nº	Páginas
Tabla 1 Influencia de la temp. en la coagulación ...	50
Tabla 2 Influencia de la acidez (pH) en la coagulación	51
Tabla 3 Influencia de la dosis de coagulante	52
Tabla 4 Presencia del NaOH sobre la coagulación	53
Tabla 5 Influencia del carbonato de Ca en la coagulación	54
Tabla 6 Efecto: temperatura - sales cálcicas	55
Tabla 7 Modificación del pH agreg. Cl ₂ Ca lentamente.	57
Tabla 8 Dosis de cuajo y retención de Ca (mues. 1) .	58
Tabla 9 Distribución del Ca (mues. 1)	59
Tabla 10 Coagulación añadiendo Cl ₂ Ca (mues. 1)	60
Tabla 11 Nueva distribución del Ca (mues.1)	60
Tabla 12 Tiempos de coajo variable y Cl ₂ Ca constante- (muestra 1)	61
Tabla 13 Dosis de cuajo y retención de Ca (mues. 2)..	63
Tabla 14 Distribución del Ca (mues. 2)	63
Tabla 15 Coagulación añadiendo Cl ₂ Ca (mues. 2)	64

	Páginas
Tabla 16 Nueva distribución del Ca (mues. 2)	64
Tabla 17 Tiemp. coagulacición: cuajo variable y clo- ruro de calcio constante (mues. 2)	65
Tabla 18 Dosis de cuajo y retención Ca (mues. 3) ...	67
Tabla 19 Distribución del Ca (mues. 3)	67
Tabla 20 Coagulación añadiendo Cl_2Ca (mues. 3)	68
Tabla 21 Nueva distribución del Ca (mues. 3)	68
Tabla 22 Tiempos de coagulación: cuajo variable y - cloruro de Ca constante (mues 3)	69
Tabla 23 Tiempo $-Cl_2Ca$ /cuajo	71
Tabla 24 Tiempo $-H_2O$ /cuajo	71
Tabla 25 Tiempo -cuajo	72

Fe de errata

<u>Página</u>	<u>Línea</u>	<u>Dice</u>	<u>Debe decir</u>
12	20	casinatos	caseinatos
14	10	entonces disociados	entonces es diso - ciado
27	23	recobinan	recombinan
85	14	desapición	desaparición

P R O L O G O

La investigación experimental que exponemos cuya realización ha demandado una buena cuota de esfuerzo y dedicación por parte del autor, persigue la solución a un problema técnico que se presenta en la industria láctea; para cuyo desarrollo se hace necesario e imperioso un aporte común tanto de los empresarios como de quienes estamos capacitándonos en uno de los campos industriales: el de los alimentos, que si bien hasta hace poco no se le dio la oportuna atención en nuestro país, no por ello deja de ser uno de los fundamentales en el desarrollo de nuestro pueblo que a diario solicita más y mejores alimentos.

Consecuentemente, el estudio que se ha realizado constituye un valioso aporte que hace la Universidad Técnica Particular de Loja, a través de su Facultad de Industrias Agropecuarias, al desarrollo industrial; cuyo papel es justamente capacitar el elemento humano que tendrá a su cargo la industrialización de los recursos agropecuarios que dispone nuestro país.

Quiero dejar expresa constancia de mi agradecimiento a la Universidad Técnica Particular de Loja, por las facilidades prestadas para la realización del trabajo. De igual modo mi reconocido agradecimiento a los Catedráticos: David Gerevasi; Ing. Truman Guajala, por su valiosa y decidida colaboración.

FRANCISCO VARGAS RIVERA

C A P I T U L O I

INTRODUCCION

La finalidad primordial del presente estudio es evidenciar, luego de una prolija experimentación, el papel que desempeñan las sales cálcicas en la coagulación enzimática de la leche y al mismo tiempo se aspira contribuir con una pequeña cuota al incremento del papel permanente de la Universidad: la investigación.

Dentro del complejo sistema proteico que constituye parte de la leche, el componente más importante desde el punto de vista industrial es la caseína. De la información que hasta el momento se dispone, conocemos que la caseína es un compuesto heterogéneo formado por tres fracciones proteicas llamadas: α , β y γ -caseínas, de las cuales a su vez la α y β -caseínas están integradas por subfracciones, de las que la más importante desde el punto de vista tecnológico, es la llamada K(kappa)-caseína.

Consideradas globalmente las propiedades de tales caseínas, son similares; sin embargo difieren de la K-caseína en lo referente al comportamiento frente a los iones calcio. Las caseínas α y β consideradas aisladamente, precipitan bajo el influjo de pequeñas concentraciones de iones calcio; no sucede lo mismo con la K-caseína: .

Probablemente por la configuración que toma la K-caseína, actúa como "protectora" frente a las otras fracciones proteicas manteniéndolas estables y evitando su precipitación que podría ocurrir a concentraciones normales del ion calcio en la leche. (13).

La suspensión de micelas de caseína en la leche se mantienen en equilibrio estable, hasta que éste no sea destruido por agentes de naturaleza física o química. De entre varios agentes que causan la ruptura de tal equilibrio, está la renina, enzima que provoca la desestabilización del complejo caseínico que en presencia de iones calcio precipita en forma de coágulo.

Generalmente se considera que el contenido de calcio en la leche es suficiente como para provocar la precipitación completa de la caseína bajo la influencia del cuajo. Pero, en ocasiones la concentración normal del calcio puede disminuir a causa de varios factores como veremos posteriormente. En tales casos la leche presenta comportamiento anormal frente al cuajo, afectándose en último término el rendimiento en queso. Frente a tales situaciones es práctica común incorporar a la leche una sal cálcica ionizable, generalmente cloruro de calcio.

En el presente caso tratamos de comprobar el comportamiento de algunas leches y a través de técnicas empleadas en trabajos similares realizados en Argentina, adaptarlas a nuestro medio.

El trabajo en mención se debe considerar más que como una investigación en el estricto sentido de la palabra, como un



aporte a una solución de un problema lacto-tecnológico.

Cada vez que se emplee el término leche sin otro calificativo, corresponderá a la leche de vaca.

C A P I T U L O I I
R E S U M E N D E L A I N V E S T I G A C I O N

El trabajo que presentamos consiste en la realización de un estudio referente a la incidencia que tienen las sales de calcio en el proceso de coagulación de la leche, al ser efectuada enzimáticamente. Las experiencias han permitido llegar a ciertas cuantificaciones en lo referente a las diferencias en los tiempos de coagulación, factores que afectan la misma, las correcciones que se pueden hacer utilizando una sal cálcica, las pérdidas de calcio y su distribución en el medio.

Como teóricamente era de esperarse, se comprobó que al incrementarse las dosis de cuajo, disminuye el tiempo de coagulación; lo propio ocurre al hacer adiciones cada vez crecientes de una sal de calcio en la leche.

Luego de las experiencias se ha logrado determinar como en el proceso de coagulación tienen mucho que ver la calidad de la leche, su composición, su procedencia y los tratamientos previos a que pudo haber sido sometida. A ellos podemos añadir influencias de naturaleza locacional propias de cada radio.

C A P I T U L O I I I

MATERIALES Y METODOS

3.1. EMPLEO DE MUESTRAS DE DIFERENTES REGIONES

a) Leche entera.- Para las experiencias a llevarse a cabo en el presente trabajo, se ha empleado muestras de leche de masa; esto por dos motivos fundamentales:

- 1).- Por respetar las condiciones reales de la práctica industrial.
- 2).- Por eliminar factores casuales que siempre inciden en la leche individual.

Por otro lado, las muestras han sido producidas en regiones geográficas diferentes, ya que es indudable que la producción láctea está influenciada por toda una serie de factores, entre los cuales se encuentra las características del habitat de los animales. Estos factores asociados a la alimentación resultan decisivos. La zona interviene con la naturaleza del terreno, éste con el tipo de pasto o forraje que predomine, la abundancia o escasez de los mismos; el clima con todas sus determinantes.etc.

b) Leche en polvo.- Se ha considerado importante su empleo como término de comparación, ya que en su procesamiento ha sido sometida a tratamientos térmicos por cuyo efecto su contenido mineral y en especial el calcio se ha reducido por precipitación de sus sales solubles, que lleva como consecuencia una reducción en la capacidad de coagulación enzimática.

3.2. DETERMINACIONES FUNDAMENTALES EN CADA UNA DE LAS MUESTRAS

Las pruebas realizadas en cada muestra en sí son las corrientemente usadas sobre la leche a excepción del calcio, el cual se determina con poca frecuencia. Los resultados obtenidos nos permitirán juzgar en primer lugar el valor alimenticio de las muestras; es más, el contenido proteico será un buen indicativo del rendimiento que se obtendrá al ser empleadas en quesería.

Con relación al calcio, es la determinación más importante para nuestro fin, justamente por ser la base misma alrededor del cual se ha elaborado la investigación.

La presencia del calcio en la leche y como un integrante de la fracción mineral, es consecuencia de los factores que antes se mencionó y en especial la alimentación.

Los reportes de varias investigaciones indican que el calcio se encuentra en la leche en un promedio de 1.28gr/Kg de leche. (18)

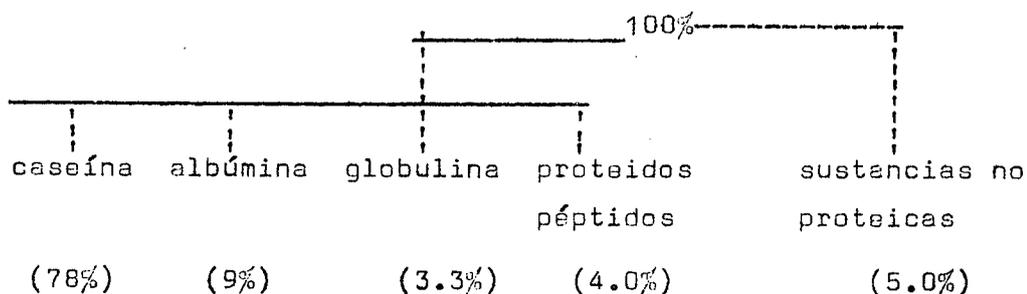
Además, que una parte de los minerales sobre todo los alcalinos y halógenos se encuentran libres en forma de iones en solución. El calcio por el contrario se halla en su mayor parte ligado a la caseína y que sólo 1/3 de calcio y magnesio están en disociación iónica. (7).

Los tratadistas opinan que si una determinada leche tiene su contenido cálcico dentro de límites adecuados, no presenta dificultad a la coagulación enzimática, ya que como se indicará posteriormente, el calcio es indispensable para que se produzca la unión de las micelas de caseína que luego flocculan y precipitan formando la cuajada. Las determinaciones respectivas se detallan en el capítulo cuarto.

3.3 LAS PROTEINAS DE LA LECHE

La cantidad total de proteína contenida en la leche es como término medio de 3.5%. Antiguamente se creía que la proteína láctea era una sustancia única, al contrario, hoy sabemos que se trata de una mezcla de numerosas fracciones proteicas diferentes y de pesos moleculares distintos.

La leche normal contiene aproximadamente 0.5% de N, el mismo que se distribuye de la siguiente manera:



SUSTANCIAS PROTEICAS DE LA LECHE

PROTEINA CLASICA	FRACCIONES	CONTENIDO APROX.
Caseína	(α) alfa - caseína	45 - 63 (%)
	(β) beta - caseína	19 - 28 "
	(γ) gamma - caseína	3 - 7 "
Albúmina	(α) alfa - lactoalbúmina	2 - 5 "
	(β) beta - lactoglobulina	1 - 1.2 "
	albúmina del suero	0.7- 1.3 "
Globulina	- euglobulinas	0.9- 1.7 "
	- pseudoglobulinas	0.6- 1.4 "
		(12)

Todas las proteínas están integradas por unidades fundamentales llamadas aminoácidos, los mismos que se unen entre sí para formar la compleja estructura molecular de proteína.

Como el objetivo de nuestro trabajo es determinar la influencia de las sales de calcio en la precipitación enzimática de la leche, y en ésta, la fracción proteica que precipita es la

caseína, nos limitaremos al estudio de ella únicamente.

Según DUCLAUX(1890), afirma que hasta ese entonces la palabra caseína había sido mal definida desde el punto de vista químico. Decir que se llama así a la proteína que precipita de la leche por medio del alcohol, ácido o cuajo, es insuficiente; ya que las cantidades que precipitan varían de un reactivo a otro y tienen también composición química diferente y que como conclusión, "la caseína es la materia albuminoide de la leche"(17)

En sí la caseína es el componente principal de la proteína láctea, la cual merece una atención preferente tanto por su valor biológico como por su importancia industrial.

En cuanto a la síntesis de la caseína durante la formación de la leche, lo único que se sabe es que -por no hallarse en la sangre-, sólo se forma en el epitelio alveolar a partir de los aminoácidos, que hacen de unidades estructurales. La materia "caseosa" como también se denomina a la caseína, es un coloide liófilo, que no se encuentra disuelto en la leche sino en forma de suspensión coloidal.(18).

Después de los trabajos del Sueco O.HAMMARSTEN, a quien se lo conoce como el padre de la caseína, se creyó que ésta era un compuesto homogéneo. En la actualidad se sabe que no es así, es un heteroproteido, es decir, proteido cuya hidrólisis no sólo proporciona aminoácidos, sino péptidos de menor peso molecular.



La caseína es una sustancia específica de la lactocrosión láctea. Su molécula es muy grande y estructuralmente muy compleja. En ella se han encontrado alrededor de unos 18 aminoácidos distintos, de los cuales la mayoría son "aminoácidos esenciales".

La existencia de azufre en la molécula de caseína se debe a la presencia de aminoácidos sulfurados. El estar presente simultáneamente grupos ácidos (COOH) y básicos (NH₂) en la molécula, hacen de ella una sustancia anfótera; es decir, capaz de combinarse con las bases dando caseinatos y con los ácidos formando sales.

Ahora bien, si las sales de caseína (sulfatos, cloruros) etc tienen poco interés pues no existen en la leche, no sucede lo mismo con los caseinatos. En efecto, la caseína se encuentra en la leche al estado de caseinato cálcico en solución coloidal. Por otra parte, como las micelas de caseinato cálcico adsorben micelas de fosfato cálcico, es ésta la razón por la que se dice que la caseína se encuentra en la leche como fosfocaseinato cálcico.

Con el avance y perfeccionamiento de las técnicas y concretamente con la electroforesis, a partir de 1937, se logró separar de modo inmediato tres fracciones diferentes y a las cuales se les dio los nombres de α , β y γ -caseínas en orden a su movilidad electroforética.

Posteriormente en 1959, se han publicado una serie de tra-

bajos tendientes a precisar la composición de la α -caseína que a su vez se ha comprobado que no es homogénea. En ella se ha identificado fundamentalmente una fracción sensible al calcio llamada α_s -caseína y otra insensible a éste elemento, diferenciación fundada en su disociación y solubilidad en presencia de iones calcio. En la primera fracción se ha encontrado la presencia de una α_1 -caseína cuyo contenido en fósforo es del 0.85% y en la segunda se ha identificado una α_2 -caseína pobre en fósforo; pero, sobre todo la presencia de una K-caseína que ejercería un efecto estabilizador sobre las micelas de caseína y que además interviene como se verá, en el proceso bioquímico de la acción del cuajo.(20)

La K-caseína es una fracción de la -caseína(soluble en cloruro de calcio). Su fácil solubilidad es lo que le permite estabilizar a las otras fracciones en presencia de sales de calcio, y el hecho de ser el verdadero sustrato específico en la acción primaria de la quimasa, depende de su elevado contenido en constituyentes glucídicos.(14)

Al igual que la leche, soluciones de caseinatos y fosfocaseinatos son coloides, es más, hidrosoles susceptibles de precipitar bajo la influencia de varios agentes como el cuajo.(20)

3.4. LA COAGULACIÓN DE LA CASEINA: METODOS

Si la tecnología tiene como objetivo mejorar mediante la aplicación de una serie de procesos las condiciones de la materia

prima, adaptarle de modo adecuado a la satisfacción de gustos y necesidades del consumidor, prolongar la duración de ella para ser consumida en forma oportuna y reducir una serie de gastos como el de comercialización; cuando tal materia prima es la leche, reviste una singular importancia su conversión a queso, ya que a veces por la deficiente calidad sensorial que tiene, o tras por la necesidad de llevarla muy lejos donde se produce, en muchos países se da más interés al queso que a la grasa.

Es muy conocido que tanto la grasa como la leche misma por ser un producto perecible, lo mismo que otros derivados de aquella, no pueden igualar al queso tanto por sus cualidades y duración es considerado como revalorizador de la leche.

Aunque el objetivo de nuestro trabajo no es la obtención inmediata del queso; sin embargo, las experiencias a realizarse pensamos tiene repercusión directa sobre la tecnología del queso.

Antes de entrar a considerar los métodos de obtención de la caseína materia básica para la industria quesera, se hace necesario unas dos consideraciones:

- La leche, soluciones de casinatos y fosfocaseinatos son soluciones coloidales y a su vez hidrosoles susceptibles de coagularse.
- Las micelas de caseína tienen el mismo comportamiento que las de cualquier coloide frente a los diversos medios empleados para el estudio de éstos.

En la actualidad, apesar de lo mucho que se conoce sobre la caseína, muchos tratadistas sostienen que aún es imposible darse cuenta de la composición exacta de las micelas de caseína; en todo caso se considera que el fosfato de calcio juega un papel preponderante y conforma del 7-8% del peso de la caseína al cuajo.

SEPARACION DE LA CASEINA.- Bajo el efecto de diversas acciones, la leche se separa de una masa sólida nadante en un suero amarillo verdoso, es entonces cuando ha tenido lugar la coagulación de la caseína. Sin embargo ésta última palabra algunos autores consideran que es inexacta y no debería aplicarse más que cuando el hidrosol de caseína se transforma en hidrogel, lo cual no tiene lugar propiamente hablando más que con el cuajo. Cuando se desee hablar de una manera general del fenómeno de separación de la caseína, es éste término que hace falta emplear. Por lo tanto se deben distinguir como lo hizo HAMMARSTEN, tres modos de separación que toman a su vez nombres diferentes.

a) ELIMINACION CON MEDIOS FISICOS, que en todo caso se refieren a una acción física sobre la leche.

b) PRECIPITACION CON MEDIOS QUIMICOS, es decir, por acción de productos que ejercen acción química sobre la leche.

c) COAGULACION POR MEDIOS BIOLOGICOS DIASTASICOS, de los cuales existe un sólo caso: el del cuajo y que es el más complejo. (17)

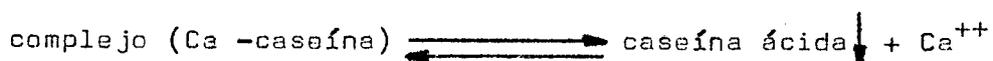
En el transcurso del presente trabajo se empleará el tér -

mino coagulación, para referirse a la obtención de la caseína, independientemente del medio empleado para ello, y aún más si en la experiencia empleamos el cuajo.

3.4.1. La coagulación ácida

Los ácidos son todos más o menos precipitantes de la caseína sobre todo los minerales fuertes tales como: SO_4H_2 , ClH y NO_3H ; también los orgánicos como el acético y el láctico. Ya sabemos que la caseína existe en la leche como fosfocaseinato de calcio. Cuando se adiciona el ácido a la leche, este complejo entonces disociado; como el pH disminuye, el calcio es desplazado de las moléculas de caseína por los iones hidrógeno y el fosfato de calcio asociado con el complejo es convertido en iones de calcio solubles y iones H_2PO_4^- . Alrededor de pH 5.3 la caseína empieza a precipitar de la solución; en el punto isoelectrico (pH=4.7), ocurre la máxima precipitación.(22)

El complejo formado por el calcio y la caseína se transforma en caseína ácida. Los iones de calcio quedan libres y se combinan con el ácido láctico formando lactático cálcico.



éste proceso es reversible; es decir, la caseína ácida puede volver a solubilizarse añadiendo álcali o ácido más allá del punto isoelectrico. La coagulación en el punto isoelectrico da teóricamente el máximo rendimiento de caseína; pero, es necesario que en la industria se opere a un pH muy distinto de aquel, con el fin de manejar mejor el precipitado.

La adición misma del ácido se hace por dilución de aquel _ hasta un 2.5-10% antes de adicionarlo a la leche, para evitar _ exceso localizado. (16)

Una vez obtenido el producto, generalmente se lo emplea en _ la industria química, por ser muy desmineralizado.

3.4.2. La coagulación láctica

La coagulación láctica es la que se observa siempre que se abandona una leche recogida aun adecuadamente. Como las bac_ terias lácticas siempre están presentes en la leche, degradan _ la lactosa dando origen al ácido láctico; cuando ello ha suce - dido entonces la leche flocula y forma un gel que presenta: fir_ meza, friabilidad, permeabilidad y contractibilidad reducida de las micelas. Como la coagulación láctica es casi siempre expon_ tánea, es un proceso lento en razón de que está condicionado _ por factores tales como:

- Edad de la leche;
- Naturaleza de la población microbiana;
- La temperatura, cuyo óptimo depende de la naturaleza de los _ gérmenes que entran en acción; y,
- Presencia eventual de antisépticos y antibióticos.

Cuando se trata de fabricar un queso reduciendo al máximo _ la coagulación láctica, será necesaria una leche de gran cali - dad, que será entonces fresca y de escasa población microbiana; caso de ser preciso, se puede completar la flora existente con_ la adición de fermentos puros.(20)

En la práctica la caseína láctica se prepara siempre por acidificación espontánea a menudo tras una siembra con una cuajada de la víspera.

En cuanto a su empleo, preferentemente en la fabricación de colas o pegamentos.(20)

3.4.3. La coagulación enzimática

Con anterioridad se ha visto que la caseína consta de varias fracciones que en conjunto forman un complejo con el calcio, que da origen a las llamadas micelas de caseína. Se cree que la K-caseína desempeña un papel especial dentro del complejo. En contraste con otras fracciones, sobre todo con la κ -caseína, es insensible al calcio y actúa de coloide protector. Tal acción según KIRCHMEIER, se debe a que una parte de la K-caseína precisamente la integrada por las proteosas llamadas glucomacropéptidos, penetra en la fase acuosa de la leche y forma una capa hidratada en virtud de su propiedad hidrófila. La otra parte de la K-caseína es insensible al calcio y está unida a él como todas las demás fracciones.

Como la capa hidratada es también asiento de la carga eléctrica, las micelas de caseína se repelen mutuamente e impiden la precipitación.

Por lo tanto la coagulación enzimática se considera que se produce en dos fases:

a) Fase enzimática o primaria; en ésta, se disocian los glu

comacropéptidos del coloide protector representado por la K-caseína, por lo que desaparece la capa hidratada y se corta la protección.

b) Fase de coagulación o secundaria; en ésta se forman puentes salinos a temperatura favorable entre las micelas que son sensibles al calcio en forma de iones, produciéndose entonces la coagulación.

El gel que se origina es entonces una formación reticulada, esto es, un armazón tridimensional comparable a una esponja muy porosa. Del complejo que estaba en solución coloidal, se ha obtenido entonces una cuajada o gel de naturaleza enzimática y que representa la caseína propiamente dicha.

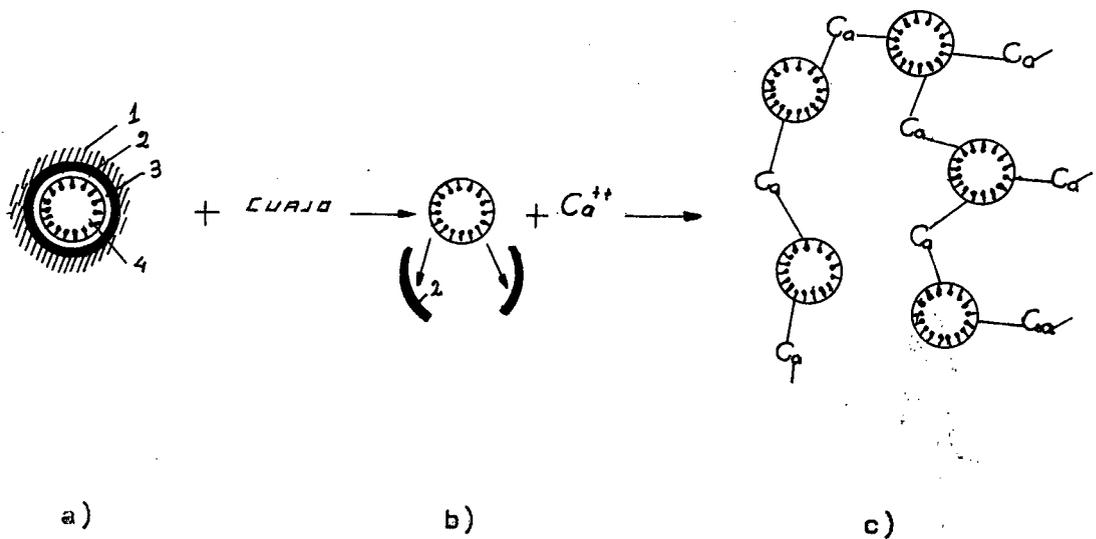
La acción del cuajo no afecta a las proteínas del lactosuero, permanecen en suspensión.

En la siguiente página se encuentra esquematizado el proceso de coagulación enzimática.

Otros autores en la coagulación enzimática de la leche, incluyen una tercera fase, explicándola así: en la primera fase o sea en la transformación del caseinato del calcio en paracaseinato, este cambio depende totalmente de la acción de las enzimas del cuajo. En apariencia no hay cambio visible ni aumento de consistencia. En presencia de sales solubles de calcio el paracaseinato que se ha formado permanece en estado no coagulado, y la acción de esta etapa del proceso tiene lugar lo mismo a bajas que a altas temperaturas.

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA COAGULACION DE LA CASEINA
SEGUN LA TEORIA DEL COLOIDE PROTECTOR (Según PAYENS).

Gráf. Nº 1



- a) Micela intacta de caseína.
 - b) Partícula de caseína desprovista de coloide protector.
 - c) Gel de tipo enzimático (paracaseinato cálcico).
1. Capa hidratada.
 2. Glucomacropéptide (parte hidrófila de la caseína K).
 3. Parte sensible al Ca de la caseína K.
 4. Otras fracciones proteicas sensibles al calcio especialmente caseína α_s .

En una segunda etapa del proceso, parte de las sales cálcicas se solubilizan por acción del ácido láctico suministrado por las bacterias. Esto explica la necesidad del proceso de maduración de algunas leches en la fabricación del queso, para que aparezca dicho ácido.

Finalmente, en la tercera etapa o precipitación de la caseína no coagulada aún, hay un aumento visible de la viscosidad y de la coagulación. Este cambio es efectuado por la acción física y química de las sales solubles de calcio al neutralizar las cargas eléctricas del paracaseinato no coagulado, formado en la primera etapa del proceso. (15)

De esta manera se obtiene una cuajada del tipo enzimático cuyas características son: consistencia gelatinosa y elástica, impermeabilidad, notable pero lenta contractibilidad de las micelas. (20)

3.4.4. La coagulación salina

La coagulación salina de la leche aunque se produce, sin embargo es poco usada. Para ello se puede emplear sales neutras tales como: ClNa , SO_4Na_2 y SO_4Mg ; la acción de todos éstos es de naturaleza física, esto es, una deshidratación del coloidal; además, el fenómeno es reversible, ya que se puede volver a la suspensión por rehidratación.

Ciertos cuerpos susceptibles de tener la forma coloidal absorbiendo mucha agua actúan del mismo modo; es por ejemplo el

caso de la harina que se extrae de las semillas de algarrobo, que absorbe enérgicamente agua y por ello posee un poder gelificante y como tal deshidratante elevado.

En cuanto a las sales neutras generalmente se emplean a saturación, se forma una solución saturada de sal que absorbe el agua en la que las micelas están en suspensión. Como la presión osmótica del líquido intermicelar se vuelve enorme tras la concentración, entonces, las micelas privadas del sustrato de suspensión, precipitan. En todo caso el método no es instantáneo pero sí reversible por rehidratación.

Con alcohol se usa volúmenes iguales, con algarrobo 1gr/3 a 4gr de caseína y con sales neutras hace falta muchos gramos.

- 3.5. FACTORES QUE DETERMINAN LA COAGULACION DE LA LECHE

La coagulación de la leche está influenciada por una serie de factores, los mismos que aumentan o disminuyen la velocidad de coagulación especialmente cuando ésta se lleva a cabo con renina. A continuación se presenta una breve descripción de los mismos.

3.5.1. Influencia de la temperatura

La temperatura es un factor condicionante para la actividad del cuajo; como éste al igual que todas las enzimas tienen su óptimo térmico, se comprende entonces que cualquier valor que de un lado u otro se aleje de aquel, retarda la actividad

enzimática. Para el caso del cuajo, según la opinión de (20), la temperatura óptima está comprendida entre los 39-43°C. Del mismo modo afirma que hacia los 60°C, el enzima es completamente inactivo. Pero, la temperatura de la leche en el instante de la adición del cuajo no resulta ser el único factor. Se hace necesario también tener en cuenta las condiciones de enfriamiento de la leche luego del ordeño; esto debido a que cuando se mantiene la leche cruda a bajas temperaturas por varias horas antes de procesarla, se prolonga el tiempo de coagulación a causa probablemente de una disminución del contenido del calcio soluble en la leche; lo propio sucede con los fosfatos solubles. Sin embargo, si una leche cruda almacenada en frío se mantiene varias horas a 30°C antes de adicionarle cuajo, se constata que el tiempo de coagulación tiende a volver a ser normal. (20)

3.5.2. La acidez (pH) de la leche

El cuajo es una enzima que no actúa en medio alcalino. Se ha constatado que la velocidad de coagulación de la leche es directamente proporcional al pH cuando éste es inferior a 7.0. Si se empieza trabajando con una leche muy ácida, el coágulo obtenido tendrá características de una cuajada mixta, ácida y enzimática.

En el capítulo cuarto se pondrá de manifiesto en la medida de lo posible el factor mencionado. (20)

3.5.3 La dosis o cantidad de cuajo

Suponiendo idénticas todas las demás condiciones, la velo

cidad de coagulación es sensiblemente proporcional a la dosis de cuajo. Sin embargo, el autor considera que ésta regla sólo es válida si el volumen de leche está comprendido entre 2.000 y 15.000 veces el del cuajo comercial al 1/10.000.(20)

3.5.4. El contenido de la leche en sales de calcio solubles

Ya se ha mencionado que la paracaseína resultante del desdoblamiento de la caseína por el cuajo sólo se gelifica en presencia de sales de calcio en solución. Los iones de Ca positivos son necesarios para la floculación de las micelas de paracaseinato cálcico, negativamente cargadas. En tales circunstancias todos los factores susceptibles de reducir el contenido de la leche en sales de Ca solubles, dificultan la acción del cuajo prolongando la coagulación. Así por ejemplo, un animal alimentado con una dieta pobre en calcio, producirá leche rebelde a la acción del cuajo. Lo propio ocurre con un calentamiento prolongado en la leche, superior a los 70°C, por cuanto insolubiliza el calcio al transformar los fosfatos bicálcicos en fosfatos tricálcicos, dificultando con ello la coagulación.(20)

3.5.5. El contenido de la leche en materias nitrogenadas solubles

A medida que aumenta el contenido de éstos, la coagulación de la leche se hace más difícil. En esto se encuentra la explicación de la resistencia a la acción del cuajo que presentan las leches de retención y el calostro, que definitivamente son impropias para la quesería.(20)

3.6. LA CASEÍNA COMO PRINCIPAL PROTEÍNA DE LA LECHE

La caseína es la principal proteína de la leche, componente peculiar de éste alimento; se trata de una proteína completa que contiene todos los aminoácidos esenciales; la misma que se presenta en la leche en forma de suspensión coloidal asociada al fosfato cálcico. Su composición elemental es la siguiente: C=53.5%; O=22.14%; N=15.8%; H=7.13%; P=0.71%; S=0.72%. (3)

La caseína se encuentra en la leche de la mayoría de los ruminantes en una proporción del 3% aproximadamente. Respecto a su síntesis como antes se indicó, parece formarse en el epitelio alveolar de la ubre. Su gran valor biológico que ostenta, obedece a su buen contenido en aminoácidos esenciales.(18).

La caseína merece una gran atención no sólo por formar parte del queso sino también por sufrir transformaciones en muchos procesos tecnológicos.

3.6.1. Los constituyentes de la caseína

Durante mucho tiempo posterior a los trabajos de HAMMARSTEN, se presumía que la caseína era un compuesto heterogéneo. Tal sospecha la comprobó NIELLANDER, quién mediante la electroforesis logró separar tres fracciones, a las que las designó como: α , β y γ -caseínas. Más tarde, CHERBULIEZ y BAUDET, encontraron la presencia de una nueva fracción: la δ -caseína y pusieron de manifiesto la solubilidad de las sales de calcio de

la α y β -caseínas. Según los mismos autores, la α -caseína es heterogénea y estaría constituida por dos porciones: α_1 y α_2 . A pesar de tales ideas, en la actualidad casi no se acepta la existencia de tales porciones, así como también de la δ -caseína.

Las tres fracciones principales de la caseína se encuentran en proporciones variables según la especie, como lo han demostrado los análisis electroforéticos de ALAIS. Se ha indicado también que en una misma leche (de vaca por ej:) puede estar ausente alguna de las fracciones; esto depende de la técnica de preparación de la "caseína entera", esta es la razón para que, a veces, no concuerden algunos datos analíticos. (14)

En forma breve por cierto se mencionarán algunos caracteres de las caseínas:

La α -caseína; es una de las fracciones de la caseína entera, no es homogénea. Contiene a su vez las subfracciones: α_s , K y λ -caseínas, es la fracción más abundante y también, la más soluble a todas las temperaturas; la más rica en fósforo y ¹²azufre la acción de la quimasa.

La α_s -caseína (llamada también caseína calcio sensible), se caracteriza por su insolubilidad en presencia de calcio 0.03M o superiores a pH=7.0.

La K-caseína; es la fracción de la caseína entera (soluble en Cl_2Ca); se cree que su solubilidad le permite estabilizar las otras fracciones en presencia de sales de calcio; por otro lado es el sustrato específico de la acción primaria de la quimasa.

La γ -caseína. Según autores modernos hay discrepancia para llamar " γ -caseína", por no ser elaborada por la glándula ma maria. Es soluble en urea 3.3M, según ALBONICO y CERUTTI, es una caseína menos móvil a la electroforesis que otras fracciones. (14)

3.6.2. Formación de complejos entre las caseínas

La caseína entera posee una estructura compleja como resultado de la combinación de todas sus fracciones que, en presencia de calcio se reúnen formando agregados heterogéneos llamados micelas. Cuando se produce tal combinación, parece que la más rápida se establece entre la α y K-caseínas. Tal asociación parece formar el núcleo de las micelas, alrededor de las cuales se ligan las β -caseínas. En estas combinaciones intervienen enlaces de hidrógeno y las interacciones de grupos no polares abundantes en la caseína, fuerzas de Vander Walls, etc. En presencia de calcio iónico intervienen otros enlaces que se establecen entre los complejos primarios y el conjunto de moléculas aisladas en el medio. El autor considera que en ausencia de K-caseína, no llega a formarse el complejo caseínico.

Por otro lado, conviene recordar que no toda la caseína se encuentra en forma micelar, entre el 5-10% está en forma "soluble"; sin embargo, existe un equilibrio entre ellas. La presencia de los iones calcio desplazan el equilibrio hacia la forma micelar. (10)

3.6.2. Obtención enzimática de la caseína

Antes que se produzca la coagulación, la caseína se encuentra en la leche en forma de micelas en suspensión coloidal, es decir como partículas suspendidas y aisladas unas de otras.

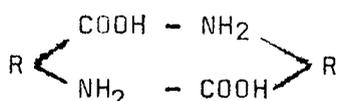
De acuerdo a trabajos recientes de investigaciones, la estructura de la micela de caseína sería la siguiente en lo que se refiere a las combinaciones iónicas:



Esta fórmula (BOHREN y WENNER), excluye el fosfato tricálcico.

Desde luego que las cosas se simplifican no mencionando más que los iones Ca y fosfórico; pero la leche contiene también magnésio y citratos que probablemente intervienen en la constitución de la micela. (5)

Ahora bien, es posible considerar la forma simplificada de la caseína, debido a que las micelas son ciertamente plurimoleculares, que los grupos COOH y NH₂ estén por lo menos parcialmente enlazados entre sí en la profundidad de una misma molécula o entre moléculas diferentes, probablemente según el esquema siguiente:



Estos son enlaces aún bastante flojos, poco sólidos debido a la débil fuerza de los NH₂. En todo caso, los grupos COOH, NH₂, Ca y HPO₄⁻, están unidos entre sí con enlaces de fuerza re-

ducida constituyen sin embargo una débil polimerización físico-química, los mismos que son fácilmente anulados por reactivos fuertes.

La coagulación de la caseína esencialmente consiste en pasar del estado de sol al de gel. En tal operación dos cuerpos juegan un gran papel, el cuajo y las sales de calcio solubles.

El papel de las sales solubles de calcio consiste en la liberación de los grupos Ca y HPO_4^- . En tanto que el cuajo libera principalmente los grupos COOH , NH_2 y parte también de los Ca y HPO_4^- de la molécula. Seguidamente el conjunto de elementos liberados, se vuelven a recombinar bajo la forma puramente química de fosfo-para-caseinato de calcio que conserva la estructura coloidal, pero que es químicamente polimerizado. De modo que para llegar a tal resultado ha sido necesario que los elementos presentes retomen bajo la influencia del cuajo y sales de Ca solubles, una libertad temporal que permita una acción subsecuente de unos sobre otros.

De manera que la coagulación enzimática se realiza en dos pasos: En una primera fase hay liberación de grupos COOH , NH_2 , calcio y HPO_4^- , es decir, destrucción de la ligera polimerización físico-química que existe en la caseína; a tal fase corresponde reducción de la viscosidad y aumento del movimiento Browniano. En la segunda fase, los grupos se recombinan lentamente para formar el paracaseinato de Ca. Esta segunda fase a su vez comprende dos periodos: En el primero hay sobre todo combinación

de calcio con los grupos ácidos a causa de las valencias de éstos más fuertes que los alcalinos, lo que da un paracaseinato poco condensado con grupos NH_2 libres. En el segundo período, el ácido fosfórico se combina tanto con los grupos NH_2 y iones de calcio, lo que da el fosfoparacaseinato de calcio; es el período durante el cual la coagulación se hace visible.

En resumen: el cuajo y las sales de calcio solubles producen sobre el complejo: caseinato de Ca + fosfato de Ca, una acción catalítica de despolimerización físico-químico tal vez suficiente para que las demás operaciones sigan automáticamente. Esta acción, es en efecto, seguida de una polimerización irreversible en la que el calcio y el ácido fosfórico hacen de plastificantes.

Como la primera fase consiste en una despolimerización, es decir, tiende a una relativa solubilización de la caseína, esto puede explicar la acción proteolítica del cuajo y la existencia de la proteosa soluble por solubilización parcial de la caseína.

En fin todo confirma que la coagulación por cuajo, es un fenómeno continuo y progresivo y no brusco como lo es una precipitación mineral. (17)

3.6.3. Importancia tecnológica de la caseína

Con anterioridad se mencionó que una de las finalidades de la tecnología, es el mejorar a través de una serie de proce-

... sos, las condiciones de la materia prima cualquiera que ésta sea: prolongar su duración, modificar el sabor, el color, etc.

Tratándose de la leche considerado como un producto biológico de alto valor nutritivo, pero muy perecible como tal; razón por la que su conversión en queso constituye sin lugar a duda la modalidad más antigua de transformación industrial. Sabemos que su perecibilidad se debe a que tanto la grasa y sobre todo las proteínas se alteran con suma facilidad. De ahí que la industria láctea haya tratado de encontrar siempre procedimientos adecuados para conservarla en beneficio del consumo humano.

Si tomamos en cuenta una de las mejores definiciones que se ha dado al queso, es decir, se llama "queso" al producto de la maduración de la cuajada obtenida por coagulación con "cuajo natural", o ácida de la leche entera, parcial o totalmente descremada, con o sin la adición de colorantes o sal y suficiente liberación del lacto suero. (14)

De lo anterior se deduce y como efectivamente lo es, que la caseína es la materia fundamental para la industria tirológica. Por ende, siendo el queso uno de los productos básicos en la alimentación humana, por demás indiscutible la importancia que tiene la caseína en la tecnología láctea.

Por otro lado debe tenerse en cuenta que la caseína no sólo se emplea en la alimentación, ya que una gran parte de la producción mundial la utiliza la industria química.

3.6.4. Determinación del N total en la caseína

Para determinar el N total en la caseína, se procedió a separarla de la leche mediante ácido acético y filtración; sobre el precipitado obtenido se valoró el N mediante el método KJELDAHL. La técnica empleada para el efecto, es la establecida por A. GODED. (2), la que se halla incluida en la sección anexas.

3.6.5. Determinación del N caseínico

Cuando se valora el contenido proteico en la leche, se determina el N de la totalidad de la proteína; es decir, caseína, albúmina, globulina y el NPN (nitrógeno no proteico). De modo que para encontrar el N caseínico, es necesario establecer la diferencia entre el N total y el N sin caseína. Este último se determinó sobre cada muestra acidificada con ClH diluido, hasta pH isoelectrico de la caseína (4.65)

3.6.6. Determinación del Ca en la caseína y en el suero

a) El Ca en la caseína.-- Estamos de acuerdo que la caseína se encuentra en la leche en forma de micelas de fosfo-caseinato de Ca, en donde tanto el Ca como el fósforo al estado coloidal están unidos a las micelas.

También sabemos que en la leche conforme se va enfriando, las bacterias lácticas fermentan la lactosa liberando ácido láctico, el que a su vez solubiliza una fracción del Ca coloidal, el cual se desprende de la caseína. Lo propio ocurre cuando se obtiene la caseína con ácido, sobre todo en la caseína isoelect-

trico, está completamente libre de Ca. Esto no sucede en la coagulación enzimática.

b) El Ca en el suero..- De nuevo se hace necesario mencionar que para precipitar la caseína, se recurre en quesería a la acidificación láctica y al cuajo. En realidad ninguno de éstos dos modos se lleva a cabo en forma absolutamente independiente o mejor aislados. En sí todas las cuajadas de quesería se obtienen por acción simultánea del cuajo y el ácido láctico proveniente de la transformación de la lactosa. Pero, siempre existe un predominio más o menos marcado de uno de los dos modos de coagulación; de manera que en la cuajada enzimática domina ampliamente la acción del cuajo. (7)

Si la coagulación de la leche por acción del cuajo en realidad se lleva a cabo sin cambio de pH; sin embargo, por el efecto antes indicado y porque además en la práctica quesera se hace uso de iniciadores, esto es, cultivos lácticos que llevan a cabo una premaduración en la leche antes de coagularse, desarrollando por lo tanto una acidez que en todo caso depende del tipo de queso a elaborarse. Como resultado de tal acidez que siempre existe antes de la coagulación, se solubiliza una parte del Ca coloidal el que pasa al líquido intermicelar, el suero. Por consiguiente, la determinación del calcio en el suero, significa saber la cantidad de Ca que ha perdido la caseína en el transcurso de su coagulación.

Como en la leche ya se determinó previamente el calcio, y sí lo determinamos en el suero de esa misma leche coagulada, por diferencia encontraremos el Ca retenido en la paracaseína.

La determinación de Ca en el suero se realizó tomando la muestra inmediatamente después de la coagulación y a pH constante para todas las muestras.

3.7. EL CUAJO COMO AGENTE COAGULANTE

Todos los enzimas proteolíticos tanto de origen vegetal o animal coagulan la leche con diferente intensidad. La renina es la más poderosa de las demás enzimas. (3)

La renina también llamada cuajo, quimosina o fermento lab, es un enzima perteneciente al grupo de las proteasas y que hasta hace poco se obtenía exclusivamente de los terneros lactantes. En la actualidad con el gran aumento de su demanda y la deficiente disponibilidad, se ha tenido que recurrir a proteasas microbianas como sustitutos. (7)

El cuajo completamente puro es una holoproteína que no contiene metales y tiene un peso molecular de 45.000. (9)

El cuajo actúa en virtud de dos enzimas, que son aquellas sustancias que activan las reacciones en pequeñas dosis y en el caso específico están dotadas de propiedades coagulantes. Tales enzimas se encuentran en la mucosa gástrica de los rumiantes lechales en forma de precursores inactivos, las cuales se activan en presencia de una reacción ácida. De ahí que las leches patológicas, concretamente las mastíticas, como tienen reacción alcalina, inactivan las enzimas y retardan la coagulación. (8)

3.7.1. Preparación del cuajo

Para la preparación del cuajo se procedió siguiendo la técnica recomendada por MAURICE BEAU. (17)

Para tal efecto se sacrificó un cordero lactante (22 días de nacido), se le extrajo el cuajar retirándose luego las impurezas; a continuación se puso a secar durante 15 días al aire libre. Estando completamente seco, se cortó en pedazos o tiras pequeñas y se puso en maceración en solución de ClNa. Se adicionó como agente conservador, ácido bórico. Las proporciones usadas son las siguientes: -80gr de cuajar/litro

-ClNa al 5%

-ácido bórico al 4%.

La extracción salina se mantuvo durante 12 días a temperatura ambiente (de laboratorio) y agitando con frecuencia. Terminada tal operación, el líquido de color amarillento y viscoso se lo filtró por tres veces. Seguidamente se lo guardó en frasco de color para evitar interferencias de la luz.

Con el fin de emplear agua de buenas características sobre todo bacteriológicas, se usó agua destilada. Sin embargo, al respecto existe el criterio de que el agua destilada parece inhibir ligeramente la quimosina. (11)

En todo caso, según la opinión del autor antes mencionado, siguiendo los pasos en la preparación del cuajo, adecuadamente; el líquido obtenido y almacenado protegido de la luz, calor, contaminantes, etc, es sumamente estable.

El extracto bruto del cuajar puede purificarse por precipitaciones sucesivas mediante ClNa saturado; de esta manera se llega a obtener un cuajo puro cristalizado. (5)

3.7.2. Determinación de la fuerza del cuajo preparado

Todo extracto de cuajo debe tener un poder cuagulante cuidadosamente determinado. Ese poder llamado comunmente FUERZA o TITULO, indica el número de litros de leche que puede coagular un litro de extracto a la temperatura de 35°C y en 40 minutos. De esta manera se dice que se trata de cuajo al 1/10.000. (20)

La verificación de la fuerza del cuajo se llevó a cabo empleando la técnica recomendada por (20). Para ello se calentaron 500ml de leche fresca, a 35°C, y a tal temperatura se le añadió η ml de cuajo agitándose de inmediato, al mismo tiempo se controló la hora (el instante que se adicionó el cuajo). Se dejó en completo reposo y al cabo de pocos minutos, se introdujo en el centro del recipiente una delgada pajita, anotándose el momento en que la misma se mantuvo fija; en tal instante se considera que se ha producido la coagulación y se anota el tiempo. La fuerza del cuajo se calcula a través de la fórmula siguiente;

$$F = \frac{2400 \times 500}{T}$$

Siendo T el tiempo de coagulación expresado en segundos. (20)

Otra fórmula que define la fuerza o título es:

$$T = \frac{2400 \times V}{v \times t}$$

siendo: V = volumen de leche (ml)

v = volumen de cuajo (ml)

t = tiempo de coagulación en segundos. (13)

El producto preparado en nuestro caso resultó tener una fuerza de ~~1/900~~ $1/900$.

3.7.3. Determinación del pH en el cuajo preparado

Esta prueba se realizó utilizando el pH-metro, haciéndose la medida tan pronto como se filtró y para ser envasado. Dio un valor de $\text{pH} = 4.7$.

El conocimiento del pH en el cuajo es importante debido a que: - La actividad óptima de su actividad proteolítica es a pH 3.8-4.0

- El pH límite de la actividad coagulante es de 7.3 - 7.5
- El cuajo se inactiva irreversiblemente a pH 8.0 (en tanto que la proenzima resiste pH más elevados)
- El cuajo conserva su actividad proteolítica en medio ácido, pero por debajo de pH 4.8 es poco estable. (5)

Con el fin de comprobar si se originaban cambios en el pH del cuajo, se hicieron varias determinaciones durante su almacenamiento, lo que permitió comprobar que a los 5 meses el pH llegó a 4.85. Además, que la variación más significativa se produjo al final del período del control.

3.7.4. Funciones que cumple el cuajo

El cuajo ejerce un doble papel sobre la leche:

a) Acción coagulante.- La renina es una diastasa y como tal dotada de propiedades catalizadoras que actúa sobre el fosfocaseinato de la leche a manera de un catalizador produciendo una polimerización y luego la coagulación. Tal polimerización comienza al poco tiempo de ser adicionado el cuajo y prosigue sin parar siempre que no haya sido interrumpido.

Según la teoría de HAMMARSTEN y continuada por PORCHER, la acción coagulante del cuajo sobre la leche se realiza en dos fases: en la primera el cuajo desdoblaría el caseinato de la leche en un paracaseinato cálcico y una materia nitrogenada soluble "la proteosa". En la segunda fase, el paracaseinato se insolubilizaría y formaría un gel irreversible en presencia de cantidad suficiente de sales de Ca en solución. (3)

Se cree que el cuajo en la fase secundaria ataca a la mayor parte de las sustancias que proceden de la reacción primaria. En ésta fase se requiere ya el concurso de la temperatura, a 15°C es muy lento. La coagulación no se produce nunca sin la previa reacción enzimática.

Cabe recalcar que el fenómeno de coagulación de la leche es muy complejo y su explicación permanece oscura todavía. Las etapas del fenómeno actualmente pueden concebirse de la siguiente manera:

- 1.- Hidrólisis enzimática limitada de la K-caseína (reacción "primaria")
- 2.- Modificación de las micelas y quizá degradación de éstas, seguida de una reconstitución de nuevas micelas, con la intervención del fosfato de Ca.

- 3.- Enlace de micelas y formación de coágulo -fase"secundaria"
- 4.- Sinéresis del coágulo
- 5.- Proteólisis lenta de los componentes de la caseína -fase _
"terciaria". (5)

b) Acción proteolítica.- La actividad enzimática del cuajo caracterizada por la rápida liberación de NPN, no cesa después de la reacción específica, sino que provoca seguidamente una _
lenta proteólisis general de todos los constituyentes de la caseína. Como en una primera fase hay una despolimerización; es _
decir, tiende a una relativa solubilización de la caseína; esto puede explicar la acción proteolítica del cuajo y la existencia de proteosa soluble, por solubilización parcial pero durable de la caseína. La proteólisis comienza simultáneamente con la co
gulación; pero hay otros autores que sostienen que se inicia du
rante la preparación de la cuajada y que se prolonga durante to
da la maduración del queso. (3)

En todo caso, la proteólisis de la caseína según lo expues-
to no es resultado único del cuajo, sino que intervienen tam -
bién las enzimas elaboradas por los microorganismos sobre todo _
las bacterias acidolácticas, ya que como se sabe algunos de és-
tos son esencialmente proteolíticos.

3.8. EMPLEO DEL CUAJO PREPARADO EN LA COAGULACION DE LAS MUES - TRAS

En esta parte de la experiencia se trata de comprobar el _
comportamiento del preparado frente a las muestras en ensayo.
Con el fin de eliminar al máximo los errores posibles, todas _

las muestras y pruebas son realizadas en idéntica forma; esto en cuanto al uso del mismo cuajo, volúmenes empleados, ambiente de trabajo; en cierta manera tratando de asemejarse a las condiciones de trabajo en tina.

3.8.1. La acción del cuajo frente a la caseína

Ya se indicó que la acción del cuajo frente a la caseína es doble. Por un lado está la acción coagulante y por otro la proteolítica. Para varios autores tales acciones se inician simultáneamente cesando luego la primera en tanto la otra continúa hasta la maduración del queso. Para otros autores encambio, las acciones mencionadas son secuenciales; es decir, que se suceden una tras otra. En todo caso, debe advertirse de nuevo lo que afirma (5), que el proceso de coagulación de la leche con cuajo, es complejo y aún poco conocido.

3.8.2. Determinación del tiempo de coagulación

Para nuestros fines, por tiempo de coagulación entendemos la mora o el lapso que transcurre desde el momento que se añade el cuajo a la leche y hasta que ésta se coagule. La operación misma se realizó del modo siguiente: sobre 20ml de muestra colocada en vasos de precipitación, éstos sumergidos en baño maría termostatzado a cada una de las temperaturas a las que se hizo la medida; todo ello se detalla en el capítulo cuarto.

3.8.3. Influencia de la temperatura en la actividad del cuajo

Al menos dentro de un cierto margen las reacciones enzimá-

ticas se comportan como las reacciones químicas ordinarias, en el sentido de que su actividad se incrementa con la temperatura. Pero, sucede que con las enzimas en un momento dado se alcanza un punto de inversión, debido a que a temperaturas altas la enzima se inactiva por acción del calor. No olvidemos que siendo de naturaleza esencialmente proteica, se desnaturaliza fácilmente por éste, con pérdida simultánea de sus propiedades.

Según NIELANDS - STUMPF (19), la temperatura a la cual una enzima actúa con su máxima actividad, está en función de factores tales como: fuerza de la enzima y del sustrato, presencia de activadores o inhibidores, etc. En el caso de la renina, al igual que toda enzima tiene su temperatura óptima. Por lo tanto, cualquier valor que de un lado u otro se aleje de aquella, disminuye la actividad de la enzima.

Las investigaciones que sobre el cuajo se han realizado indican que la temperatura óptima es de 41°C ; así mismo que por sobre los 55°C se inactiva completamente. (8)

Con miras a comprobar en parte lo indicado, se trabajó del siguiente modo: en vasos se colocó 20ml de leche, éstos inmersos en baño maría termostaticado a las temperaturas que se probó; una vez alcanzadas tales temperaturas en la leche, se añadió siempre la misma cantidad de cuajo, esto es, 0.2ml. A partir de tal instante se controló el tiempo en que cuaguló cada muestra.

3.8.4. El pH óptimo usando el cuajo

Al igual que la temperatura afecta la actividad del cuajo el pH del medio donde actúa la enzima modifica quizá en mayor grado su comportamiento.

Investigaciones efectuadas sobre el cuajo confirman que:

- El cuajo no actúa en medio alcalino. Que la velocidad de coagulación es directamente proporcional al pH cuando éste es inferior 7. (20)
- Bajando el pH se provoca la precipitación de la caseína y es casi completa a pH 4.65. (17)
- Parece que la quimosina obra con mayor intensidad cuando el pH está entre 5-7. (15)
- La actividad óptima del cuajo es a pH 3.8 - 4.0. (10)

De lo que antecede se constata que aún no existe un acuerdo universal sobre el pH óptimo para el cuajo.

Para nuestro caso, la determinación aproximada se efectúa así: se trabajó de modo idéntico al mencionado con anterioridad, sólo que en éste caso se mantuvo la temperatura constante a 35°C y tomando como variable el grado de acidez (pH) de la leche. La corrección de acidez se hizo con ClH diluído.

3.8.5. Influencia de un álcali en la coagulación enzimática

En la tecnología de la leche se presentan factores que a veces dificultan seriamente los procesos. Ocurre por ejemplo que no siempre llega a la planta leche de calidad óptima; así, la frecuencia de leches ácidas obliga a los técnicos a adaptar

las condiciones de trabajo a la calidad de la materia prima.

Si se trata de acidificar una leche, ello es fácil; pero, lo difícil está en eliminar los efectos de una acidificación excesiva sobre los constituyentes de la leche. Mucho sucede, que los productores generalmente por falta de higiene, antes de la entrega se les acidifica grandes volúmenes de leche. En tales circunstancias con frecuencia neutralizan la acidez con incorporación de un álcali y así entregar la leche en condiciones aparentemente normales. Con ello el problema real es para la industria; ya que si tal leche se destina a quesería, presentará comportamiento anormal frente a la acción del cuajo.

Reiterando el principio de que el cuajo es enzima, y tanto BRAVERMAN y E. MERTZ (4,6) afirman que: las enzimas son catalizadores orgánicos de naturaleza proteica, de modo que siendo proteínas, participan de las mismas propiedades que éstas. Pues bien, entre varias de tales propiedades de las proteínas, están precisamente las de ser desnaturalizadas por la acción del calor, los ácidos, los álcalis, metales pesados etc. No cabe duda entonces que la presencia de un álcali en el sustrato de acción del cuajo, tenga que intervenir negativamente retardando su actividad al menos, cuando ésta no llegue a ser nula.

Con el fin de comprobar el alcance o influencia antes indicado se trató con cuajo volúmenes de leche (20ml), a los cuales se les añadió previamente diferentes cantidades de NaOH; de la misma forma se procedió usando CO_3Ca .

3.9. IMPORTANCIA DE LA PRESENCIA DE LAS SALES DE Ca EN LA LECHE

No debe olvidarse que la leche es uno de los alimentos naturales más completos, el que más se aproxima al ideal de una alimentación. Contiene casi todo cuanto es necesario para el sustento del hombre en forma bastante equilibrada. Si examinamos la composición química de la leche, notamos que en ella interviene una fracción de componentes minerales, entre los cuales está precisamente el Ca. En lo que concierne a la importancia del Ca en la leche, se debe manifestar que su presencia cumple:

- 1.- El papel de elemento integrador del valor nutritivo.
- 2.- Como agente indispensable en la tecnología del queso.

El Ca y el P, no sólo son los integrantes del sistema óseo, sino que entre varias funciones están las de ser transferidores de energía en la actividad muscular. (17)

En lo tocante al Ca como elemento importante en la tecnología quesera, su papel lo cumple cuando se efectúa la coagulación enzimática. En éste proceso prácticamente está comprobado que el Ca sirve de elemento de enlace o unión para la configuración de las micelas.

Así mismo, desde los tiempos de HAMMARSTEN, se ha afirmado que tanto el Ca y el P son los agentes plastificantes de la caseína. De modo que si tal caseína se dedica a queso, que es lo común en nuestro medio y si la materia básica se ha obtenido bajo condiciones carentes de Ca y P, el producto final no logrará una de sus mejores características, la plasticidad.

3.9.1. Presencia del Ca en la leche

El Ca en una leche normal suele encontrarse en una proporción media de 0.12%, el mismo que está a su vez tanto en forma soluble y coloidal. (1)

PORCHER, en sus determinaciones analíticas encontró que, el Ca está en la leche como: - Fosfato dicálcico
- Citrato tricálcico
y que solamente 0,61gr/litro, se encuentran combinados con la caseína.

Es necesario tener presente que la materia mineral en la leche se encuentra en equilibrio, pero un equilibrio lábil que puede modificarse a cada instante por influencia de factores como la temperatura, pH, etc. El equilibrio entre las dos formas del Ca (Ca^{++} iónico de las sales solubles disociadas y Ca complejo de los edificios coloidales), es el que condiciona muy particularmente la estabilidad de la leche. Un incremento del Ca^{++} iónico aumenta la inestabilidad cuando la leche se calienta o se le añade cuajo. (20)

3.9.2. Efecto temperatura - sales cálcicas

Muchos trabajos realizados sobre éste tema, han puesto de manifiesto que el calentamiento de una leche normal a temperaturas superiores a los 70°C , reduce grandemente el contenido de Ca soluble (fosfato dicálcico), al transformarlo en fosfato tricálcico dificultando de esta manera la coagulación enzimática.

Relacionando el efecto que tienen las altas temperaturas

con la coagulación enzimática de la leche, hay investigadores que afirman que la acción negativa a la que se aduce, se debe tanto a la reducción del contenido de Ca soluble, como porque disminuye el tamaño micelar con el calentamiento. Además, por una modificación de las proteínas solubles con un posible depósito desnaturalizado sobre las micelas, lo que impide el contacto con el cuajo. (10)

Para nuestros fines calentamos volúmenes de la misma muestra a diferentes temperaturas y tiempos (de pasteurización); luego se enfriaron a 35°C y se procedió a la coagulación en forma similar a las realizadas anteriormente.

3.9.3. Efecto del contenido de Ca en la coagulación de leche

Con anterioridad se puso énfasis de la importancia del contenido de Ca en la leche y el papel específico que desempeña en la coagulación enzimática. No obstante conviene insistir que es el elemento que sirve de enlace entre las diferentes micelas de caseína para conformar mediante el proceso de polimerización del cual ya se mencionó, el coágulo polimerizado, esto es la paracaseína.

3.9.4. Coagulación añadiendo cloruro de calcio

Cuando el contenido de Ca en la leche por cualquier motivo se ha reducido de su concentración normal, tal leche al ser coagulada con cuajo, no responde en forma satisfactoria; se vuelve rebelde. En tales circunstancias lo práctico es corregir su comportamiento por adición de una sal de Ca, de las cua-

les el CaCl_2 es el más empleado.

Se considera que la acción del cloruro de Ca es un tanto compleja; ya que no únicamente interviene aumentando en la leche el contenido de iones Ca^{++} , si no que al mismo tiempo reduce el pH. Como ambos fenómenos actúan en el mismo sentido, por ello el Cl_2Ca acelera considerablemente la coagulación. En la práctica quesera la mencionada técnica se suele emplear incluso cuando la leche tratada tiene una composición mineral normal.

En el presente trabajo se ha tratado de determinar el alcance de la adición de diversos porcentajes de la mencionada sal a las diferentes muestras.

3.9.5. El pH óptimo usando Cl_2Ca

En ésta parte de la experiencia, lo que en realidad se ha hecho, es medir las variaciones que experimenta el pH de la leche en función de los diversos porcentajes añadidos. Como realmente no se trata de establecer parámetros para un tipo de queso en particular; por ello no se ha determinado un pH óptimo que sería aconsejable para un determinado tipo de queso.

3.9.6. Tiempos de floculación con la adición de Cl_2Ca

La técnica empleada en tal medición es prácticamente la misma que se usó en el caso de la coagulación añadiendo únicamente cuajo. La diferencia con el presente caso está en que previa al calentamiento y por ende a la adición del cuajo, se incorporó a las muestras Cl_2Ca anhidro. Los resultados que se

indican en el capítulo siguiente, evidencian cómo se reduce notablemente el tiempo de coagulación y con ella consecuentemente se logra una economía de cuajo.

3.10. ESTUDIO DE LA ACCION CONJUNTA CUAJO - Cl_2Ca

Se ha trazado como objetivo comprobar en la medida de lo posible, la interacción entre los mencionados agentes que intervienen en la coagulación de la leche.

3.10.1. El pH óptimo en la coagulación conjunta

Se trata también de un seguimiento de los cambios que experimenta el pH adicionando los agregados correspondientes y al final en función de los tiempos de coagulación establecer sobre todo la concentración de Cl_2Ca más conveniente.

3.10.2. Influencia de la temperatura

En ésta sección de las experiencias, no se hicieron determinaciones con variaciones de temperatura en el proceso de coagulación; como anteriormente ya se indicó que en la práctica industrial, con pocas excepciones se rebasa los $36^{\circ}C$ en la coagulación. De modo que al no tener importancia utilitaria, de poco sirven sus determinaciones.

3.10.3. Tiempos de floculación

Como en los casos anteriores se trata de verificar el tiempo en el que se reduce el fenómeno de coagulación bajo la interacción del cuajo - cloruro de Ca.

C A P I T U L O I V

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

En el presente capítulo se detallan todas las experiencias que sobre las diferentes muestras se efectuaron. En lo referente a las muestras, se indica que se trabajó sobre dos muestras de leche entera - fluída, y una tercera de leche en polvo reconstituyéndola en la proporción de 12gr/100ml. Su identificación es:

Muestra # 1= leche entera; origen la hoya de Loja.

Muestra # 2= leche que se distribuye en la ciudad de Catacocha; origen el valle de Cazanga.

Muestra # 3= leche en polvo semidescremada "La vaquita"; origen Cayambe.

Con las muestras mencionadas se ha tratado de analizar el comportamiento de cada una de ellas fijando una de las variables que nos ocupa, en tanto manteníamos constante la otra.

Con el fin de percibir mejor el fenómeno de coagulación, se

buscó la cantidad mínima que ha permitido una buena visualización del mismo.

DETERMINACIONES FUNDAMENTALES EFECTUADAS SOBRE CADA MUESTRA

Muestra # 1	Humedad	87.6	%
	Grasa	3.9	%
	Proteína	3.35	%
	Caseína	2.64	%
	N caseínico	0.43	%
	Cenizas	0.65	%
	Calcio	0.127755	%
Muestra # 2	Humedad	89.7	%
	Grasa	2.5	%
	Proteína	3.14	%
	Caseína	2.45	%
	N caseínico	0.39	%
	Cenizas	0.62	%
	Calcio	0.114228	%
Muestra # 3	Humedad	2.2	%
	Grasa	22.8	%
	Proteína	33.4	%
	Caseína	2.41	%
	N caseínico	0.42	%
	Cenizas	5.98	%
	Calcio	0.43420	%

Los datos reportados en la página anterior, siempre hacen referencia a valores promedios; lo mismo ocurre con todas las determinaciones que se mencionen posteriormente.

DISCUSION DE RESULTADOS.-

Analizando los valores obtenidos anteriormente encontramos, que la muestra # 1, presenta en términos generales los mejores requerimientos de una leche normal. En ella se debe destacar sobre todo el gran contenido en grasa. La muestra # 2, al contrario presenta valores muy bajos que en todo caso hacen sospechar sobre una posible adulteración, basta observar la relación entre el contenido de humedad y grasa.

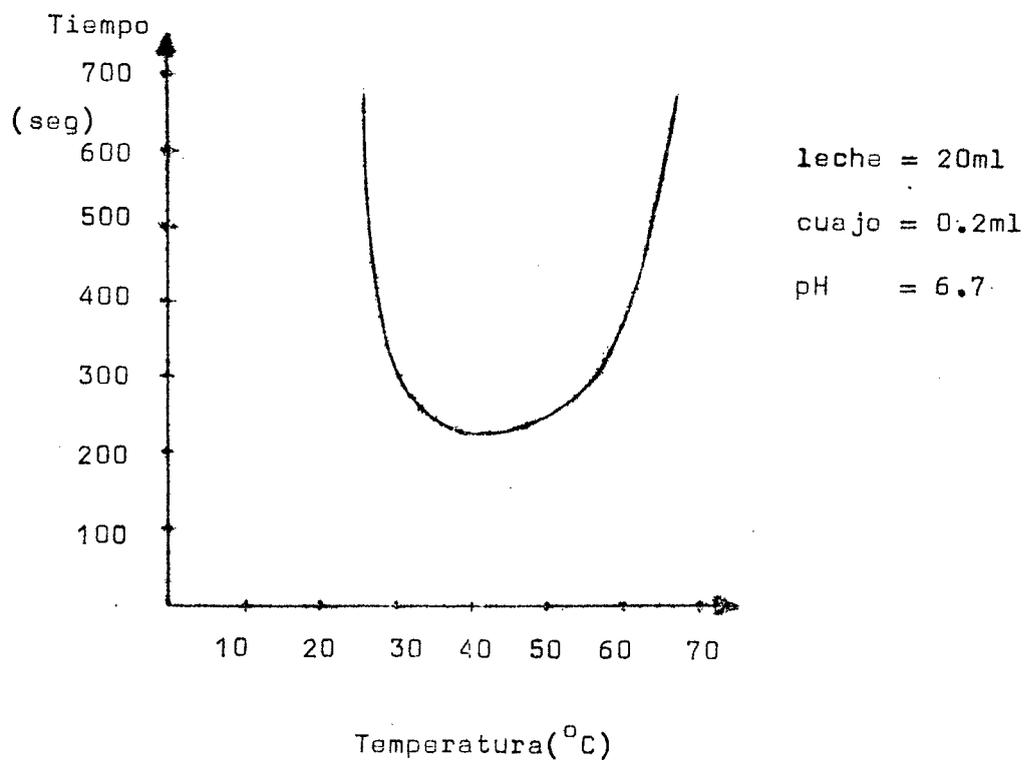
Con respecto a la leche en polvo, en sí manifiesta condiciones satisfactorias en cuanto a los requerimientos que sobre tales productos establecen las legislaciones. En ella se destaca sobre todo, el contenido en calcio que es significativamente superior al de las otras muestras.

Como claramente se establece que la muestra 1, es la que cumple casi a cabalidad los requisitos de una leche normal; por tal razón y en consideración que para ciertas pruebas como la determinación de la fuerza del cuajo por ejemplo, se requiere emplear leche fresca y de excelente calidad; por ello se tomó a la indicada muestra como patrón para realizar algunas determinaciones previas a la adición del Cl_2Ca . Seguidamente se presentan las determinaciones a las cuales se ha hecho mención.

T A B L A 1

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA ACTIVIDAD DEL CUAJO

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	26	30	35	40	42	50	55	60	65	70
Tiempo coag. (seg)	670	320	236	220	235	250	286	395	640	7200

Gráf. N^o 2

DISCUSION DE RESULTADOS.-

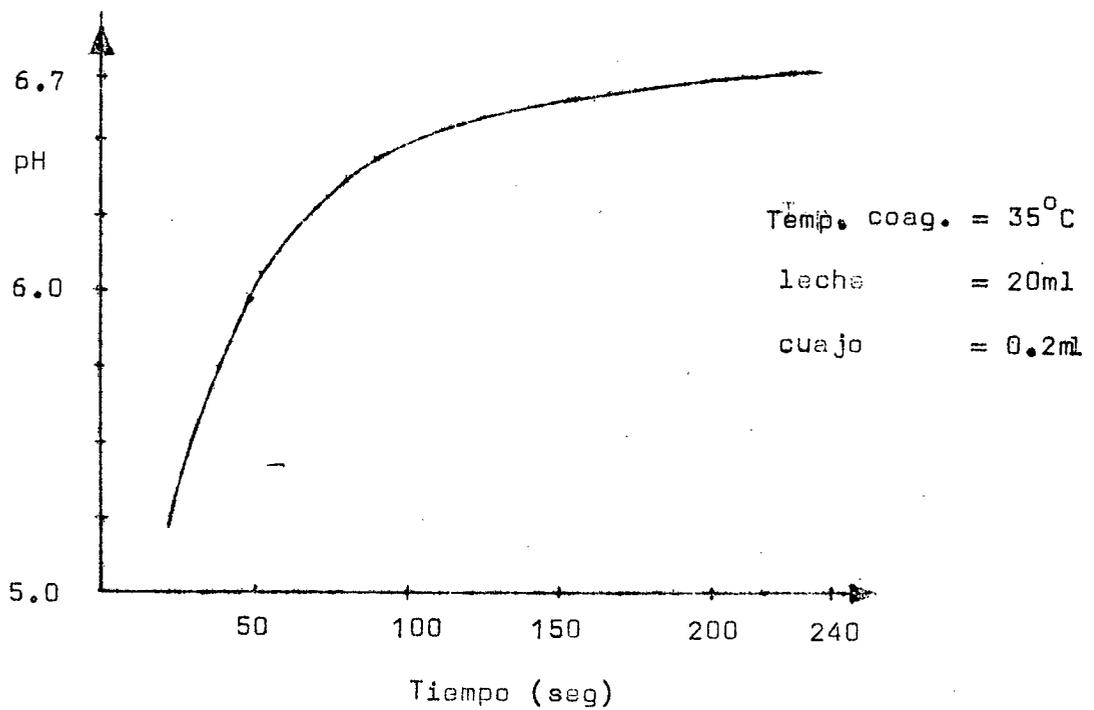
Del análisis del graf.2, podemos establecer fácilmente, que en éste caso el valor óptimo de temperatura a la cual el cuajo obra con mayor rapidez, se encuentra a los 40°C . Así mismo, se observa como se retarda mucho su actividad tanto a bajas como a altas temperaturas; el efecto es más acentuado a 26°C que a los 60°C . También se comprobó que a los 70°C , aún se mantiene activo el cuajo, naturalmente con su vitalidad reducida, discrepando con esto, de la información proporcionada por. (8)

T A B L A 2

INFLUENCIA DE LA ACIDEZ (pH) EN LA COAGULACION ENZIMATICA

Acidez (pH)	6.7	6.4	6.0	5.7	5.5	5.2
Tiempo coag.(seg)	240	96	50	40	32	25

Gráf. Nº 3



DISCUSION DE RESULTADOS.-

Del graf.3, constatamos como la acidez cuadyuua significati vamente en la coagulaoión. A valores inferiores a pH6, la re - ducción se hace prácticamente lineal. De modo que el fenómeno se hace fácilmente manejable con sólo reducir el pH; sin embar go en la práctica sólo es posible dentro de un oierito rango -li mitado por cierto -,ya que depende mucho del tipo de queso a e- laborarse.

En la experiencia también se operó con pH alcalinos de 7;

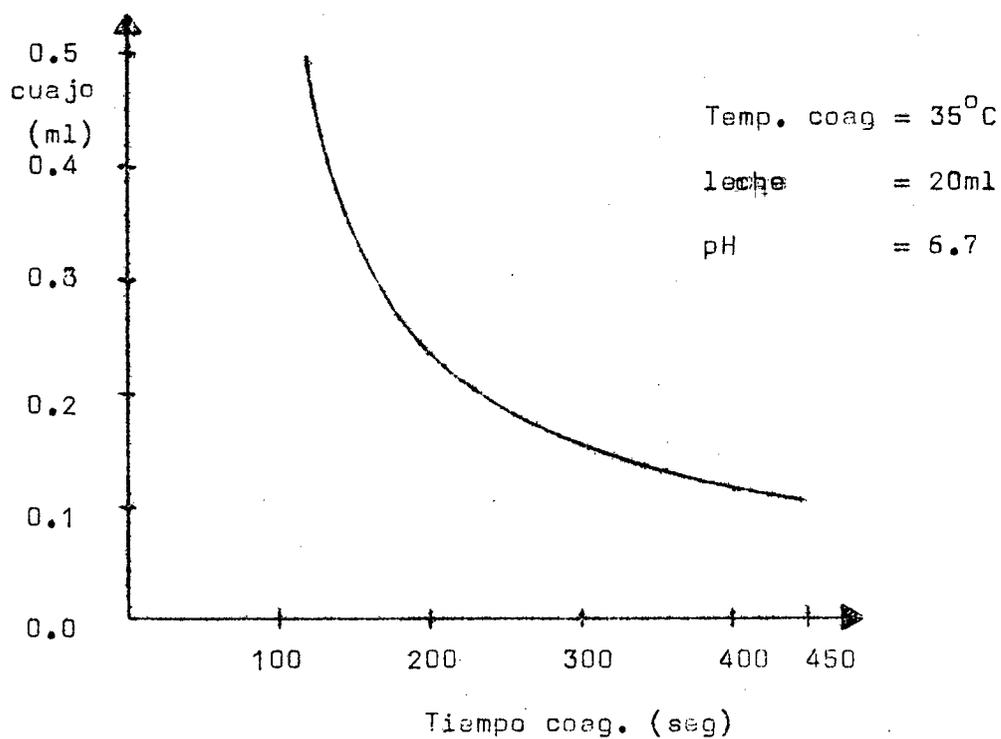
7.5 y 8.0. A éste último valor el cuajo es prácticamente inactivo. No se operó a pH inferior a 5.2, por cuanto a tales valores la leche de por sí coagula sin necesidad del cuajo.

T A B L A 3

INFLUENCIA DE LA DOSIS DE AGENTE COAGULANTE SOBRE LA LECHE

Cuajo (ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Tiempo coag. (seg)	450	236	165	145	125

Gráf. Nº 4



DISCUSION DE RESULTADOS.-

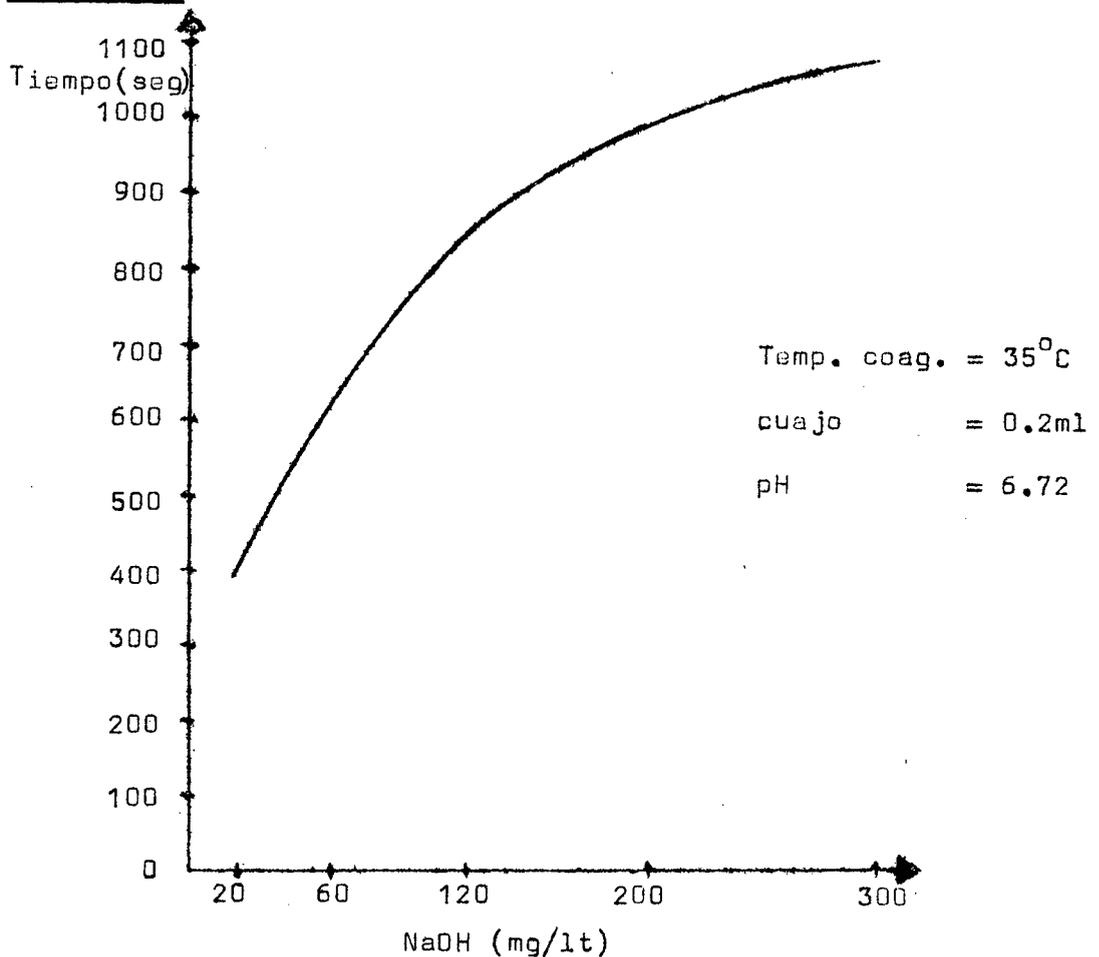
De los valores graficados (graf. 4), se desprende que el tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la dosis de cuajo, lo que confirma el concepto existente. Se observó también que al incrementarse la dosis, el coágulo resultante presenta mejor firmeza; el desuerado es más rápido.

T A B L A 4

INFLUENCIA DE LA PRESENCIA DE UN ALCALI EN LA COAGULACION

NaOH (mg/lt)	Tiempo coag. (seg)	pH
20	390	6.8
40	620	6.82
60	855	6.84
80	990	6.87
100	1080	6.92

Gráf. No 5



DISCUSION DE RESULTADOS.-

De la experiencia se constata que la incorporación de un ál cali fuerte aún en pequeñas proporciones, ejerce una marcada ac ción negativa. Se nota fácilmente cómo se modifica el pH del —

medio y cada vez se acerca a la neutralidad donde no le resulta favorable a la enzima.

Comparando los coágulos, el obtenido de leche entera es mucho más firme que el producido a partir de leche en polvo, bajo las mismas condiciones. En ambos casos el desuerado es muy lento.

Hablando en términos de cuantificación, vemos que al duplicarse el contenido de álcali se produce un aumento en el tiempo de coagulación en aproximadamente el 56%.

T A B L A 5

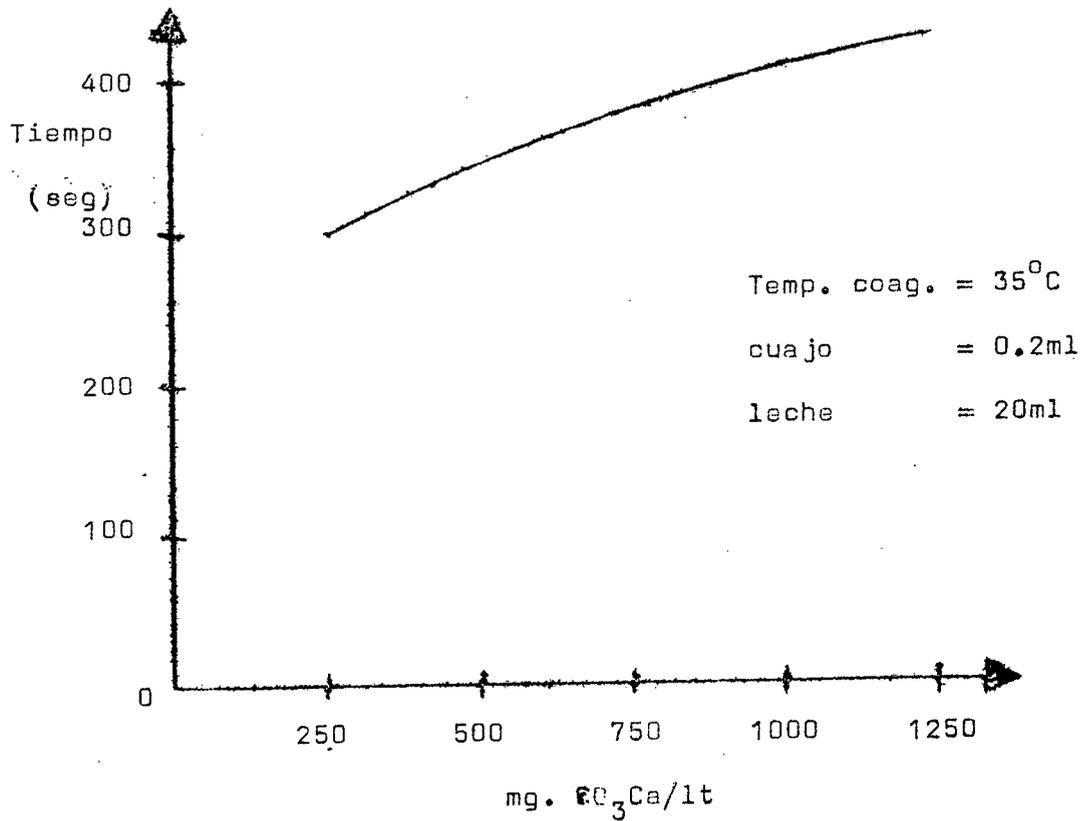
INFLUENCIA DEL CARBONATO DE CALCIO EN LA COAGULACION

CO ₃ Ca (mg/lt)	Tiempo coag. (seg)	pH
250	300	6.64
500	360	6.65
750	390	6.66
1000	410	6.68
1250	425	6.685

DISCUSION DE RESULTADOS.-

Del graf. 6, apreciamos como al incorporar CO₃Ca, éste aumenta el tiempo de coagulación; pero, el mismo es pequeño en comparación con el originado por el NaOH. En éste último caso, al duplicarse el contenido, se origina un aumento en el tiempo de coagulación del orden 17%; además, el aumento no es lineal.

Gráf. Nº 6



T A B L A 6

EFECTO TEMPERATURA - SALES CALCICAS

Temp.calentamiento	60°C/30min.	72°C/15seg	85°C/20seg
Tiempo coag. (seg)	240	345	450

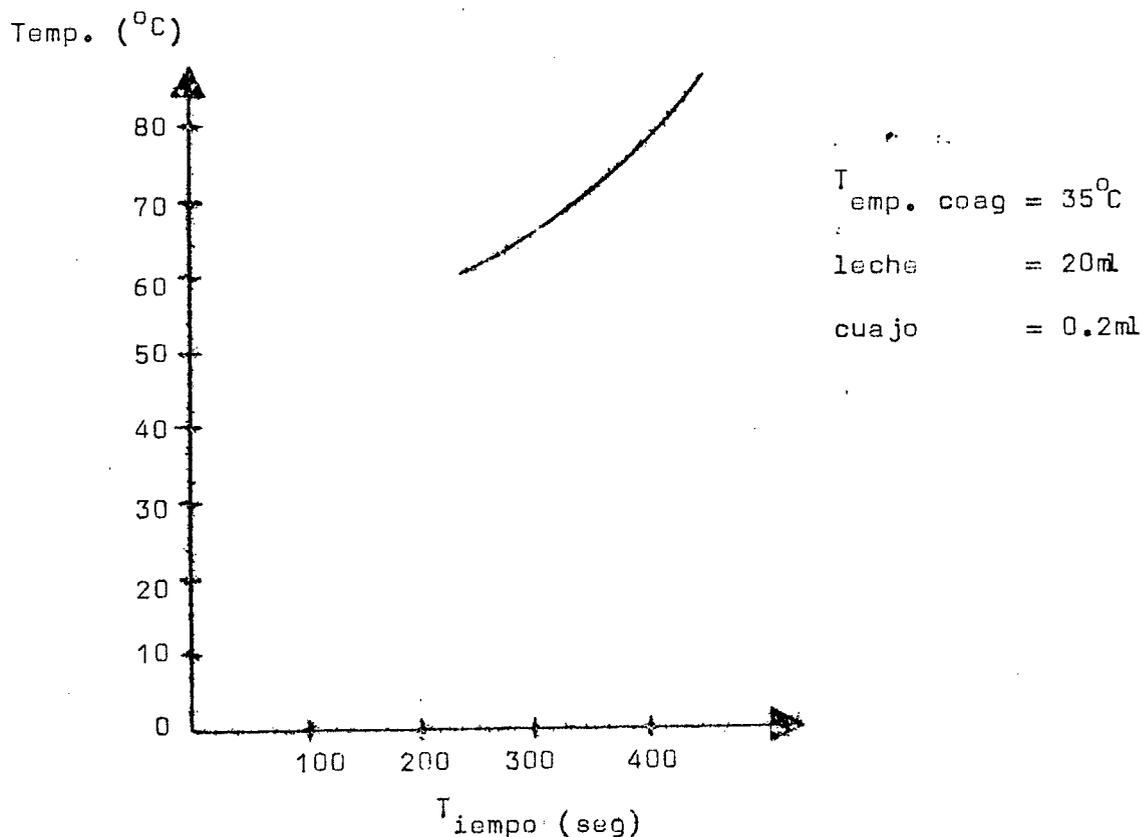
DISCUSION DE RESULTADOS.-

Los resultados graficados (graf. 7), demuestran que calentar la leche a 60°C/30min. prácticamente no tiene ninguna influencia en la reducción del contenido en sales cálcicas solubles; ya que si comparamos, con la tabla 1, la diferencia en el tiempo que se provoca es insignificante. A los 72°C, en cambio ya se ha producido un aumento considerable en el tiempo de coagulación. Así mismo debo dejar constancia que tales temperaturas se deben a tratamientos térmicos de pasteurización.

Como el resto de factores se mantienen constantes en la coagulación, entonces se comprende que el retraso se debe a la disminución de las sales cálcicas solubles.

Anteriormente se indicó que no sólo las altas temperaturas inciden en la reducción del calcio, también afectan las bajas temperaturas. Tratando de comprobar lo expuesto, se refrigeró leche durante 5 horas a 8°C ; luego se llevó a la coagulación a 35°C . Se constató que se retrasa la coagulación en aproximadamente 60 segundos de la realizada previamente sin refrigerar la muestra.

Gráf. Nº 7



T A B L A 7

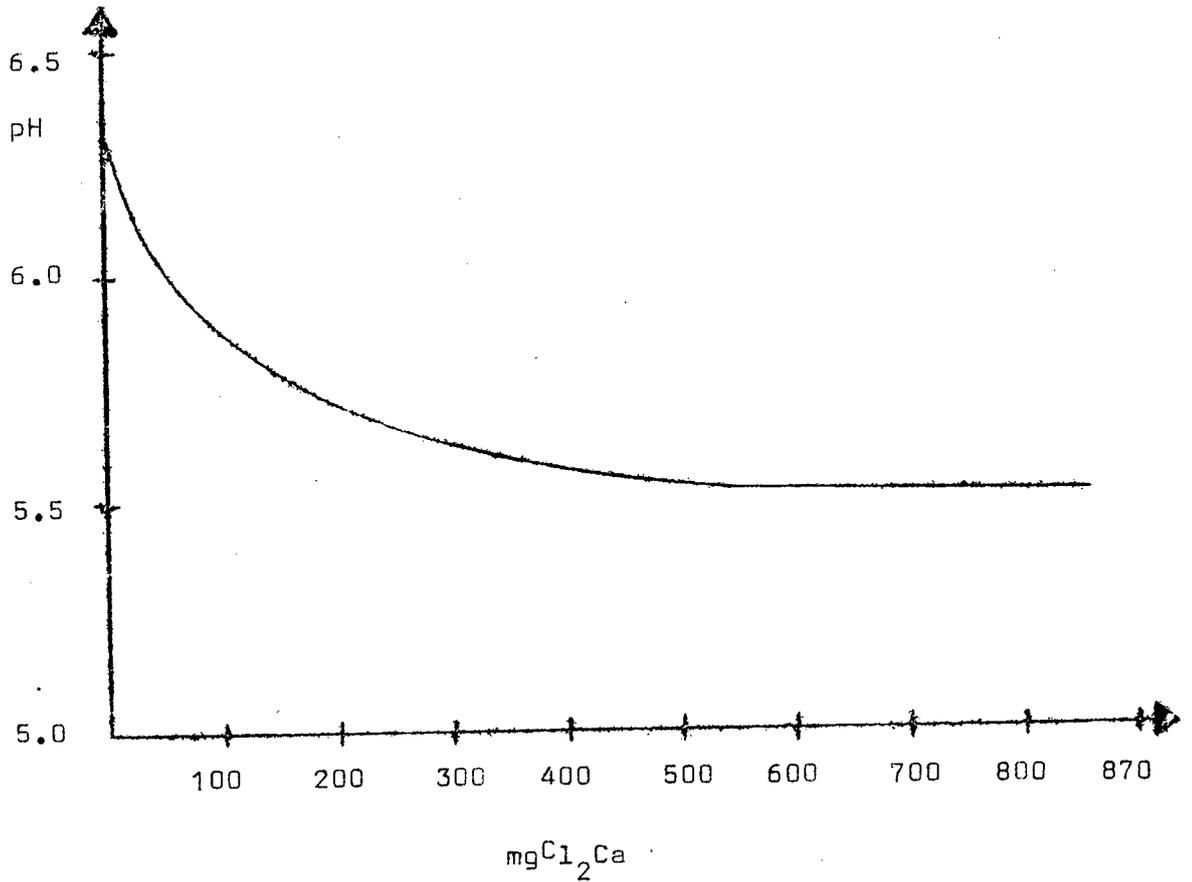
MODIFICACION DEL pH DE LA LECHE POR AGREGADO LENTO DE Cl_2Ca

(mg) Cl_2Ca	pH
0.0	6.4
10.0	6.3
30.0	6.2
60.0	6.05
100.0	5.90
150.0	5.82
210.0	5.73
230.0	5.66
360.0	5.62
450.0	5.58
550.0	5.56
670.0	5.56
870.0	5.56

DISCUSION DE RESULTADOS.-

Como demuestra el gráf. 8, el agregado lento de solución de Cl_2Ca , origina también un cambio lento en el pH del medio. Naturalmente que en la práctica el agregado es instantáneo y como tal, el cambio del pH de la leche debe ser brusco. En todo caso, el gráf. 8, clarifica el hecho de que el Cl_2Ca , no sólo aporta iones Ca^{++} , sino que reduce simultáneamente el pH del medio, coadyuvando de éste modo a la acción del ouajo.

Gráf. Nº 8



T A B L A 8

INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE CUAJO EN LA RETENCION DEL Ca

MUESTRA # 1	MUESTRA SUERO	TIEMPO COAG.	TITULO (*)
Cuajo (ml) Ca(mg%)	Ca(mg%)	seg	$\frac{2400 \cdot V}{v \cdot t}$
0.1 127,755	38,732	446	1076
0.2 "	38,532	240	1000
0.3 "	39,648	166	964
0.4 "	39,435	150	800
0.5 "	39,441	125	768

* (aparente)

T A B L A 9

DISTRIBUCION DEL CALCIO EN EL COAGULO Y EN EL SUERO (%)

Cuajo (ml) (Muestra #1)	Coágulo	Suero
0.1	69,68	30,31
0.2	69,83	30,16
0.3	69,96	31,03
0.4	69,13	30,86
0.5	69,12	30,87

DISCUSION DE RESULTADOS.-

De las tablas 8 y 9, se aprecia que manteniendo la cantidad de Ca constante (su contenido natural) en la leche y variando únicamente el cuajo, el tiempo de coagulación varía proporcionalmente a la dosis de aquel.

En lo referente al título, éste también varía inversamente proporcional a la dosis de cuajo; con respecto al tiempo, la disminución es directa.

En cuanto a la distribución del Ca, se produce casi una constancia en la retención por parte del coágulo, algo más de los 2/3 del Ca permanecen en la caseína. Pero, vale tomarse en cuenta que a partir de 0.4ml de cuajo, empieza a disminuir la retención del Ca en el coágulo.

T A B L A 10

COAGULACION AÑADIENDO CLORURO DE CALCIO ANHIDRO

MUESTRA #1		MUESTRA SUERO	TIEMPO COAG.	(*) TITULO
Cl ₂ Ca Agreg. mg/l	Ca(mg%)	Ca(mg%)	seg	2400. V v . l
200	134,977	40,356	228	1053
300	138,5887	43,463	140	1714
400	142,2000	44,865	134	1791
600	149,4225	45,198	115	2087
800	156,6451	48,479	103	2330

T A B L A 11

DISTRIBUCION DEL CALCIO EN EL COAGULO Y EN EL SUERO (%)

Cl ₂ Ca Agreg. (Mues. 1)	Coágulo	Suero
200	70,10	29,9
300	68,63	31,36
400	68,44	31,55
600	69,75	30,24
800	69,05	30,94

DISCUSION DE RESULTADOS.-

Comparando las tablas 8 y 10, vemos que los tiempos de coagulación se reducen al agregar el Cl₂Ca, de manera similar a ... que si se aumentara la dosis de cuajo.

En relación al título aparente de la mezcla, su aumento es directamente proporcional al Cl₂Ca agregado. En relación con...

la distribución del Ca, se ve que ha mejorado la misma en el coágulo; sobre todo entre los 200 y 600mg/lt; a los 800mg/lt empieza a disminuir.

T A B L A S 12

TIEMPOS DE COAGULACION CON CUAJO VARIABLE Y Cl_2Ca CONSTANTE

a)

200mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	390	230	156	118	72

b)

b)

300mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	310	142	92	74	60

c)

400mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	205	130	75	64	56

d)

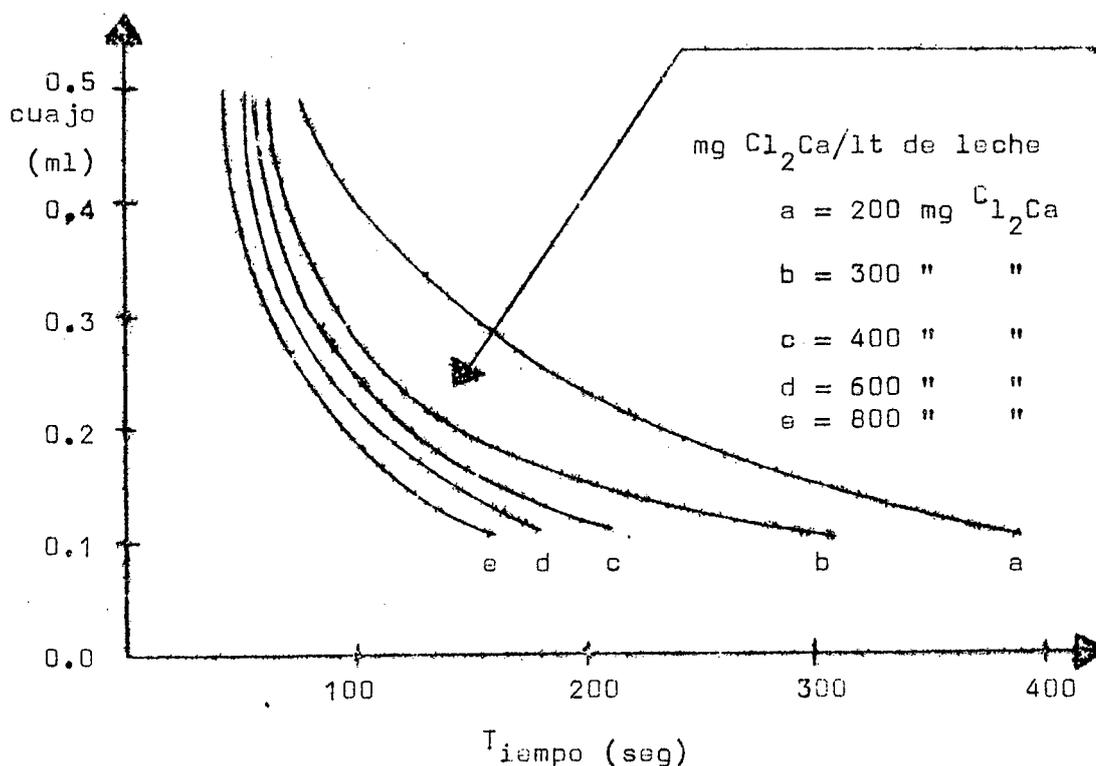
600mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	178	112	72	58	50

e)

800mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	160	100	66	55	44

Las tablas 12 corresponden a la mues. #2: - leche 20ml

- temp. coag. 35°C



DISCUSION DE RESULTADOS.-

El presente graf. (9), que representa el tratamiento efectuado sobre la muestra 1, empleando cantidades variables de cuajo en tanto se mantiene constante el Cl_2Ca en cada curva. El graf. permite deducir primeramente que: el empleo de 200mg/lt, resulta un valor relativamente bajo en cuanto a la reducción del tiempo de coagulación; tomando en cuenta además que se trata de la muestra considerada como la más representativa en nuestro ensayo.

Como prácticamente la mayoría de las curvas tienden a agruparse al rededor de la correspondiente a 300mg/lt, se recomienda por lo tanto como el porcentaje adecuado a emplearse en leches de características similares.

T A B L A 13

INFLUENCIA DE LA DOSIS DE CUAJO EN LA RETENCION DE CALCIO

MUESTRA # 2		MUESTRA SUERO	TIEMPO COAG.	TITULO (*)
Cuajo(ml)	Ca(mg%)	Ca(mg%)	seg	$\frac{2400 \cdot V}{v \cdot t}$
0.1	114,228	38,567	470	1021
0.2	"	38,415	298	805
0.3	"	38,221	180	889
0.4	"	37,964	168	714
0.5	"	37,568	145	662

T A B L A 14

DISTRIBUCION DEL CALCIO EN EL COAGULO Y EN EL SUERO (%)

Cuajo(ml) Mues. #2	Coágulo	Suero
0.1	66,23	33,76
0.2	66,36	33,63
0.3	66,53	33,46
0.4	66,76	33,23
0.5	67,11	32,88

DISCUSION DE RESULTADOS.-

Comparandó las tablas 8 y 13, notamos cómo se establece gran diferencia en los tiempos de coagulación, la misma que se debe indudablemente al contenido en Ca propio de cada muestra.

En cuanto a la distribución del Ca, es menor en la muestra 2; en donde se distribuye casi exactamente 2/3 en el coágulo y 1/3 pasa al suero; en todo caso, hay mayor pérdida de Ca.

T A B L A 15

COAGULACION AÑADIENDO CLORURO DE CALCIO ANHIDRO

MUESTRA # 2		MUESTRA SUERO	TIEMPO COAG.	(*) TITULO
Cl ₂ Ca Agreg. mg/lt	Ca(mg%)	Ca(mg%)	seg	$\frac{2400 \cdot V}{v \cdot t}$
200	121,4505	38,234	270	889
300	125,0617	39,0153	160	1500
400	128,673	39,589	152	1579
600	135,896	40,123	125	1920
800	143,118	40,843	110	2181

T A B L A 16

DISTRIBUCION DEL CALCIO EN EL COAGULO Y EN EL SUERO (%)

Cl ₂ Ca Agreg. Mues. # 2	Coágulo	Suero
200	68,51	31,48
300	68,80	31,19
400	69,23	30,76
600	70,47	29,52
800	71,46	28,54

DISCUSION DE RESULTADOS.-

Fácilmente se aprecia cómo al incrementarse los porcentajes de Cl₂Ca, disminuye el tiempo de coagulación. Comparando con la tabla 13, se aprecia que en ésta muestra adicional 300mg/lt es así equivalente a duplicar la cantidad de cuajo.

Respecto a la distribución del Ca, ha aumentado el mismo en el coágulo, que tomando valores medios significa un incremento de retención del 5% aproximadamente.

T A B L A S 17

TIEMPOS DE COAGULACION CON CUAJO VARIABLE Y Cl_2Ca CONSTANTE

a)

200 mg Cl_2Ca /lt	cuajó(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t.coag.(seg)	400	270	180	130	110

b)

300 mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t.coag.(seg)	310	156	118	85	74

c)

400 mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t.coag.(seg)	230	150	90	76	65

d)

600 mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t.coag.(seg)	185	128	85	70	58

e)

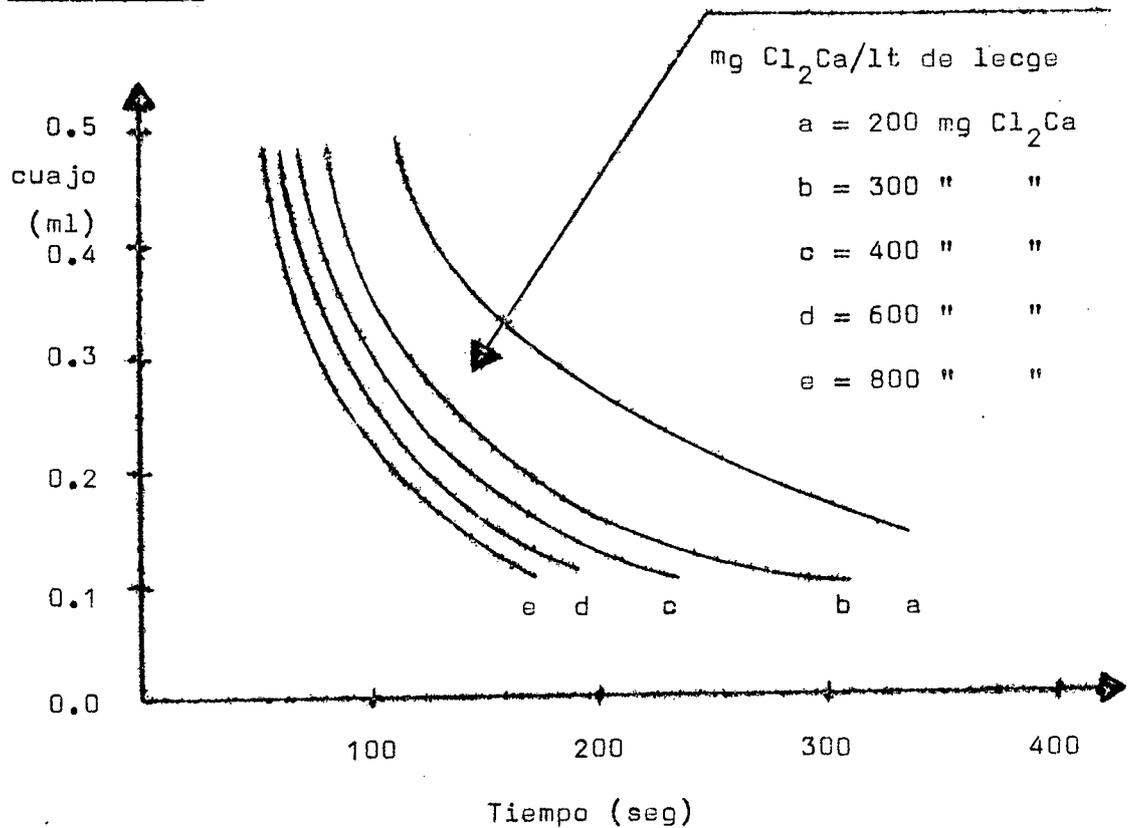
800 mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t.coag.(seg)	170	114	75	65	58

Las tablas 17 corresponden a la muestra 2: - leche:20ml

- temp.coag:35°C

Gráf. Nº 10

FAMILIA DE CURVAS



DISCUSION DE RESULTADOS.-

El presente graf.(10), responde a los valores de las tablas 17 correspondientes a la muestra 2, la cual ha sido tratada en idénticas condiciones que la primera; de nuevo se observa que la curva definida por 200mg/lit, se distancia aún más del lugar donde concurren la mayoría. De la familia de curvas, la mejor definida es la que corresponde a 300mg/lit. Pero, para ésta muestra en comparación con los valores que determinaron la curva considerada adecuada para la muestra anterior, se asemejan mucho a los valores que determinan la curva de 400mg/lit, en éste último caso. De ahí que sea éste el valor más aconsejable para una leche como la mencionada.

T A B L A 18

INFLUENCIA DE LA DOSIS DE CUAJO EN LA RETENCION DE CALCIO

MUESTRA #3		MUESTRA SUERO	TIEMPO COAG.	TITULO (*)
Cuajo(ml)	Ca(mg%)	Ca(mg%)	seg	$\frac{2400 \cdot V}{v \cdot t}$
0.1	434,2	130,012	2040	235
0.2	"	129,546	1500	160
0.3	"	128,015	1200	133
0.4	"	126,675	1020	118
0.5	"	127,915	780	123

T A B L A 19

DISTRIBUCION DEL CALCIO EN EL COAGULO Y EN EL SUERO (%)

Cuajo(ml) Mues. # 3	Coágulo	Suero
0.1	70,05	29,94
0.2	70,15	29,83
0.3	70,51	29,48
0.4	70,82	29,17
0.5	70,54	29,45

DISCUSION DE RESULTADOS.-

Examinando las tablas 18 y 19, se aprecia que el tiempo de coagulación es sumamente elevado en relación a las muestras anteriores. Esto se debe indudablemente a que gran parte del Ca en ésta, se ha insolubilizado por el calor.

El título grandemente disminuído, ya que está muy afectado por el tiempo de coagulación. Respecto a la retención del Ca se nota mejor capacidad en la leche en polvo.

T A B L A 20

COAGULACION AÑADIENDO CLORURO DE CALCIO ANHIDRO

MUESTRA # 3	MUESTRA SUERO	TITULO COAG.	TITULO (*)	
Cl ₂ Ca Agreg. Ca(mg%) mg/lt	Ca(mg%)	seg	2400. V v. t	
200	441,422	124,012	510	471
300	445,033	124,964	330	727
400	448,645	125,450	295	814
600	455,867	127,234	270	889
800	463,090	132,456	226	1061

T A B L A 21

DISTRIBUCION DEL CALCIO EN EL COAGULO Y EN EL SUERO (%)

Cl ₂ Ca Agreg. Mues. # 3	Coágulo	Suero
200	71,90	28,09
300	71,92	28,07
400	72,03	27,96
600	72,08	27,91
800	71,39	28,60

DISCUSION DE RESULTADOS.-

En la presente muestra se ha puesto más de manifiesto la incidencia del Cl₂Ca en la reducción del tiempo de coagulación. Pero, se nota que el mismo, no es lineal sino que va decreciendo lentamente a mayores porcentajes.

En lo que concierne al título, va aumentando progresivamente en los porcentajes adicionados. Lo propio ocurre con el Ca, hasta los 600mg/lt; a los 800mg/lt, ya disminuye.

T A B L A S 22

TIEMPOS DE COAGULACION CON CUAJO VARIABLE Y Cl_2Ca CONSTANTE

a)

200mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	710	512	370	290	278

b)

300mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	530	330	265	235	226

c)

400mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	470	290	228	218	190

d)

600mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	420	270	215	195	178

e)

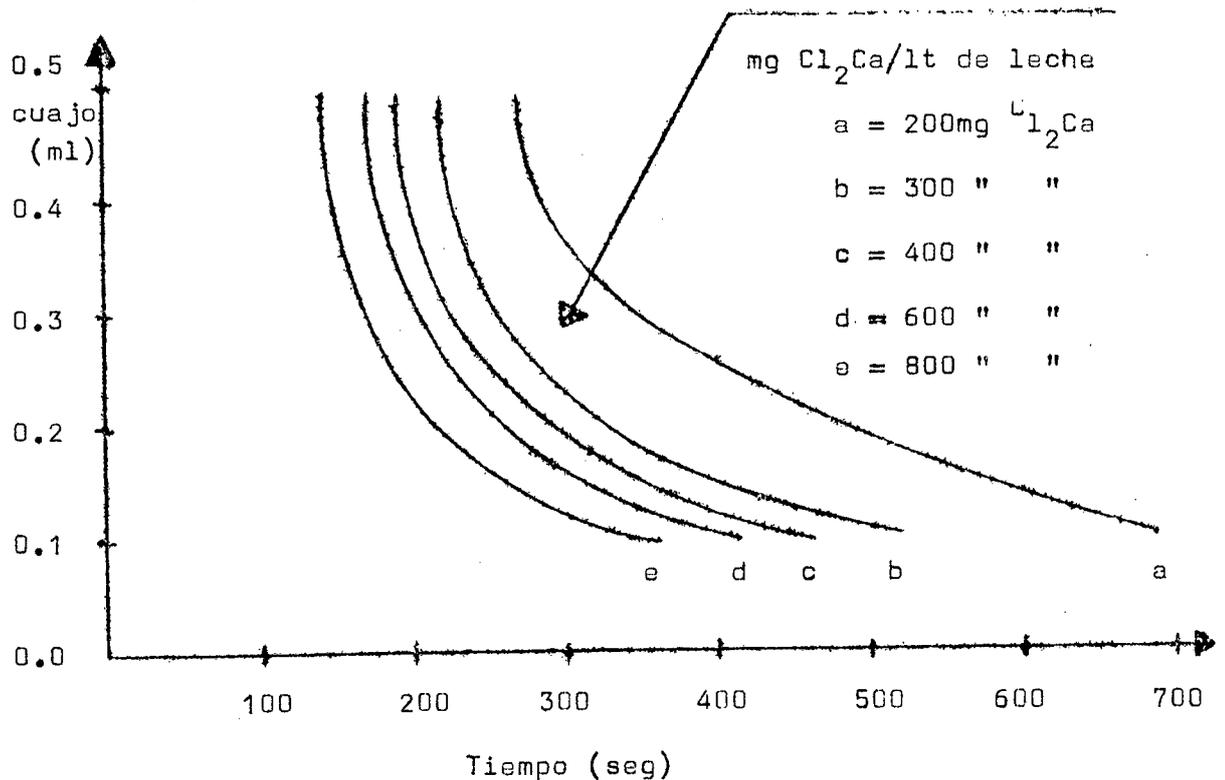
800mg Cl_2Ca /lt	cuajo(ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	t. coag.(seg)	380	225	178	160	135

Las táblas 22 corresponden a la muestra 3: - leche=20ml

- temp. coag: 35°C

Gráf. Nº 11

FAMILIA DE CURVAS



DISCUSION DE RESULTADOS.-

Tanto en los gráficos 9, 10 y 11; se aprecia claramente y en especial en éste último, lo bajo que resulta ser 200mg/lt. Si únicamente se tratara de economizar tiempo, lo mejor sería emplear 800mg/lt que es el valor máximo que hemos experimentado; sin embargo, surgen inconvenientes como el que hemos señalado, que a tal porcentaje se nota disminución en la retención de Ca. Por otro lado, se cree que a altos porcentajes de Cl_2Ca , se altera el sabor de la cuajada.

De la información que se ha revisado, aconsejan el empleo de 200mg/lt de leche; para nuestras condiciones lo consideramos un nivel un tanto bajo, sobre todo para leche en polvo.

Finalmente, con el deseo de comprobar el efecto que surte al agregarse soluciones de Cl_2Ca sobre el cuajo y cómo al mismo tiempo tal agregado incide sobre el título de la mezcla, se determinó el tiempo de coagulación empleando leche entera (muestra 1), con su cantidad natural de Ca y añadiéndole distintas muestras de cuajo y Cl_2Ca ; al mismo tiempo mezclas de cuajo adicionadas de agua para mantener la dilución.

T A B L A 23

TIEMPOS DE COAGULACION MEZCLANDO CUAJO Y CLORURO DE CALCIO

VOLUMEN TOTAL (ml)	CUAJO (ml)	AGUA (ml)	Cl_2Ca (10%) (ml)	TIEMPO COAG. seg	TITULO $\frac{2400 \cdot V}{v \cdot t}$ (*)
1.2	1.2	0.0	0.0	45	889
1.2	1.0	0.0	0.2	48	833
1.2	0.8	0.0	0.4	51	784
1.2	0.6	0.0	0.6	63	634
1.2	0.4	0.0	0.8	76	526

T A B L A 24

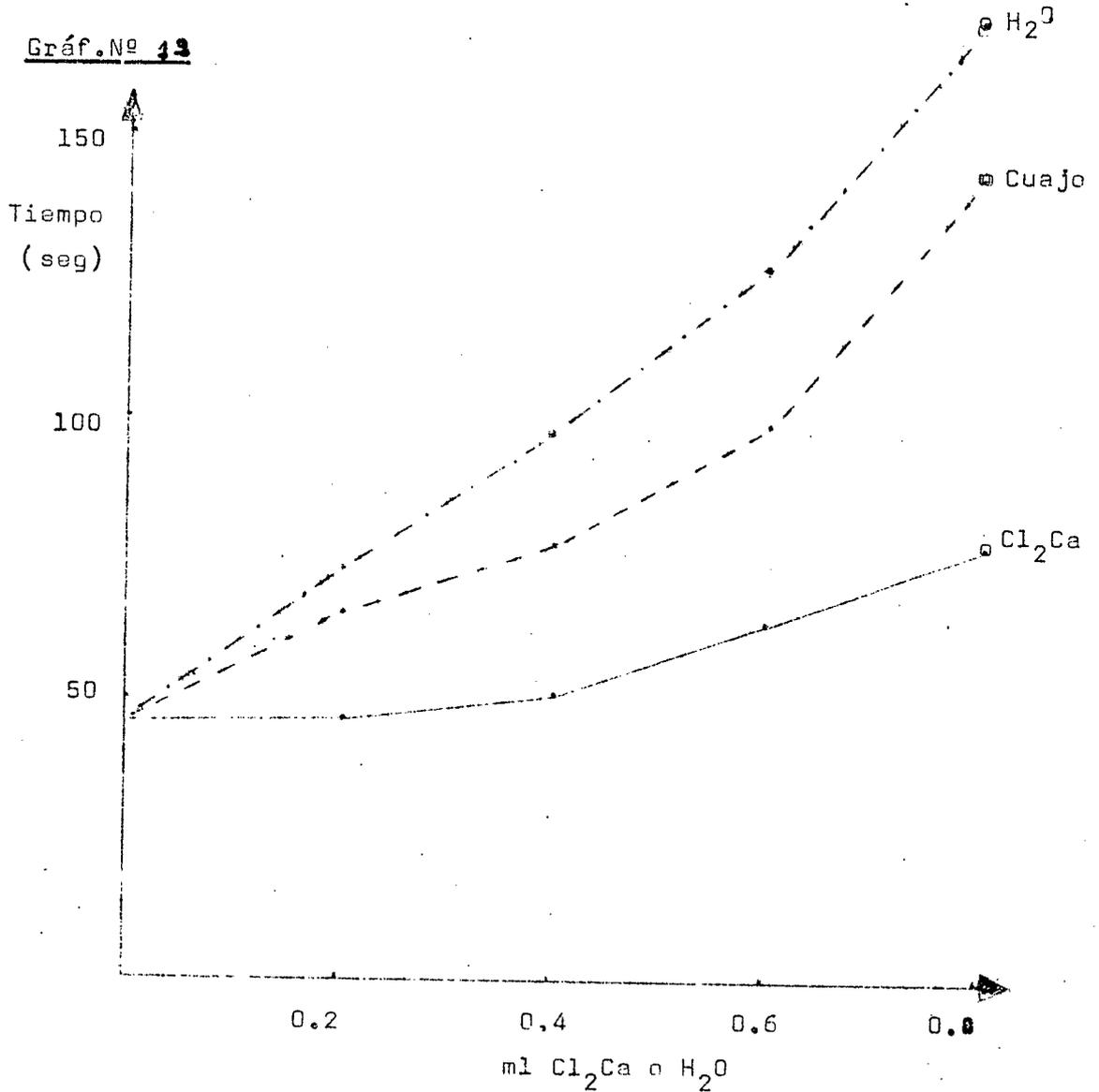
TIEMPOS DE COAGULACION MEZCLANDO CUAJO CON AGUA DESTILADA

VOLUMEN TOTAL (ml)	CUAJO (ml)	AGUA (ml)	Cl_2Ca (10%) (ml)	TIEMPO COAG. seg	TITULO $\frac{2400 \cdot V}{v \cdot t}$ (*)
1.2	1.2	0.0	0.0	45	1000
1.2	1.0	0.2	0.0	70	571
1.2	0.8	0.4	0.0	90	444
1.2	0.6	0.6	0.0	125	320
1.2	0.4	0.8	0.0	168	238

T A B L A 25

TIEMPOS DE COAGULACION EMPLEANDO UNICAMENTE CUAJO

VOLUMEN TOTAL (ml)	CUAJO (ml)	AGUA (ml)	Cl ₂ Ca(10%) (ml)	TIEMPO COAG. seg	TITULO
					2400.V v.t.
1.2	1.2	0.0	0.0	45	889
1.0	1.0	0.0	0.0	64	750
0.8	0.8	0.0	0.0	73	769
0.6	0.6	0.0	0.0	98	816
0.4	0.4	0.0	0.0	145	628



DISCUSION DE RESULTADOS.-

El grafico 12, patentiza la diferencia que se produce al a dicionar al cuajo solución tanto de Cl_2Ca o agua. El efecto _ realmente es distinto; con agua se prolonga el tiempo de la _ coagulación. Pero, considerando como teórica a la curva defi- nida por el cuajo, diremos que el aumento en el tiempo de coa- gulación que origina la dilución con agua, no es relativamente grande en comparación con la reducción que provoca el Cl_2Ca , _ tomando en cuenta que las sustituciones son iguales.

En el gráfico también notamos que, en la curva donde se _ sustituyó parte del cuajo con Cl_2Ca sin alterar el volumen to- tal, en relación con la curva que resulta al usar volumen de _ cuajo igual al volumen total de mezcla (1.2ml), se aprecia que _ el tiempo de coagulación en sí se reduce desde un comienzo; _ pero, se hace más notable cuando la sustitución llega a ser _ del orden del 33%.

Con relación al título de la mezcla, se advierte una dismi i nución progresiva al diluirse el cuajo tanto con agua o con _ Cl_2Ca ; pero, tal disminución se hace mucho más acentuada en el primer caso.



CONCLUSIONES

C O N C L U S I O N E S

En mérito a los resultados obtenidos en la presente investigación, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1ª.- En lo referente a la materia prima que se ha empleado se debe mencionar que: de entre las leches enteras, tanto por su comportamiento que han manifestado frente a la coagulación, como por la proporción de sus componentes; la muestra 1, es considerada definitivamente como leche normal. No así la muestra 2, en la que la proporción en la cual se encuentran sus componentes ya la tornan en una muestra de baja calidad.

Entre las causas posibles para que se haya dado tal diferencia, se cree se deben fundamentalmente a las condiciones de alimentación de los animales; ya que mientras la primera ha sido producida en una región donde por regla general siempre existen forrajes verdes y abundantes, no así en la zona donde se ha producido la muestra 2; donde cada vez se van haciendo persistentes factores climáticos adversos, sobre manera la carencia de precipitaciones y como tal hasta el abastecimiento hídrico de los animales se ve limitado. Que decir de la naturaleza de los suelos, donde lentamente en ésta última zona, suelos que otra hora fueron fértiles, hoy en día se van tornando improductivos. Tal hecho indudablemente origina diferencias en la producción de forrajes; ya que según afirma (9), suelos pobres en nutrientes, siempre dan pastos pobres en los mismos. Es necesario advertir que en ambos casos los animales son alimentados al potrero, sin alimentación suplementaria.

A lo antes mencionado se pueden sumar una serie más de factores que provocan diferencias importantes tales como: la raza de los animales, el estado de salud de los mismos, período de lactancia, edad, condiciones de manejo, etc.

Con respecto a la leche en polvo; la proporción de sus componentes la convierten en un producto aceptable bajo las exigencias de una leche de su condición, semidescremada. Lo que en ella vale destacarse es el contenido en Ca. No obstante, frente al proceso de coagulación es la que mayor tiempo ha empleado. Tal hecho merece la siguiente interpretación: a la producción de leche en polvo generalmente nunca va leche de primera, ésta normalmente se dedica a quesos. Por lo tanto la leche que se destina a la deshidratación, previo a tal proceso se la somete a un acondicionamiento consistente en la desacidificación, lo cual se lleva a cabo generalmente con la incorporación de cal; en ello entonces se encuentra la explicación del gran contenido en Ca que tiene.

El que a pesar de aquello se torna un tanto rebelde a la acción del cuajo, se debe a los cambios que ha experimentado en la deshidratación, lo que ha insolubilizado parte del Ca soluble conjuntamente con una fracción de caseína.

2º.- En las experiencias se ha encontrado que el mejor valor de pH para la actividad del cuajo, se encuentra entre 6.4 - 6.7, determinado en función el tiempo de coagulación; discrepando un tanto de lo mencionado en pág. 34. En todo caso ello no significa que tenga que coagularse necesariamente la leche a tales pH, ya que es un factor tecnológico que viene definido para cada tipo de queso.

3º.- Que el tratamiento térmico que no afecta a la capacidad coagulativa de la leche frente al cuajo y según nuestro ensayo es el de 60°C/30min. Como tal tratamiento hoy en día prácticamente está en desuso en la tecnología láctea; se aconseja el empleo de una temperatura de 70°C/15seg. como la adecuada; ya que a los 72°C/15seg., se ocasiona un aumento en el tiempo de coagulación del orden del 43% como se observa en tabla 6.

4º.- En el ensayo efectuado, la dosis de cuajo que produce los mejores efectos, se encuentra entre 0.2 - 0.3ml del cuajo preparado. Ahora bien, no hacemos una cuantificación de la dosis del mismo a recomendarse, debido a que ésta variable tecnológica depende de la calidad de la leche, del tipo de queso a obtenerse y de su propia fuerza naturalmente.

5º.- Que la adulteración de la leche con álcalis con fines de disminuir acidez, resulta altamente negativo; no únicamente retarda la actividad del cuajo sino que altera las características del coágulo, se dificulta el desuerado y hay mayor pérdida de caseína. Tal efecto se hace aún más acentuado trabajando con leche en polvo.

6º.- En lo relativo al agregado de Cl_2Ca - que de paso ha sido nuestro gran objetivo-, su presencia coadyuva enormemente a la acción coagulante del cuajo, sea reduciendo el tiempo de coagulación, pérdidas de Ca y de caseína. Sin embargo, a partir de ciertos límites (800mg/lit) como se puede constatar en tablas, su acción empieza a ser reducida.

El efecto que imparte la adición de cloruro de calcio a la leche, debe ser convenientemente aprovechado por la industria quesera, ya que coadyuva al incremento en el rendimiento queso al haber menos pérdida de caseína, gran economía de tiempo en el proceso, ahorro de cuajo. A todo lo anterior se suma las características que le imparte a la cuajada, lo que en todo caso facilita los tratamientos posteriores.

Pero, cualquier exceso con fines de lograr reducción en las pérdidas o en el tiempo, creemos no producen en la magnitud deseada, los efectos que se persiguen.

De ahí que convenga terminar, estableciendo una especie de recomendación sobre el caso: se vislumbra la necesidad de continuar los ensayos en mayor escala y realizar un control exhaustivo, sobre las características físico - químicas y organolépticas del queso, aplicando sobre todo los porcentajes superiores a los $300 \text{ mg Cl}_2\text{Ca/lit.}$ de leche, que en nuestros ensayos hemos aplicado.

A N E X O S

A N E X O N º 1

DETERMINACION DE SOLIDOS TOTALES Y HUMEDAD EN LA LECHE

Materiales: a) cápsulas de porcelana.

b) pipeta de 25 ml.

c) baño maría.

d) estufa.

Procedimiento:

1. Desechar una cápsula de porcelana en la estufa a 105°C durante 30 minutos, enfriarla en el desecador y pesarla. _

2. Pipetear 25 ml de muestra previamente homogeneizada, a la cápsula previamente tarada. Pesar de nuevo.

3. Colocar la cápsula y contenido en el baño maría hirviente y evaporar a sequedad.

4. Llevar la cápsula y su contenido a la estufa y _ desecar durante 3 horas a 105°C .

5. Enfriar en el desecador y pesar. Colocar de _ nuevo la cápsula en la estufa, y comprobar el peso a intervalos de 30 minutos y hasta que no se produzca pérdida de peso.

$$\% \text{ S.T.} = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \times 100$$

S.T. = sólidos totales en %

m = peso de la cápsula vacía en gr.

m_1 = peso de la cápsula con los S.T. (después _ de la desecación), en gr.

m_2 = peso de la cápsula con la leche (antes de _ la desecación), en gr.

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \text{S.T. (10)}$$

A N E X O N º 2

D E T E R M I N A C I O N D E L A G R A S A E N L A L E C H E

M E T O D O G E R B E R

Reactivos: a) ácido sulfúrico de densidad $d = 1.82 - 1.83$

b) alcohol amílico puro de $d = 0.809 - 0.813$

Material : a) 2 pipetas de 10 ml (mejor de descarga automática).

b) centrífuga.

c) baño maría.

d) butirómetros Gerber.

P r o c e d i m i e n t o s :

Medir con pipeta 10 ml de H_2SO_4 e introducirlos en el butirómetro previamente lavado y seco; evitar mojar el cuello del mismo, con el ácido. Introducir luego 11 ml de leche dejando caer lentamente al principio para evitar mezcla prematura de la leche con el ácido; en igual forma se deja caer luego 1 ml de alcohol amílico sobre la leche. A continuación se tapan los butirómetros con tapones secos; se agita hasta que la caseína (coagulada por el ácido), se haya disuelto. Tener cuidado, ya que la mezcla luego de agitar e invertir los butirómetros varias veces, se eleva la temperatura en los mismos hasta unos $70-80^{\circ}C$. Después de ajustarse los tapones, se colocan los butirómetros en la centrífuga, y se la pone en marcha a unas 1200-rpm por unos 5 minutos. Pasado tal tiempo, retirar los butirómetros y colocarlos en baño maría a $65-70^{\circ}C$, por 5 minutos.

Finalmente se procede a la lectura de la grasa en la escala del butirómetro, el que está graduado para dar la lectura en porcentaje de grasa por 100 ml de leche. (10)

A N E X O N º 3

DETERMINACION DE PROTEINA EN LA LECHE

METODO KJELDAHL

- Reactivos:
- a) H_2SO_4 con. de densidad $d = 1.84(95 - 97\%)$
 - b) H_2SO_4 0.1N
 - c) indicador: c_i = rojo de metilo al 0.1%
 c_{ii} = verde de bromo cresol al 0.2%
 c_{iii} = alcohol de 96%
 - d) agua destilada
 - e) NaOH al 50%
 - f) granallas de Zn
 - g) ácido bórico (sol. al 4%)
 - h) catalizador: h_i = 9gr de K_2SO_4
 h_{ii} = 1gr de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
 h_{iii} = 0.02gr. de SeO_2

- Materiales:
- a) leche
 - b) matraces y equipo KJELDAHL
 - c) probetas de 25 y 250ml
 - d) balanza analítica
 - e) erlenmeyers de 300ml
 - f) bureta de 50ml, soporte y pinza.

Procedimiento:

Introducir en el matraz KJELDAHL 5ml de leche, añadir el catalizador envuelto en papel filtro y agregar 25ml de H_2SO_4 con. y luego de agitar el matraz se conecta a la batería KJELDAHL calentándose lentamente al principio. Seguidamente se eleva la temperatura hasta ebullición de la mezcla, agitando de vez en cuando para remover las partículas pegadas al

fondo del matraz. Una vez que el líquido se ha vuelto límpido continuar el calentamiento por 30min. y luego dejar enfriar el matraz.

Terminada la digestión de la muestra, se prosigue con la destilación. Se coloca en el erlenmeyer de 300ml, 25ml de solución de ácido bórico y 5 gotas de indicador. Este matraz se conecta al condensador de modo que el extremo de éste vaya sumergido en el ácido contenido en el matraz. Se agrega a los matraces KJELDAHL (que pueden ser los mismos de la digestión o en caso contrario se transvasa a los de destilación), 200ml de agua destilada, 80ml de NaOH al 50% lentamente por las paredes del matraz; además, 3 granallas de Zn. Luego de ello se acopla inmediatamente el matraz al aparato de destilación, pudiéndose agitar. Al mismo tiempo se debe hacer circular el agua fría para la condensación.

Se recogen de 150 - 200ml de destilado y se procede a titular con H_2SO_4 0.1N, hasta que el indicador vire al color rosa. Se anota los ml de H_2SO_4 0.1N consumidos en la titulación, para efectos de cálculo de la proteína.

$$\% \text{ Proteína} = \frac{V \times N \times 100 \times 0.014 \times f \times 6,39}{P}$$

V = volumen de ácido (ml) gastados en la titulación.

N = normalidad del ácido sulfúrico.

f = factor de normalidad del ácido sulfúrico.

6,39 = factor de conversión para la proteína de la leche.

0.014 = miliequivalente gramo del nitrógeno.

P = peso de la muestra. (10)

A N E X O N º 4

DETERMINACION DE CENIZAS EN LA LECHE

Materiales: a) pipeta de 25 ml
 b) cápsula de porcelana
 c) mechero Bunsen
 d) pinza de crisoles
 e) desecador

Procedimiento:

Tomar la cápsula con los sólidos totales según el anexo 1; a los cuales se puede añadir 1 ml de solución etanol - glicerol en partes iguales. Calcinar sobre llama de mechero y hasta que no se desprenda humo.

Llevar la cápsula a la mufla e incinerar a 550°C. Pasada 1 hora retirar la cápsula y colocarla en el desecador para que se enfríe. Pesar la cápsula sin coger con la mano, utilizar pinzas. Incinerar luego durante otros 15 minutos y volver a pesar después de enfriar. Repetir si se observa disminución de peso significativo.

La cantidad de cenizas se calcula por la fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{m_3 - m}{m_2 - m} \times 100$$

m = masa de la cápsula vacía en gr.

m₂ = masa de la cápsula con la leche (antes de desecar), en gr.

m₃ = masa de la cápsula con las cenizas (luego de la incineración), en gr. (10)

A N E X O 5

VALORACION DEL CALCIO CON PERMANGANATO

Siguiendo a S. MATTSSON. (Rep.72, ALNARP, 1965)

- Reactivos:
- a) sosa al 40%
 - b) fenolftaleína al 1% en etanol
 - c) ácido acético de 99 - 100%
 - d) solución saturada de oxalato amónico
 - e) ácido sulfúrico diluído con agua (1/4)
 - f) amoníaco diluído: 1/1000
 - g) permanganato potásico N/20

Procedimiento:

Se trabaja sobre cenizas disueltas en ClH, se les agrega tres gotas de (b) y se añade (a) hasta color rojo, luego acético hasta desaparición del color y además 10 gotas suplementarias; se mantiene 10min. en baño maría hirviente, añadir agitando 10ml de (d) y mantener en baño hirviente por 30min, dejar enfriar y una vez frio, filtrar por papel previamente lavado 2 veces con agua destilada, 2 veces con (e) y 3 veces con agua caliente, arrastrar todo el precipitado al filtro y lavarlo 6 - 7 veces con (f), colocar el filtro y precipitado en un vaso, agregar 15ml de (e) y 40ml de agua, calentar a 60-70°C y titular con solución caliente de (g). (2)

Cálculo: 1ml de MnO_4^- 0.1N corresponde a 2,004mg de Ca. (21)

NOTA: Para determinar el Ca en la leche, se obtuvo las cenizas con 10ml de leche, incineradas en mufla durante 24 horas a 550°C. Para el calcio en el suero se adoptó el mismo método, únicamente usando mayor volumen de muestra, 20ml.

A N E X O N º 6

DETERMINACION DE LA CASEINA SEPARADAMENTE
METODOS OFICIALES EN ESTADOS UNIDOS

Primero oficial:

- 1) Coger 10 ml de leche.
- 2) Añadirles 90 ml de agua destilada a 40-42°C y 1.5 ml de ácido acético al 10%.
- 3) Dejar en reposo durante 3-5 minutos.
- 4) Decantar sobre un filtro previamente lavado con ácido.
- 5) Determinar el N por KJELDAHL sobre el precipitado.(2)

B I B L I O G R A F I A

BIBIOGRAFIA CONSULTADA

11. ANTONIO CONCELION MARTINEZ - JOSE VALLE ARRIBAS, Ganadería práctica, Editorial Ramón Sopena, S.A.Barcelona,1972
2. A.GODED, Técnicas modernas aplicadas al análisis de la leche, Editorial Dossat, S.A. Madrid, 1966
3. A.J. AMOS Y OTROS, Manual de industrias de los alimentos, Editorial Acribia, Zaragoza - España,1969
4. BRAVERMAN J. B.S. Introducción a la bioquímica de los alimentos, Traducción española (del inglés)por: Bernabé Sanz Pérez y Justino Burgos Gonzáles, Segunda edición, Ediciones Omega, S.A.Barcelona,1978
5. CHARLES ALAIS, Ciencia de la leche, Traducido del francés por: Antonio Lacasa Godina, primera edición en español de la segunda edición francesa, Compañía Editorial Continental, S.A. 1970
6. EDWIN T. MERTZ, Bioquímica, Traducción (del inglés), por: Dr. Ramón Rodríguez de Mata, primera edición en español México, D.F. 1971
7. E. SPREER, Lactología industrial, Traducción de la segunda edición alemana por: José Romero Muñoz de Arenillas, Editorial Acribia, Zaragoza - España,1975
8. ENCICLOPEDIA SALVAT DE LAS CIENCIAS, Tomo 16, Salvat S.A. de ediciones, Barcelona, 1968
9. E. J. UNDERWOOD, Los minerales en la alimentación del ganado, Editorial Acribia, Zaragoza,1979
10. FAO - ECUADOR, Policopiados sobre "Tecnología de la leche" U.T.A. Ambato - Ecuador, 1980
11. GIUSEPPE ROSSI, Manuale Di tecnologia casearia, Editorial Agricola, Bologna, 1958



12. GHEORGHE M. GOSTIN, Tehnologia laptelui si produse lor lactate, Editura didactica si pedagogica, Bucaresti, 1965
13. INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Universidad Nacional del litoral, Argentina, Revista: Volumen 2 Nº1, Octubre, 1977
14. JOSE E. MUÑOZ A, La leche y sus derivados, Editorial Casa de la Cultura Ecuatoriana, Quito, 1978
15. J.M. DE SOROA, Industrias lacteas, Quinta edición, Editorial Aedos, Barcelona, 1974
16. KIRK - OTHMER, Enciclopedia de tecnología química, Tomo VI Primera edición en español, Traducido del inglés por: Oscar G. Carrera y otros, Editorial Hispano-Americana, México, 1962
17. M. BEAU, La caseine, Composition-Propriétés-Technique - Commerce, Segunda edition, DUNOD Editeur, Paris, 1952
18. MARTIN LERCHE, Inspección veterinaria de la leche, Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1969
19. NEILANDS - STUMPF, Principios de enzimología, Traducción: Dr. Carlos Villar Palasi - Juan Villar Palasi, Second edition, Aguilar, S.A. De ediciones, Madrid - España, 1967
20. R. VEISSEYRE, Lactología técnica, Traducido de la segunda edición francesa por: Dr. Justino Burgos González - Dr. José Luis Teresa Heredia, Editorial Acribia, Zaragoza-España, 1972
21. TOMASO STORTO - EBBA SORIANI, Productos de origen mineral y químico industrial para la alimentación del ganado. Métodos oficiales de análisis de los alimentos para uso zootécnico, Ministerio de Agricultura, Italia, 1970
22. WEBB and WHITTIER, Byproducts from milk, Second edition, The Avi Publishing Company, Inc, 1970