

Métodos para el análisis fisicoquímico de la leche y derivados lácteos

LUIS ARTICA MALLQUI

3ª Edición: Año 2016

Editorial @ Libros y editoriales, TEIA.

ING. LUIS ARTICA M.

**Métodos
para el análisis fisicoquímico de la
leche y derivados lácteos**

LUIS ARTICA MALLQUI

3ª Edición: Año 2016

ING. LUIS ARTICA M.

Autores: LUIS ARTICA MALLQUI
Ingeniero en Industrias Alimentarias

ESTUDIOS:
Post Grado EN BROMATOLOGIA - U.N.M.S.M.
Post Grado De Tecnología de Alimentos- UNA. La Molina
Doctorado en Ingeniería Agroalimentaria – UNFV.

ACTIVIDAD PROFESIONAL
Docente: Universidad Nacional Del Centro Del Perú - Huancayo Perú.

ING. LUIS ARTICA M.

TITULO ORIGINAL:
Métodos para el análisis fisicoquímico de la leche y derivados lácteos

Autor: LUIS ARTICA MALLQUI

Editorial: @ Libros y editoriales, TEIA. Ltd., 2016.

Impreso y Hecho en Perú.: Printed and made in Peru.

Reservados Todos Los derechos.
Ninguna parte de ésta publicación puede ser
reproducida; sin previo y Expreso permiso del
propietario del COPYRIGHT.

ING. LUIS ARTICA M.

CONTENIDO

PREFACIO	7
La producción de leche	9
Leche de vaca	9
La glándula mamaria y la producción de leche	10
La Leche	21
Importancia	21
Química lactológica	22
Componentes de la leche de vaca	22
Estados de dispersión de la leche	24
Composición química de la leche	25
Propiedades Sensoriales	34
Factores que afectan La Composición de la leche	35
Transformaciones Experimentales de la leche a partir del ordeño	36
Propiedades físicas de la leche	42
Mastitis en lecherías	43
Ingeniería en Tecnología de Productos Lácteos	47
CALIDAD DE LA LECHE	51
LABORATORIO DE LECHE Y DERIVADOS	55
OPERACIONES FUNDAMENTALES A NIVEL DE LABORATORIO	57
1. Limpieza	
2. Enmasado o Pesado	
3. Pipeteo y Aforado	
4. Ajuste de Soluciones y Diluciones	
5. Valoraciones o Factorizaciones	
PROPIEDAD FUNDAMENTAL DE LOS EQUIPOS DE MEDICIÓN	62
a. La Sensibilidad	
b. La Fiabilidad	
c. La Precisión	
APARATOS DE LABORATORIO PARA EL ANÁLISIS DE LECHE	63
MÉTODOS DE ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LA LECHE	67
Técnica de Muestreo	
Pruebas de Laboratorio	
Químicas y Físicas	
Bacteriológicas	
Examen y Pruebas de Plataforma o Andén de recepción	69
EXAMEN DE GRAVEDAD ESPECÍFICA Y SÓLIDOS TOTALES	70
QUÍMICA LECHERA	75
EXAMEN DE PROTEÍNAS Y SNG DE LECHE	78
EXAMEN DE GRASA EN LECHE Y DERIVADOS	83
ACIDEZ DE LA LECHE Y DERIVADOS	93
MISCELÁNEA LÁCTEA	103
Método Para Determinar El Extracto seco En Leche y Derivados (Met. Tradicional)	103
Método Para Determinar El Extracto Seco En Leche y Derivados (Met. Rápido)	104
Método Para determinar El Extracto Seco Del Yogur.	105
Método Para La Determinación de la grasa En El Yogur	105
Método Para La Determinación de Proteínas En El Yogur	105
Método Para Determinar El Test De Actividad Del Inóculo	106
Método Para Determinar La Actividad De La β -Galactosidasa	107
Método Para La determinación De La acidez En la Leche	108
Método Para El Cálculo De La Masa Seca Sin Grasa En Leche	108
Método Para Realizar El Ensayo Con Alizarina	109
Método Para La Determinación De la grasa (Método Gerber)	109
Método Para Determinar Las Proteínas Totales De La Leche	110
Método Para La Determinación De La Caseína	113
Método Para La Determinación Del Punto De Congelación	114

ING. LUIS ARTICA M.

Método Para La Determinación De la Grasa En Crema De leche	115
Método Para La Determinación De La Acidez De la Crema	115
Método Para la Determinación De Grasa En Mantequilla	115
Método Para La Determinación Del Contenido De Sal	116
Método Para La Determinación De La Acidez De La Mantequilla	117
Método Para Determinar La Humedad En Mantequilla	117
Método Para La Determinación De Sal Según DOWALL	118
Método Para Determinar La Masa Seca En Mantequilla	119
Método Para Determinar El Punto de Fusión En Mantequilla	120
Método Para La Determinación De Grasa En Queso	121
Método Para La Determinación De la Masa En Queso	122
Método Para La Determinación De La Acidez SOXLET-HENKEL	122
Método Para La Determinación Del °SH Por Titulación Potenciométrica	124
Método Para La Determinación Del Ácido Láctico según DORNIC	124
Método Para La Determinación Del Ácido Láctico Según Thorner	124
Método Para La Valoración De Cloruros	125
Método Para La Investigación De Penicilina En Leche	125
Método Para La Prueba de la Lactoperoxidasa	126
Método Para La Determinación De La Acidez En Leche En Polvo	126
Método Para Determinar La Solubilidad De La Leche En Polvo	126
Método De Parsons Para Determinar La Solubilidad En Leche en Polvo	127
Método Para Determinar Grasa En Helados	128
Método Para Determinar Los Sólidos No grasos En Helados	128
Método Para Determinar Cloruros Totales En Queso	129
Método Para Determinar La Acidez En Queso	129
Método Para Determinar El Grado De Maduración En Queso	129
Método Para Determinar El pH En Mantequilla	130
Método Para Determinar La Acidez En Leche Chocolateada	131
Método Para Realizar La Prueba De La Mastitis	131
Método Para Determinar Los Grados BRUX Del Manjarblanco	132
Método Para Determinar La Acidez Del Manjarblanco	132
Método Para Determinar La Grasa En Leche En Polvo	132
Prueba de Homogeneización	133
Determinación del grado de Homogeneización de la leche	134
Test para determinar el % de Aguado de suero de mantequilla	134
Determinación de grasa en la leche condensada sin azúcar	135
Determinación de grasa en la leche azucarada	135
Determinación del agua en mantequilla	135
Determinación de la actividad del Cuajo	136
Determinación de la adulteración de la leche	137
Método refractométrico: adulteración de la leche	142
Método Lactodensímetro	143
Determinación de adulteración con cloruros	143
Determinación de adulteración con azúcar	146
Determinación de Nitrógeno en quesos	147
Determinación de la Conductividad eléctrica de la leche	149
PREPARACION DE SOLUCIONES	153
Misceláneas de Examen	165
BIBLIOGRAFIA	170

PREFACIO

En estas últimas décadas estamos convencidos del inmenso poder didáctico que tiene el área del análisis químico y físico de la leche y derivados lácteos en la formación de los Tecnólogos en Alimentos, Químico-Farmacéuticos, Bromatólogos y Nutricionistas, al proporcionarles simultáneamente la oportunidad de aplicar los fundamentos de la Bioquímica, Físico-química, Química analítica y Química de Alimentos en la evaluación de la Calidad de la leche y derivados lácteos y culminar su práctica contrastando los resultados a la luz de las Normas Oficiales referidos a Leche y Derivados Lácteos.

En la obra se busca sistematizar parte de la experiencia acumulada y esta dirigido a satisfacer las necesidades prioritariamente del personal técnico responsable del análisis Químico-Físico de la leche y derivados lácteos en el Departamento de Control de Calidad de las pequeñas y medianas Plantas Lecheras y así mismo de los estudiantes de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Farmacia y Bioquímica, Bromatología-Nutrición y demás personas que están involucradas con Laboratorios del Análisis Químico y Físico de Alimentos.

Existen diversos métodos establecidos para el análisis químico-físico de la leche y derivados lácteos y están al alcance en numerosas obras, como ésta, protocolos del procedimiento analítico. Empero, en esta se ha querido presentar solo los métodos en nuestra opinión personal más usados a nivel de planta, para la evaluación Química y Físico de la leche y derivados lácteos. Por otro lado los métodos que se presentan son aplicados en la Planta Piloto de Leche FAIIA-UNCP, en la Cátedra de Tecnología de Industrias Lácteas, Fermentaciones Industriales, y Bromatología Avanzada, y se describen con las modificaciones propuestas durante su aplicación y validación.

Los métodos recomendados originales son los establecidos por la A.O.A.C.(Association of **ING. LUIS ARTICA M.**

Official Analytical Chemists) (1993) , el IDF y el Codex Alimentarius, sin embargo en esta, se recomienda los métodos más aplicables en nuestro medio.

Los temas considerados en la presente obra, básicamente corresponden a la Química y Análisis de la leche, Calidad de la Leche, Laboratorio de Leche y Derivados, Operaciones Fundamentales a Nivel de Laboratorio, Aparatos de Laboratorio para el Análisis de Leche y Comestibles, Métodos de Análisis de la Calidad De la Leche, y la Miscelánea Láctea. Cada uno de los temas considera el principio del protocolo de análisis y finalmente se establece un procedimiento del Protocolo de Análisis para el laboratorio, en donde se indica detalladamente el procedimiento a seguir de tal forma facilite su aplicación en el laboratorio que no cuente de una infraestructura instrumental sofisticado, como son la mayoría de los existentes en la industria láctea de nuestro País.

Por otro lado es oportuno hacer público nuestro agradecimiento a los profesores de nuestra Alma Mater Universidad Nacional del Centro del Perú, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, nuestros maestros y colaboradores durante el desarrollo del texto, quienes con sus experiencias están contribuyendo en la formación de numerosas generaciones de Químico-Farmacéuticos, tecnólogos en alimentos, y Bromatólogos. A los profesores Dra. Luz Oyola de Bardales, Ing. MSc. Moises Quito Vidal por habernos brindado su apoyo haciéndonos valiosas sugerencias e invalorable consejos, y a todos los integrantes de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias por brindarnos el apoyo desinteresado ya que sin el cual no hubiera sido posible su realización de esta obra.

El Autor.

Capítulo I

La Producción de leche

En condiciones naturales los mamíferos producen únicamente leche suficiente para sus crías. Sin embargo, mucho antes de que el hombre hiciera historia, encontró que la leche era buena, buena para él, lo que resultó en la domesticación de animales productores de leche y comenzó a utilizarlos y seleccionarlos para aumentar la producción para su consumo.

La producción de leche se conoce desde hace más de 6 000 años. Los animales productores de leche de hoy en día han evolucionado a partir de animales salvajes que vivieron, durante miles de años, en hábitats de diferentes latitudes y altitudes, y expuestos a distintas condiciones naturales, muchas veces severas y extremas.

En gran medida la domesticación incluyó a la vaca, el búfalo y la cabra, aunque la oveja, cerdo y otros mamíferos han sido utilizados para producir leche en diferentes partes del mundo. El ganado vacuno es el conjunto de animales más importante domesticados por el hombre y después del perro lo más antiguos. Parece probable que el ganado vacuno fue domesticado por primera vez en Europa y Asia durante la nueva Edad de Piedra. Esto trajo como consecuencia una más abundante fuente de alimentación, lo que hizo al hombre interesante en una mayor producción de leche y carne.

Leche de vaca

La leche de vaca es el único alimento de los animales mamíferos durante el primer periodo de sus vidas. Las sustancias de la leche les proveen de energía y materiales estructurales que serán fundamentales para su crecimiento. La leche también contiene anticuerpos que protegen al mamífero cachorro contra las infecciones. Un ternero necesita alrededor de 1 000 litros de leche para su crecimiento.

Pero desde que el hombre domesticó a la vaca se ha producido un enorme cambio. La crianza selectiva ha dado como resultado vacas lecheras con rendimientos de más de 6 000 litros de leche por ternero, es decir, seis veces más que las vacas

primitivas. Incluso, algunas vacas pueden dar hasta más de 14 000 litros.

Antes de que una vaca pueda empezar a producir leche debe tener un ternero. Las novillas llegan a su madurez sexual a la edad de 7 u 8 meses, pero normalmente no son fertilizadas hasta que tienen 15 a 18 meses. El periodo de gestación es de 265 – 300 días, variando en función de la crianza de la vaca, por lo que una novilla puede tener su primer ternero a la edad de 2 – 2,5 años.

La novilla es cubierta(en forma natural o por ensiminación artificial) antes de los 2 años de edad; la gestación dura 9 meses, tras el parto la vaca da leche durante 10 meses. 1 a 2 meses tras el parto la vaca será nuevamente preñada. Después de haber tenido unos 5 partos, la vaca será sacrificada.

La Glándula mamaria y la producción de leche

La glándula mamaria y las células que la constituyen representan un órgano bajo un complejo control endocrinológico que va desde los estados tempranos de desarrollo, a la preñez y lactación en un ciclo regresivo (Larson, 1979)

La leche se elabora de nutrientes sanguíneos sencillos por las células sintetizadoras de leche de glándulas especiales, las glándulas mamarias (Whittemore, 1984).

Las glándulas mamarias, o mamas, son glándulas de la piel, aunque grandes, se mantienen en el exterior de la cavidad del cuerpo. Por tanto, e tejido mamario se priva de la potencial ventaja de un soporte esquelético rígido (Whittemore, 1984)

Dentro de la teta el canal del pezón es un ducto que se comunica con una cavidad cuya capacidad es de 30 a 40 mL llamada cisterna de la teta, que se separa del canal del pezón por una serie de tejido plegado, generalmente en número de 4 a 8, que se radía en varias direcciones, recibiendo el nombre de rosetas de Furstenberg, y sirven como un medio adicional para prevenir la salida de la leche (Ensminger, 1980).

Biosíntesis de la leche



1. Estructura de la Ubre

- Diseñada para ofrecer al ternero fácil acceso a la leche
- Suspendida por fuera de la pared del abdomen posterior
- No esta fijada, soportada o protegida por estructura ósea

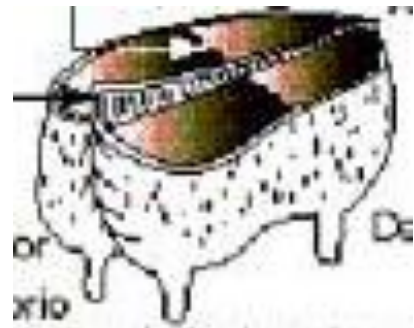
Ubre



Constituida por cuatro glándulas mamarias o "cuartos"

Cuarto

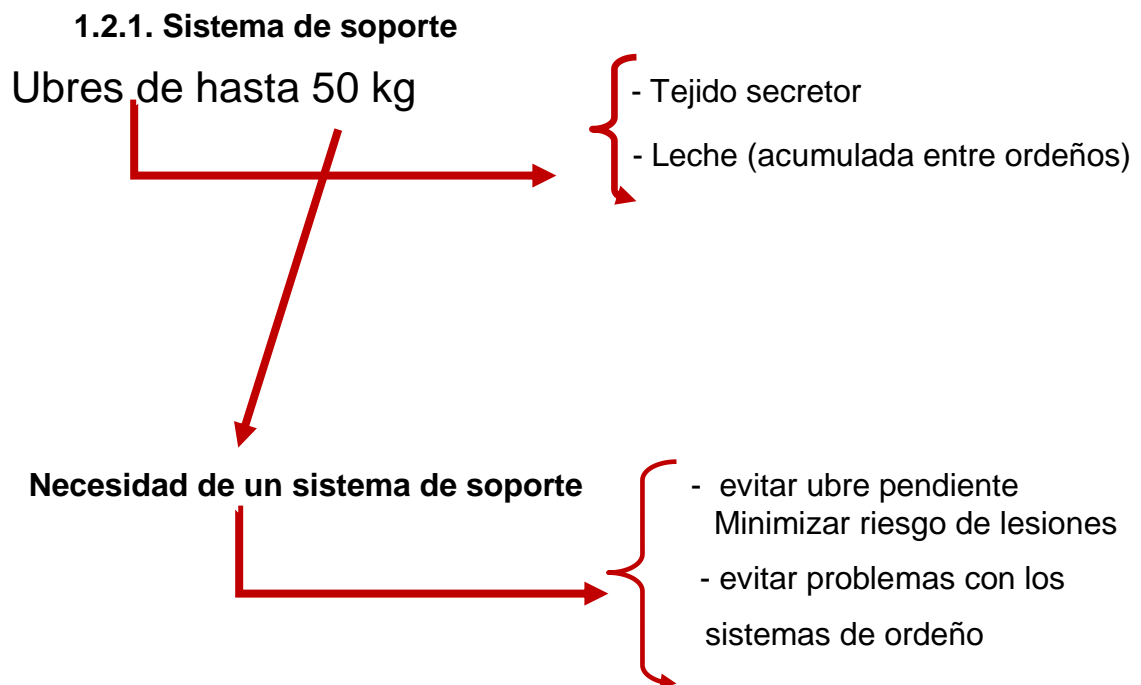
- unidad funcional en sí misma
- opera independientemente
- drena la leche por medio de su propio canal
- los cuartos posteriores
 - ligeramente más desarrollados
 - producen más leche (60%)



Cuartos posteriores

1.2. Principales componentes de la ubre

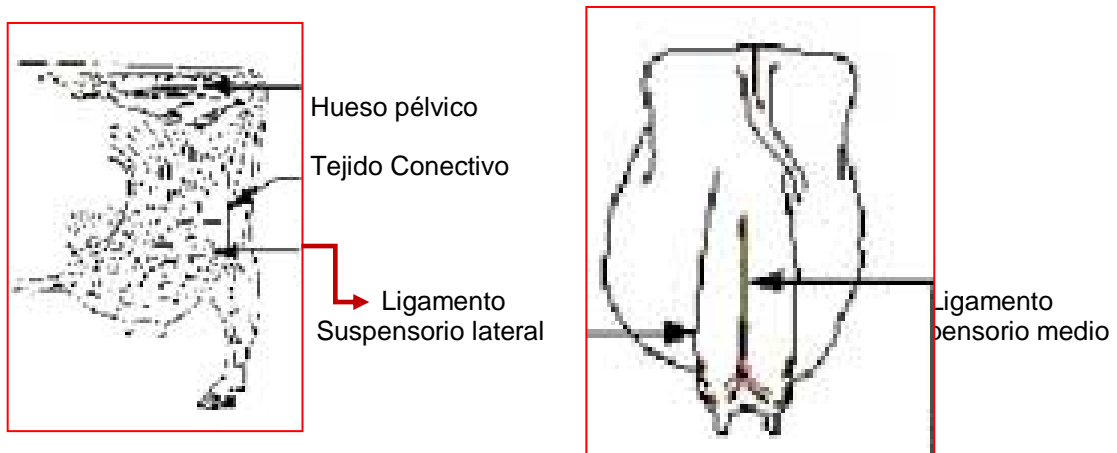
1. Sistema de soporte
2. Conductos y sistema secretor de leche
3. Pezón (canal de secreción de leche)



Estructuras que soportan la ubre

LUIS ARTICA M.

Ligamentos y tejidos conectivos que la mantienen cerca de la pared corporal



Daño o debilidad del ligamento

ELASTICIDAD

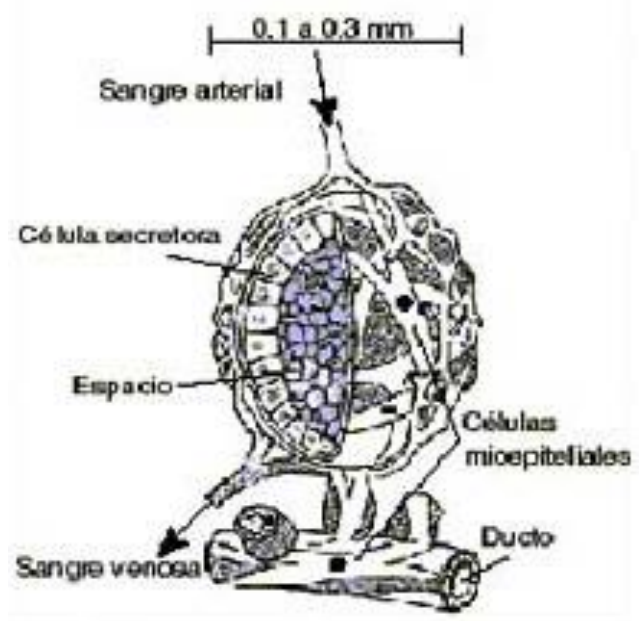
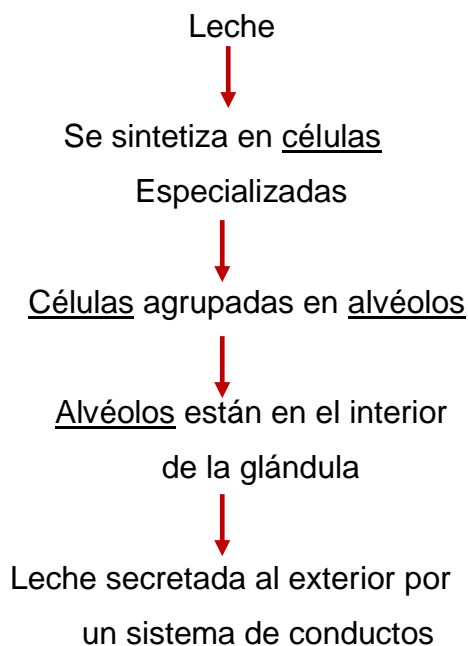
- actúa como amortiguador cuando la vaca se mueve
- se adapta a los cambios de tamaño y peso de la ubre por la producción de leche

ELASTICIDAD

- Descenso de la ubre
- Díficil ordeño
- pezones dañados

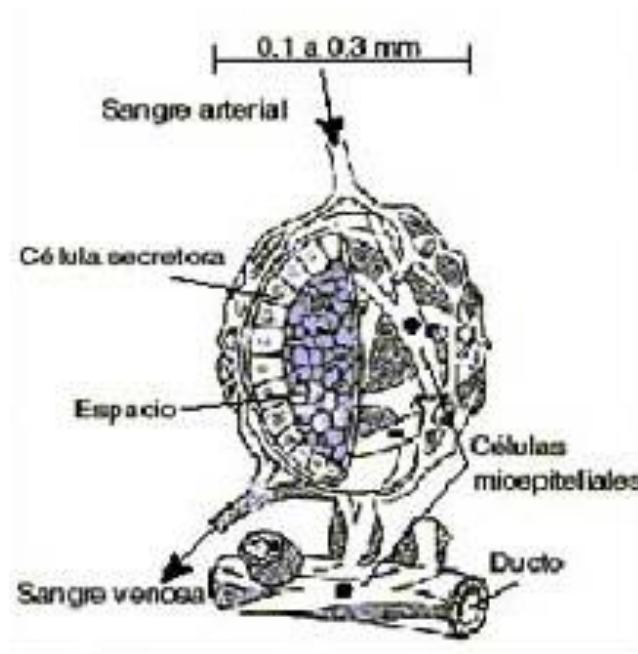
1.2.2. Conductos y sistema secretor de leche

Ubre: glándula exócrina



Alvéolo

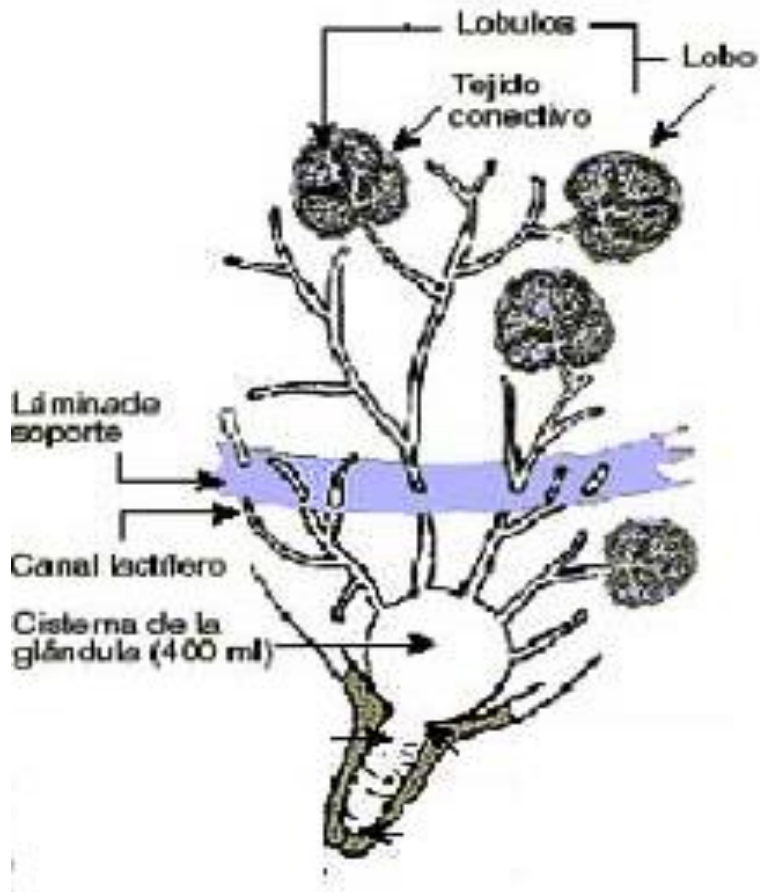
- Hay millones de alvéolos dentro de la ubre
- Unidad funcional más pequeña de producción de leche
- Tiene una capa de células secretoras agrupadas en una esfera
- Las células rodean cavidad central llamada lumen
- En el lumen se almacena la leche
- Está rodeado de capilares sanguíneos y células mioepiteliales



Funciones del alvéolo

1. Extracción de los nutrientes de la sangre
2. Transformar los nutrientes en leche
3. Descargar la leche dentro del lumen

LÓBULO → 10-100 alvéolos



¿Como se secreta la leche?

1. La leche abandona el lumen del alvéolo por un tubo colector
2. Se drena por conducto común del lóbulo
3. Los lóbulos descargan la leche en un conducto más grande que conduce a la cisterna de la glándula (sistema de almacenamiento) situada sobre el pezón

Contracción de las células mioepiteliales del

alveolo

la leche va a fluir dentro de los
tubos hacia la cisterna de la glándula

OXITOCINA

Preparación de la ubre para el ordeño



Estimulación de receptores nerviosos de la superficie de la ubre

"bajada de la leche"



Hormonas y sistema nervioso involucrados en la regulación del flujo sanguíneo a la ubre

Vaca "asustada" o siente dolor físico adrenalina y del sistema nervioso reducen el flujo de sangre a la ubre

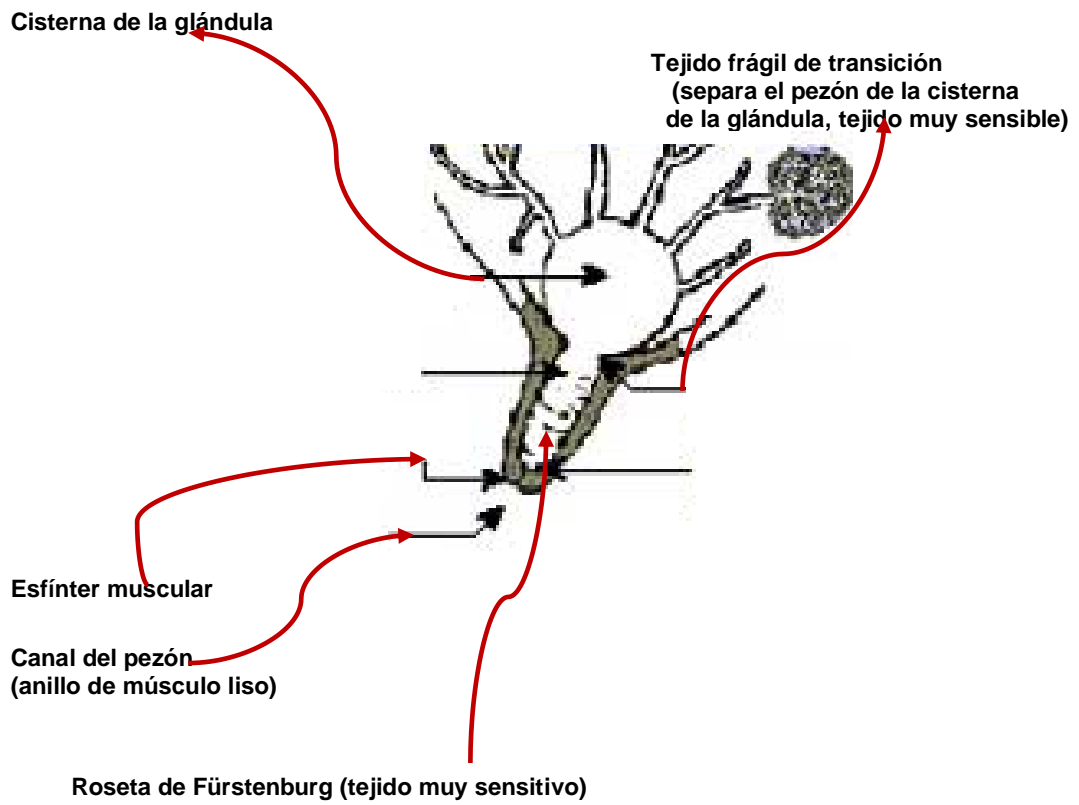
Inhiben el reflejo de "bajada de la leche"
Disminuyen la producción de leche.

1.2.3. Pezón

- por donde se extrae la leche de la glándula
- cubierto por piel suave, lleno de nervios e irrigación sanguínea

1 kg de leche---400 a 500 kg de sangre

La producción de leche demanda de gran cantidad de nutrientes traídos a la ubre por la sangre además de hormonas,



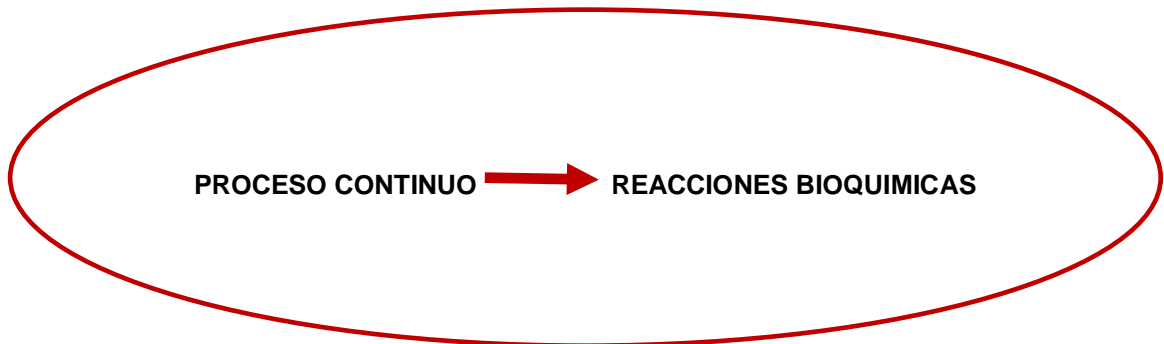
Preservar la estructura normal del pezón

defensa contra las bacterias productoras de mastitis

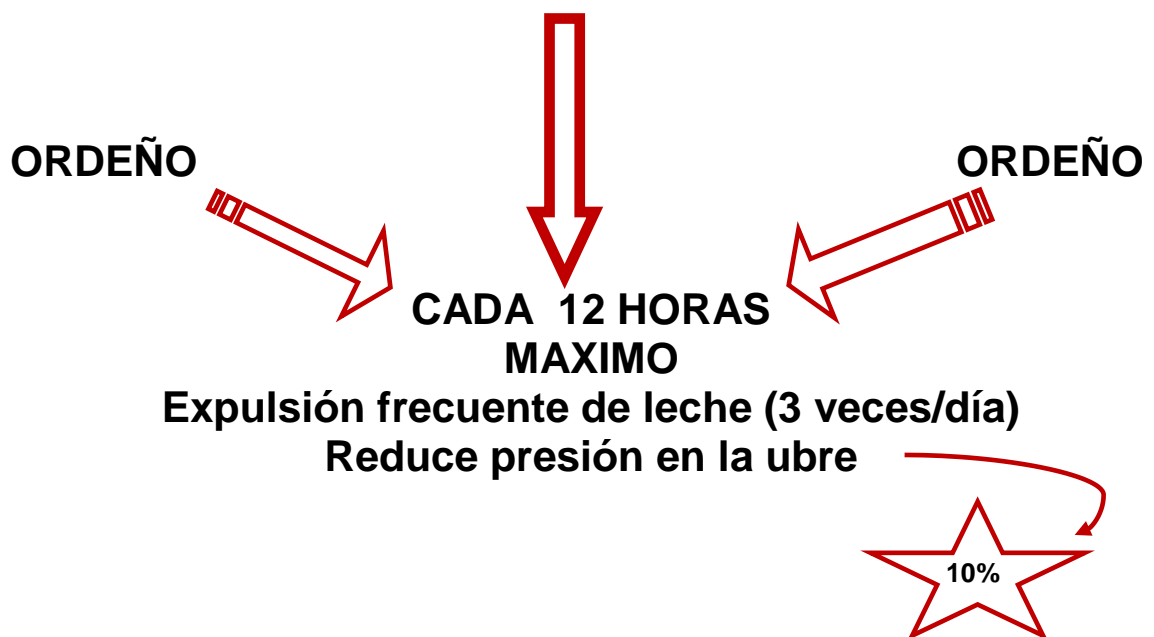
Las diferencias en la estructura del pezón (diámetro, longitud) se relacionan con susceptibilidad de la infección



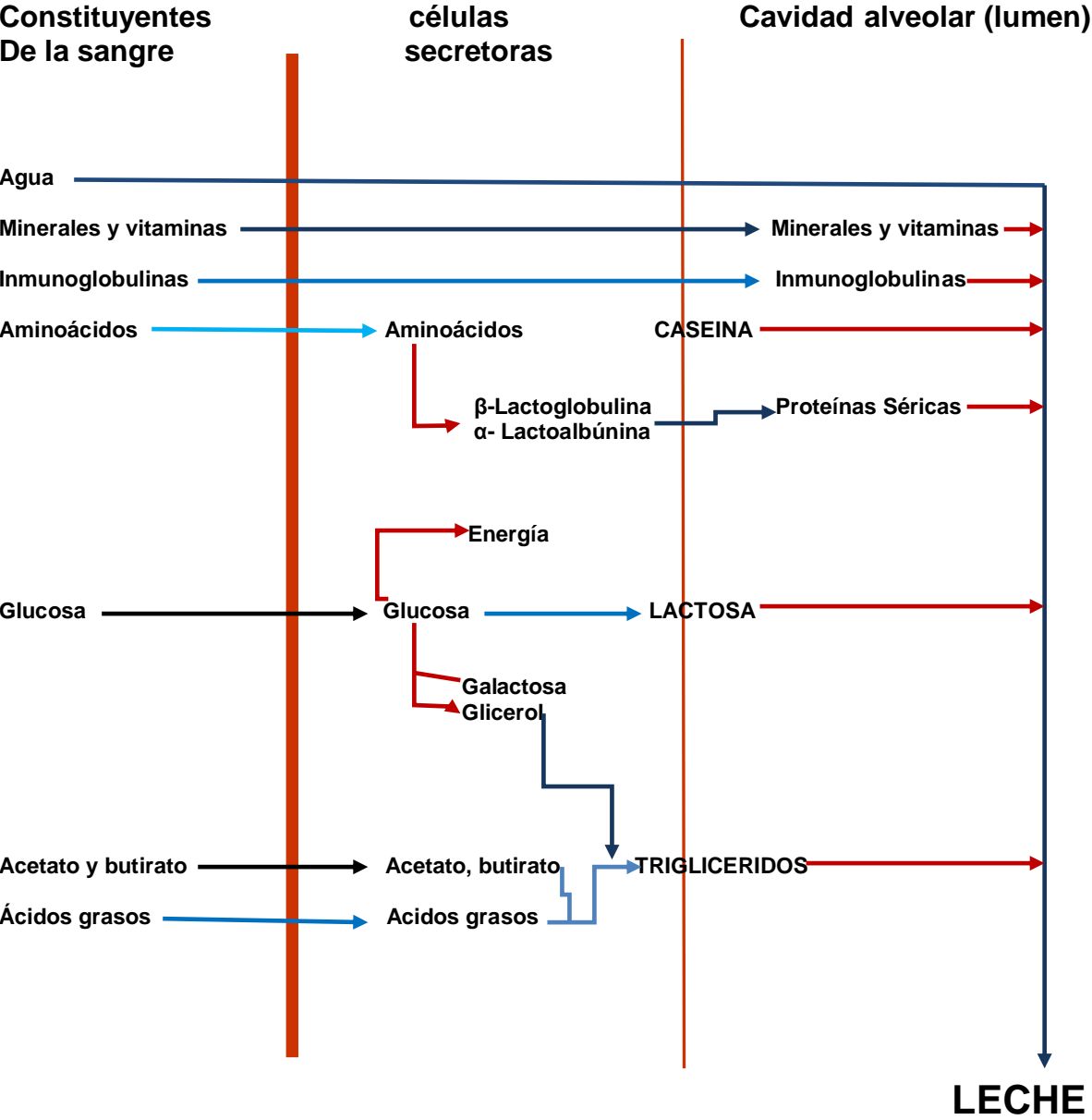
1.3. Secreción de leche en las células secretoras



Entre ordeños
 Acumulación de leche en el lumen
 Aumenta la presión en el alvéolo
 Disminuye la síntesis de leche



Mecanismos y origen de los nutrientes necesarios para la síntesis de leche



LA LECHE

La leche, considerada bajo un concepto

Definición fisiológica

La leche es el líquido segregado por las hembras de los mamíferos a través de las glándulas mamarias, cuya finalidad básica es alimentar a su cría durante un determinado tiempo

Definición legal

Es el producto del ordeño higiénico, efectuado completa y profundamente, en una o más hembras de ganado lechero bien alimentado y en buen estado de salud. Y no debe contener calostro.

Definición (Federación Internacional de Lechería)

Secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior.

Definición

Líquido de composición compleja, blanco y opaco, de sabor ligeramente dulce y de pH cercano a la neutralidad. De olor característico y puro. Debe tener consistencia (coherencia entre sus partículas) homogénea y carecer de grumos y copos.

En general, el nombre de leche se refiere al producto procedente de la vaca; la leche derivada de otras especies va siempre seguida con la designación de la hembra productora: “leche de cabra”, “leche de oveja”, “leche de burra”, etcétera.

Importancia;

La leche tiene una gran importancia desde el punto de vista Nutricional, tecnológica y económica; en el aspecto **Nutricional**, la leche existe

especialmente para la alimentación, ha sido recomendada ampliamente (FAO y UNESCO), como un alimento indispensable para niños (y para ancianos); y desde el punto de vista **Tecnológico**; se destina para la elaboración de diferentes derivados lácteos.

Química Lactológica.

La leche de vaca, presenta una Composición general variable en relación a muchos factores, como son clima, alimentación, época de lactación, número de ordeños, raza, etc., por lo que es necesario hacer una evaluación más específica según el que se indica:

Componentes de la leche de vaca

Factores que influyen en la producción y composición de la leche:

- a. Ciclo de lactación.
- b. Calostro
- c. Influencia de la alimentación; básicamente esta relacionado con la cantidad; Descenso en la producción y aumento en el extracto seco. Composición del alimento. Insuficiencia de la celulosa o paja reduce el contenido graso. Aumento en la ración de grasa no tiene influencia en la composición.
- d. Influencia de los factores climáticos
- e. Influencia de la ordeña
- f. raza

Componentes de la Leche

Agua. constituye la fase continua de la leche y es el medio de soporte para sus componentes sólidos y gaseosos.

Agua libre, es la mayor parte, en ésta se mantienen en solución la lactosa y las sales.

Agua de enlace, es el elemento de cohesión de los componentes no solubles y es adsorbida a la superficie de estos compuestos.

Carbohidratos; el más representativo es la **Lactosa**, el más abundante y el menos variable. Sus **Características de la lactosa** son; en la leche existen 2 isómeros α -lactosa (37%) y β - lactosa (63%). Es poco soluble en agua, y cristaliza muy rápido. Débil sabor dulce. Forma ácido láctico al ser atacada por bacterias.

Características de la lactosa; Se degrada por acción del calor produciéndose el sabor a leche cocida cuando se hierve, sufre primero caramelización aunado esto a las reacciones con proteínas (reacción de Maillard).

Materia Grasa; Cuyas características son: Se encuentra en forma de glóbulos. Su diámetro es de 0.1 a 20 micras (0.001 mm 0 1 micra) 3,000 a 4,000 millones de g/ml de leche entera. A mayor diámetro más fáciles de separar.

La materia grasa de la leche es una mezcla de triglicéridos (alcohol + ácidos Grasos). Los Ácidos grasos representan alrededor del 90% de la grasa de la leche. El ácido butírico es el representativo en el caso de la leche. También existen las grasas no saponificables (pigmentos y vitaminas Liposolubles).

Sustancias nitrogenadas. Es la parte más compleja de la leche. Proteínas 95%. Sustancias nitrogenadas no proteicas de 5%. Las proteínas de la leche son, con excepción del huevo, el mayor valor nutricional entre diversos alimentos proteicos. Enzimas en la leche, Vitaminas en diferentes tipos de leche y sus principales sales de la leche.

Estados de dispersión de la leche

La leche presenta 3 estados físicos de dispersión de sus múltiples componentes:

Solución; lactosa, sales, cationes, vitaminas Hidrosolubles.

Dispersión coloidal, formada por las proteínas, y

Emulsión formada por las sustancias liposolubles.

Fase Micelar; Diámetro de 40 a 300 nm y subunidades de 10 a 20. De 5,000 a 15 millones de micelas/mL. Densidad de 1.114 g/mL. De 92% de proteínas y 8% de fosfato de Ca. Y de 3.8 g de agua/g de proteína.

Fase Lipídica; Glóbulos de grasa con densidad de 0.94g/ml. Presenta Membrana lipoproteica que actúa como emulsionante, constituida por igl, m, d, triglicéridos, colesterol, carotenoides, etc.

Propiedades Físicas de la leche; están definidas por la:

Apariencia.

Aspecto opaco debido a su contenido de partículas suspendidas, grasa, proteínas y sales minerales. Color de blanco a amarillo según coloración de la grasa. La leche desnatada es más transparente, con ligero color azulado.

Propiedades Físicas de la leche más importantes son:

Densidad. Entre 1.028 y 1.034

Punto de Congelación. -0.54°C y -0.59°C dependiendo del contenido de lactosa, proteína. Y sales minerales (bajan el punto de congelación).

pH. de 6.6. a 6.7.

Composición Química de la leche

La "leche de vaca" se ha definido como la secreción, excluyendo el calostro, que se puede obtener mediante los métodos normales de ordeño de la glándula mamaria lactante de vacas sanas, alimentadas normalmente (Egan, y Kirk, 1998).

Pérez (1986), indica que la leche de bovino está constituida principalmente de carbohidratos (lactosa), proteínas (caseínas, lactoalbúmina, lactoglobulina, etc), así como por un número importante de enzimas, lípidos y sales minerales. La composición general, así como las enzimas presentes se indican en la **Tabla 1**.

La composición de la leche está interaccionada por diversos factores lo que hace variar significativamente de acuerdo con el estado de lactación y otros parámetros como son alimentación, clima, raza, salud de la vaca, etcétera.

También es conocido, que la leche contiene tres componentes básicos: agua, sólidos grasos (SG) y sólidos no grasos (SNG). La Materia orgánica en la porción no grasa, consiste principalmente de las proteínas caseína, albúmina y globulina, lactosa y ácidos láctico y cítrico. La composición media de la leche de vaca doméstica y de otros mamíferos se puede apreciar en la **Tabla 2**.

Tabla 1. COMPOSICIÓN GENERAL DE LA LECHE DE VACA

Macro Componentes	Porcentaje Aproximado	
Grasa	3,75	Di glicéridos, triglicéridos
Lípidos	0,05	Lecitina, cefalina, esfingomielina.
Proteínas	3,38	Caseínas 2,78%; α -caseína 1,67%; β -caseína 0,62%; γ -caseína 0,12% ; k-caseína 0,37%
		Proteínas del suero 0,60% α -lactoalbúmina 0,13% β -lactoglobulina 0,35% Albúmina sérica 0,04%.
Lactosa	5,00	Azúcar de la leche
Sales	0,90	Ca, Mg, Na, K, fosfatos, cloruros, sulfatos, etc.(Fe, Mn, Cu, Co, etc)
Agua	87,00	
		Constituyentes Menores
Pigmentos		Carotenos, riboflavina, xantofila.
Enzimas		Lipasas, proteasas, reductasas, fosfatasa lactoperoxidasa, catalasa, coccidaza, etc.
Vitaminas		A, D, E, K; C, B.
Gases		Oxígeno, Nitrógeno, CO ₂ , Amoníaco, etc.
Volátiles		Volátiles extraños, parafinas, etc.
Material Celular		Células epiteliales, leucocitos.
Microorganismos		Bacterias saprofitas y contaminantes, Hongos y levaduras.
Contaminantes.		Semillas, pajas, urea, desinfectante, estiércol, suelo, combustible, etc.

Scott, 1980.

Tabla 2. COMPOSICIÓN CENTESIMAL DE LECHE DE VACA Y DE OTROS MAMÍFEROS HEMBRA (Lampert, 1970).

Leche	Agua	Proteína	Grasa	Lactosa	Cenizas
Vaca	87,2	3,4	3,6	4,9	0,71
Humana	87,6	1,2	3,8	7,0	0,21
Burra	89,8	1,9	1,4	6,2	0,45
Búfala	82,4	4,7	7,4	4,6	0,78
Camella	87,6	3,4	3,0	5,1	0,71
Gata	83,0	7,0	4,5	4,8	0,60
Perra	74,5	3,1	10,2	11,3	0,80
Elefanta	85,6	3,2	3,1	7,4	0,63
Oveja	80,6	5,4	8,2	4,7	0,90
Cabra	87,8	3,5	3,8	4,1	0,79
Llama	86,5	3,9	3,1	5,6	0,80
Yegua	89,8	2,0	1,5	6,1	0,41
Marsopa	41,2	11,2	45,8	1,1	0,57
Coneja	68,5	12,9	13,6	2,4	2,55
Reno	66,1	10,1	19,8	2,5	1,45
Foca	34,0	12,0	54,0	0,0	0,53
Cerda	80,6	6,1	7,6	4,7	0,92
Zorra	81,8	6,3	6,2	4,2	1,31
Ballena	69,8	9,4	19,4	0,0	0,99
Cebú	86,2	3,0	4,8	5,3	0,70

Lampert, 1970.

Entre los principales componentes de la leche , encontramos agua, glúcidos, lípidos, sustancias nitrogenadas, sales minerales, vitaminas, ácidos orgánicos, enzimas, gases y flora microbiana. Los valores medios de los componentes químicos pertenecientes a las leches de las especies más usadas para el aprovechamiento tecnológico, como son los quesos, leches fermentadas, etc., son la de vaca, oveja, cabra; en **Tabla 3**, se aprecian las variaciones correspondientes.

Tabla 3. Composición Química Media de la leche de Vaca, Oveja y Cabra por cada 100g de leche¹

Componentes	Unidad	Vaca	Oveja	Cabra
Agua	g	87,70	81,69	87,10
Lactosa	g	4,70	4,27	4,60
Lípidos	g	3,60	7,51	4,30
Sustancias Nitrogenadas	g	3,30	5,62	3,30
- Caseínas	g	2,70	4,30	2,47
- Proteínas del suero	g	0,42	1,05	0,56
- Nitrógeno Proteico	g	0,18	0,27	0,27
Sales Minerales	g	0,70	0,91	0,70
- Na	mg	50	48	40
- K	mg	150	121	180
- Ca	mg	120	186	130
- Mg	mg	12	18	20
- P	mg	95	127	110
- Fe	mg	0,40	0,76	0,40
- Cu	mg	0,22	0,31	0,50
- Zn	mg	4,19	6,88	3,50
Vitaminas	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Enzimas	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Gases	%volumen	5	-	-
Extracto seco	g	12,30	18,31	12,90

¹Según diferentes fuentes

El componente más abundante de la leche es el agua y en ella se encuentran, en disolución, las sales y los azúcares; las proteínas, en su mayor parte, en estado coloidal y la materia grasa, en emulsión. La materia seca útil o extracto seco de la leche está constituido por las proteínas, lactosa y cenizas; y estos varían según la raza, especie y periodo de lactación. Si al extracto seco le restamos el contenido en grasa de la leche, obtendremos el extracto seco magro o desgrasado (ESM ó ESD), que es un valor más constante y más representativo (**Tabla 4**)

Tabla 4. Valores medios del Extracto seco de la leche en función de la especie¹

Especie	Vaca	Oveja	Cabra
ES (%)	12,30	18,31	12,90

¹Según diferentes fuentes

El agua es el componente mayoritario de la leche, oscilando de 83 a 89%; este componente se halla en dos formas: como agua libre y agua ligada (ésta no interviene en los procesos enzimáticos ni microbiológicos de los derivados). El agua libre tiene gran importancia en la elaboración del queso porque muchos de los procesos físico-químicos y microbiológicos que tienen lugar, sobre todo en la fase de maduración, requieren su presencia y porque regulando su contenido en la cuajada se da al queso la consistencia deseada.

El glúcido mayoritario de la leche es la lactosa y se encuentra en disolución molecular. La lactosa tiene la propiedad de ser fermentada, por algunos de los microorganismos presentes en la leche y bajo la acción de sus enzimas sufre las fermentaciones lácticas, propionica, alcohólica y butírica, originándose, principalmente, ácido láctico, ácido propiónico y otros componentes que dan al producto lácteo su gusto y olor característicos.

Además de la lactosa, en la leche también se encuentran pequeñas cantidades de glucosa, galactosa, y sacarosa. La lactosa, cuyo dulzor es

menor que el que posee la sacarosa, contribuye al sabor dulce característico de la leche (**Tabla 5**)

Tabla 5. Contenido de lactosa en leche en función de la especie¹

Especie	Vaca	Oveja	Cabra
Lactosa (g/L)	4,5 – 5,0	4,2 – 4,5	4,5 – 5,0

¹Según diferentes fuentes

En la **Tabla 6**, se aprecia el diámetro medio de los glóbulos grasos de las diferentes especies. Los ácidos grasos son los componentes básicos de la materia grasa de la leche. Influyen en el olor y gusto de la leche y por tanto del queso, Principalmente los ácidos grasos de 6 a 12 átomos de carbonos, siendo la leche de oveja la más rica en ellos, siguiéndole la leche de cabra. En la **Tabla 7**, se observa la variación del contenido de grasa en las tres especies indicadas; en cuanto al ácido capríco, muy influyente en el olor y gusto del queso, la leche de cabra es la de mayor contenido (**Ver Tabla 8**)

Tabla 6. Tamaño de los Glóbulos grasos de las diferentes leches¹

Especie	Vaca	Oveja	Cabra
Diámetro medio de los glóbulos grasos(μm)	4,55	3,30	3,50

¹Según diferentes fuentes

Tabla 7. Contenido en materia grasa de las diferentes leches¹

Especie	Vaca	Oveja	Cabra
Lípidos %	3,6 – 4,20	5,0 – 9,0	5,0 – 7,0

¹Según diferentes fuentes

Tabla 8. Proporción de ácidos grasos de la grasa de la leche de diferentes especies¹

Acido Graso	Leche de Vaca	Leche de Oveja	Leche de Cabra
Butírico (C4:0)	1,40	1,10	0,70
Caprónico (C6:0)	2,20	2,70	2,40
Caprílico (C8:0)	1,80	3,30	3,20
Cáprico (C10:0)	3,60	7,60	8,70
Láurico (C12:0)	4,00	5,50	4,70
Mirístico (C14:0)	13,00	14,10	10,70
Palmítico (C16:0)	30,20	28,10	28,50
Esteárico (C18:0)	13,70	11,80	13,00
Oleico(C18:1 ⁹)	21,10	22,70	25,20
Linoléico(C18:2 ^{9,12})	3,00	3,10	2,90

¹Alais, 2000.

Las sustancias nitrogenadas forman la parte más compleja de la leche y comprenden dos tipos:

- Las proteínas (95% del nitrógeno total)
- Las sustancias no proteicas (5% del nitrógeno total)

Los valores medios del contenido en proteínas de las diferentes leches tal como se observa en la **Tabla 9**.

Las proteínas se encuentran en dos fases diferentes:

- Fase micelar inestable, formada por partículas sólidas en suspensión (micelas de caseína).
- Fase soluble estable, constituida por diversos polímeros proteicos hidrófilos (proteínas solubles o proteínas del suero).

Las micelas de caseínas son complejos orgánicos formados por proteínas desnaturalizadas (caseínas: γ , κ , β , α), de diferentes tamaños, con carga eléctrica negativa, debido a la mayor presencia de aminoácidos ácidos y grupos hidrófilos lo que determinan que se repelan entre sí. Representan el 80% del nitrógeno total.

Las diferentes caseínas (caseínas: γ , κ , β , α) difieren en su contenido en

fósforo y en su comportamiento frente al cuajo (enzima proteolítico). El mayor contenido de la leche en caseínas α y β determina el rendimiento en queso (ver **Tabla 10**)

Tabla 9. Contenido de proteínas de las diferentes leches¹

Especie	Vaca	Oveja	Cabra
Proteínas %	3,3	4,5	3,40

¹Según diferentes fuentes

Las proteínas solubles son exclusivamente de naturaleza orgánica, no llevan minerales en su molécula, y presentan una estructura secundaria (α – lacto albúmina, β - lacto globulina, proteosas, peptonas, inmunoglobulinas, albúminas séricas)

Tabla 10. Valores de las fracciones de caseína respecto a la caseína total en distintas leches¹

Fracciones de caseína	Leche de Vaca %	Leche de Oveja %	Leche de Cabra %
α	50,80	30,20	12,60
β	33,00	47,10	75,30
K	9,40	7,30	8,20
γ	6,80	15,40	3,90

¹Luquet, 1991.

La leche contiene además **sales**, en su mayor parte disueltas (moléculas e iones) y otras en estado coloidal. La mayoría son de tipo mineral (fosfatos, cloruros, bicarbonatos), aunque también las hay de origen orgánico (citratos y lactatos). Pese a su porcentaje relativamente bajo (0,70%), ejercen gran influencia sobre las características de la leche.

Referente a las **vitaminas**, la leche tiene el grupo hidrosoluble (grupo B y la C),

que provienen de la biosíntesis que realiza las bacterias del rumen, y vitaminas liposolubles(A, E, D, K), asociadas a la grasa y sujetas a variaciones importantes debido a la alimentación del animal y a las radiaciones solares.

El ácido cítrico es un componente característico de la leche, sintetizado por las células mamarias a partir de la glucosa o sus derivados y forma quelatos de calcio, lo que permite que la leche tenga mucho calcio disuelto en forma de citrato cálcico. Las concentraciones de ácido cítrico en la leche suelen estar entre 1,5 y 1,7 g/L

En la **Tabla 11**, se reportan las propiedades físico-químicas de la leche son consecuencia de su composición y estructura. Como existen variaciones en cuanto a la composición químicas entre las leches de vaca, oveja, y cabra.

Tabla 11. Propiedades Físico-químicas de las diferentes leches¹

Propiedad	Leche de vaca	Leche de oveja	Leche de cabra
Densidad a 20°C (g/mL)	1,027 – 1,0320	1,034 – 1,0350	1,0260 – 1,0420
Viscosidad (mPa.s)	1,236	2,936	1,186
Tensión Superficial (N/m)	50	49,90	52
Índice de Refracción(N ₀ ²⁰)	1,3440 – 1,3485	1,3490	1,3454 – 1,4548
Punto de Congelación(°C)	- 0,55	-0,583	- 0,570
Acidez (% ácido láctico)	0,15 – 0,18	0,18 – 0,22	0,16 – 0,18
pH	6,50 – 6,70	6,60 – 6,68	6,50 – 6,80

¹Según diferentes fuentes¹

Propiedades Sensoriales

Fase Visual

En esta fase de análisis sensorial de la leche se observa su aspecto (viscosidad, limpidez, brillantez) y color.

- a. Leche de vaca: es un líquido blanco viscoso, opaco, mate, más o menos amarillento según el contenido en β -carotenos de la materia grasa.
- b. Leche de Oveja: es un líquido blanco, más opaco que las leches de vaca y cabra y más viscoso que la de vaca.
- c. Leche de Cabra: de color mate muy blanco, ya que su grasa no contiene β -caroteno, de aspecto limpio y sin grumos. Más viscosa que la de vaca, el tamaño de sus glóbulos grasos es menor que los de la vaca y oveja y su número es mayor.

Fase Olfativa

Para expresar la sensación olfativa que produce el olor de la leche se emplea una relación de sustancias de referencia o familias aromáticas.

- a. **Leche de vaca:** Olor poco acentuado, pero característico, perteneciente a la familia animal, olor y aroma a vaca.
- b. **Leche de Oveja:** Olor característico del animal (familia animal, olor a oveja), poco intenso cuando la leche es recogida en condiciones higiénicas adecuadas.
- c. **Leche de Cabra:** el olor de la leche de cabra recién ordeñada es bastante neutro, aunque a veces la leche del final del período de lactación tiene un olor característico debido al ácido capricho, que se asocia con el animal. Si se almacena a bajas temperaturas, adquiere un olor característico.

Fase Gustativa.

La fase gustativa contempla la sensación en boca que produce la degustación de la leche sobre la base de los sabores: ácido, dulce,

salado, amargo.

- a. **Leche de vaca:** sabor ligeramente dulce
- b. **Leche de Oveja:** su sabor es dulce, sensación agradable al paladar y muy particular.
- c. **Leche de cabra:** sabor dulce, sensación agradable al paladar y muy característica.

Factores que afectan la Composición de la Leche.

La grasa, SNG y el contenido en proteínas de la leche llegan al máximo en la lactancia temprana, después decrece a un mínimo los SNG y proteínas después de seis semanas y para la grasa alrededor de 10 semanas y por último aumenta hasta el final de la lactancia.

Con la lactosa se presentan cambios inversos, su cantidad es baja en el calostro, se eleva marcadamente en la primera semana, permanece estable hasta el sexto mes y entonces disminuye nuevamente hasta el final de la lactancia. La grasa y los SNG disminuyen con las lactancias sucesivas, hay una caída de alrededor de 0.1% en la segunda, tercera y cuarta lactancia después de las cuales el descenso es menos pronunciado. La leche de vacas individuales puede mostrar una variación de día en día. Tales fluctuaciones pueden ser influidas por las condiciones físicas y fisiológicas.

La excitación, o la incomodidad pueden tener un efecto inverso, tanto en la calidad como en la cantidad de leche producida. Hay un aumento progresivo en el contenido de grasa durante la ordeña. La primera leche que se obtiene contiene alrededor de 1% de grasa, mientras que las últimas porciones pueden contener hasta 10%. También la leche de la mañana tiene un contenido menor de grasa que la leche de la tarde, debido a que el intervalo entre las ordeñas es más largo por la noche que durante el día (ver **Tabla 12**).

Tabla 12. EFECTO DEL INTERVALO EN LA ORDEÑA SOBRE EL CONTENIDO DE GRASA Y EL RENDIMIENTO DE LECHE

Intervalo de Ordeña (Horas)	Grasa (%)	Rendimiento (k)
2	6,000	2,086
4	4,600	4,218
6	4,500	6,033
8	4,100	7,122
10	3,600	8,482
12	3,600	8,482

Johansson y Claesson; 1975.

Cuando hablamos de una leche normal, su contenido de proteínas promedio es de 30 -35 g por litro, lo que representa el 95% del nitrógeno total de la leche. El 80% de estas proteínas, se encuentran bajo la forma de complejos macromoleculares, conteniendo una parte mineral (especialmente fosfato de calcio) que se conocen bajo el nombre de micelas.

Las caseínas (formas de micelas), contienen hasta un 8% de constituyentes minerales. El calcio micelar representa el 27% de calcio total de la leche, con una concentración de 1.2 g/L (30 mM). Las caseínas, a causa de su estructura macromolecular tan particular, son fácilmente aislables por centrifugación o precipitación isoelectrica a pH 4,6.

La fracción no sedimentable, llamada "proteínas solubles" o "proteínas del lactosuero" está constituida por proteínas globulares tales como la β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, inmunoglobulinas, etc.

Transformaciones Experimentales de la Leche a partir del Ordeño.

La calidad de la leche cruda recién ordeñada depende de la concentración de componentes con valor nutritivo sensorial (proteínas, grasas y otros) y de su contenido de contaminantes (microorganismos, antibióticos, pesticidas, metales, etc.).

En una vaca clínicamente sana, la leche, a su salida de la cisterna mamaria, está libre de microorganismos, pero ya a partir del último tramo del conducto del pezón, puede incorporar algunos cientos por mililitro. Desde el momento del ordeño y hasta su consumo, una vez tratada la leche puede experimentar diversas transformaciones, que fundamentalmente se deben por causas físico-químicas intrínsecas y extrínsecas.

a. Por causas de la Refrigeración

Cuando la leche sale de la cisterna mamaria, presenta una temperatura de 35 a 37°C y, considerando que se ha efectuado un ordeño en sus tres fases (estimulación, ordeño y apurado) en buenas condiciones sanitarias y con un ordeño con flujo controlado, siempre contiene una carga microbiana, que a estas temperaturas se multiplica rápidamente y la acidifican, haciéndola al cabo de cierto tiempo no apta para el consumo. Para evitar este inconveniente y preservar la calidad inicial de la leche cruda hasta el momento de su tratamiento es necesaria su refrigeración, empleándose normalmente temperaturas entre 4 y 7°C.

El descenso de la temperatura provoca algunos cambios en las propiedades físicas de la leche cruda. La densidad se incrementa debido, principalmente, a la hidratación de la membrana del glóbulo y a la solidificación de la grasa (Sherbon, 1988). Este proceso llega a ser total al cabo de 2 a 3 horas a temperaturas comprendidas entre 0 y 5°C (Morr y Rychter; 1988). La tensión superficial, a 20°C, en una leche que ha sido previamente almacenada a 5°C es siempre inferior a la registrada cuando no ha existido refrigeración previa (Sherbon, 1988). **(Ver Tabla 13)**

Con el enfriamiento se favorece la separación de la grasa y con la formación de la capa de crema se disminuye la superficie de contacto entre la grasa y la fase acuosa. En este proceso intervienen un conjunto de inmunoglobulinas (crío globulinas), predominantemente la IgM que, a temperaturas próximas a 0°C, precipitan, cubriendo pequeñas porciones de la superficie de los glóbulos grasos, que entonces se adhieren entre sí floculan.

Paulatinamente, los flóculos grandes van englobando a los más pequeños y a los glóbulos de grasa aislados, aumentando, así su tamaño y su velocidad de subida a la superficie. A este fenómeno se le denomina "aglutinación en frío". Existen pruebas de que la acción de las crío globulinas es favorecida por la presencia de una lipoproteína de la leche y, posiblemente, de otros factores, para el conjunto de componentes implicados, se usa el término genérico de "aglutínica" (Walstra y jennes; 2000).

El frío por otra parte favorece la migración al suero de algunos componentes del glóbulo de grasa, como los Fosfolípidos (aproximadamente un 15%)., la xantinoxidasa y el cobre (aproximadamente en un 37%). La migración de estos dos últimos componentes es de gran importancia, ya que facilitan la auto oxidación de los lípidos fuera del glóbulo. No se conoce el mecanismo concreto con el que tienen lugar estas migraciones, pero se ha sugerido que podrían deberse a la cristalización de la grasa y al debilitamiento de los enlaces hidrófobos por efecto de las bajas temperaturas (Mulder y Walstra; 1974).

Tabla 13. PRINCIPALES PROPIEDADES FÍSICAS DE LA LECHE.

Propiedades físicas	Valores	Autores
Densidad (20°C)	1,030 - 1,033	(1)
Calor Específica (40°C)	0,93	(1)
Punto de congelación (°C)	-0,530 a -0,45	(1)
Punto de Ebullición (°C)	00,15 - 100,17	(1)
pH a 20°C	6,5 - 6,7	(2)
Acidez (°D)*	6 - 19	(1)
Viscosidad (20°C)	2,20	(2)
Índice de Refracción(20°C)	1,35	(3)
Tensión superficial (dinas/cm/15°C)	47 - 53	(1)
Conductividad Eléctrica (mhos/25°C)	40 x 10 ⁻⁴ a 50 x 10 ⁻⁵	(1)
Potencia Redox (Voltios/25°C)	+0,25 a +0,35	(4)

*D = Decigramos de ácido láctico por litro de leche.

(1) Alais (1986) (3) Veisseyre (1980)

(2) Revilla (1985) (4) Walstra (1986).

En las leches refrigeradas aumenta la estabilidad de la disolución coloidal, este hecho es atribuible al incremento en el grado de dispersión de las micelas de caseína. Las temperaturas próximas a 0°C originan un aumento de la concentración del Ca^{+2} no micelar, la concentración de este ion aumenta en el suero un 8.8% (Reimerdes, 1982), con la consiguiente disminución del calcio intramicelar; a esto acompaña un aumento del número de cadenas de β -caseína que sobresalen de las micelas, lo que probablemente acrecienta la repulsión estérica.

b. Calentamiento

Los efectos de este tratamiento sobre las características físico-químicas de la leche dependen, en gran medida, de las temperaturas y tiempos aplicados.

Se ha comprobado que durante el calentamiento, la densidad de la leche disminuye, como consecuencia, sobre todo de la dilatación del agua (Walstra y Jenness, 1987). La conductividad eléctrica se incrementa con la intensidad del tratamiento térmico, de forma que por cada grado Celsius aplicado su valor aumenta aproximadamente en $0,0001 \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Sherbon, 1988).

El calor elimina los gases de la leche, independientemente de cual sea la combinación temperatura - tiempo aplicada. La pérdida de CO_2 hace que el punto de congelación y el pH de la leche se eleven ligeramente (Alais, 1986), pero como se detalla más adelante, esta elevación se ve contrarrestada por la formación de acción del calor de distintos compuestos, relativamente ácidos, a partir de la lactosa.

Uno de los efectos del calentamiento más considerados es la pérdida parcial del valor nutritivo. La pasteurización comporta pérdidas de vitaminas inferiores al 10%, excepto para la vitamina C, de la que se puede perder hasta un 25% por este calentamiento. El tratamiento UHT ocasiona pérdidas inferiores al 20% (30% para la vitamina C), pero la esterilización convencional destruye el 80 - 100% de la vitamina B_{12} , aproximadamente la mitad de la vitamina C y más de la tercera parte de la tiamina y el ácido fólico (Gurr, (1981); walstra, (1987); Schaafsma, (1989).

Las enzimas de la leche comienzan a inactivarse a partir de los 50°C, aunque el intervalo concreto de temperaturas depende de cada tipo de enzima. Esta característica permite utilizar determinados enzimas como indicadores de los tratamientos térmicos aplicados a la leche, así, por ejemplo, la inactivación de la fosfatasa alcalina suele emplearse como indicador de la pasteurización baja (HTST)(72°C por 15 S).

Durante la pasteurización alta (85°C x 20 s) produce la inactivación de la lactoperoxidasa y de la mayoría de las enzimas, con excepción de la proteasa nativa de la leche y de algunas lipasas y proteasas bacterianas. Con los tratamientos esterilizantes, ya sean convencionales o UHT, se sigue la inactivación en la práctica de la totalidad de las enzimas, salvo algunos de origen microbiano, como los extracelulares de bacterias psicrótrofas (Walstra y Jenness; 1987), aunque en algunos casos (plasmina y fosfatasa alcalina) la desnaturalización es parcialmente reversible después del tratamiento UHT.

A temperaturas altas, se favorece el desarrollo de las reacciones de Maillard, siendo los principales grupos reaccionantes el amino de la lisina de las proteínas de la leche, lo que determina el bloqueo de este aminoácido y la consiguiente disminución del valor nutritivo de la leche (Schafasma, 1989).

Entre los productos originados en estas reacciones destacan el 5 - hidroximetil furfural, furfural alcohol, maltol, y los ácidos fórmicos, acético, propionico y láctico. Algunos de estos compuestos se caracterizan por su alta reactividad, y dan lugar a polímeros, algunos de los cuales son responsables de los cambios de color (pardeamiento) y aroma (sabor más intenso) y de la disminución de pH de la leche (Walstra y Jenness; 1987).

Por otra, y a partir de la lactosa, bien sea por epimerización, isomerización o por degradación, se originan pequeñas cantidades de lactulosa, epilactosa y galactosa, dependiendo de la severidad del tratamiento térmico (Walstra y Jenness; 1987).

Calvo y Olano (1989), han observado que en la leche esterilizada convencionalmente las concentraciones de la lactulosa, epilactosa y galactosa se incrementan hasta aproximadamente 75 mg, 5 mg y 16 mg, respectivamente.

Cuando la misma leche es sometida a tratamiento UHT las concentraciones registradas de esos compuestos son sensiblemente inferiores (2-25 mg, 1-3 mg y 9-12 mg, respectivamente). La evidencia experimental disponible apoya el uso de la concentración de lactulosa como indicador del calentamiento de la leche (Andrews y Prasad; (1987), Burton, (1988), Andrews, (1989)).

Uno de los componentes de la leche que en mayor medida se transforman por la acción del calor, son las proteínas, sobre todo los del suero. A partir de los 60°C, desciende la solubilidad de la mayor parte de las sero proteínas, debido a su desnaturalización, reorganizándose los enlaces no covalentes, que mantienen su estructura secundaria y terciaria.

Una de las consecuencias importantes de la desnaturalización de esas proteínas son los cambios que experimentan sus radicales-SH, reorganizándose los puentes disulfuro de forma que pueden ligarse algunas seroproteínas entre sí o con caseínas; algunos grupos sulfhidrilos quedan libres y expuestos en la superficie de la proteína y otros incluso se liberan de ella. Todo ello tiene como resultado la aparición del sabor a "cocido" de la leche, un cambio en la textura, debido a la formación de complejos entre proteínas, y un descenso en el potencial redox (Walstra y Jennes, 1987). Además, con la desnaturalización de las inmunoglobulinas, se pierde su capacidad de aglutinar los glóbulos grasos, disminuyendo así la tendencia de la nata a separarse.

En cuanto al efecto sobre la aptitud para la coagulación, hay que señalar que los residuos de la cisteína de las proteínas de la membrana parecer ser más reactivos que de las seroproteínas.

Mulder y Walstra; (1974); indican que, el calentamiento a altas temperaturas (superiores a 120°C) favorece la interesterificación de los triglicéridos y la formación de lactonas y metilcetonas, que refuerzan el aroma de la leche. También aumenta la tendencia de los glóbulos a la coalescencia.

Propiedades Físicas de la leche

Los procesos tecnológicos que las materias primas sufren en dirección a la producción de un determinado alimento constituyen una serie de operaciones que la ingeniería clasifica en dos grandes grupos, atendiendo a la filosofía de su aplicación; son las operaciones mecánicas y las operaciones físicas. Las primeras tienen por objeto la preparación de los materiales para su correcto manejo (reducción de tamaño, separación, mezclado, etc.); mientras que las segundas persiguen directamente el acondicionamiento apropiado de dichos materiales para su transformación en alimentos o ingredientes alimentarios (pasteurización, esterilización, atomización, liofilización, cocción, etc.).

Las operaciones físicas consisten realmente en tratamientos térmicos, calentamientos y enfriamientos, con los que se consiguen controlar las propiedades físicas de los materiales que se manejan, pues son función de la temperatura; se aceleran o retardan reacciones químicas y enzimáticas en virtud del tono térmico de las mismas; o, sencillamente, se compensan los efectos térmicos de las propias operaciones, bien aportando el calor requerido (evaporación, desecación) o eliminando el producido (cristalización, crió concentración, congelación).

Es muy importante tener en cuenta el hecho fundamental de que los materiales bajo proceso están en régimen dinámico bien porque se mantienen en movimiento dentro del propio equipo (proceso por cargas), o bien porque además han de ser transportados a través de tuberías, o similar, desde una a otra instalación donde sean sometidos a las distintas operaciones que el diagrama de flujo tenga establecido (proceso continuo).

Por tanto el conocimiento del comportamiento físico de los alimentos, mediante el estudio de sus propiedades físicas, no sólo presentan un interés intrínseco, puramente teórico, sino que en él aparece también una componente aplicada, práctica, derivada del hecho de que son estas propiedades las que, en definitiva, van a gobernar de una u otra manera los procesos tecnológicos a los que se someten los alimentos para su acondicionamiento o transformación.

Las propiedades físicas definen la naturaleza de la leche; estas propiedades son: Densidad o Peso específico, viscosidad, conductividad térmica, capacidad calorífica a presión constante y la expansión térmica.

Mastitis en Lecherías

Para controlar la mastitis en el hato, la **prevención** de las nuevas infecciones posee un beneficio mayor que el intentar curar los casos clínicos. Aún si el grado de la nueva infección se reduce, infecciones existentes que son tratadas pueden ser curadas con éxito limitado. La lucha contra la mastitis es un esfuerzo a largo plazo que debe ser persistente debido a que es imposible el prevenir completamente la transmisión de bacterias u otros organismos causantes de la enfermedad (Figura 1).



Figura 1: Prácticas de higiene y manejo mejoradas son una forma efectiva de reducir el grado de nuevas infecciones (de A a B), pero las infecciones existentes son difíciles de resolver y las vacas infectadas permanecen en el hato por un largo período, aún después de que la nueva infección decae (B). Es solamente luego de que un esfuerzo continuo por un largo tiempo (años), que el número de vacas infectadas en el hato decrece (de B a C).

DETECCION

a. Mastitis, conteo de células somáticas y pérdidas en la producción en el hato

Más del 98% de las células somáticas que se encuentran en la leche provienen de las células blancas que ingresan a la misma en respuesta a la invasión bacteriana de la ubre. Un alto conteo de células somáticas se asocia con la pérdida de la producción de leche. Cuando la leche de todas las vacas en el hato se mezcla, como en el tanque a granel, el conteo de células somáticas en una muestra compuesta es un buen indicador de la prevalencia de la mastitis en el hato (**Tabla 14**).

Un conteo de células somáticas mayor de 200,000 células/ml indica la presencia de mastitis subclínicas. Los conteos de células somáticas por debajo de 400,000 células/ml son típicos de los hatos que poseen buenas prácticas de manejo, pero que no hacen un particular énfasis en el control de la mastitis. Los hatos que poseen un programa de control efectivo de la mastitis poseen en forma consistente conteos por debajo de las 100,000 células/ml. Conteos de células somáticas mayores de 500,000 células/ml indican que un tercio de las glándulas se encuentran infectadas y que la pérdida de leche debido a mastitis subclínica es mayor de 10%. El conteo de células somáticas de una muestra compuesta no revela el tipo de infección, ni la identidad de las vacas infectadas.

b. Bacterias en la leche

Los cultivos de bacterias en la leche pueden ser útiles para cuantificar las bacterias e identificar los organismos causantes de mastitis y altos conteos de células somáticas. Con más frecuencia, una mezcla de diferentes tipos de bacterias es encontrada, pero algunas veces, una especie de bacteria puede predominar (ejm. *Strep. agalactiae*).

Si los conteos bacterianos se encuentran elevados (>50,000 bacterias/ml), un cultivo puede proveer claves para la fuente(s) de contaminación. La presencia (o ausencia) de organismos específicos ayuda a formular recomendaciones para prevenir la difusión de organismos que se encuentran en el hato. Hatos bien manejados poseen conteos bacterianos de menos de 1,000 células/ml.

Tabla 14. Relación entre conteo de células somáticas (CCS) medido en la leche del tanque a granel, pérdida de la producción y prevalencia de las mastitis subclínicas en el hato.

Conteo de células somáticas	Cuartos infectados	Pérdida de producción (%)	Mastitis subclínica
< 200.000	6%	0-5	Cerca de cero
200.000 – 500.000	16%	6-9	Unos pocos casos
500.000 - 1.000.000	32%	10-18	Diseminada
> 1.000.000	48%	19-29	Epidémica

Detección de mastitis en vacas individuales

a. Examen físico de la ubre

Los signos de mastitis aguda incluyen cuartos inflamados, con temperatura elevada y dolor al tacto. Los cambios en el tamaño y la presencia de tejido cicatrizal pueden ser detectados más fácilmente luego del ordeño, cuando la ubre se encuentra vacía.

b. Aspecto de la leche

La observación de los primeros chorros de leche permite la detección de leche anormal que debe de ser retirada del consumo. La leche anormal puede mostrar decoloración (aguado), descamaciones, o coágulos. Se debe tener la precaución, al

remover esta leche de la ubre, de no salpicar esta leche contaminada en las patas, cola o ubre del animal.

Además, el operador no debe de coleccionar estos primeros chorros de leche en la palma de su mano debido al riesgo de transferir bacterias de un cuarto a otro y de una vaca a otra. En los establos donde la leche se ordeña en el mismo lugar donde se alojan las vacas, la primera leche es volcada en una taza especial o plato. En los echaderos de ordeño, puede ser volcada directamente al piso para ser lavada inmediatamente luego de ser evaluada.

c. La Prueba de California de Mastitis

Para esta prueba, la leche de cada cuarto se mezcla con una solución detergente. La leche de los cuartos infectados forma un gel; la consistencia del gel es evaluada en forma visual. Esta reacción se relaciona en general con el número de células somáticas en la leche, y una reacción positiva indica mastitis.

d. Cultivo bacteriano

Generalmente, esta prueba se desarrolla en vacas seleccionadas para las que los conteos de células somáticas de muestras compuestas revelan un problema persistente serio. Los cultivos de leche de una vaca individual identifican la especie bacteriana, por lo tanto es la forma más confiable para decidir un tratamiento óptimo con antibióticos para una vaca en particular.

Ingeniería en Tecnología de Productos Lácteos

La leche es la secreción natural de las glándulas mamarias. Existen varios tipos de leche, pero de todas, la **LECHE MATERNA** es la mejor y además juega un papel fundamental en la nutrición, desarrollo, crecimiento y aporta defensas al bebe. Además de que el lazo afectivo de estar amamantando le permite al bebe un mejor desarrollo psíquico y por lo tanto físico.

El tiempo que se debe dar la lactancia materna, todavía se encuentra en controversia hay diferencias de criterios establecidos por diferentes asociaciones pediátricas, pero un término entre 3, 6 y 9 meses se considera razonable, siempre y cuando no existan factores asociados que modifiquen este criterio. La leche se compone principalmente de agua en un 80%, proteínas, lactosa, enzimas, grasas, vitaminas, minerales y sales minerales.

Las **proteínas** son: caseína, globulina y albúmina. La **lactosa** que es un azúcar compuesto de glucosa y galactosa. Las **enzimas** son: fosfatasa, catalasa, xantinoxidasa, reductasa, peroxidasa y lipasa. Las grasas son muy variables dependiendo el tipo de leche que se consuma como veremos mas adelante.

Entre las **vitaminas** que encontramos en la leche están: vitamina A, vitamina D, vitamina B1 y vitamina B2. Los **minerales** son: calcio, sodio, potasio, magnesio y hierro. Las **sales minerales** son: nitratos, sulfatos, carbonatos y fosfatos.

En la composición de la leche influye la raza, la edad, la alimentación, el método de ordeña y el estado de salud de la vaca. El sabor dulce de la leche proviene de la lactosa y su aroma proviene de la grasa. Su color proviene de la grasa y de la caseína. La leche se puede descomponer fácilmente por los microorganismos que contiene en su forma natural pero la tecnología y la bacteriología la han hecho mucho más estable e inocua. A la leche la podemos clasificar en 4 grupos:

- a. **Modificada:** Se ha cambiado el contenido de grasas o proteínas o azúcares. Se ha adicionado vitaminas y minerales.

- b. No Modificada:** Leche entera de vaca pasteurizada.
- c. Con Saborizante:** Se ha adicionado saborizantes y azúcar.
- d. Formulas Lácteas:** Se prepara a partir de leche en polvo que se le extrajo la grasa y se le adiciona grasa vegetal y agua.

Por su contenido de grasa a la leche la podemos clasificar así:

a. LECHE Liquida:

LECHE entera	30 a 35 g. de grasa por litro.
LECHE parcialmente descremada	28 a 29 g. de grasa por litro.
LECHE semidescremada	16 a 18 g. de grasa por litro.
LECHE descremada	- de 16 g. de grasa por litro.

b. LECHE en Polvo:

LECHE entera	+ de 24% de grasa por litro.
LECHE parcialmente descremada	8 a 24 % de grasa por litro.
LECHE descremada	- de 8 % de grasa por litro.

En el mercado podemos encontrar un extenso surtido de características, presentaciones, marcas y precios.

- c. LECHE PASTEURIZADA:** la leche se calienta a 72 °C por 15 segundos, para destruir a todos los gérmenes patógenos.
- d. LECHE ULTRAPASTEURIZADA:** La leche se calienta a 132 °C por 1 segundo, para destruir a todos los gérmenes patógenos y las esporas, dándole un periodo de vida a la leche de hasta 90 días.
- e. LECHE DESHIDRATADA:** es la leche a la cual se le elimina el 96% de agua.

f. **LECHE CONDENSADA:** es la leche parcialmente evaporada y se le agrega azúcar hasta alcanzar cierta concentración.

g. **LECHE DESLACTOSADA:** se somete a un proceso en el cual se transforma a lactosa en glucosa y galactosa para hacerla de mayor digestibilidad.

VALOR COMPARATIVO DE LA LECHE en 1 litro

NUTRIMENTOS	DE VACA	HUMANA	
	Entera	URBANA	RURAL
CALORÍAS	586	666	554
CARBOHIDRATOS (g)	35	70	60
PROTEÍNAS (g)	35	11	11
GRASAS (g)	34	38	30
CALCIO (mg)	1130	330	250
HIERRO (mg)	3100	1000	570
TIAMINA (mcg)	500	160	160
RIBOFLAVINA (mcg)	1000	430	270
NIACINA (mcg)	1200	1700	1550
VITAMINA C (mg)	10	43	22

LA CREMA

La **CREMA** es un derivado de la leche que contiene agua con grasa con un poco de proteína, un poco de lactosa y un poco de vitaminas y minerales.

La **CREMA** se obtiene centrifugando la leche. Primeramente se calienta la leche a 50°C para que sea más fácil su separación. Ya que la crema es menos densa que el resto de la leche al centrifugarla se queda en el centro del vaso receptor y la leche se va a la periferia. Posteriormente se le separa parte de sus grasas y se recalienta para preparar sus diferentes presentaciones (Veisseyre, 1980).

Tenemos diferentes tipos de **CREMA:**

CREMA SIMPLE: que contiene 18% de grasa y que no se puede congelar.

MEDIA CREMA: que contiene 12% de grasa y es la que más se usa para preparar salsas y aderezos y para el café.

CREMA AGRIA: es crema simple y se le agregan cultivos de bacterias (igual que al yogur), y se utiliza tanto en platillos salados como dulces.

CREMA BATIDA: que contiene 35% de grasa, se utiliza para mousses y souffles o para decorar postres o pasteles. Se puede congelar hasta por 2 meses.

DOBLE CREMA: es la versátil, ya que puede usarse para una gran variedad de platillos y tiene 48% de grasa. Se puede congelar hasta por 2 meses.

CREMA GRUMOSA: tiene un contenido de 55% de grasa y se utiliza generalmente con jamón. NO se recomienda para cocinar y se puede congelar hasta por 3 semanas.

VALOR COMPARATIVO DE LA CREMA en 100 gramos

NUTRIMENTOS	Crema Simple	Crema Batida	Doble Crema	Crema Grumosa
Calorías	198	369	445	586
Carbohidratos	3.9 g	3 g	2.6 g	2.3 g
Proteínas	2.6 g	1.9 g	1.7 g	1.6 g
Grasas	19.1 g	38.9 g	47.5 g	63.5 g
saturadas	11.9 g	24.4 g	29.7 g	39.7 g
Calcio	91 mg	61 mg	50 mg	37 mg

Dinesen (1984)

Capítulo II

Calidad de la Leche

¿Como definiría Usted la calidad de la leche?; actualmente esta no es una pregunta que tenga una contestación fácil, como lo demuestra el hecho de que existen diversas publicaciones que tratan sobre la calidad de la leche pero hay muy pocas en las que exista un intento de definir la palabra calidad. Una forma de medir la calidad de la leche y de los derivados es su capacidad para satisfacer las expectativas del consumidor. Esta definición pone énfasis, al menos, en dos cosas:

- a. **Los productores de leche y derivados lácteos** dependen del juicio final del consumidor.
- b. **Este juicio está basado en muchos factores** que a menudo son difíciles de definir, puesto que las propiedades sensoriales juegan un papel muy importante (ALFA-LAVAL, 1992).

A pesar del hecho de que la palabra calidad es casi imposible de definir, se han desarrollado cierta cantidad de métodos para determinar con gran exactitud la calidad en relación con las propiedades. Este concepto de calidad se divide, generalmente en grupos de propiedades que a continuación se indican:

a. Calidad Bacteriológica

- * Numeración de Gérmenes aerobios y anaerobios mesofilos totales.
- * Patógenos
- * Bacterias que producen ácido láctico
- * Psychrotrophos
- * Formadores de esporas
- * Sobrevivientes a la pasteurización
- * Formas coli y Células somáticas.

b. Calidad Química (o Composición)

- * Proteínas + productos de proteólisis
- * Grasa + productos de lipólisis
- * Carbohidratos (lactosa)

- * Calcio y otros iones
- * Enzimas
- * Vitaminas
- * pH y capacidad de amortiguación
- * Materias extrañas tales como antibióticos, pesticidas, iones metálicos pesados, residuos de desinfectantes, etc.
- * Sangre
- * Gases

c. Calidad Física (o propiedades)

- * Punto de ebullición
- * Punto de congelación
- * Densidad
- * Viscosidad
- * Conductividad
- * Potencial redox
- * Resistencia al tratamiento mecánico y al calor
- * Estabilidad al alcohol
- * Propiedades para preparación de queso.
- * Separabilidad
- * Tamaño de los glóbulos de grasa
- * Contenido de grasa libre

d. Propiedades Sensoriales

- * Olor
- * Sabor
- * Textura
- * Color
- * Apariencia General

Las propiedades relacionadas anteriormente no presentan un cuadro completo de la calidad; los resultados obtenidos permiten:

- * **Describir parámetros de calidad** en términos de cifras.
- * **Hacer comparaciones más significativas** de las diferentes muestras de leche y derivados lácteos.
- * **Establecen programas de control de calidad.**
- * **Establecen sistemas de clasificación** en relación con la calidad de la leche y los derivados lácteos, incluyendo límites máximos para ciertos contaminantes (Alfa Laval, 1992).

Cersovsky y Sonntag (1980), indican que de acuerdo con el sentido más amplio de este concepto, hay que entender por calidad de la leche cruda el conjunto de características que determinan su grado de idoneidad para los fines previstos de tratamiento y empleo. Se trata de un heterogéneo complejo de factores de calidad con influencia sobre las propiedades nutritivas, tecnológicas, higiénicas y de utilización de la leche cruda y de los productos lácteos preparados a partir de ella.

Para exponer los puntos más importantes de la calidad de la leche cruda es necesario partir de las exigencias que el consumidor tiene con respecto a la cantidad de los productos lácteos. Sobre todo en la leche de bebida y productos lácteos las exigencias son máximas en lo concerniente a una nutrición sana, por lo que, junto con las cuestiones nutritivas, los parámetros referentes a higiene y análisis de residuos juegan un papel decisivo en la determinación de la calidad de la materia prima.

Partiendo de esto, pueden expresarse los siguientes criterios aplicables a la calidad de la leche cruda, que determinarán a su vez la aptitud para el tratamiento industrial y la calidad de los productos terminados:

- * **Ausencia absoluta de sustancias que puedan actuar perjudicialmente sobre la salud del consumidor**, como sustancias extrañas y residuos de productos nocivos, pesticidas, medicamentos, toxinas microbianas, etc.
- * **Normal capacidad de acidificación**, es decir, ausencia sobre todo de sustancias inhibitorias de acción antibiótica.
- * **Escaso contenido de gérmenes**, como requisito previo fundamental para

obtener productos con prolongada capacidad de conservación.

- * **Caracteres sensoriales intachables.**
- * **Escaso contenido celular como expresión de una composición normal de la leche**, sin alterar por mamitis y trastornos secretorios.
- * **Escaso o nulo número de gérmenes** tecnológicamente indeseables, especialmente coliformes y esporulados.
- * **Normal composición bioquímica** como requisito previo para una deseable aptitud para la transformación: estabilidad proteica, capacidad de coagular con el fermento LAB, aptitud para la fabricación de mantequilla, y también para obtener productos de alto valor nutritivo.

Laboratorio de leche y derivados

Es importante remarcar que en una planta Industrial de Leche y derivados, el laboratorio de análisis de la leche y derivados juega un papel fundamental en la evaluación de la calidad permanente que deben cumplir la materia prima así como los derivados elaborados.

Es conocido por todos que el Laboratorio puede definirse como el lugar donde los investigadores y los técnicos obtienen datos experimentales reproducibles y que permitan sustentar una investigación, una evaluación, o fundamentar el diagnóstico del estado de las materias primas así como de los derivados procesados.

El proceso de implementación, tanto del diseño como de su equipamiento, debe ser realizado con todas las especificaciones que requiere el caso y con el concurso de personal especializado. Por otro lado las normas básicas que deben conocer el personal especializado que trabajan en el laboratorio de una industria de leche deben ser establecidos a nivel del departamento de Control de calidad y el analista de leche y derivados debe tener presente las siguientes reglas fundamentales:

NORMAS GENERALES EN EL LABORATORIO DE LECHE Y DERIVADOS

1. Establecer y optimizar los Protocolos de análisis de leche y derivados, en relación a las normas establecidas, considerando a los analistas responsables; Disponibilidad de materiales, y equipos.
2. Previo al inicio del desarrollo de cualquier protocolo de análisis tanto en leche como en sus derivados; es necesario que el material de vidrio, equipos, deben estar correctamente preparados, limpios, estériles, y

correctamente calibrados.

3. La práctica del orden, limpieza, puntualidad deben ser normas establecidas en el analista responsable, y de esta forma mantener un sistema de trabajo muy eficiente y confiable.
4. Debe conocer sobre normas de seguridad en el uso y manipuleo de los materiales y los reactivos que se usan, y siempre debe ser escrupuloso en la limpieza de los materiales y exigir que los reactivos deben presentar una pureza requerida, para evitar cualquier error en el análisis y posibles contaminaciones. Todo reactivo preparado, debe ser valorado a la concentración requerida y conservado en frascos de reactivos debidamente limpios y etiquetados, anotando su fecha de preparación.
5. Las evaluaciones químicas, físicas, deben realizarse con bastante cuidado; para tal efecto, una vez obtenido los datos, debe contarse con un libro adecuado de registros y anotarse con mucho cuidado y responsabilidad.
6. El analista, debe contar con un uniforme de trabajo y que básicamente consiste en un mandil de color blanco, Calzados deben ser de tacón bajo y cerrados de color blanco o zapatos de goma, delantal de goma, una gorra, y para análisis específicos debe usar gafas y guantes de goma.
7. El analista debe cumplir con normas muy rígidas, el cabello debe mantener corto o estar sujetado (si es de cabello largo debe retirarse y atarse) y siempre debe mantener una higiene personal escrupulosa.
8. El sistema de codificado de muestras debe ser establecido con un patrón adecuado, para evitar cualquier confusión y/o permutación; en cada muestra como mínimo debe indicarse, su código, la fecha, etc.,.
9. El analista debe elaborar un adecuado sistema de reporte de diario de trabajo de laboratorio, en donde se considera los análisis rutinarios, número de muestras por línea, frecuencia de análisis, fecha de evaluación, analista responsable; además estos reportes deben ser elaborados cotidianamente con mucha claridad y responsabilidad.
10. Como medida de seguridad, y con el objeto de que la empresa permanentemente eleve la calidad de los productos lácteos procesados,

el personal profesional y técnico, permanentemente debe someterse a una capacitación, orientación rigurosa, con el objeto de renovar y estar actualizado sobre las innovaciones en el análisis de leche y en el uso y manipuleo de materiales y equipos.

OPERACIONES FUNDAMENTALES A NIVEL DE LABORATORIO

Los principios fundamentales de actuación a nivel de laboratorio en una Planta Lechera, requiere de una conducta profesional eficiente y de excelencia; Todos los que son responsables del laboratorio deben practicar los principios de una buena organización con el objetivo de lograr una máxima eficacia y por ende una calidad total.

El Personal Profesional y técnico, deben ser conocedores de las especificaciones, uso de todos los materiales y equipos que se utilizan para el análisis de leche y derivados, así como de su mantenimiento y limpieza; considerando estos aspectos a continuación se establece que las operaciones fundamentales a nivel del laboratorio de leche y derivados son:

a. Limpieza.

El objetivo fundamental de ésta operación, es para obtener resultados fiables y reproducibles sin la inducción de cualquier error debido al efecto de un lavado deficiente y/o material extraño presente en el material de análisis.

Para realizar la operación de lavado o limpieza, generalmente se combina la limpieza mecánica que implica el arrastre de sustancias extrañas con la limpieza química que consiste en disolver o destruir cualquier materia orgánica adherida en el material de vidrio o equipo. El agente para la limpieza mecánica es el agua, coadyuvado por un cepillo

arrastra cualquier residuo presente en el material, pero esta limpieza es insuficiente por lo que es necesario realizar una limpieza química.

La limpieza química, se realiza con agentes químicos inorgánicos, para este fin utilizamos una mezcla sulfocrómica de ácido sulfúrico y dicromato de potasio y se lava en caliente, esta mezcla oxida y degrada a la materia orgánica; también se utiliza ácido clorhídrico o nítrico que fundamentalmente disuelven precipitados adheridos a las paredes del material de vidrio así como de accesorios y equipos; el uso de los jabones y detergentes son los responsables de la solubilización de la masa lipídica adherida al material.

Una vez terminado la operación de lavado o limpieza del material o equipo, es necesario realizar por lo menos un enjuague con agua corriente de grifo unas tres veces y otras tres con agua destilada estéril; concluido cada enjuague se debe escurrir y luego someter a un secado en una estufa con aire seco o esterilizarlos dependiendo del tipo de material y su uso.

b. Enmasado o Pesado

Es un punto crítico del proceso del desarrollo del protocolo de análisis, la cual se utiliza para determinar la masa de todos los tamaños de muestras a analizar, así como de los reactivos tanto en su dosificación como durante su preparación.

El equipo principal para estos casos es la balanza analítica de una sensibilidad establecida; las balanzas pueden ser de sistemas de pesas, como las digitales. Las balanzas analíticas más usadas a nivel de laboratorio de leche son con capacidades hasta 100 gramos con una precisión de 0,0001 gramos.

c. Pipeteo y Aforado

Es necesario que la medición de líquidos volumétricamente sean con bastante precisión y cuando se trata de volúmenes muy pequeños se debe realizarse con pipetas específicas; Las pipetas son tubos capilares abiertos en ambos extremos y presentan una graduación volumétrica y otras son aforadas. La mayoría de las pipetas graduadas utilizadas en el análisis de leche, corresponde al líquido que cae espontáneamente al destapar el extremo superior (sin soplar), y otras pipetas requieren para expulsar la totalidad del líquido por un soplado (tipo "Blow out").

La medición de volúmenes muy pequeños se realiza con micro pipetas y microjeringas; para el caso de mediciones de 0,1 a 10 mL. se usan pipetas con diámetros anchos en donde se observa la formación de menisco líquido. En estos casos la lectura se debe realizar cuando el menisco es tangente a la línea que señala la graduación o aforo. Cuando se quiere medir volúmenes de 10 a 1 000 mL. se utilizan fiolas o pipetas debidamente aforados a la temperatura de trabajo de la fiola o pipeta.

d. Ajuste de Soluciones y Diluciones

Es necesario que la preparación y ajuste de soluciones y disoluciones a nivel de laboratorio deben ser evaluados y correctamente valorados previo al inicio de la ejecución del protocolo de análisis. Es muy importante recordar, que una forma más común de diluir una solución patrón es aplicando un elemental cálculo de dilución a nivel cuantitativo según la siguiente relación de Diluciones:

Relación I:

$$V_1 \cdot c_1 = V_2 \cdot c_2$$

Donde : V_1 y c_1 son volumen y Concentración inicial.

V_2 y c_2 son volumen y concentración final.

Relación II:

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

Donde : V_1 y N_1 son volumen y Normalidad inicial.

V_2 y N_2 son volumen y Normalidad final.

Se recomienda que cuando se transfiera cuantitativamente los solutos al matraz aforado se utiliza una varilla de vidrio y se arrastra el soluto con una pequeña porción del disolvente, y así paulatinamente se va añadiendo a la fiola hasta aforar; se debe disolver totalmente los solutos sólidos antes de completar el aforado.

e. Valoraciones o Factorización

Todo análisis a nivel de laboratorio presenta un principio químico fundamental la de realizarse en base a reacciones químicas cuantitativas y cualitativas; esto explica que la transformación de la sustancia inicial íntegramente en los productos finales se realiza estequiométricamente cuando las proporciones de las sustancias reaccionantes están perfectamente definidas y son constantes.

Una forma clásica de presentar a una reacción estequiométrica cuantitativa, es cuando se valora una solución de NaOH con una solución de HCl bajo las mismas concentraciones y cuya reacción es de la siguiente forma:



De la reacción podemos mencionar que una Mol de NaOH reacciona con una Mol de HCl, formándose una Mol de NaCl y una Mol de H₂O respectivamente. Este principio se emplea para realizar las valoraciones o factorizaciones de todos las soluciones o reactivos que se utilizan para el análisis de leche y derivados.

Ott (1992), y Macarulla (1984) definen que una **Valoración** es una operación la cual determina la concentración de una solución problema en base a la medición del volumen de una solución patrón que reacciona estequiométricamente con un volumen conocido de la solución problema.

Es necesario recordarles que un equivalente de cualquier sustancia reacciona siempre con un equivalente de otra. Por lo tanto el punto de equivalencia es aquél en el que están presentes cantidades iguales de los cuerpos reaccionantes, mientras que el punto final es aquél en que se sabe que la reacción ha concluido.

En lo referente a Indicadores podemos indicar que son sustancias químicas que en el punto final de la reacción experimentan un cambio brusco, manifestándose en el cambio de coloración de la solución que se esta valorando.

Para realizar una óptima valoración siempre se debe recordar por norma el concepto de **Equivalente químico**, ya que en las reacciones de neutralización (Valoración) y de óxido-reducción se utiliza una cantidad de sustancia llamada **Equivalente Químico**, que viene a ser la cantidad de sustancia que puede liberar, adicionar, sustituir, o desplazar un átomo- gramo de hidrógeno; como ejemplo citaremos lo siguiente:

Ejemplo 1: Una Mol de H_2SO_4 puede liberar 2 átomos-gramo de H^+ , por lo tanto contiene dos equivalentes:

$$1 \text{ Mol } H_2SO_4 = 2 \text{ equivalentes}$$

$$1 \text{ Equivalente de } H_2SO_4 = M / 2 = 98/2 = 49 \text{ g.}$$

Ejemplo 2 : Una Mol de NaOH puede captar 1 átomo-gramo de H^+ , por lo tanto contiene un equivalente:

1 Mol NaOH = 1 equivalente.

1 Equivalente NaOH = $M/1 = 40/1 = 40$ g.

PROPIEDAD FUNDAMENTAL DE LOS EQUIPOS DE MEDICIÓN

Considerando que los datos reproducibles que se obtienen deben ser significativos, es necesario adoptar ciertas especificaciones que presentan como propiedad fundamental los equipos y instrumentos de medición en el laboratorio.

Estas propiedades, están directamente relacionado con factores extrínsecos (como es la temperatura, humedad, etc.,) e intrínsecos (calibración, sensibilidad, precisión, etc.,) los cuales influyen sobre los resultados, por lo que nace un término bastante conocido denominado Error de medición, que viene a ser la diferencia entre la medida aparente obtenida y la medida real.

Además se puede reconocer dos tipos de errores; el error absoluto, que es la diferencia propiamente dicha, y el error relativo, que es el cociente entre el error absoluto y la medida. Los errores se deben a diferentes causas o factores, considerando estos factores, los errores pueden ser Sistemáticos y accidentales (estadísticos); los sistemáticos se deben a un instrumento de medida inadecuado o mal uso del instrumento, estos errores no se detectan por repetición de la medida, es inherente a la medición (constante).

Los errores accidentales o estadísticos, se deben a causas no previsible, y se pueden detectar y corregir repitiendo la medición. Para evitar cualquier error de medición es necesario familiarizarnos con las propiedades fundamentales de los equipos e instrumentos y diferenciar la:

a. La Sensibilidad

Es la magnitud más pequeña que es capaz de medir el instrumento. Si consideramos a nivel práctico, que una balanza analítica tiene una sensibilidad de 0,1 miligramos, es decir, no puede detectar variaciones de masa inferiores a 0,1 miligramos.

b. La Fiabilidad

Es la propiedad que hace que las medidas sean reproducibles, es decir, que varias mediciones de una misma magnitud arrojen el mismo resultado. Ahora a nivel práctico podemos indicar que una balanza es fiable cuando en ella se pesa tres veces consecutivas una misma masa debe dar en los tres casos el mismo resultado.

c. La Precisión

Consiste en realizar las medidas con un error relativo suficientemente pequeño. En la práctica, se observa que si una balanza pesa 100 gramos con un error relativo de 1/1 000 es más preciso que una balanza que pesa 10 miligramos con un error relativo de 1/100.

APARATOS DE LABORATORIO PARA EL ANÁLISIS DE LECHE

Por intermedio de la Compañía Funke - Dr. N. Gerber Ltda. se presenta la gama de productos estándar ya conocidos y probados, y además con la incorporación de aparatos nuevos, desarrollados en ésta Compañía. Por otro lado se tiene que destacar la experiencia de muchos años en el ámbito de la proyección e instalación "llave en mano" de laboratorio completos en el campo de la Industria láctea. A continuación en base al Total catalogue Funke-Gerber presentamos la gama más importante de aparatos de laboratorio para el análisis de leche y comestibles.

A. Aparatos Para Toma De Muestras

Código	Nombre	Capacidad	Especificación
3000	Saca muestra para leche	1 mL.	
3001	Saca muestra para leche	2 mL	
3003	Saca muestra para leche	5 mL.	
3004	Saca muestra para leche	10 mL.	
3007	Saca muestra para leche	20 mL.	
3008	Saca muestra para leche	40 mL.	
3010	Saca muestra para leche	50 mL	
3011	Saca muestra para leche	100 mL.	
3030	Cazo para leche	125 mL	
3040	Botella De Ensayo para Leche	50 mL.	
3070	Botella de ensayo para leche con cierre de alambre	250 mL.	Plástico.
3091	Cesta metálica		
3120	Sonda para queso		110 x 9 x 13 mm
3121	Sonda para queso		125 x 14 x 19 mm.
3122	Sonda para queso		140 x 17 x 21 mm.
3130	Sonda para mantequilla		Longitud 240 mm.
3080	Cepillo de limpieza para botellas de muestras de leche		
3090	Caja para botellas de ensayo		50 botellas
3115	Mezcladora de laboratorio Para preparación de muestras	1,2 L	Dos velocidades
3140	Stomacher 400	Cap. 80 – 400 mL	46x24x33 cm

B. DETERMINACIÓN DE MATERIAS GRASAS y Otros

Código	Nombre	Escala	Especificación
3150	Butirómetro para leche	0 – 4% :0,05	Tolerancia de escala, 0,025%
3151	Butirómetro plano para leche	0 – 5% :0,1	
3152	Butirómetro plano para leche	0 – 6 % :0,1	
3153	Butirómetro plano para leche	0 – 7 % :0,1	
3154	Butirómetro plano para leche	0 – 8 % :0,1	
3155	Butirómetro plano para leche	0 – 9 % :0,1	
3156	Butirómetro plano para leche	0 – 10 % :0,1	
3157	Butirómetro plano para leche	0 – 12 % :0,1	

3158	Butirómetro plano para leche	0 – 16 % :0,1	
3160	Buriómetro para leche desnatada	0 – 1% :0,01	
3161	Buriómetro para leche desnatada	0 – 4% :0,05	
3162	Buriómetro para leche desnatada	0 – 5% :0,05	
3170	Butirómetro para leche en polvo según Teichert	0 – 35% :0,5	
3171	Butirómetro para leche en polvo según Teichert	0 – 70% : 1,0	
3180	Butirómetro para helado y leche condensada	0 – 6 – 12% :0,1	
3190	Butirómetro para helados	0 – 20% : 0,2	
3212	Butirómetro para nata	0 – 60% : 1,0	
3220	Butirómetro para mantequilla	0 – 70 –90% :0,5	
3230	Butirómetro para queso según Van Gulik	0 – 40% : 0,5	
3240	Butirómetro para queso blanco(requesón)	0 – 20% : 0,2	
3250	Butirómetro para Alimentos	0 – 100% :1,0	
3261	Cierre patentado para butirometros		Verbal
3271	Llave de ajuste		Verbal
3280	Tapón de Caucho		12x16x40mm
3290	Tapón de caucho		9x13x20mm
3310	Tapón de caucho para leche en polvo		17x22x30mm
3320	Vidrio de pesaje de nata		
3321	Vidrio de pesaje para queso		
3322	Navecilla de pesaje para mantequilla		
3323	Vidrio de pesaje para mantequilla		
3324	Cepillo de limpieza para el cuerpo del butirómetro		
3325	Cepillo de limpieza para la espita graduada del butirómetro		
3330	Estante para butirómetro		36 muestras; PVC
3340	Capuchón de protección		36 muestras ; PVC
3390	Distribuidor Automático	10 mL	Para Ácido Sulfúrico
3391	Distribuidor Automático	1 mL	Para alcohol Amílico
3402	Estante para distribuidor Automático		Para 2 dispensadores automáticos, 10 + 1 mL.
3430	Pipeta	10 mL	Volumétrica, para ácido sulfúrico
3431	Pipeta	10,75 mL	Volumétrica; Para Leche
3433	Pipeta	1 mL	Volumétrica; para alcohol amílico
3434	Pipeta	5,05 mL	Volumétrica; para crema
3435	Pipeta	5,0 mL	Volumétrica; para agua
3460	Estante para pipetas		PVC; para varias pipetas de varios tamaños.
3470	Cepillo de limpieza		Para pipetas
3550	Baño maría vibrador		Para butirómetros; 45x21x31cm
3571	Centrífuga Multiuso		Para 36 muestras; 4 aplicaciones
3605	Cabezal A		36 butirómetros o 18 Babcock
3606	Cabezal B		Para 8 Monjonier
3607	Cabezal C		Para 6 tubos de solubilidad

3900	Aparato Destilador	Balón esférico de 250 mL	
3910	Aparato Calefactor		425°C; con 4 Switch(110-220-450W), para balones esféricos
3920	Aparato de extracción		Con balón esférico de 250 mL
3921	Aparato Soxhlet		Para 4 extracciones
4201	Aparato desintegrador MicroKjeldahl 750°C		Para 06 balones Kjeldahl; 3,5 KW
4310	Medidor de pH para Laboratorio	Rango : -2 .. +16	Temperatura de Operación 0 – 45°C
4500	Aparato de titulación	0 – 20 °SH	Con Bureta; para leche
4501	Aparato de titulación	0 –40 °SH	Con bureta; para crema
4700	Probador de leche Salut		Con dos tubos
4905	Comprobador de sedimentos		Para ½ litro de leche
4910	Filtros de papel		Diámetro: 25 mm para ½ litro de leche
4920	Tabla de referencia		Con 3 grados
5400	Copa de fusión de mantequilla		De aluminio 30 g
6600	Lactodensímetro; con calibración oficial, certificado.	1,020 – 1,040 : 0,0005g/mL	20°C; con termómetro rango de 10 – 30°C; 300 x 28 mm.
6613	Lactodensímetro	1,020 – 1,035: 0,0005g/mL	20°C; con termómetro en el cuerpo; 10 – 30°C; 210x17mm
6640	Areómetro para suero de mantequilla	1,014 – 1,030: 0,0002g/mL	20°C; 240x21 mm; con certificación oficial
6660	Areómetro para leche condensada	1,000 – 1,240 :0,0002g/mL	300 x18 mm.
6670	Areómetro para yogur y bebida de leche con chocolate	1,030 – 1,060: 0,0001g/mL	Con termómetro en el cuerpo; 20°C; 220 x 16 mm.
6681	Areómetro para agua salobre	0 – 30 °Be: 0,5	15°C; 240 x 17 mm; con termómetro 0 – 40 °C
6690	Areómetro para agua de caldera	1,000 – 1,100 :0,002g/mL	20°C; 250 x 20 mm.
6700	Areómetro para agua de alimentación de caldera	- 1,2 a +2: 1/10 °Be	300 x 22 mm
6710	Alcoholímetro	0 – 100 Vol. % :1,0	Con termómetro; 15,56°C; 290 x 16 mm
6720	Areómetro para alcohol amílico	0,800 – 0,850: 0,001g/mL	20°C; 270x24mm
6730	Areómetro para ácido sulfúrico	1,800 – 1,850: 0,001 g/mL	20°C; 270 x 24 mm
6800	Vaso para lactodensímetros y hidrómetros	Modelo largo	300 x 35 mm
6801	Vaso para lactodensímetros y hidrómetros	Modelo pequeño	250 x 35 mm.
6810	Trípode para lactodensímetros		210x22 mm
6830	Estante para todo tipo de lactodensímetro o hidrómetro		
7010	Termómetro para lechería, en cesta de alambre	0 – 100 °C : 1,0	

Todos los materiales que se indican en esta primera parte de la publicación, fundamentalmente son de alta precisión y fabricados de SCHOTT glass según las especificaciones establecidas por la Compañía FUNKE-DR. N. GERBER LTD.. En el siguiente volumen se completará con mayor detalle las especificaciones de los demás aparatos y materiales Funke-Gerber que se emplean para el análisis de leche y comestibles.

Métodos de análisis de la calidad de la leche

El propósito de la publicación es la de realizar una descripción de los métodos de análisis de todos los indicadores de calidad. Cuando se evalúa un método de análisis de una propiedad determinada, es importante considerar su validez y su exactitud. El precio de cada análisis está relacionado con su precisión. Se puede aceptar un método caro en investigación pero, en las centrales lecheras que tienen que realizar un gran número de análisis, el precio del ensayo no debe ser muy alto.

La necesidad de analizar un gran número de muestras en las centrales lecheras ha contribuido al desarrollo de métodos automáticos rápidos. Como por ejemplo, se tiene el INFRA RED-MILK ANALYSER (IRMA) y el FOSS MILKO SCAN, que se utilizan para la determinación de la grasa, las proteínas y la lactosa, pueden analizar hasta 300 muestras por hora (ALFA - LAVAL, 1992).

El desarrollo de métodos de análisis químicos y físico de la calidad de la leche, pueden resumirse en la forma siguiente:

1. **Las centrales lecheras necesitan métodos rápidos**, exactos y automatizados para analizar un gran número de muestras a un coste razonablemente bajo.
2. **Es necesario desarrollar nuevos métodos** considerando los cambios que se han producido en la leche fresca (materia prima) en muchos países.
3. **Se necesitan métodos sencillos y seguros** para estimar en las explotaciones ganaderas unas pocas propiedades críticas relacionadas con la calidad (Alfa-Laval, 1992).

Toma de Muestras

La toma de muestras es un paso de suma importancia ya que de ella depende los resultados del análisis. La muestra tomada es generalmente muy pequeña comparada con el volumen con que trabajan las plantas lecheras; por ende un pequeño error puede representar grandes pérdidas económicas. La Muestra debe ser representativa para que los resultados sean los más aproximados a la realidad; para lograr esto se debe considerar el tamaño y forma del recipiente en que se encuentra el producto, la uniformidad y viscosidad del producto y por último, el tipo y tiempo de agitación o mezclado (Revilla, 1982).

Cuando las lotes son grandes, deben ser agitadas con medios mecánicos adecuados durante 5 a 10 minutos. Cuando la muestra va a representar al contenido de varios tarros, tome dos muestras por cada 2 a 5 tarros, tres por 6 a 60 tarros, cuatro por 61 a 80, cinco por 81 a 100 y finalmente una muestra más por cada 100 tarros adicionales o fracción de ella (Revilla, 1982).

Las muestras para análisis grasa, pueden ser individuales o compuestas; las muestras individuales son aquellas tomadas en cantidades iguales a 100 - 125 mL y que provienen de una sola fuente. Las muestras compuestas son las formadas por la mezcla de muestras individuales tomadas en cantidades proporcionales al total del producto que representan; estas muestras generalmente son almacenadas de 10 a 15 días y para evitar su deterioro, además de la refrigeración se le agrega una sustancia conservante, que puede ser el cloruro de mercurio, la formalina o el dicromato de potasio.

Los conservantes más usados en las plantas de leche, es el cloruro de mercurio ($\text{Cl}_2 \text{ Hg}$) y generalmente una tableta de un gramo, con 0,45 g de material activo por una muestra de 240 mL durante 15 días. También se utiliza 0,3 g de dicromato de potasio por cada 1/2 L de leche. Cuando se usa formalina (Formaldehído al 36 - 40%), se añade 1 mL por cada 250 mL de muestra, y se conserva durante 15 días (Santos, 1987).

Técnica de Muestreo

Para realizar un muestreo adecuado es necesario tomar todas las precauciones para evitar cualquier contaminación y adulteración. La toma de muestras y pruebas que se realizarán a la leche son:

- a. De los tanques de transporte con leche cruda, antes del despacho a la planta; tomar la muestra a la llegada a la planta de la misma.
- b. Individual en porongos o tarros, provenientes directamente de los porongos de cada proveedor. Antes de despachar la leche, se procede a tomar una muestra y en el momento de llegar a la planta.

Pruebas de Laboratorio

Químicas y Físicas

- a. Gravedad Específica.
- b. Grasa.
- c. Sólidos No Grasos.
- d. Proteínas Totales y Caseína.

Bacteriológicas

- a. Prueba de la Resazurina: 1 hora
- b. Reducción del Azul de metileno a 37°C y 20°C.

Examen y Pruebas de Plataforma o Andén de recepción.

Los exámenes y pruebas para determinar la calidad higiénica y de conservación de la leche, debe efectuarse a nivel de la plataforma de recepción las siguientes evaluaciones:

- a. Examen Sensorial de la leche, y de presencia de Calostro.
- b. Examen del Punto de Ebullición.
- c. Examen de Acidez, pH, y prueba de acidez límite.
- d. Examen de Grasa.
- e. Prueba de Estabilidad al alcohol y Lactofiltración
- f. Prueba de alcohol alizarina.
- g. Prueba de la Resazurina, 10 minutos.

Protocolos de análisis

EXAMEN DE GRAVEDAD ESPECÍFICA Y SÓLIDOS TOTALES

Aplicación

El método es aplicable a todos los derivados lácteos fluidos y la leche.

Principio

La determinación hidrométrica de la densidad relativa o gravedad específica de la leche, es una de las constantes físicas que se evalúan con mayor frecuencia, con el objetivo de lograr una información sobre la leche, sea en su condición de fresca, en procesamiento, reconstitución o recombinación.

La gravedad específica de la leche es igual al peso en kilogramos de un litro de leche a una temperatura de 15°C. La gravedad específica generalmente se expresa en grados lactométricos, fluctuando estos valores de 28 a 32. Cuando se determina la densidad relativa de la leche, el valor observado en el lactodensímetro debe corregirse en base a una temperatura de 15°C a 20°C, agregando o sustrayéndose el factor de 0.0002 y 0.25ºld. por cada grado centígrado registrado arriba o abajo de la temperatura mencionada respectivamente (de preferencia, debe hacerse entre los límites de 10 y 36°C) (Keating y Gaona, 1986).

Cuando se trata de determinar la densidad relativa durante el procesamiento como podría ser la evaporación, la densidad relativa estará indicando el nivel de concentración del producto. Si se trata de leche reconstituida nos permite evaluar mediante la densidad relativa si la

reconstitución se ha efectuado en forma correcta, si existe o no un exceso de sólidos, o en caso de faltar éstos se sospecha de una mala solubilidad de la leche en polvo.

Los factores que afectan la variación de la densidad relativa es básicamente la temperatura, observándose que a medida que se incrementa la temperatura disminuye el valor absoluto de la densidad relativa, por lo tanto la lectura debe efectuarse a una temperatura estándar que normalmente es de 15 o 20°C.

Los lactodensímetros de Soxhlet, Quevenne están referidos al agua a 15 y 20°C. Por otro lado la densidad relativa de la leche depende de la combinación de densidades entre sus diferentes componentes:

Agua	1,000	
Grasa	0,931	
Proteína	1,346	SNG = 1,616
Lactosa	1,666	
Minerales	5,500	(Keating y Gaona, 1986)

Por lo cual la leche entera tendría una densidad relativa promedio de 1,032, mientras que una leche descremada 1,036. Una aguada reportaría valores menores a 1,029. La densidad relativa de la crema es menor que de la leche, varía de acuerdo con su porcentaje de grasa, con 20% es de 1,011 y con 30% de 1,002.

La materia seca (extracto seco), está formada por los compuestos sólidos de la leche. Dentro de la composición de la leche de vaca constituye un promedio de 12.5%. La determinación de los sólidos totales se efectúa mediante procedimientos directos e indirectos.

La densidad relativa de la leche, cuando es determinada una hora después de efectuado el ordeño (cuando han desaparecido todas las burbujas de aire) es menor que la que se obtiene unas horas más tarde (fenómeno de

Recknagel). Durante las primeras 12 horas después de ordeñada la densidad relativa promedio de la leche puede aumentar hasta 0.0013. Este cambio se ha atribuido a alteraciones de la caseína y a la condición física de la grasa (Egan, 1990). El método indirecto se efectúa por fórmulas empíricas en relación a la densidad relativa (D) y porcentaje de grasa (%G):

RICHMOND: $\%ST = (0.25 \times D) + (1.21 \times \%G) + 0.66$

Usar para D sólo los valores milésimales enteros (ej. D= 1.032; usar 32)

QUEENSVILLE: $g/L\ ST = (10.6 \times \%G) + 2.75 (D - 1000)$

Usar para D el valor leído como entero.(ej. si D=1,032 usar 1032)

FLEISCHAMANN: $\%ST = (1.2 \times \%G) + 2.665 (D - 1000/ D \times 100)$

GILIBALDO Y

PELUFO : $\%ST = 282 (D - 1) + (\%G \times 1.19)$ (ej. usar para D el valor leído)

Materiales y Métodos

Materiales

Probeta graduada de 250 mL.
 Termómetro.
 Lactodensímetro de Quevenne.
 Vasos de níquel con altura de 2 cm y de 6 a 8 cm de diámetro con tapa.
 Baño María.
 Balanza analítica.
 Un Desecador con Silicagel.
 Otros.

Muestras

Leche entera 1 L.
 Leche en polvo(200 g).
 Leche ácida 1 L.
 Suero de mantequilla.
 Calostro.
 Leche Evaporada

Procedimiento Para Determinar La Densidad Relativa

- Tomar 250 mL de la muestra en una probeta.
- Efectuar la medición con el lactodensímetro en la muestra, teniendo presente que éste flote libremente y que no debe presentarse formación de espuma en el terminal de la espiga del lactómetro..
- Controlar la temperatura de la leche y debe comprendida en el rango de 10 a 36°C.
- Realizar la medición en la espiga del lactómetro en el punto más bajo que alcanza el menisco.
- Si la lectura se efectuó a 15 o 20°C, el valor leído será exacto.
- Cuando la temperatura es superior o inferior a 15 o 20°C y está en el rango de 10 a 36°C se procederá a la corrección de la siguiente manera:
Ejemplo: Si la lectura se efectuó a 19°C y resulta 1,029, la densidad corregida a 15°C será:

$$D_c = 1,029 + (19 - 15) 0,0002 = 1,0298 .$$

$$\text{Factor a } 15^\circ\text{C} = 0,0002^\circ\text{C}.$$

Ahora a 20°C, si la lectura se efectuó a 23°C; la densidad corregida será:

$$D_c = 29 + (23 - 20) 0,25^\circ\text{ld} = 29,75 \text{ (corregido)}.$$

$$\text{Factor a } 20^\circ\text{C} = 0,25^\circ\text{ld (grados lactométricos)}.$$

Procedimiento Para Determinar Los sólidos totales

- Secar el vaso con tapa en una estufa y enfriar en un desecador.
- Pesar el vaso conjuntamente con la tapa a T°C ambiente.
- Pipetear 3 mL. de leche en el vaso y tapar.
- Pesar nuevamente.
- Colocar el vaso abierto en el baño maría, hirviendo por 30 minutos para una desecación previa.
- Luego someter a una desecación real durante dos horas en la estufa a $102^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

- g. Enfriar en el desecador durante 30 minutos.
- h. Pesar y colocar en la estufa por una hora; luego se vuelve a enfriar y se vuelve nuevamente a pesar hasta peso constante. La diferencia máxima entre dos determinaciones debe ser de 0.05%.

Resultados y Discusión

- a. Discutir y comparar los resultados de los valores de la densidad y sólidos totales o materia seca de la leche de todas las muestras.
- b. Correlacionar y regresionar las variaciones de los valores de la densidad, sólidos totales de todas las muestras en función a los factores controlables como son temperatura, grasa, sólidos totales, etc..
- c. Reporte final del informe bajo las normas establecidas.

Miscelánea Láctea

- ¿Cuál es el principio de la determinación de la gravedad específica?.
- ¿Cuales son los factores controlables de la variación de la densidad y los sólidos totales?
- ¿Es posible determinar la densidad del suero de mantequilla (mazada), leche coagulada, con el lactodensímetro; explique?
- ¿Por que la densidad de la leche disminuye al aumentar la temperatura?
- ¿Como se determina la densidad de un producto lácteo concentrado o evaporado?
- ¿Una leche recién ordeñada, es factible determinar la densidad con el lactodensímetro. Si considera posible, fundamente y si no es así, cuál sería el procedimiento a seguir; explique?
- ¿Como varía la densidad y los sólidos totales con el contenido de grasa?
- ¿Analíticamente demuestre cuál es el origen de la densidad en la leche y derivados?

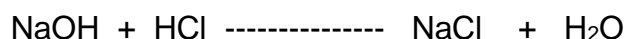
Química Lechera

Aplicación

Es usado para evaluar la concentración real de las soluciones y/o reactivos utilizados en el análisis de leche y derivados.

Principio

Para el desarrollo de un análisis químico y físico-químico en el campo de la industria alimentaria y específicamente en la tecnología de leche y derivados, se requieren de soluciones de concentración conocida, los mismos que serán empleados en la determinación cuantitativa de ciertos componentes de la leche y derivados. El título o concentración de una solución se basa en el equilibrio estequiométrico de una base y un ácido; como ejemplo podemos observar la siguiente reacción:



Esto quiere decir que una mol de NaOH puede reaccionar con una mol de HCl a las mismas concentraciones y decimos que hay un equilibrio, y gracias a éste principio se puede facturar cualquier solución o reactivo a utilizar.

La forma de expresar las concentraciones de las soluciones:

a. Solución Normal

Una solución normal es aquella que contiene un peso equivalente-gramo del soluto en un litro de solución:

Peso Equivalente = Peso molecular (soluto)/Valencia(X)

Donde: X = Número de H⁺ para los ácidos.

= Número de OH⁻ para los hidróxidos.

= Número de cargas positivas del catión para las sales.

= Número de electrones para soluciones de óxido-reducción.

b. Solución Molar.

Es aquel que contiene un peso molecular gramo de soluto por litro de solución.

c. Solución Porcentual.

Es el número de porcentaje disuelto en 100 mL de solución

d. Solución Diluida.

Cuando se tiene una solución para diluir primero se mide la densidad y luego la concentración. Luego para obtener una solución diluida se puede calcular la cantidad de agua necesaria usando la regla de dilución.

Las soluciones preparadas no siempre son de una concentración exacta, las mismas que deben ser corregida mediante una factorización o valoración, comparándolas con una solución patrón, que al hacer reacción estequiométricamente nos indicará su concentración verdadera. Como patrones se emplean ciertas sustancias sólidas (sales) de alta pureza, como por ejemplo, el carbonato de sodio, el biftalato de potasio, ácido benzoico, ácido sulfámico, hidróxido de sodio y el ácido clorhídrico.

Materiales y Métodos

Materiales

- 04 vasos de precipitación de 250 mL.
- 04 varillas de vidrio.
- 01 probeta de 250 mL.
- 02 fioles aforadas de 500 y 250 mL c/u.

Reactivos

- Acido clorhídrico al 0,1 N
- Acido sulfúrico concentrado
- Carbonato de sodio anhídrido
- Fenolftaleína anhidro.
- Alcohol etílico concentrado
- Hidróxido de sodio anhídrido

Procedimiento

La evaluación de la factorización o valoración de las soluciones preparadas, se llevará a cabo de acuerdo a los principios teóricos adquiridos en el curso de química analítica.

Resultados y Discusión

Comparar todos los resultados y factores obtenidos de cada solución preparada, también evaluar el gasto teórico y gasto práctico de las soluciones valoradas.

Preparar las siguientes soluciones:

HCl	0,1N
NaOH	0,1N
NaOH	0,25N
NaOH	0,111N
H ₂ SO ₄	91%
C ₂ H ₅ OH	68%

Miscelánea Láctea

¿Determinar el factor de valoración teórica, mediante un análisis estequiométrico?

¿Cuál es el principio estequiométrico de la valoración o factorización de soluciones; explique como se determina el gasto teórico?

¿Qué es una solución p.p.m. (partes por millón)?

¿Como se expresaría 300 p.p.m. en forma porcentual?

¿Que indica, cuando el factor de valoración de una solución es de mayor que 1, explique que pasó durante la preparación?

Examen De Proteínas y SNG De Leche.

Principio

Entre los componentes más valiosos que se encuentran en la composición de la leche, tenemos a la proteína. Las sustancias nitrogenadas de la leche se encuentran en forma de miscelas dispersas en suspensión coloidal, y la mayor parte pertenece al grupo de prótidos divididos en dos grupos:

- a. Holoproteínas;** que está formado por la lacto albúmina en un 0.05%, lacto globulina cuyo contenido que no sobrepasa de 0.5%.
- b. Heteroproteínas;** el principal heteroprótido de la leche lo constituye la caseína y está compuesto a su vez de 20 aminoácidos. el contenido de caseína en la leche es de aproximadamente 27 gramos por litro y representa un 78% del total de los prótidos.

Tecnológicamente, la proteína de mayor importancia es la caseína, ya que tiene gran incidencia en la tecnología de quesos. La variación durante un período láctico del contenido proteico es representativo, por lo que es necesario contar con un método rápido y exacto para su determinación (Keating y Gaona; 1986).

Existen varios métodos, tanto físicos y químicos:

a. Métodos Físicos

Medida de turbidez.

Pesado directo.

Absorción de rayos infrarrojo.

Colorimétrico con el negro-amido.

b. Métodos Químicos

Determinación del nitrógeno por Kjeldahl.

Titulación con Formaldehído.

Método de Biuret.

Dentro de éstos métodos, el más empleado y con mayor rapidez, viene a ser la titulación en presencia de formaldehído, cuyo principio se basa en que al combinarse el formaldehído con la leche produce en la caseína una pérdida de su carácter alcalino, aumentando el poder de combinación ácida provocada por la acción del formaldehído a los grupos **-NH₂ (aminos)** de los aminoácidos, quedando valorables los grupos **-COOH (carboxilos)**, con un álcali de una concentración conocida en presencia de un indicador y su cuantificación se determina en contenido de caseína ponderando el gasto por un factor (Gaona, 1986). La determinación de proteína por éste método implica que la leche debe ser fresca y microbiológicamente estable.

Los sólidos no grasos, es otro de los componentes que están presentes en la leche, también son llamados sólidos de suero o sólidos de plasma(SNG, SS, SP), dentro de estos componentes se encuentra la caseína, ceniza, y lactosa, generalmente el contenido varía de 8 a 9%. Los métodos más comunes que se emplean en la determinación son el método directo que es por desecación de la muestra y obtenido por gravimetría, y el método indirecto en donde se emplea fórmulas empíricas.

Materiales y Métodos

Materiales

02 vasos de precipitación de 250 mL.

01 termómetro de 0 – 150°C.

01 Lactodensímetro.

01 Probeta de 250 mL.

01 bureta de 25 mL.

01 pipeta de 5 mL.

01 pipeta de 10 mL.

Muestras

Leche entera 1 L.

Leche en polvo 100 g.

Calostro 1/2 L.

Mazada y suero 1/2 L.

Procedimiento - Método Sorensen Walker.

- a. Tomar un vaso de precipitación y añadir 9 cm³ de leche a 15 – 18°C.
- b. Agregar 1 mL de fenolftaleína al 1%.
- c. Valorar con hidróxido de sodio 0,1N, hasta viraje a un color rosado, pálido, comparar con solución patrón.
- d. Agregar 2 mL de formalina neutralizada al 40%., al mezclarse la formalina con la solución valorada, cambia de color rosado al color inicial.
- e. Luego realizar la segunda valoración con NaOH 0,1N y anotar el gasto de esta segunda valoración, el cual se multiplica por 1,63 (Factor empírico que depende de la relación de la caseína con respecto a las demás proteínas y de la técnica empleada) y se obtiene los gramos por ciento de caseína. Para evitar la acción de las sales solubles cálcicas, se recomienda agregar 0,4 mL de solución saturada de oxalato de potasio por cada 10 mL de leche.

Procedimiento - Método Modificado.

- a. En cada uno de los vasos (2) de precipitación se pipetea 50 mL de leche.
- b. Añadir a cada uno 2 mL de solución de oxalato de potasio al 28%.
- c. A un vaso se le agrega 1 mL. de solución de sulfato de cobalto al 5% como comparación de color.
- d. Al otro vaso se le agrega 0,5mL. de fenolftaleína y luego se titula con 0,25N de NaOH hasta el color de comparación.
- e. Añadir luego 10 mL. de formalina neutralizada al 40%.
- f. Neutralizar la muestra titulando con NaOH 0,143N hasta el color de comparación.
- g. Cálculo:

$$\% \text{ de Proteína} = \frac{\text{Gasto mL. de 0,143N de NaOH}}{2}$$

Procedimiento: Determinación de los SNG

1. Método Directo

- a. Pesar una cápsula de aluminio previamente secado en el secador.
- b. Pese 2,5 g.
- c. Caliente la muestra con el vapor de agua durante 10 - 15'.
- d. Caliente la muestra en el horno durante tres horas a 90-100°C.
- e. Enfríe en el secador la muestra.
- f. Pese el residuo de la muestra y reporte como sólidos totales.
- g. Calcular mediante la relación: $ST = SNG + SG$

2. Método Indirecto

- Según Revilla (1982)

$$SNG = \frac{\text{Lectura Corregida del Lactómetro}}{4} + (0,2\% \times \%G)$$

Ejemplo, si la lectura corregida del lactómetro es 31 emplear 31 y

$$\%G = 3,65$$

- Según Herz Henkel

$$SNG = \frac{D(15^{\circ}C)}{4} + \frac{G}{5} + 0,78 \quad \text{Para D emplear los grados lactométricos (ej. 30,5)}$$

Resultados y discusión

Comparar y discutir los resultados obtenidos de todas las muestras.

Miscelánea

Explique cuál es la función de todos los reactivos que se emplearán en la determinación de proteínas?

¿Qué diferencia química existe entre el método de titulación y el método Kjeldahl?

¿Cuál es la importancia tecnológica de la determinación del contenido de proteínas?

¿Qué relación existe entre el contenido de grasa y el contenido de proteínas, explique?

¿Realice una ecuación química de la determinación de proteínas por el método de titulación?

¿Cuáles son las etapas de la determinación del contenido total de proteínas por el método Kjeldahl, solamente emplee un esquema en donde se indica las reacciones que ocurre por etapas y los parámetros respectivos?

¿Indique los factores de conversión que se emplean para determinar proteínas en la leche y como se calcula (Método Micro Kjeldahl)?

Examen De Grasa En Leche y Derivados.

Principio

Químicamente la grasa de la leche es una mezcla de triglicéridos (compuestos de glicerol y una cantidad de ácidos grasos). La determinación de la grasa, tiene gran importancia, ya que interviene directamente en la economía, nutrición, sabor y otras propiedades físicas de la leche y derivados.

En la actualidad, para la determinación de grasa se cuenta con diversos métodos analíticos, donde se pueden mencionar:

1. Procedimientos butirométricos (volumétrico).
2. Procedimientos gravimétricos.
3. Procedimiento automatizados.

a. Método Butirométrico de Babcock

Fue ideado por S.M. Babcock en el año 1890; consiste en una prueba sencilla económica y de exactitud muy satisfactoria. La prueba está basada en la digestión hidrolización de la proteína por medio del ácido sulfúrico, ésta reacción produce calor y este a su vez facilita al ascenso de los glóbulos grasos liberados por la digestión de la proteína. El otro principio es la fuerza centrífuga, que fuerza a los glóbulos grasos a concentrarse en el cuello del butirómetro debido a la diferencia de densidades relativas entre la grasa y la solución ácida (Revilla, 1982).

b. Método Gerber (Butirométrico)

Fue ideado por N. Gerber entre el año 1892 y 1895; tiene el mismo principio que el método Babcock, pero presenta una mayor precisión, así mismo presenta casi todas las ventajas tanto económicas y técnicas favorables que el método de babcock; por lo que este método Gerber es el más utilizado a nivel de plantas pilotos e industriales de leche. Estos dos métodos Butirométricos han sido diseñados, para que la determinación del contenido graso se efectúe mediante la medición del volumen de grasa alojado en la espiga graduada de un recipiente de vidrio especialmente construido para el efecto, cuyo nombre es el Butirómetro de Gerber.

En lo referente a los procedimientos Gravimétricos, en la actualidad son poco usados en la industria lechera, pero son considerados como los más exactos, el principio es la de extraer la grasa por acción de un solvente y luego evaporar el solvente y pesar el residuo de grasa. Dentro de éste procedimiento se tiene la técnica de **Rose-Gottlieb o Mojonier**, donde el principio es básicamente, que sobre la alcalinización de la leche con amoníaco se diluye las proteínas (sin saponificación de la grasa), la grasa se extrae con soluciones de solvente orgánico, al final se destila la solución Solvente-Grasa y así se saca la solución solvente de la dilución grasa mas solvente.

Para éste método, se pesa 10 g de muestra (leche, suero de mantequilla, leche descremada y suero de queso), para leche enlatada con azúcar y sin azúcar se pesa 3 g, para leche en polvo pesar 1,5 g, y para crema pesar 3 g; luego la cantidad que se ha pesado se vierte al tubo de Mojonier, inmediatamente se tiene que agregar 10 mL de agua destilada.

Cuando se analiza crema se usa una solución de ClNa al 0,5% en reemplazo de agua destilada; después agregar 2 mL de amoníaco (25% densidad de 0.91 a 20°C) al tubo y se mezclan los otros ingredientes con 10 mL de alcohol etílico al 96%, 25 mL de éter-etílico, 25 mL de éter-petrólico (punto de ebullición entre 40 a 60°C después de mezclar).

Dejar por 2 horas en reposo hasta que la solución de arriba esté claro y después se saca con mucho cuidado la solución de solvente(eter-grasa) que está arriba la cual se echa a un matraz de destilación que antes se ha secado, echando algunas perlas de vidrio y pesado; después se echan 15 mL de éter-etílico y 15 mL de éter-petrólico al tubo de Mojonier, se mezcla después de cada agregado y se deja en reposo mínimo 1 hora y otro se saca la solución de éter-grasa y se echa a la primera porción al matraz de destilación, después se hace todo igual por tercera vez.

Luego se destila en un baño maría con el serpentín de refrigeración, todo

el éter se separa y se queda la grasa. para que todos los restos del éter se separe se tiene que poner el matraz una hora mínimo a la estufa a 103°C, después sacar de la estufa y desecar por 30 minutos en una desecadora hasta que llegue a la temperatura ambiente.

Después pesar, otra vez se coloca a la estufa por 1 hora y enfriar en el desecador, luego pesar, y esto se repite hasta peso constante. El peso de la grasa se calcula en %, la diferencia máxima en determinaciones dobles para leche en polvo y crema es 0,2%, y para todos los derivados 0,05%. Para este método se necesita 6 a 7 horas, pero cuando se tiene un Dietert centrífuga se puede tener resultados en 2 horas.

En caso de dejar en reposo se centrífuga por 5 minutos con 500 hasta 600rpm.

Dentro de los procedimientos mecanizados de lectura directa se tiene el método de Milko-Tester, este método se realiza por la medida fotoeléctrica de la concentración de esferas de grasa que se han concentrado por homogeneización a 60°C con presión. La turbidez de las proteínas de la leche desaparece al echar una solución de versene (Versene=Titriplex III)(Tween-20emulgor, hidróxido de sodio); el cuál también evita la coagulación de los fosfatos de la leche.

La turbidez de la grasa que queda se mide en la celda fotoeléctrica que está medida a un instrumento de medida; luego de 30" a 45" el contenido de grasa de leche se llega a ver en la escala; la escala es de 0 hasta 9,2%. Para la determinación de grasa de la crema de la leche se diluye a un porcentaje de grasa menor del 9%; la exactitud de Milko Tester es igual al método Gerber.

Materiales y Métodos

Materiales

01 Butirómetros de Gerber, con escala de 0 a 8% o de 0 a 6%.

Una centrífuga de 1 000 a 1 200 rpm.

01 pipeta de 10 mL. con esfera de seguridad para H₂SO₄

Pipetas de leche de 10 y 10,75 mL. c/u.

Tapones de goma para los Butirómetros.

01 vaso de precipitación de 250 mL.

01 refractómetro.

01 Lactodensímetro.

01 Pipeta de 5 mL. con esfera de seguridad.

Muestras

Leche fresca 1 L.

Leche en polvo 100 g.

Suero de leche 1/2 L.

Suero de mantequilla 1/2 L.

Crema de leche. 1/2 L.

Procedimiento - Según Gerber

- a. En el Butirómetro, llenar 10 mL. de H₂SO₄ al 91%, 1,82.
- b. Luego agregar muestra 10,75 mL.
- c. Agregar 1 mL de alcohol amílico.
- d. Se debe tener cuidado a que la leche no se mezcle muy rápido con el H₂SO₄ y que se debe cerrar el Butirómetro con todas las medidas de precaución (lentes, guantes, mandil plástico), este cuidado es más importante en el momento de agitar el Butirómetro.
- e. Luego centrifugar de 1 000 a 1 200 RPM por minutos.
- f. Colocar el Butirómetro en Baño María a 65°C por 5'
- g. Luego efectuar la lectura, mirar la escala en punto más bajo del menisco y colocar siempre el Butirómetro a la altura de los ojos. El contenido de grasa que se vea en la escala significa gramos de grasa en 100 g de leche (Atherton, 1981).

Puede existir una diferencia de $\pm 0,05\%$ de grasa entre dos determinaciones de una sola muestra. Para obtener mayor seguridad y exactitud en la determinación de grasa se hacen dos determinaciones de una muestra. Para conservar la leche para la determinación de grasa se puede utilizar formalina o Bicromato de potasio; 5 gotas de formalina para 1/2 L. de leche 0,3 g de Bicromato de potasio a igual cantidad de leche. Este método Gerber es más aplicable a cualquier derivado de la leche, para determinar el tenor graso total.

Procedimiento para determinar grasa de leche homogeneizada

- a. Emplear el método Gerber.
- b. Se coloca el butirómetro por tres veces a la centrífuga por 5' de 1000 a 1200 RPM a 65°C y entre la segunda y tercera centrifugación, colocarlo en baño maría a 65° por 5' y proceder a la lectura.

Procedimiento para determinar grasa de leche descremada

Para determinar el contenido de grasa de la leche descremada se sigue el procedimiento Gerber tal como se efectúa para una leche normal, sólo se utiliza butirómetros con escala de 0 a 0,5%, ya que en dicha escala se puede observar contenidos de hasta 0,05% de grasa. En el proceso de centrifugación es sometido por dos veces por 5 minutos a 65°C.

Procedimiento para Determinar grasa en el Suero de mantequilla.

- a. Se vierte en un butirómetro de 0-8% 10 mL. de ácido sulfúrico.
- b. Luego 10 mL. de suero de mantequilla (Mazada).
- c. Después 2 mL. de alcohol amílico.
- d. Inmediatamente tapar y agitar cuidadosamente, centrifugar por 1000-1200 r.p.m. a 65°C por 5 minutos por dos veces.

- e. terminado ésta operación tomar la lectura, y el resultado del % de grasa de la escala del butirómetro se multiplica por 1,1 (el procedimiento seguido es según el método Gerber). Es necesario indicar que el tamaño de muestra que se utiliza de suero de mantequilla de 10 mL. para el análisis según Gerber, es con la finalidad de evitar la formación de un tampón de proteína en el ácido.

Procedimiento para la Determinación de Grasa en la Leche Coagulada.

- a. Tomar 240 mL. de leche coagulada, a la cual se adiciona 30 mL. de Amoníaco al 10%; anotar el volumen de la mezcla. Licuar dicha mezcla.
- b. Una vez mezclada homogéneamente con el Amoníaco, se procede a determinar la grasa de la mezcla según el método de Gerber establecido para una leche normal;; con un butirómetro con escala de 0 a 8%.
- c. Luego una vez determinada la grasa de la mezcla se procede a expresar los resultados según la siguiente relación:

$$\frac{\mathbf{Vca \times G}}{\mathbf{Vc}} = \% \text{ Real de grasa de Leche coagulada.}$$

Donde: Vca : Volumen de la leche coagulada más
 Amoníaco

G : % de grasa de la Mezcla

Vc : Volumen de la leche coagulada.

Procedimiento para Determinación de Grasa en Leche Chokolada.

- a. Se vierte en un butirómetro de 0-50% 10 mL. de ácido sulfúrico diluido (Agregue en forma lenta 94 mL. de Acido sulfúrico 1,82 de densidad a 6 mL. de agua destilada para diluir).
- b. Luego pese 11,25 g de muestra y introducir en el butirómetro.
- c. Agregue un mL. de alcohol amílico.
- d. Tape herméticamente el butirómetro.
- e. Y sigue el mismo procedimiento de Gerber para la leche entera.

Procedimiento para Determinación de Grasa en Queso fresco.

- a. En un mortero se tritura una cantidad representativa de queso fresco, hasta que esté homogéneo.
- b. En vaso del butirómetro pesar 3 gramos de muestra triturada.
- c. Luego introducir en el butirómetro para queso (escala de 0 a 40%).
- d. Inmediatamente, se añade 10 mL. de ácido sulfúrico (al 91%) y se le completa hasta la mitad del butirómetro con agua destilada.
- e. Agregar 1 mL. de alcohol amílico, disolver, bien luego someter a una centrifugación durante 5 minutos a 1 200 r.p.m. a una temperatura de 65°C, y luego proceder a la lectura correspondiente.

Determinación de Grasa de la Mantequilla. Método Soxhlet.

La mantequilla seca se introduce en un cartucho y es puesto en el cuerpo cilíndrico de fondo cerrado del equipo de Soxhlet. Luego en el matraz o balón del equipo, previamente seco y pesado, se pone el éter etílico. Luego se hace hervir el disolvente, que, al estado de vapor pasa por el tubo lateral del equipo de soxhlet, se condensa en el refrigerante y cae a gotas sobre el

cartucho dentro del cuerpo cilíndrico del equipo, y cuando alcanza el nivel del asa superior del tubo con sifón, se descarga automáticamente en el balón o matraz colocado debajo.

Como fuente de calor se utiliza un baño maría regulado de modo que el sifonado tenga lugar entre diez a veinte minutos. Después de doce horas, tiempo necesario para extraer toda la grasa de la mantequilla, se separa el éter etílico recogiéndolo en el cuerpo cilíndrico del equipo. Seguidamente, el matraz que contiene la grasa se coloca en una estufa a 100°C durante una o dos horas, se enfría en desecador y se pesa. Este mismo procedimiento puede seguirse para cualquier muestra alimenticia, siempre debe primero secarse la muestra previo al pesado y su extracción.

Los cálculos se realizan en base a la siguiente relación:

$$\% \text{ de grasa} = \frac{(p_2 - p_1) \times 100}{P}$$

Donde: p_1 = peso del matraz o balón con el extracto graso.

p_2 = peso del matraz o balón vacío.

P = Peso de mantequilla.

Determinación de grasa de leche según Babcock

- a. Medir y añadir 17,6 mL de muestra al butirómetro, que equivale a 18 g(17,60 mL) menos 0,16 mL que queda adherida a la pipeta, es igual a 17,44 mL de muestra, que multiplicada por la gravedad específica promedio 1,0325 es igual a 18 g.
- b. Agregue 17,5 mL de ácido sulfúrico a cada butirómetro, inclinando el butirómetro para que el ácido arrastre la leche adherida al cuello.(densidad de ácido sulfúrico = 1,820 a 1,830).
- c. Mezcle al ácido con la leche en forma lenta, con movimientos rotatorios, hasta que adquiera un color café claro, lo cual generalmente es logrado

- en 30 segundos. De tal manera que los butirómetros queden unos frente a otros para evitar exceso de vibración de la centrifuga.
- d. Centrifugue durante 5 minutos a la velocidad adecuada, la centrifuga debe operar a una temperatura de 60°C.
 - e. Agregar agua blanda (destilada) de 54 a 60°C, hasta cerca de 1 mL debajo de la base del cuello del butirómetro.
 - f. Centrifugar nuevamente durante 2 minutos.
 - g. Vuelva agregar agua destilada de 54 a 60°C hasta que la columna de grasa quede entre el 0 y 8% de la escala del butirometro.
 - h. Vuelva a centrifugar por un minuto
 - i. Si la centrifuga no tiene calefacción lleve el butirómetro a baño maría a 60°C por 5 minutos y asegure que la columna de grasa del butirómetro esté por debajo del nivel del agua.
 - j. Efectúe la lectura midiendo la columna de grasa que abarca el espacio comprendido entre las bases de los meniscos y lee el resultado en términos de porcentaje de grasa referido al peso. En el momento de efectuar la lectura debe ser translúcida de un color amarillo dorado a ámbar y libre de partículas en suspensión .

Procedimiento para determinar la grasa en la leche Condensada sin Azúcar (Método rápido)

- a. Se toma una muestra de leche condensada a 50°C, se enfría y se mezcla con agua destilada 1:1, bien, homogéneo.
- b. De la disolución se toma 10,75 mL de muestra y se procede según el método Gerber en forma similar para una leche entera.
- c. A diferencia de una leche normal, para éste caso se centrifuga por dos veces a 1200 r.p.m. por 5 minutos a 65°C
- d. Luego se toma la lectura y el resultado de la escala del butirómetro se multiplica por 2 y se tendrá el % de grasa real de la leche condensada.

Procedimiento para determinar la grasa en la leche Azucarada (Método rápido).

- a. Se toma 100 gramos de la muestra, se calienta y se mezcla bien y se echa a una fiola de 500 mL y con agua destilada de 60 a 65°C se limpia el vaso y todo se echa a la fiola luego se enfría hasta 20°C y se completa hasta el aforo con agua destilada.
- b. Luego una vez aforado y mezclado adecuadamente, se procede a determinar la grasa según Gerber en los butirometros para leche; se centrifuga dos veces y se toma la lectura del % de grasa.
- c. El valor del % leído en la escala del butirómetro se multiplica por 5,1 y se tiene el % de grasa de la leche azucarada(% de grasa x 5,1 = % de grasa de la leche azucarada).

Procedimiento para determinar la grasa en la leche Condensada (Método analítico ROSE GOTTLIEB)

- a. Se toman 5 mL de leche condensada o 3 gramos de leche condensada azucarada y luego se le agrega 10 mL de agua destilada caliente de 40 a 45°C.
- b. Luego agregar 1mL de amoniaco y después 10 mL de alcohol etílico. Y después extraer tres veces con 25 mL de éter etílico y 25 mL de éter-petrólico. La diferencia máxima en las determinaciones dobles no debe ser más de 0,05%.

Resultados y Discusión

Reportar los resultados en cuadros y evaluar.

Miscelánea Láctea

- ¿Cuál es el principio químico y físico de la determinación de la grasa, según Gerber. Indique la reacción química?
- ¿Explique cuales son los factores que determinan la variación del contenido de grasa en la leche.
- ¿Que función cumple cada reactivo en la determinación de grasa?
- ¿Como determinaría la grasa de los siguientes derivados: manjar blanco, yogur, leche condensada?

Acidez De La Leche y Derivados

Aplicación

El método es aplicable a la leche y derivados

Principio

Algunas veces los ácidos presentes en alimentos son productos de la descomposición o desdoblamiento, ya sea por reacciones de carácter bioquímico (enzimático), químico (Reacción de Maillard) o por la acción de determinados microorganismos, los que durante su metabolismo producen ciertos ácidos, como es por ejemplo el ácido láctico que se presenta en la leche y derivados (Coultrate, 1986).

La concentración Hidrogeniónica (pH), es el logaritmo del inverso de la concentración de iones hidrógeno. Con el potencial en "iones hidrógeno" entre 10^{-1} a 10^{-7} (pH 1 a 7) será ácido; mientras que entre 10^{-7} a 10^{-14} (pH 7 a 14) será alcalino. La variación de pH dependen generalmente del estado sanitario de la glándula mamaria, de la cantidad de CO_2 disuelto en la leche, del desarrollo de los microorganismos alcalinizantes (Keating y Gaona, 1986).

El pH de la leche varía normalmente de 6,5 a 6,65, presentando como promedio de 6.60 a 6,70. La acidez titulable indica el contenido total de ácidos presentes en la leche y se expresa en porcentaje, generalmente en función del ácido que predomina entre los existentes , como por ejemplo; en la leche como ácido láctico. La acidez presentada por la leche cruda a la titulación, es la resultante de cuatro reacciones, de las cuales las tres primeras representan la acidez natural.

a. Acidez Natural

1. Acidez de la caseína anfotérica cerca de 2/5 de la acidez natural.
2. Acidez de las sustancias minerales, CO_2 y ácidos orgánicos originales, cerca de 2/5 de la acidez natural.

3. Reacciones secundarias de los fosfatos, cerca de 1/5 de la acidez natural.

b. Acidez Desarrollada

Debido a la formación de ácido láctico a partir de lactosa por intervención de bacterias contaminantes.

Generalmente una leche fresca posee una acidez de 0,15% a 0,16%(Keating y Gaona, 1986); los valores menores de 0,15% pueden ser debidos a las leches mastíticas, aguadas o bien adulteradas con algún producto químico alcalinizante.

INDECOPI, (1998), indica que la variación promedio de la acidez en la leche es de 0,16% a 0,18% expresado como ácido láctico. El cálculo de la acidez por titulación con álcali se basa en el concepto del equivalente químico, el que se define de que los equivalente gramos son las cantidades ponderales de sustancias con las cuales ellas entran en reacción (Alexeiv, 1976).

El ensayo de reducción de azul de metileno, es un procedimiento simple para estimar la calidad Bacteriológica de la leche. El azul de metileno, de color azul en presencia de oxígeno, se vuelve incoloro cuando la cantidad de oxígeno es limitada o eliminada. Normalmente la leche contiene cierta cantidad de oxígeno disuelto. El agregado de una solución de azul de metileno a una leche normal le da un color azul. Pero si se agrega ese colorante a una leche que tenga bacterias y se le mantiene a una temperatura adecuada, las bacterias crecerán y usarán el oxígeno.

Cuando el oxígeno ha sido consumido el color azul desaparece. El tiempo requerido para que ocurra el viraje de azul al blanco, se llama "Tiempo de reducción". Cuando más grande es el número de bacterias presentes, más corto es el tiempo de reducción (Zehren, 1975).

Para reportar los resultados de la prueba de la reductasa o actividad biológica, se realiza mediante una tabla de clasificación simple, que nos indica una idea de la calidad de la leche y del número aproximado de bacterias presentes en la leche.

Tabla 15. Clasificación De la Prueba de Reductasa.

Prueba de reductasa(Azul de metileno o TRAM)	
Tiempo en Horas	Escala de calificación
Más de 5 horas	Bueno
Más de 2 1/2 horas	Aceptable
Más de 20 minutos	Regular
Menos de 20 minutos	Malo

Fuente: Keating y Gaona (1986).

Tabla 16. Clasificación de la Prueba de Reductasa

TR	Recuento Nº/mL	Acidez % de AL.	Tiempo de Conservación*
9	1 400	-----	40
7-8	15 500	-----	47
5	178 000	-----	35
4	-----	0,155	30
3	1 995 000	0,160	30
2	-----	0,165	20
1	22 400 000	0,175	20
½	-----	0,190	12

TR = Tiempo de reducción

(*) = Horas

Fuente: Rossel y Dos Santos (1975)

En la **Tabla 15** y **Tabla 16**, la acidez está expresado en porcentaje de ácido láctico (A.L.) y el tiempo de conservación en horas a 18°C. Existen otras pruebas que permiten que evaluar rápidamente las características bacterianas y frescura de la leche pero menos exacta con relación al número de bacterias; permite comprobar también esta prueba la existencia de mastitis en la leche.

Materiales y Métodos

Materiales

- 01 bureta de 25 mL.
- 02 pipetas de 10 mL c/u.
- 02 pipetas de 1 mL c/u.
- 06 tubos de prueba con tapa de goma.
- 01 gradilla para sostener los tubos.
- 01 baño María.
- 01 autoclave.
- 01 termómetro y 01 agitador.
- 03 frascos color ámbar para la solución de azul de metileno.

Muestras

- Leche fresca 1 L.
- Leche en polvo 100 g.
- Suero de leche.
- Calostro.
- Leche evaporada.

Procedimiento Para determinar el pH

1. Tomar y preparar una cantidad adecuada de muestra.
2. Calibrar el pH-metro usando las dos soluciones tampón que más se aproxime al pH probable de la mezcla problema.
3. Medir la temperatura de la muestra.
4. Medir el pH de la leche, en función de la temperatura que presenta la muestra.
5. Reportar el resultado del pH y la temperatura.

Procedimiento Para Determinar La Acidez Titulable por el Método DORNIC

1. Tomar 9 mL. de leche en un vaso de precipitación.
2. Agregar 1 a 2 gotas de fenolftaleína 0,5% ó 1% en solución alcohólica.
3. Luego titular con NaOH 1/9N, hasta coloración rosado pálido.
4. Cada 0.10 mL. de gasto de NaOH es un grado Dornic.
(1 mL. de NaOH 1/9N equivale a 0.01 g de ácido láctico: **%Acido Láctico = °Dornic/100**).

Procedimiento por el Método Soxhlet-Henkel

1. Tomar 25 ó 50 mL. de leche
2. Añadir luego 2 mL. de fenolftaleína al 2% (Sol. alcohólica).
3. Titular con NaOH 1/4N hasta cambio de color (color patrón).
4. La Coloración estándar se prepara con 25 mL. de leche con 0,5 mL. de solución de sulfato de cobalto al 5%.
5. 1 mL. de NaOH 1/4N = 0,0225 g de ácido láctico.

Procedimiento para Efectuar la Prueba de Alcohol

1. Mezcle en un tubo o probador de leche SALUT 2 mL. de leche y 2 mL. de alcohol neutral etílico al 68%.
2. Agitar adecuadamente la mezcla.
3. Cuando se coagula, la leche tiene una acidez sobre 8,5°SH, o sea presenta una acidez elevada.
4. También puede ser una coagulación artificial ocasionado por microbios o por un alto contenido de sustancias nitrogenadas, por lo que es necesario determinar su acidez titulable.
5. La prueba debe realizarse en la zona de recepción en cada porongo o tarro de recepción por cada proveedor; además previo a la toma de muestra debe agitarse todo el contenido del porongo.

Procedimiento para Efectuar la Prueba de la Reductasa

1. Tomar 10 mL de leche en un tubo de prueba con tapa estéril
2. Agregue 1 mL de solución de azul de metileno dentro de cada tubo.
3. Preparar una solución de azul de metileno tomando una pastilla el cual se disuelve en 200 mL de agua destilada caliente y estéril o en todo caso preparar una solución de 55 p.p.m. de tiocianato de azul de metileno medicinal.
4. Una vez que la alícuota de ésta se ha añadido al tubo de prueba con tapa, llevar a baño maría a una temperatura de 37°C con un control cada 30 minutos, el agua debe encontrarse en baño maría siempre por encima del aforo de la muestra de leche. La interpretación de los resultados se realizará en base a las **Tablas 1 y 2.**

Procedimiento para Efectuar la Prueba Doble de Alcohol

1. Esta prueba se efectúa solamente para leche pura.
2. Mezclar 4 mL. De alcohol etílico al 68% con 2 mL de leche, no debe coagular, esta leche pura se puede catalogar como leche pasteurizada.

Procedimiento Para Determinar La Acidez De Manjar blanco

- a. Pesar 10 g de muestra, luego aforar a 100 mL. con agua destilada.
- b. Luego entibiar con agitación continua hasta disolverlo.
- c. De la disolución tomar 25 mL. , agregar 1 mL. de fenolftaleína.
- d. Luego titular con NaOH 0,1N hasta obtener un color rosado débil, y se anota el gasto.
- e. Luego efectuar los cálculos de la acidez según la siguiente relación:

$$\%Acidez = \frac{\text{Gasto} \times 0,1N \times \text{Milieq.} \times 100}{\text{Peso de muestra}}$$

Procedimiento Para Determinar La Acidez de Queso Fresco

- a. En un vaso se pesa 10 g de queso fresco, luego completar con 100 mL. de agua destilada y se entibia hasta disolverlo.
- b. De la disolución, se toma una 25 mL. y se le agrega 1 mL. de fenolftaleína.
- c. Luego se procede a la titulación con NaOH 0,1N hasta un cambio de color rosado pálido.
- d. Anotar el gasto y calcular la acidez según la acidez:

$$\%Acidez = \frac{\text{Gasto} \times 0,1N \times \text{MiliEq.} \times 100}{\text{Peso de muestra}}$$

Procedimiento Para Determinar Acidez en Crema por Método °SH.

- a. Se procede en forma similar como en la leche, pero cuando la crema tiene alta grasa y mucha acidez, o espesa, se tiene que pesar.
- b. En un erlenmeyer pesar 25 g de crema y/o 25 mL., se añade 1 mL. de fenolftaleína y se titula con NaOH 1/4N con ayuda de una varilla de vidrio para agitar hasta el cambio de color rosado pálido.
- c. La expresión del resultado: 1 mL. de gasto de NaOH 1/4N = 0,0225 g de ácido láctico.

Resultados y Discusión

Evaluar todos los resultados cualitativamente y cuantitativamente relacionando con los gráficos correspondientes

Miscelánea Láctea

- ¿Explique desde el punto de vista químico la acidez titulable en la leche?
- ¿Efectúe un gráfico de la acidez desarrollada en una leche Fresca; Utilice el Stat Graphics 4,0?
- ¿Cuales son los factores de la variación de la acidez en la leche? ¿Efecto Recknagel?
- ¿Cuáles son los factores de variación en la medición del pH?
- ¿Qué es la titulación potenciométrica y cual es su principio?

**EQUIVALENCIA DE LA EXPRESIÓN DE LA ACIDEZ
TITULABLE EN LECHE Y DERIVADOS EN BASE AL % DE
ÁCIDO LACTICO**

% De Ácido láctico Dornic (°D)	Soxhlet-Henkel (°SH)	Thorner (°T)
0,0000	0	0,0
0,0225	1	2,5
0,0450	2	5,0
0,0675	3	7,5
0,0900	4	10,0
0,1125	5	12,5
0,1350	6	15,0
0,1575	7	17,5
0,1800	8	20,0
0,2025	9	22,5
0,2250	10	25,0
0,2475	11	27,5
0,2700	12	30,0
0,2925	13	32,5
0,3150	14	35,0
0,3375	15	37,5
0,3600	16	40,0
0,3825	17	42,5
0,4050	18	45,0
0,4275	19	47,5
0,4500	20	50,0
0,4725	21	52,5
0,4950	22	55,0
0,5175	23	57,5
0,5400	24	60,0

0,5625	25	62,5	56,25
0,5850	26	65,0	58,50
0,6075	27	67,5	60,75
0,6300	28	70,0	63,00
0,6525	29	72,5	65,25
0,6750	30	75,0	67,50
0,6975	31	77,5	69,75
0,7200	32	80,0	72,00
0,7425	33	82,5	74,25
0,7650	34	85,0	76,50
0,7875	35	87,5	78,75
0,8100	36	90,0	81,00
0,8325	37	92,5	83,25
0,8550	38	95,0	85,50
0,8775	39	97,5	87,75
0,9000	40	100,0	90,00
0,9225	41	102,5	92,25
0,9450	42	105,0	94,50
0,9675	43	107,5	96,75
0,9900	44	110,0	99,00
1,0125	45	112,5	101,25
1,0350	46	115,0	103,50
1,0575	47	117,5	105,75
1,0800	48	120,0	108,00
1,1025	49	122,5	110,25
1,1250	50	125,0	112,50
1,1475	51	127,5	114,75
1,1700	52	130,0	117,00
1,1925	53	132,5	119,25
1,2150	54	135,0	121,50
1,2375	55	137,5	123,75

Miscelánea láctea

Este capítulo íntegramente está dedicado a las diversas metodologías que se emplean para el análisis de leche y derivados, con el propósito de poner a la disposición del lector los procedimientos sencillos y adaptables a nuestra realidad tanto a nivel de planta industrial, como a nivel piloto y laboratorios de análisis y/o control de calidad de la leche. Pensamos que al presentar las diversas metodologías de análisis químico y físico de la leche y Derivados, probadas a nivel de planta como control de rutina, puedan servir como patrón de control a nivel de otras plantas en formación así como a nivel de la enseñanza Universitaria.

Las Misceláneas de diversas metodologías que se presentan están en base a los métodos estandarizados establecidos por la AOAC, FUNKE-GERBER, y el Codex Alimentarius; pero con ciertas modificaciones de acorde a lo que recomiendan diversos investigadores así como las realizadas por experiencia propia; en mérito a lo indicado a continuación presentamos la metodología, teoría y mecanismos:

6.1. Método Para Determinar El Extracto Seco En Leche Y Derivados (Método Tradicional).

Materiales

Balanza Analítica con sensibilidad de 0,1 miligramos

01 desecador

Estufa de Desecación

Baño María

Cápsulas metálicas planas de 2 cm. de altura por 6-8 cm. de diámetro con tapa.

Papel aluminio y papel filtro Watman Nro. 4.

Pipetas.

Procedimiento

- a. Las cápsulas metálicas se desecan previamente a $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos, después se colocan en un desecador, se dejan enfriar y se pesan (M_0).
- b. Luego se colocan unos 3 mL. de leche en la cápsula, que se tapa y se vuelve a pesar (M_1).
- c. La cápsula se pone destapada sobre un baño María hirviendo durante 30 minutos, y posteriormente se introduce en la estufa de desecación durante 4 a 6 horas, hasta que la cápsula, pesada una vez tapada y enfriada en el desecador mantenga un peso constante, (M_2).
- d. Los cálculos:

$$\text{E.S.T. (\%)} = 100 \times \text{M.D.D. (} M_2 - M_0 \text{)} / \text{M.A.D. (} M_1 - M_0 \text{)}$$

Donde: E.S.T. = Extracto seco total.

M.D.D. = Masa Después de la Desecación.

M .A.D. = Masa Antes de la Desecación.

Método Para Determinar El Extracto Seco En Leche Y Derivados (Método Rápido).

Procedimiento

- a. Se toman dos hojas de papel de aluminio (de grosor 0,015 mm y medidas de 150 x 190 mm) que se colocan superpuestas, poniendo en su interior centrado un disco de papel de filtro (de resma) de 90 mm. de diámetro.
- b. El conjunto se dobla por la mitad, plegando a continuación todos los bordes hacia dentro con un margen de uno o dos centímetros, como puede verse en la figura.
- c. Una vez formado el paquete, éste se abre y se deseca en una estufa durante 20 minutos a 135°C . Tras este tiempo, se saca, se cierra y se deja enfriar en un desecador, donde puede ser almacenado durante unas horas hasta su uso.
- d. Luego para el análisis se toma un paquete desecado y se pesa con precisión absoluta (M_0).

- e. Se toma con una pipeta un mL. de leche y se deja caer sobre el papel de filtro, una vez abierto el paquete. Se distribuye homogéneamente cuidando que el papel de filtro empape la leche y evite que se moje el papel de aluminio.
- f. Se pesa de nuevo, una vez cerrado, (M_1), y se pone a desecar abierto durante 17 minutos a 135°C . Se cierra, se deja enfriar en un desecador y se pesa, (M_2). Los cálculos son idénticos a los del método tradicional).

Método Para Determinar El Extracto Seco Del Yogur.

El método es semejante al de la leche. La muestra se deseca en la cápsula con un peso conocido de arena purificada por ácido clorhídrico al 25%, lavada y calcinada a 500°C , para facilitar su pérdida de humedad. La mezcla se realiza con una varilla de vidrio, que también es desecada y pesada. El cálculo es igual al de la leche.

Método Para La Determinación De La Grasa En El Yogur

La grasa se determina por el método butiro métrico, basado en la separación de la materia grasa de la muestra diluida, por centrifugación en el butiro metro, después del ataque a los elementos de la leche, exceptuada la materia grasa, por ácido sulfúrico. Se favorece la separación de la grasa mediante la adición de alcohol isoamílico (o amílico). El método butiro métrico es el de Gerber, para el cual el yogur se diluye a la mitad para su análisis. El resultado que se lee en el butirómetro de Gerber se multiplica por 2.

Método Para La Determinación de Proteínas En El Yogur

La determinación de Las proteínas totales y solubles se realiza por el método de Kjeldahl.

Procedimiento

- a. El método consiste en digerir las proteínas de una pequeña muestra (3 a 5 gramos) de leche o yogur con 10 mL. de ácido sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador (selenio activo) a 400°C .

- b. En esta etapa, se logra así transformar todo el nitrógeno de la muestra en nitrógeno amoniacal, que se libera como amoníaco por adición de sosa cáustica al 40% en exceso.
- c. Luego el amoníaco posteriormente sufre un proceso de destilación, siendo recogido sobre una solución de ácido bórico al 4% con un indicador.
- d. El destilado se valora con ácido clorhídrico 0,1N. Los cálculos se realizan en función a la siguiente relación:

$$\%N \text{ total} = \frac{1,40 \text{ N (mL. CIH gastados en la muestra - mL. CIH blanco)}}{\text{gramos de muestra}}$$

$$\% \text{ Proteína total} = \% \text{ N total} \times 6,38$$

El nitrógeno no caseínico, o soluble, se halla tratando una muestra de leche con una solución de ácido acético al 10% (p/v), para disolver el nitrógeno y precipitar la grasa y la caseína. Después se tampona con 1 mL. de solución de acetato sódico 1N. Se filtra y se aplica el método Kjeldahl a 50 mL. de filtrado limpio.

Método Para Determinar El Test De Actividad Del Inóculo.

Las cantidades idóneas del inóculo de yogur como cultivo iniciador para su elaboración, se obtienen mediante el test de actividad. La principal característica de inóculo en buenas condiciones sería producir el nivel deseado de ácido láctico en un tiempo dado.

Para medir la actividad de un Fermento existen varias pruebas, una de ellas es la prueba de la resazurina.

Procedimiento

- a. Se trata de poner diferentes concentraciones del inóculo, previamente diluido en leche, en determinada cantidad de leche (9 mL.), en presencia de 1 mL. del indicador, que en este caso se trata de la resazurina al 0,005%.
- b. Luego se incuba a 37°C durante 45 minutos al baño maría y tras este tiempo se observa la reducción del colorante debida a la acción reductora desarrollada por la actividad metabólica microbiana.
- c. Un inóculo a la proporción correcta debería haber alcanzado en este tiempo un 0,8 - 0,9% de ácido láctico, lo que hubiera reducido al indicador. La resazurina pasa a resofurina, transformándose su color:

Azul → Malva → Rojizo → Rojo → Incoloro

Según los resultados que se obtengan, se escoge la concentración mínima efectiva para evitar los efectos indeseables que puedan acarrear el empleo de un exceso de inóculo.

Método Para Determinar La Actividad De La β -Galactosidasa (Lactasa)

Desde el punto de vista bioquímico - Nutricional, la actividad de la β -Galactosidasa tiene mucha importancia debido a sus propiedades beneficiosas en el tracto intestinal mejorando el metabolismo de la lactosa tras la ingesta de yogur así como a nivel tecnológico.

El método se basa en un principio fundamental, en donde la β -Galactosidasa hidroliza el o-nitrofenil- β -D-Galactopiranósido en o-nitrofenol y galactosa, la reacción se detiene gracias a la acción inhibidora del carbonato de sodio frío. La absorbancia del o-nitrofenol a 420 nm permite determinar la actividad del enzima.

Procedimiento.

- Pesar 10 gramos de yogur en una fiola de 100 mL., luego se mezclan con agua destilada agitando durante un minuto y se afora a un volumen de 100 mL.
- Luego de la disolución homogénea, se toman 1 mL. de alícuota para cuantificar el enzima, encubándolo con 5 mL. de una solución de ONPG durante 15 minutos a 37°C, La reacción se detiene añadiendo 2,5 mL. de carbonato de sodio frío a una concentración 1M.
- La solución de ONPG (o-nitrofenil-β-D-Galactopiranosido; SIGMA N-1127) 0,005 M se prepara en un buffer fosfato 0,1M de pH = 7, dicha solución contiene ditioeritritol en proporción 0,005 M como antioxidante.
- La cantidad de o-nitrofenol liberada se cuantifica en un espectrofotómetro a 420 nm. Las unidades de medida del enzima suelen expresarse como la cantidad de enzima que libera un mol de o-nitrofenol del ONPG por minuto y gramo de muestra a 37°C.

Método Para La Determinación de la Acidez En La Leche

Procedimiento

- Se valoran 100 mL. de leche con NaOH N/4 , previa a la titulación se le añade 1 mL. de disolución de fenolftaleína.
- La acidez de la leche se expresa generalmente en grados Soxhlet-Henkel (°S.H.), que equivale a los mL de NaOH N/4 necesarios para neutralizar 100 mL. de leche.

Método Para el Cálculo De La Masa Seca Sin Grasa En Leche.

Se utiliza según la relación Herz Henkel:

$$\text{SNG} = \text{Id}_{20^{\circ}\text{C}} / 4 + \text{g}/5 + 0,78$$

Donde: SNG = Sólidos no grasos y/o masa seca sin grasa.

g = Porcentaje de grasa; Id = grados lacto densimétricos leídos.

También con esta relación se puede calcular el aguado de la leche, para tal fin

es necesario determinar: SNG_1 = De la muestra del establo , y SNG_2 = De la muestra obtenida para el análisis, y en base a la siguiente relación se determina el porcentaje de aguado:

$$(SNG_1 - SNG_2) / SNG_1 \times 100 = \% \text{ del Aguado De La Leche}$$

Método Para Realizar El Ensayo Con Alizarina

En éste ensayo colorimétrico, que proporciona una indicación de la frescura de la leche, se basa en la distinta coloración que toma una disolución alcohólica de alizarina (2 gramos de alizarina por litro de etanol de 68°) a la que se le añade igual volumen de leche. La leche fresca da una coloración rojo-lila, que pasa al rosáceo, rojo-pardo y al amarillo a medida que la leche es más ácida, hasta formación de flóculos más o menos abundantes a consecuencia de la acidez.

Método Para La Determinación De La Grasa (Método Gerber)

Materiales

Butirómetro de Gerber de 0 a 8%.

Una centrífuga de Gerber.

Pipeta de 11 mL. para Leche.

Medidor automático de ácido sulfúrico.

Pipeta de 10 mL. con bola de seguridad.

Pipeta de 1 mL. con bola de seguridad.

Reactivos

Ácido sulfúrico con densidad 1,820 - 1,825. Se prepara añadiendo lentamente a 80 - 90 mL. de agua 1 litro de ácido sulfúrico concentrado.

Alcohol amílico de densidad 0,815 y p.eb., 128 – 130°C.

Procedimiento

- a. En el acidobutirómetro de Gerber, se introduce 10 mL. de ácido sulfúrico, luego 11 mL.(10,75 mL.) de leche, gota a gota, de forma que no se mezcle con el ácido, y 1 mL. de alcohol amílico. Se cierra el butirómetro con el tapón de goma a presión, se Centrifuga a 1 200 r.p.m. a una temperatura de 65°C por un tiempo de 5 minutos, y luego se sumerge con el tapón hacia abajo en un baño maría a 65 – 70°C, donde se deja durante unos diez minutos, cuidado de colocar el butirómetro con el tapón vuelto hacia el exterior y finalmente se lleva al baño maría.
- b. Después de tres o cuatro minutos se lee en el asta el número de la graduación ocupada por la grasa, número correspondiente a la cantidad de grasa en peso por 100 mL. de leche.

Método Para Determinar Las proteínas Totales De La Leche

El procedimiento para determinar, se basa en la determinación del nitrógeno proteico con el método de Kjeldahl. Sin embargo, como éste método requiere un tiempo de ejecución bastante largo, éste puede ser sustituido por procedimientos más rápidos y suficientemente precisos para efectuar controles a nivel de planta o industrial. Entre los numerosos métodos propuestos se describe el volumétrico, basado en la reacción de Schiff y el colorimétrico denominado "dye - binding".

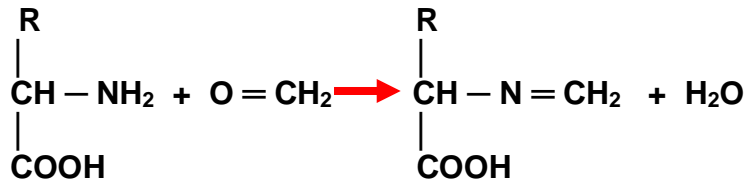
a.Método Kjeldahl

En un vaso se pesan 10 gramos de leche, luego se adicionan 78 mL. de agua y 12 gramos de ácido tricloroacético. Se agita y se deja en reposo durante tres o cuatro minutos. Después se filtra y se lava con disolución de ácido tricloroacético al 12%. Finalmente se determina el nitrógeno mediante el método Kjeldahl. Para realizar los cálculos de cuantificación se procede en base a la siguiente relación:

$$\% \text{ De Proteínas Totales} = \% \text{ de Nitrógeno Proteico} \times 6,38$$

b. Método Volumétrico (Método STEINEGGER)

El principio de ésta determinación volumétrica de las proteínas totales de la leche se basa en la reacción de Schiff, que se produce entre el aldehído fórmico y los grupos amino libres:



En esta reacción se puede apreciar que el grupo carboxílico puede ser valorado con álcalis en presencia de fenolftaleína.

Reactivos

Aldehído fórmico al 38 - 40 %, neutralizado hasta viraje de la fenolftaleína.
NaOH al N/4 valorado.

Procedimiento

- Se toma 100 de leche, una vez determinada la acidez, se adicionan 5 mL. de aldehído fórmico y se valora con NaOH N/4 hasta desaparición de la coloración rosa permanentemente.
- El punto final de la valoración se puede determinar mejor utilizando la titulación potenciométrica.
- Para realizar los cálculos del contenido en sustancias proteicas por 100 mL. de leche está dado por los mililitros de NaOH, necesarios para la neutralización de la leche después de la adición de la aldehído fórmico, multiplicado por 0,493 (Factor empírico, que depende de la relación de la caseína con respecto a las demás proteínas y de la técnica empleada).

c. Método Colorimétrico (dye-binding)

El Significado del término "dye - binding", literalmente es "enlace con el colorante", indica que esta determinación se basa en la reacción entre grupos funcionales de la proteína de la leche y la sustancia colorante, con formación de precipitado. Después de filtrar, se puede valorar colorimétricamente el exceso de colorante y establecer el contenido de proteínas totales mediante una curva de calibrado.

Reactivos

Se disuelven en agua 0,85 gramos de Negro de almidón (ó Negro de amido) 10B; 2,08 gramos de NaH_2PO_4 y 15,80 gramos de ácido cítrico, hasta un volumen de 1 litro y se ajusta a un pH de 2,35.

Procedimiento

- a. En un tubo de centrífuga se vierte 1 mL. de leche y 20 mL. de reactivo. Se agita durante cinco minutos y se centrifuga a 1 200 r.p.m.
- b. Luego a continuación se vierte 1 mL. del líquido sobrenadante en un matraz de 100 mL. y luego se afora con agua destilada.
- c. Una vez efectuada la dilución, se mide la absorción con un colorímetro a una longitud de onda de 578 - 610 nm., usando como blanco el reactivo sin negro de almidón. La curva de calibrado se prepara con idéntico procedimiento, usando muestras de leche de contenido proteico conocido.

d. Método Formol Según SORENSEN

Llamado "Índice Proteico", se determina por una titulación formólica, que se basa en la fijación del aldehído fórmico en grupos amino libres de las proteínas que quedan bloqueados; con la cual se pueden titular mediante álcali los grupos carboxílicos liberados.

Procedimiento.

- a. Se toman 50 mL. de leche se adicionan de 0,5 mL. de fenolftaleína al 2% y 2 mL. de solución acuosa neutra de Oxalato de potasio al 35% (saturado) para evitar la interferencia del Ca.
- b. Luego después de 2 minutos se titula con NaOH 1/10N hasta color rosado.
- c. Inmediatamente se agregan 10 mL. de formalina al 35%, previamente neutralizada y después de 1 minuto se vuelve a titular la nueva acidez hasta el mismo color.
- d. Los mL. de NaOH N/10 de esta segunda titulación multiplicados por 0,348 (Factor empírico que depende de la relación de la caseína con respecto a las demás proteínas y de la técnica empleada) dan el % de proteínas equivalente al N x 6,38 obtenido, según el método Kjeldahl. Cuando se trata de leche condensada y en polvo conviene esperar por lo menos 10 minutos antes de titular, para precipitar Ca. El viraje con fenolftaleína se puede comparar también con un estándar de 50 mL. de leche, adicionada de 1 mL. de CoSO_4 al 5% y 2 mL. de oxalato de potasio.

Método para la Determinación de la Caseína

Procedimiento

- a. Se pesan en un beaker 10 gramos de leche.
- b. Luego se añaden 90 mL. de agua destilada, y se calienta a 40 – 42°C y se vierte, gota a gota y agitando, 1,5 mL. de ácido acético diluido (1:9). Se agita y se deja en reposo durante tres a cinco minutos. Se decanta el suero sobrenadante, se lava por decantación dos a tres veces con agua fría y se transfiere la caseína precipitada sobre el filtro.
- c. Después se lava el filtro con agua una a dos veces y, si la primera porción del filtrado no es límpida, se vuelve a pasar sobre. Luego se procede por último a la determinación del nitrógeno con el método Kjeldahl, poniendo en el matraz el filtro con la caseína lavada.
- d. Los cálculos se realizan utilizando la siguiente relación:

$$\% \text{ De Caseína} = \% \text{ De Nitrógeno Caseínico} \times 6,38$$

Método Para La Determinación del Punto de Congelación

Generalmente la temperatura a la cual se congela la leche es en torno al siguiente valor de $-0,55^{\circ}\text{C}$ y varía notablemente sólo cuando a la leche se le adiciona agua. Así, el punto de congelación de una leche con 10% de agua está en $-0,495$ y una leche con 20% de agua está en $-0,440$.

Aparatos

Crioscopio de Beckman

Procedimiento

a. Primeramente establecer el cero de la escala termométrica determinando el punto de congelación del agua. Para ello se introduce en el recipiente de vidrio **b** una mezcla frigorífica a unos -5°C (preparada mezclando 1 k de hielo triturado con 250 de sal común) en la que se sumerge el recipiente **c** que contiene alcohol etílico y el recipiente crioscópico **d** con el termómetro **a**. (Ver figura).

Por medio del tubo lateral se introduce en el recipiente crioscópico un volumen de agua bidestilada suficiente para cubrir el bulbo termométrico. Se mantiene el agua en agitación continua y se observa la temperatura; inicialmente desciende, a continuación comienza a subir hasta alcanzar un valor que permanece constante. Tal valor t , que corresponde al punto de congelación del agua, es el cero de la escala termométrica. Se repite la medida con la leche después de lavar el recipiente dos o tres veces con la leche a examen. Si t_1 es el valor leído con la leche, su punto de congelación resulta igual a : $-(t - t_1)$.

Método Para La Determinación de La grasa En Crema de Leche

Procedimiento

- a. Se toma un butirómetro de Gerber para crema, graduada de 0 a 40%, a la cual se vierte 10 mL. de ácido sulfúrico al 91%.
- b. Luego se agrega 5 mL. de crema por la pared, con la misma pipeta se agrega 5 mL. de agua destilada, después se le añade 1 mL. de alcohol amílico y se tapa el butirómetro con un tapón de goma y se somete a un agitado cuidadosamente hasta mezclar la solución.
- c. Después se centrifuga durante 5 minutos a 1200 rpm. a una temperatura de 65°C. Luego se saca de la centrífuga y se procede a la lectura en la escala.

Método Para La determinación De La Acidez De La Crema Para Mantequilla

Procedimiento

- a. En un beaker se vierten 25 mL. de crema.
- b. Luego se agrega dos a tres gotas de fenolftaleína.
- c. Luego se titula con hidróxido de sodio 0,25N hasta obtener un color rosado pálido y débil.
- d. Se anota el gasto y se expresa los resultados:
Cada mL. de gasto de NaOH 0,25N = 1°S.H. ; Generalmente la acidez óptima de la crema después del proceso de maduración debe ser de 25 a 30 °S.H. (56,25 a 67,5°Dornic).

Método Para La Determinación de Grasa En mantequilla.

Procedimiento

- a. Según el método Gerber, se pesan 5 gramos de mantequilla en el vidrio de pesaje para mantequilla y se introduce por la parte inferior en el butirómetro para mantequilla.

- b. Luego se lleva al butirómetro para mantequilla con escala de 0 a 90% y se añade 10 mL. ácido sulfúrico y se completa con agua destilada hasta la mitad del butirómetro.
- c. Seguidamente se agrega 1 mL. de alcohol amílico, se tapa y se agita cuidadosamente hasta mezclar adecuadamente. Este mezclado debe realizarse con mucho cuidado, se realiza, se toma del vástago del butirómetro con la mano derecha y se agita primeramente la parte donde esta en contacto el ácido con la muestra sin mezclar todo el contenido para que la reacción sea lentamente; una vez disuelto la muestra se mezcla todo el contenido tomando con las dos manos el butirómetro en cada uno de los terminales, se invierte una y dos veces hasta mezclar todo y luego se pasa a la centrífuga.
- d. Se lleva a la centrífuga a 1200 r.p.m. a una temperatura de 65°C por 5 minutos.
- e. Luego se efectúa la lectura en la escala del butirómetro; Generalmente el contenido de grasa en la mantequilla es de 80%.

Método Para La Determinación Del Contenido De Sal En Mantequilla.

Procedimiento

- a. Se pesan 5 gramos de mantequilla en un beaker.
- b. Luego se funde la muestra en una cocinilla o mechero.
- c. Se le agrega 15 mL. de Acetona luego se añade 50 mL. de agua destilada tibia.
- d. Se añade a la mezcla 1 mL. de cromato de potasio como indicador.
- e. Luego se titula con AgNO_3 al 0,1N hasta que vire el color a ladrillo o marrón pálido y se anota el gasto de la titulación. En la neutralización se forma el cromato de plata.
- f. Para determinar el contenido de sal se emplea la siguiente relación:

$$\frac{\text{Gasto} \times \text{Factor} \times 100}{\text{Peso de Muestra}} = \% \text{ De Sal (NaCl)}$$

Factor = 0,00585

Método Para la Determinación De La Acidez De La Mantequilla.

Procedimiento

- Se funde una cantidad de mantequilla (± 10 gramos), y luego se filtra dicha muestra, y del filtrado se pesa 2,5 gramos en un beaker.
- Luego se agrega 12,5 mL. de Éter etílico y 12,5 mL. de Alcohol etílico neutro más 1 mL. de fenolftaleína al 1% en solución alcohólica.
- Se titula con NaOH al 0,1N hasta cambio de color a rosado pálido, se anota el gasto de la titulación.
- Para realizar los cálculos se utiliza la siguiente relación matemática:

$$\frac{\text{Gasto} \times \text{Factor} \times 100}{\text{Peso de Muestra}} = \% \text{ De Acidez}$$

$$\text{Factor} = 0,0282$$

El valor calculado, expresa que en 100 gramos de mantequilla hay una cantidad en gramos de ácido oleico.

Método Para Determinar La Humedad En Mantequilla.

Materiales

Vaso de aluminio de 6 cm de altura y de 6,5 cm de diámetro.

01 pinza para sujetar el vaso.

01 balanza de una capacidad de 10 mg.

01 Saca muestra para mantequilla.

01 Espátula.

Procedimiento

- Tarar el vaso de aluminio, en la cual se pesan 10 gramos de mantequilla.

- b. Una vez efectúa el pesado, se calienta en un mechero eléctrico, agitando lentamente sujetado por la pinza.
- c. Una vez que se ha evaporado el agua, inmediatamente se saca del mechero, para evitar un sobrecalentamiento que provocaría la descomposición de la grasa, que se nota por la coloración oscura.
- d. En el momento en que se nota un débil obscurecimiento, presencia de flóculos pequeños de las partículas no grasa, es el punto final de terminar con el calentamiento y se procede al enfriamiento. Utilizando la misma balanza se determina el peso nuevamente y luego se determina por diferencia el peso del agua evaporado y se expresa el porcentaje de humedad.

Es necesario tomar las siguientes precauciones: 1) La toma de muestra, debe ser representativa de toda la masa elaborada. 2) El calentamiento debe durar más o menos por 3 minutos hasta la completa evaporación del agua, y la prueba se realiza, poniendo una luna de reloj en la boca del vaso de aluminio en la que si es completa la evaporación la luna no debe empañarse. 3) El enfriamiento se debe realizar en una desecadora por 20 minutos. 4) En la determinación por duplicado, la diferencia no debe ser mayor de 0,20%.

Método Para La Determinación de Sal Según DOWALL En Mantequilla

Materiales

Balanza analítica.

Bureta de 25mL.

Vasos de precipitación de 150 y 250 mL.

Probeta de 50 mL.

Pipeta de 1mL.

Reactivos

Solución de AgNO_3 al 0,1N.

Solución de KCrO_4 al 10%.

Agua destilada.

Acetona.

Procedimiento.

- a. Pesar 5 gramos de muestra, se funde hasta que esté líquida.
- b. Luego se diluye con 15 acetona, después se agrega 50 mL. de agua destilada caliente y 1 mL. de $KCrO_4$ al 10%, mezclar adecuadamente.
- c. La mezcla se titula con $AgNO_3$ al 0,1N hasta que se observa un cambio de coloración marrón débil.
- d. Se anota el gasto de nitrato de plata.
- e. Para los cálculos se emplea la relación en donde 1 mL. 0,1N $AgNO_3$ es igual a 0,00585 gramos de cloruro de sodio.

$$\% \text{ClNa} = \frac{\text{Gasto} \times 0,00585 \times 100}{\text{peso de muestra}}$$

Método para Determinar La Masa Seca En mantequilla

Equipos y Materiales.

Balanza analítica.

Vasos de precipitación de 250 mL.

Estufa de 100 a 150°C.

Un Desecador.

Reactivos.

Éter petrólico.

Agua destilada.

Procedimiento.

- a. Pesar \pm 10 gramos de mantequilla en un vaso de precipitación previamente secado en la estufa y enfriado en la desecadora.
- b. Luego se calienta y se evapora el agua de la mantequilla, en idénticas condiciones como en la determinación de la humedad, cuidando en que

ésta no debe presentarse la coloración marrón.

- c. Se enfría la muestra, se toma el peso y se somete a la extracción de grasa, para lo cual se diluye la mantequilla en un baño maría y se agrega éter petrólico tibio, se agita bien y se deja algunos minutos para que sedimente.
- d. Terminado esta etapa, se separa por decantación la grasa disuelta en el éter petrólico y el sedimento, se lava con éter petrólico y se decanta nuevamente.
- e. Luego se lleva a la estufa a 103°C por 1 hora, con la finalidad de evaporar el éter-petrólico y secar el sedimento. Se enfría en la desecadora y se pesa para luego expresarlo en porcentaje.

Método Para determinar el Punto de Fusión En Mantequilla.

El punto de fusión indica el intervalo de temperaturas entre las cuales se produce la fusión de la mantequilla y, en general, de una sustancia grasa.

Procedimiento.

- a. En un tubo de vidrio **a** se aspira la mantequilla fundida hasta llegar a la mitad de la bola (ver figura). Se deja solidificar y se dobla en **U** la parte vacía del tubo con el termómetro **b** y se pone el termómetro en un vaso con agua.
- b. Calentar lentamente, y se lee la temperatura cuando el contenido del tubo comienza a fundir y una vez recogido todo en la parte inferior de la bola. Las dos lecturas indican el punto de fusión de la mantequilla.

Método para La determinación De grasa En Queso Según VAN GULIK

Materiales

Butirómetros según Van Gulik; pueden usarse también los butirómetros para queso según Gerber.

Balanza analítica.

Electro centrífuga.

Baño María.

Dosificadores Automáticos de ácido sulfúrico y Alcohol Amílico.

Agitador de Vidrio para queso.

Reactivos.

Ácido sulfúrico con una densidad de 1,52.

Alcohol amílico o de Drawin.

Procedimiento.

- a. Pesar 3 gramos de queso rallado en el vasito del butirómetro, se cierra el butirómetro por debajo y se vierte por encima ácido sulfúrico, hasta que esté sobre el nivel del vasito.
- b. Colocar el butirómetro al baño maría a 70°C – 80°C, hasta que la muestra esté totalmente diluida. Durante el calentamiento se tiene que agitar varias veces el butirómetro.
- c. Luego se agrega 1 mL. de alcohol amílico y ácido sulfúrico hasta que el líquido esté en $\pm 15\%$ de la escala. Se mezcla el contenido del butirómetro por inversión y se coloca otra vez 5 minutos al baño maría de 65°C.
- d. Terminado ésta etapa, se lleva a la electro centrífuga por 5 minutos de 1000 a 1200 r.p.m., Luego se pone en baño maría de 65°C y se determina el porcentaje de grasa en la escala del butirómetro.

Método Para la Determinación De La masa Seca En Queso (Método Standard).

Equipos y materiales

Balanza analítica.

Estufa con 103°C.

Desecadora.

Vasito de Aluminio de 2 cm. de altura y 6 a 8 cm de diámetro.

Varilla de Vidrio

Arena del mar, limpio y calcinado.

Procedimiento

- a. Pesar el vasito con 30 gramos de arena y la varilla se seca hasta peso constante. Se deja enfriar en la desecadora y se pesa 3 gramos de la muestra de queso rallado al vasito con la arena y la varilla.
- b. Con la varilla se muele el queso y se mezcla con la arena. y se lleva a la estufa a 103°C por 4 horas, se enfría en la desecadora y se pesa hasta obtener un peso constante y luego se expresa el porcentaje.

Método Para La determinación De La Acidez Según SOXLET- HENKEL

Desde el punto de vista químico los grados S.H. es el número Soxhlet-Henkel (grados SH) son los mL. 1/4 N de soda que se necesitan para titular 100 mL. de la muestra, se utiliza fenoltaleína como indicador para el proceso de valoración hasta coloración standard.

Equipos y materiales.

Bureta con una escala de graduación de 0,1 mL.

Pipeta de 25 mL, o una jeringa de 25 mL.

Pipeta de 2 mL. , 1 mL. y 0,5 mL.

Erlenmeyer o un vaso de Soxlet.

Reactivos.

Solución de NaOH al 1/4N.

Solución de fenolftaleína al 2%.

Solución de sulfato de cobalto($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) al 5%.

Procedimiento

- a. Preparar una solución standard de color, para lo cual se toma 50 mL. de leche y se le añade 1 mL. de sulfato de cobalto al 5%. Esta solución standard se tiene que preparar cada tres horas nuevamente.
- b. Luego tomar 50 mL. de la muestra, se añade 2 mL. de solución de fenolftaleína y se titula con NaOH 1/4N con agitación permanente gota por gota hasta llegar a la coloración standard.

La titulación no debe demorar más de 30 segundos. Para calcular el número de Soxlet - Henkel se multiplica los mL. de soda que se han utilizado por 2. Cuando se tiene productos lácteos acidificados entonces se utiliza solamente 25 mL. de la muestra y 1 mL. del indicador, para este caso la coloración standard se prepara con 25 mL. de muestra acidificada y con 0,5 mL. de solución de sulfato de cobalto. el cálculo de esta titulación se multiplica por 4.

En el caso de los cálculos de los resultados de la titulación a °SH, solamente es necesario cuando no se usa una Bureta especial para °SH, en este caso para una Bureta normal con 0,1 mL. de graduación. Las buretas especiales que se usan en los laboratorios de las plantas lecheras tienen un tapón con dado de calcio el cual no permite entre aire ni humedad a la soda. Cuando se usan estas buretas se utilizan 25 mL. de leche, 1 mL. de fenolftaleína y los mL. de soda que se han titulado son iguales a los grados °SH.

Método Para La Determinación Del °SH Por Titulación Potencio métrica.

Procedimiento.

- Se toma 25 o 50 mL. de leche, se titula usando un pH-metro con una buena agitación con un agitador magnético o con la mano, con 1/4N de NaOH hasta un pH de 8,2; este pH es el punto final de la titulación.
- Para este caso no se necesita la coloración estándar y la fenolftaleína; este método general se utiliza para muestras coloreadas, además éste método es más exacto.
- Por otro lado, generalmente éste método se aplica por ejemplo, para determinar la acidez de yogur a base de fresa, leche achocolatada, y todos los productos lácteos coloreados.

Método Para La Determinación Del Ácido Láctico Según DORNIC (°D)

Procedimiento.

- Se toma 10 mL. de la Muestra, a la cual se le agrega 1 mL. de fenolftaleína al 0,5%, luego se titula con NaOH al 1/9N.
- Cada 0,1 mL. que se ha usado de NaOH para titular en una Bureta normal equivale a 1°Dornic.
- Las equivalencias para la determinación del % de ácido láctico son:

$$\% \text{Ácido Láctico} = \frac{\text{°Dornic}}{100}$$

Método Para la determinación Del Ácido Láctico Según Thorner (°Th)

Procedimiento

- Se toma 10 mL. de la muestra, a la cual se agrega 1 mL. de fenolftaleína al 2%.

- b. Luego se titula con NaOH al 1/10 N; cada 0,1 mL. de NaOH gastado es un °Th. en una Bureta normal.

Método Para la Valoración De Cloruros.

Procedimiento

- a. Se toma 20 mL. de leche, se diluyen en un matraz aforado de 200 mL. con 30 -40 mL. de agua destilada y 2 mL. de solución de ferrocianuro de potasio al 15% y 2 mL. de acetato de zinc al 30% (Reactivo de Carrez). Luego se enrasan con agua destilada a 200 mL. y se agregan 2 mL. más agua por el volumen estimado del precipitado que se forma. Se agita, se deja sedimentar 15 minutos y se filtra.
- b. Cuando se trata de valorar cloruros, se toman 100 mL. de filtrado, a la cual se adicionan NaOH al 2% hasta reacción alcalina al tornasol, luego se acidulan con ácido nítrico, se agregan 5 mL. AgNO_3 N/10 (exceso) y se calienta para mejor coagulación del precipitado.
- c. Después de frío, se agregan 5 mL. de solución saturada de alumbre férrico y se titula el exceso con sulfocianuro N/10 hasta aparición de color rosado estable. Cada mL. de AgNO_3 N/10 equivale a 0,00355 gramos de Cloro.

Método Para La Investigación De Penicilina En Leche.

Se basa en la gran sensibilidad de ciertos cultivos de bacterias lácticas frente a este antibiótico.

Procedimiento.

- a. Se siembra simultáneamente la leche por examinar y una genuina con 5% de cultivo de yogurth y se incuban algunas horas (de 1 a 2 horas) a 27 y 44°C.
- b. Luego se determina la acidez por titulación; cuando la acidez es 5 o más veces superior en la leche genuina, existe gran sospecha de la presencia de penicilina en la leche examinada.

Método Para La Prueba De La Lactoperoxidasa.

Procedimiento.

- a. A 3mL. de leche se agregan 3 mL. de guayacol líquido al 1% en mezcla de agua y etanol (1+1) y 3 gotas de H₂O₂.
- b. Luego dentro de 5 minutos se produce color rojo o salmón en leche cruda o pasteurizada baja. Siendo su límite térmico de 75 – 82°C, sirve principalmente para comprobar calentamiento excesivo.

Método Para La Determinación De la Acidez En Leche En Polvo.

Procedimiento.

- a. Se toma 1 gramo de leche en polvo, se disuelve aproximadamente en 9 mL. de agua destilada calentada a 40°C. No debe ser superior a 18 mL. De NaOH N/10 para 100 mL. de leche reconstituida. Su pH varía de 6,5 a 6,8 después de la redisolución.

Método Para Determinar La Solubilidad De La Leche En Polvo.

Procedimiento.

- a. A 87,5 mL. de agua destilada a 25°C se agregan 12,5 gramos de leche en polvo y se agita en mezcladora eléctrica.
- b. Se deja reposar hasta que la espuma se separe lo suficiente y se llena un tubo graduado de centrífuga con tapa y se enrasa en 40 o 50 mL. y cuyo extremo cónico tenga divisiones de 0,1 mL.
- c. Después de centrifugar durante 5 minutos, se vacía el líquido sobrenadante hasta unos 2 mL. del sedimento teniendo cuidado de no removerlo.
- d. Luego se agita el sedimento con unos 25 mL. de agua a 25°C, se llena el tubo con agua hasta su enrase, se agita y se vuelve a centrifugar. Se lee el volumen del sedimento, colocando el tubo en posición vertical

delante de una intensa fuente luminosa. La centrifugación puede substituirse también por una filtración al vacío por un disco de papel filtro, seco y tarado, y determinando su aumento de peso después de lavado y secado.

- e. La solubilidad se determina relacionando el extracto seco y la grasa de la solución acuosa reconstituida (a la cual se le ha separado el sedimento por centrifugación) con el extracto seco y la grasa del polvo de leche. El porcentaje de solubilidad no debe ser inferior al 99% para la leche de dispersión y al 85% en la leche de rodillos; la solubilidad depende de la calidad de la leche natural, método de desecación, humedad, tiempo y temperatura de almacenamiento.

Método De Pearson Para Determinar La Solubilidad En Leche En Polvo y/o Leches Deshidratadas.

Fundamentalmente la determinación de la solubilidad de la leches deshidratadas es empírica, dependiendo de los factores como el método de secado, temperatura de secado, la acidez y el método para realizar la prueba de solubilidad. La mayor parte de los productos en polvos secados por aspersion son casi 100% solubles, mientras que la solubilidad de los polvos secados en cilindros es usualmente del 80 al 95%.

La metodología de Pearsons sigue el siguiente procedimiento:

Procedimiento.

- a. Pesar 4 gramos de leche en polvo, luego mezclar con 32 mL. de agua caliente a 50°C agitar durante 10 segundos y colocar en baño maría a 50°C durante 5 minutos.
- b. Luego nuevamente agitar por 1 minuto haciendo dobles viajes con la velocidad aproximada de 30 cm/seg. (Para el caso de leche en polvos descremados usar este líquido enfriado a 20°C para la determinación de los sólidos totales. Para el caso de crema en polvo entera y semi-crema,

centrifugar la crema reconstituida caliente en un tubo de 25 mL. durante 10 minutos a 2000 r.p.m.. Enfriar en refrigerador y separar la capa de grasa después de retirada de la paredes del tubo con una aguja. Calentar a 20°C, romper el depósito con una varilla y agitar enérgicamente el tubo con tapón de corcho para obtener una homogeneidad aparente). En cualquier caso, pesar unos 2 mL.(Peso P₁) del líquido en una cápsula metálica provista de tapa previamente pesada. También centrifugar la leche reconstituida durante 10 minutos y pesar unos 2 mL. (Peso P₂) en otra cápsula. Secar ambas cápsulas sobre baño maría y después a 100°C en una estufa durante un tiempo de 1 1/2 hora, luego enfriar en un desecador y pesar anotar estos pesos (S₁ y S₂) respectivamente. Para expresar los cálculos de solubilidad se emplea la siguiente relación:

$$\% \text{ de Solubilidad} = (100 \times P_1 \cdot S_2) / P_2 \cdot S_1$$

Método Para Determinar Grasa En Helados.

Se determina sobre el helado descuajado y filtrado, en caso necesario (por mota de algodón), según Gerber, usando ácido sulfúrico diluido (Densidad de 1,74; lo que significa que el ácido debe presentar una concentración de 87%).

En helados de crema se opera con la dilución acuosa al 1x3.; y se utiliza Butiro metros con escala de 0 a 8%; de 0 a 12% o con escala de 0 a 20%.

Método para Determinar Los Sólidos No Grasos En Helados.

Se toma 10 gramos de helado, y se titula con NaOH N/10 y 1 mL. de fenolftaleína, luego se agregan 10 mL. de formalina al 35% neutralizada, se agita y se vuelve a titular la "nueva acidez" con NaOH N/10 cuyo gasto en mL. se multiplica por 5,67 lo que nos dan los sólidos no grasos de leche.

Método Para Determinar Cloruros Totales En Queso.

Procedimiento.

- a. Pesar 3 gramos de queso bien homogeneizado, y se hierven con 25 mL. de AgNO_3 N/10, 10 mL. de HNO_3 y 50 mL. de agua.
- b. Una vez en ebullición se agregan 5 veces, cada vez, 3 mL. de KMnO_4 al 5%.
- c. Después del enfriamiento del líquido amarillento, se filtra y se lava el filtro con agua hasta enrasar a 200 mL.
- d. En 100 mL. se valora el exceso de AgNO_3 , según Volhard, como se describe para cloruros en leche (se recomienda hacer un blanco, destruyendo el exceso de KMnO_4 con azúcar). Si la diferencia entre cenizas totales y NaCl es superior al 3%, se puede sospechar la adición de minerales extraños.

Método Para Determinar La Acidez En Queso.

Procedimiento.

- a. Pesar 10 gramos de queso triturado, luego se tratan con 100 mL. de agua a 40°C , se agita fuertemente, se filtra, se lava bien la masa sobre el filtro.
- b. Luego se titula el filtrado con NaOH N/10, en presencia de fenolftaleína, y se expresa en ácido láctico o en grados de acidez. Cada mL. de NaOH N/10 = 0,009 gramos de ácido láctico.

Método Para Determinar El Grado De Maduración En Queso.

Considerando que durante la maduración se solubiliza la caseína, este índice se determina por la relación entre el % N soluble y el % N total. El N total se determina por un Kjeldahl corriente, el N soluble se valora según la siguiente metodología:

Procedimiento.

- a. Se pesan 25 gramos de queso y 25 gramos de arena se calientan con 100 mL. de agua a 50°C durante 1/2 hora.
- b. Luego se filtra por filtro húmedo (para retener grasa) y se tritura el residuo aún varias veces con agua de 50°C hasta enrasar 500 mL. de filtrado, del cual se evaporan 50 mL. hasta 10 mL. y se kjeldahlizan.
- c. Para realizar el cálculo se efectúa el cociente. Cuanto más maduro, mayor es el valor de este cociente, siendo en un buen queso de 0,7.

Método Para Determinar El pH En Mantequilla.

La determinación del pH en mantequilla, tiene el objeto siguiente:

1. La acidez es una de las características que determina el aroma de la crema ácida.
2. El control de pH implica la formación óptima del diacetilo en la maduración de la crema y en la mantequilla.
3. El pH es un valor que determina en la mantequilla el grado de conservación y defectos en el sabor.

Materiales.

01 electro centrífuga.

02 tubos de prueba de 150 mm de largo y 22 mm de diámetro.

01 pH-metro con un electrodo de vidrio y tubos de ensayo.

Procedimiento.

- a. En dos tubos se llenan las 2/3 partes de su capacidad con mantequilla.
- b. Luego se cierra el tubo con un tapón de corcho y se pone la muestra para diluir a un baño maría. Cuando toda la mantequilla está diluida, se centrifuga 10 minutos.
- c. Después con una pipeta se saca la grasa hasta que se quede 2 cm. sobre el suero. Se pone en la refrigeradora, hasta que la grasa se ha

solidificado, se quita esta capa y se junta el suero de los dos tubos y se determina el pH con el electrodo de vidrio. Generalmente una mantequilla ácida debe tener entre 4,7 a 5,0 de pH y una mantequilla dulce debe tener de 6,5 a 6,8 de pH.

Método Para determinar La Acidez En Leche Chocolatada.

Procedimiento.

- a. Caliente la muestra a temperatura ambiente.
- b. pesar nueve gramos de la muestra.
- c. Luego añadir 18 mL. de agua destilada.
- d. Agregue un poco de Hidróxido de sodio, con agitación constante.
- e. Transfiera dos gotas, una a cada depresión o concavidad de la placa de porcelana.
- f. Agregue una gota de fenolftaleína a una de las gotas de muestra y compare el color de ambas gotas de la muestra.
- g. Si no hay cambio de color, agregue otro poco de hidróxido de sodio a la muestra y repita los pasos e. y f.
- h. Continúe repitiendo el paso g. hasta que aparezca el color rosado y permanezca por 30 segundos.
- i. Tome la lectura y haga los cálculos necesarios para obtener la acidez titulable.

Método Para Realizar La Prueba De la Mastitis

Procedimiento.

- a. Se toma dos gotas de la muestra de leche a analizar.
- b. Luego se añade 2 gotas de NaOH 1N.
- c. Se mezcla, y si se observa que se corta la leche está comprobado que tiene mastitis clínico.

Método Para Determinar Los Grados °BRIX Del Manjar blanco

Procedimiento.

- a. Se toma 10 gramos de Manjar blanco, se , Se diluye al 10% en agua destilada, se mezcla hasta homogeneidad.
- b. Luego se toma unas gotas y se lleva al refractómetro previamente calibrado, para determinar los °Brix a una temperatura de 20°C.

Método Para Determinar La Acidez Del Manjar blanco.

Procedimiento.

- a. De La dilución anterior se toman 25 mL. de la muestra, luego agregar 1 mL. de fenolftaleína como indicador.
- b. Luego se titula con NaOH 0,1N hasta viraje a color rosado pálido.
- c. Para expresar la acidez se utiliza la siguiente relación:

$$\% \text{Acidez} = \frac{\text{Gasto} \times \text{N} \times \text{Meq.} \times 100}{\text{peso de muestra.}}$$

Método Para Determinar La grasa En Leche En Polvo.

Procedimiento

- a. Pesar una muestra de leche en polvo que es igual a 3 gramos, a la cual se le añade 1.5 mL de amoníaco al 0.88%, 2 mL de etanol de 96° y 4.5 mL de agua destilada.
- b. Toda la muestra pesada se lleva a un tubo con tapa de goma o corcho y luego agitar con un ligero calentamiento hasta que la muestra se encuentra uniformemente dispersada o diluida. Cada cierto tiempo dejar liberar la presión del tubo. Y después enfriar.
- c. A la muestra fría se le agrega 25 mL de éter di etílico y 25 mL de éter de petróleo, agitar toda la mezcla suavemente para extraer la grasa de la muestra.

- d. Luego, dejar en reposo para separar. Después Sifonar la capa mixta de éter a una matraz seco previamente pesado.
- e. Nuevamente repetir la adición de la mezcla de éter dos veces más, para que se combinan las dos capas claras de la parte superior de la suspensión.
- f. Luego evaporar la capa del solvente (éter) por calentamiento.
- g. Inmediatamente después de evaporar el éter, secar el matraz en la estufa durante tres horas a una temperatura de 103°C, y luego se enfría en un campana desecadora hasta temperatura ambiente, y luego pesar todo el matraz seco con la grasa. Es necesario comprobar que todo el éter ha sido eliminado secando y pesando posteriormente.
- h. Para efectuar los cálculos del contenido de grasa, se realiza a partir del peso inicial de la muestra contenida en el matraz con el peso de grasa final que queda en la misma, expresar porcentualmente.

Prueba de homogeneización

- a. Se toma una probeta de 250 mL., se vierte leche hasta una altura de 23 cm; luego se lleva a refrigeración a una temperatura de 4 °C por 48 horas.
- b. Después se determina la grasa según el método de Gerber , tomando 50 mL de leche de la parte de arriba y 50 mL de leche de la parte de abajo. La diferencia debe ser máximo de 10%.
- c. Cálculos: Ejemplo:

Grasa de leche de la parte de arriba = 3,10%

Grasa de leche de la parte de abajo = 2,80

Diferencia 0,30 = a 10% de 3%

Advertencia; Para conservar la leche se utiliza bicromato de potasio o formalina.

Determinación del grado de Homogeneización de la leche

- En una probeta se coloca 250 mL de leche y se van a dejar a 4°C durante 48 horas.
- Después se determina el % de grasa de los 25 mL de leche de la parte de arriba y el % de grasa de la leche restante.
- Cálculos: El grado de homogeneización se calcula según el modelo siguiente:

$$\frac{(A - B) \times 100}{A} = \text{grado de homogeneización}$$

Donde: A = % de grasa de 25 mL

B = % de grasa de la leche restante.

Un grado de homogeneización de 0° es igual, cuando el % de grasa de la leche de arriba es igual que el % de grasa de la leche restante.

Test para Determinar el % Aguado de Suero de Mantequilla

Para un Control del suero de mantequilla, cuando no es fresco y cuando la densidad ha cambiado; la única determinación del % aguado es por la determinación de ceniza en el suero de mantequilla.

- Preparar una solución alcalina para licuar el suero de mantequilla y esa solución es 1 parte de soda al 10% y 1,8 partes de amoniaco al 5%.
- Esta mezcla básica se tiene que ajustar con lactodensímetro a 31,0°ld.
- Los cálculos se realizan utilizando el modelo siguiente:

$$\frac{30,5 \text{ °ld} - \text{°ld de la mezcla}}{30,5 \text{ °ld}} \times 100 = \% \text{ aguado}$$

Ejemplo:

LUIS ARTICA M.

Si la densidad de la Mezcla fuera: 27,6

$$\frac{30,5 \text{ °ld} - 27,6 \text{ °ld}}{30,5 \text{ °ld}} \times 100 = 9,5 \text{ \% aguado}$$

Determinación de Grasa en la leche Condensada sin azúcar

- Se calienta la leche condensada a 50°C, se enfría luego y se mezcla con agua 1:1 (bien mezclado) de esa solución se analiza la grasa según el método de Gerber en los butirómetros para leche.
- Se centrifuga 2 veces y se mide el % de grasa. El % de grasa multiplicado por 2 es el % de grasa de la leche condensada.

Determinación de Grasa en la leche azucarada.

- 100 g de muestra se calienta y se mezcla bien y se vierte a una fiola de 500 mL y con agua destilada de 60 a 65°C se limpia el vaso y todo se echa a la fiola luego se enfría hasta 20°C y se llena hasta el aforo.
- Una vez mezclado, se determina la grasa según Gerber en los butirómetro para leche. Se centrifuga 2 veces y se mide el % de grasa. El % de grasa del butirómetro multiplicado por 5,1 es el % de grasa de la leche azucarada.

Determinación del Agua en Mantequilla.

- Se tara el vasito de aluminio de 6 cm de altura y de 6,5 cm de diámetro en donde se pesa 10 g de mantequilla (muestra representativa).
- Dicho vasito se calienta en un mechero eléctrico por un tiempo mas o menos de 3 minutos, moviendo lentamente sujetado por la pinza.
- Cuando el agua se ha evaporado, inmediatamente se saca del mechero, por que si no se sobrecalienta provocando una descomposición de la grasa, que se nota por la coloración oscura.
- Cuando se nota un débil oscurecimiento, presentándose como

flóculos pequeños de las partículas no grasa, el momento de terminar el calentamiento y se procede al enfriamiento en una desecadora por 20 minutos. En la misma balanza que se ha pesado la muestra, se pesa nuevamente y se determina el % de agua por diferencia de peso. Cuando se hace la determinación por duplicado, la diferencia no debe ser mayor de 0,20%.

Determinación de la Actividad del Cuajo.

La actividad de agua se determina en cuajo en polvo y en extracto de cuajo. Del ultimo se toma 5 mL, se llena a una fiola y se afora a 200 mL con agua destilada . Del cuajo en polvo se pesa 1 g y se lleva a 500 mL.

Para la determinación se calienta 100 mL de leche a 35°C y se pone a un baño maría a 38°C luego se agrega 2 mL. De la dilución del cuajo en este momento se toma el tiempo con un cronómetro y se mide la duración exacta de la coagulación para 100 mL de leche.

Para determinar la actividad del cuajo se tiene que usar siempre leche cruda con 7,0 SH° exacto. La determinación de la Actividad es: Las partes de leche que son coaguladas por una parte de cuajo a 35°C en 40 minutos.

Los cálculos se realizan según el modelo siguiente:

Número de la dilución x 2 400

Segundos

Ejemplo: 1 g de cuajo en polvo diluida a 500 mL.

= 500 x diluida, de este se ha usado 2 mL a 100mL de leche

= 50 x diluida.

Dilución total = 50 x 500 = 25 000

10 minutos hasta la coagulación = 600 segundos

Por tanto:

$$\frac{25\,000 \times 2\,400}{600} = 100\,000$$

La actividad de este cuajo en polvo es de 100 000

Determinación de la Adulteración de la leche

La adulteración fraudulenta más común en la producción e industria lechera, es la adición de agua con el objeto de aumentar su volumen. Esta adulteración debe recibir especial atención por parte de las autoridades sanitarias como de las industrias procesadoras en virtud de las repercusiones de índole legal y económica que representa.

Los métodos que se aplican para identificar la detección de agua adicionada a la leche, se basan en la medición de la propiedades físicas que varían proporcionalmente a la cantidad de agua adicionada a la leche, tal como ocurre con el punto de congelación, el índice de refracción, el peso específico y la conductividad eléctrica, de donde derivan respectivamente los métodos crioscópico, refractométrico, lactométrico y conductimétrico.

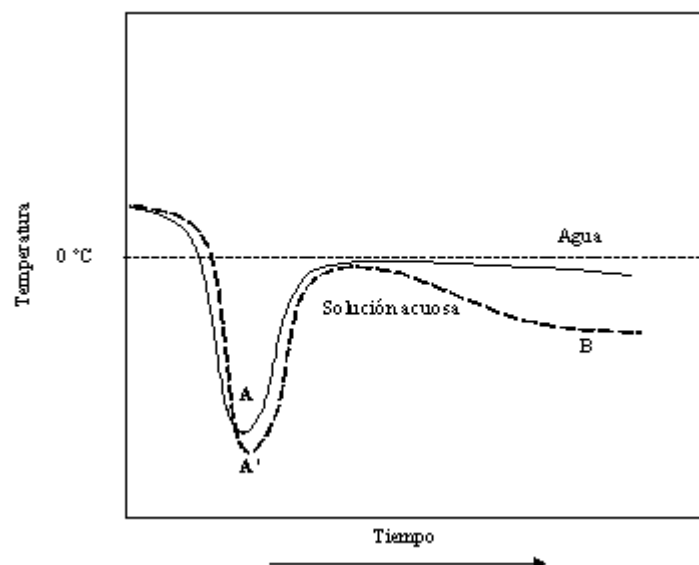
Paralelamente al aguado, es frecuente la adición de cloruros y/o azúcar para enmascarar esa adulteración, y evitar ser detectada por las técnicas comunes de análisis, por lo que es necesario disponer de métodos apropiados para determinar la cantidad de cloruros presentes en la leche y la presencia de azúcar.

a. Método Crioscópico

El método crioscópico es el método más rápido y exacto que se conoce para la detección de agua adicionada en la leche. Para entender a cabalidad su fundamento, es necesario tener presente ciertos conceptos sobre la congelación de soluciones y sobre la congelación de la leche.

La **Figura 1** representa las curvas de congelación correspondiente al agua y a una solución acuosa del tipo que corresponde a la leche. El punto de congelación del agua a presión normal a nivel del mar (760 mmHg) es de 0,000 °C. Al disolver en ella una sustancia (soluta), se obtiene una solución cuyo punto de congelación es inferior al del solvente puro. La diferencia entre los puntos de congelación de la solución y la del solvente puro, se denomina descenso crioscópico y es directamente proporcional a la concentración del soluto en solución.

Si el solvente puro, en este caso el agua se somete a congelación generalmente sucede el fenómeno de “sobre-fusión” (punto A), el cual consiste en que él líquido alcanza su temperatura real de congelación sin cambiar de estado, es decir, continua bajando su temperatura, pudiendo llegar hasta -40 °C , luego llega un momento en que la temperatura asciende rápidamente y se fija en un determinado valor donde permanece constante, hasta que todo el líquido ha pasado al estado sólido. Este valor corresponde al punto de congelación



Cuando se trata de una solución, la congelación sucede en forma similar al agua, es decir se observa el fenómeno de “sobre-fusión” (punto A'),

pero el punto de congelación es inferior y además no se mantiene constante, como en el caso del solvente puro; ya que cuando se van separando cristales de hielo, la concentración del soluto va aumentando y por ello el punto de congelación va disminuyendo paulatinamente.

Esa depresión se mantiene hasta que el solvente se satura, a partir de ese momento se empieza a separar también el soluto y como la concentración de la solución se mantiene constante (a saturación), el punto de congelación se mantiene también constante. Esa temperatura a la cual se obtiene el punto de congelación más bajo de la solución, es lo que se conoce como punto de eutexia (punto B). Después que todo el líquido ha congelado la temperatura sigue disminuyendo por separación de calor sensible del hielo.

El fenómeno de sobre-fusión sucede porque se requiere cierta cantidad de energía para iniciar el cambio de estado. Al caer la temperatura por debajo del punto de congelación real del líquido, se libera una pequeña cantidad de calor que inicia el proceso de cristalización. El agua al cristalizar libera energía, en la proporción de 80 calorías/gramo (calor latente).

b.Crioscopia de la leche. Adulteración de la leche

La leche cruda por su composición química en donde contiene biopolímeros, electrolitos, no electrolitos en una solución, tiene un punto de congelación inferior al del agua. Su valor promedio es de $-0,545$ °C y se considera una constante fisiológica que solamente varía dentro de límites muy reducidos ($-0,535$ a $-0,550$ °C), porque depende de la presión osmótica de la secreción láctea, la cual en condiciones normales se mantiene constante, por depender a su vez de la presión osmótica de la sangre. La norma establece que la leche cruda y pasteurizada debe presentar un punto crioscópico entre $-0,540$ a $-0,555$ °C.

El descenso crioscópico normal observado en la leche se debe principalmente a la lactosa y sales minerales que se encuentra en solución.

La grasa y las proteínas no influyen significativamente sobre esta propiedad. En cambio la acidificación debida a la fermentación de la lactosa, si aumenta el descenso crioscópico por la formación de un mayor número de moléculas de soluto originadas en el proceso fermentativo. Por esta razón el método crioscópico solo puede ser aplicado a leches frescas, con una acidez no mayor de 20 mL de NaOH 0,1 N/100 mL de leche (0,18% a.l.), o no más de 5.000.000 de bacterias/mL. Por encima de ese valor es necesario introducir un factor de corrección (0,006 °C por unidad).

Cuando se le agrega agua a la leche, se diluyen sus solutos y el punto de congelación aumenta, acercándose al del agua. El aumento en el punto de congelación es proporcional a la cantidad de agua adicionada. Esta puede calcularse conociendo el punto de congelación de la muestra, con ayuda de tablas de proporcionalidad o aplicando formulas especiales. La A.O.A.C. (1999) emplea una formula que contempla una posible variación de hasta 3 %de agua, equivalente a un punto de congelación de -0,530 °C, la cual se indica a continuación

$$\% (\text{H}_2\text{O}) = \frac{(0,530) \times (100 - \text{ST})}{0,530}$$

Donde: % (H₂O) = porcentaje de agua adicionada.

T = punto de congelación de la muestra.

S.T. = porcentaje de sólidos totales.

A nivel de laboratorio se emplea el modelo matemático siguiente, en donde se relaciona el punto crioscópico de la muestra con el de un patrón estándar, normalmente fijado en -0,545 °C.

$$\% (\text{H}_2\text{O}) = \left[1 - \left(\frac{\Delta \text{TM}}{\Delta \text{TP}} \right) \right] \times 100$$

Donde:

% (H₂O) = porcentaje de agua adicionada.

ΔTM = descenso o punto de congelación de la muestra.

ΔTP = descenso o punto de congelación del patrón (-0,545 °C)

La determinación del punto de congelación puede hacerse con crioscopios de diferentes tipos. Anteriormente se utilizaba el de Horvet-Beckman que utilizan éter y una mezcla de hielo y sal respectivamente. Más moderno son los instrumentos de “termistor” como son los de las casas Advanced y Fiske, que poseen sistemas compactos de refrigeración para obtener bajas temperaturas.

Los crioscópios son instrumentos que permiten determinar el punto de congelación de la muestra con suma rapidez y exactitud, están constituidos por varios componentes de los cuales los más importantes son:

- Termómetro de resistencia o termistor: permite medir la temperatura de la muestra y transmitir la información a una escala ó en forma numérica directamente en una pantalla. Algunos crioscopio más avanzado determinan directamente el porcentaje de agua adicionado a la muestra.
- Cabezal operacional: representado por un dispositivo móvil sujeto a un soporte vertical, del cual deriva el elemento medidor del termómetro de resistencia y una o dos varillas metálicas, cuyos extremos vibran suavemente, mezclando totalmente la muestra, vibración que aumenta bruscamente con la medición para romper la sobre-fusión de la muestra. Estos elementos del cabezal se introducen en el tubo de la muestra el cual se mantiene en el baño refrigerante.
- Baño refrigerante con termostato: que proporciona el efecto refrigerante mediante un líquido de bajo punto de congelación, enfriado por un sistema de refrigeración que forma parte del crioscopio.

- Galvanómetro: sistema que permite hacer las mediciones del termómetro de resistencia directamente en porcentaje de agua adicionada o en temperatura de congelación.

Procedimiento:

1. Asegúrese de que el crioscopio este calibrado, utilizando para ello el patrón estándar incluido con el equipo.
2. Tome un tubo de muestra del crioscopio y llénelo hasta la marca de 2 o 2,5 mL
3. Colóquelo dentro del crioscopio y presione el botón “star” (inicio). El crioscopio trabajara automáticamente y al final dará la lectura en miligrados Horvet ($^{\circ}$ mH)

Método Refractométrico: Adulteración de la leche

Principio

Se basa en la medición del índice de refracción o grado refractométrico de la leche, previa separación de las proteínas y grasa láctea. Esta separación puede lograrse por precipitación con reactivos tales como sulfato cúprico, ácido acético y cloruro de calcio.

Las proteínas al precipitar arrastran consigo los glóbulos de grasa, dejando un suero que puede separarse por filtración, el cual contiene la lactosa y los minerales cuyos porcentajes son más constantes ocasionando que algunas propiedades físicas y químicas permanezcan mas o menos invariables como son: el índice de refracción, el peso específico y el porcentaje de sólidos totales. La disminución de esos porcentajes es un indicio de posible adulteración por adición de agua.

El índice refractométrico de una muestra de leche normal varía entre 36,1 y 39,5, valor que es inversamente proporcional al porcentaje de agua

adicionada y no debe ser menor de 36, de lo contrario la leche posiblemente a sido adicionada con agua. Este método permite detectar la adulteración cuando el porcentaje de agua es mayor del 10% o 15%.

Método Lactodensimétrico: Adulteración de la leche

Principio

Se basa en que la densidad relativa de la leche (1,028 a 1,033 p/v o 28 a 33 °Q), disminuye proporcionalmente con el porcentaje de agua adicionada. Este método tiene el inconveniente de que solo revela la adulteración, cuando el porcentaje de agua adicionado es muy alto (mayor de 15%). Además hay que tomar en cuenta los factores fisiológicos que hacen disminuir la densidad (hasta 1,026 p/v), sin que se adicione agua.

Por consiguiente aparte de su valor como prueba de plataforma, este método no puede considerarse concluyente en un laboratorio lacto lógico. Sin embargo, aunque no es el método más adecuado, puede constituir un recurso valorable, en caso de que no se disponga de los aparatos especiales requeridos en los métodos anteriores.

En la practica se recomienda determinar la densidad de la leche y calcular el porcentaje de sólidos no grasos, cuyo valor varia en menor grado que los sólidos totales; y oscila entre 7,7 % y 10 %, pudiéndose considerar como límites máximos 7,5% y 11%.

Determinación de Adulteración con Cloruros

La concentración normal de cloruros en la leche cruda es de 0.07 a 0.13 %. Esta concentración aumenta en las leches con mastitis. Con frecuencia se encuentra aumentado en leches que han sido adulteradas por adición de agua, con el propósito de enmascarar esa adulteración cuando se usa el método crioscópico.

Como se ha indicado anteriormente el punto crioscópico de la leche aumenta con la adición de agua, pero ese aumento es contrarrestado por adición de solutos como sal o azúcar; en las mismas proporciones en que se presentan en el suero fisiológico (9% NaCl), de modo que se mantenga la presión osmótica igual a la de la sangre; de esa manera el punto de congelación no varía.

Por lo que es siempre recomendable que paralelamente a las determinaciones crioscópicas, se proceda a medir el porcentaje de cloruros y/o azúcar para poder detectar esa posible adulteración. La determinación de cloruros en la leche puede hacerse por argentimetría como la técnica de Mohr y Charpentier-Volhard, por conductimetría como en la técnica coulométrica y la técnica mercurimétrica. Siendo estos dos últimos los que presentan mayor exactitud en los resultados (Faria y Boscan 1981).

Método Mercurimétrico

El método mercurimétrico, recomendado para la determinación de cloruros en agua; fue modificado por Faria y Boscan (1977 y 1981) para la determinación en leche, en virtud de su relativa sencillez, economía y exactitud, con respecto a otros métodos. Puede ser utilizado para la determinación en leche y derivados lácteos como queso crema y mantequilla.

Su principio es la titulación de una muestra de leche tratada con ácido nítrico, con nitrato mercurio 0,1 N ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$), en presencia de difenilcarbazona como indicador. El ión mercurio se une con el ión cloro (HgCl), hasta agotarse, luego el exceso de Hg reacciona con el indicador dando el viraje a un color violeta que indica el final de la titulación.

Materiales y Aparatos:

- Buretas
- Erlenmeyers de 100 mL

- Pipetas.

Reactivos:

- Nitrato mercúrico 0,1 N ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$)
- Ácido nítrico al 25% (HNO_3)
- Difenilcarbazona (DFC)

Procedimiento para leche y crema:

1. En un erlenmeyer colocar 10 ml de la muestra homogeneizada. Diluir con 40 ml de agua destilada.
2. Agregar 2 ml del indicador DFC y 5 ml de ácido nítrico al 25 %. Mezclar suavemente.
3. Titular con $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 0,1 N hasta la aparición de un color violeta.
4. Calcular el porcentaje de cloruros por medio de la siguiente

formula:

$$\% \text{ Cl} = \frac{\text{V} \times \text{N} \times \text{Pe} \times \text{F}}{10 \times \text{a}}$$

Donde: V = volumen gastado de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$

N = normalidad

Pe = peso equivalente del Ion cloruro (35,5)

a = cantidad de muestra utilizada

F = factor de corrección.

Determinación de Adulteración con Azúcar (Sacarosa).

Reacción de Seliwanoff

El azúcar más importante de la leche es lactosa, la presencia de sacarosa en la muestra analizada será proveniente de adulteración, que al igual que los cloruros, se añade con el fin de enmascarar la adulteración por agua.

La sacarosa es un disacárido compuesto por una molécula de fructosa más una de glucosa. En la leche pueden encontrarse moléculas de glucosa provenientes de la hidrólisis de la lactosa, pero debe estar exenta de fructosa; por lo tanto los métodos utilizados para detectar sacarosa se fundamentan en la determinación de fructosa con la utilización de ciertos reactivos.

El principio se basa en la **Reacción de Seliwanoff**, que consiste se fundamenta en la reacción de la resorcina en medio ácido fuerte, con la molécula de fructosa proveniente de la hidrólisis de la sacarosa, desarrollándose un color rojo característico que demuestra la positividad de la prueba.

Materiales y Aparatos:

- Tubos de ensayos.
- Pipetas de varias medidas
- Baño de María.

Reactivos:

- Resorcina ácida.

Procedimiento:

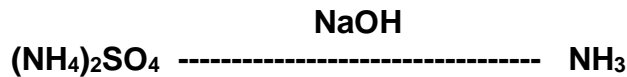
1. En un tubo de ensayo colocar 1 mL de la muestra a analizar y 5 mL del reactivo de resorcina ácida.
2. Llevar a baño de María por cinco minutos. Una coloración roja o rosada es indicativo de la presencia de sacarosa.

Determinación de Nitrógeno total en Quesos. Método de Kjeldahl-Ulsch

El método se basa en la transformación del nitrógeno orgánico en sulfato amónico por tratamiento en caliente con ácido fosfosulfúrico.



y destilación del amoníaco en medio alcalino.



El amoníaco se recoge en un volumen conocido de ácido sulfúrico valorado.

Aparatos:

1. Acido fosfosulfúrico preparado disolviendo 125 g de anhídrido fosfórico en 1 litro de ácido sulfúrico concentrado (d=1,84).
2. CuO
3. Disolución de NaOH al 30%
4. H₂SO₄ al 1N.
5. NaOH al 1N.
6. Disolución de Naranja de metilo al 0,1%.

Procedimiento

- a. En un matraz de Kjeldahl se pesa exactamente una cantidad de queso de alrededor de 2 gramos y se adiciona 20-25 gramos de ácido fosfosulfúrico y 0,2 a 0,3 gramos de óxido de cobre (Cuando se trata de leche en un vaso se pesan 10 g de leche, se le adicionan 78 mL de agua y 12 g de ácido tricloroacético. Se agita y se deja en reposo durante tres a cuatro minutos. Se filtra y lava con disolución de ácido tricloroacético al 12%. Finalmente se determina el nitrógeno).
- b. Luego se cubre el matraz con un embudo y, después de colocarlo en posición inclinada, se calienta primero suavemente y después a ebullición, hasta que el líquido quede límpido. Este tratamiento dura por lo general

algunas horas.

- c. Se deja enfriar, se añade agua destilada con precaución y se adapta el matraz al aparato de destilación. En un matraz erlenmeyer se vierte 25 mL de H₂SO₄ 1N, añadiendo algunas gotas de disolución de naranja de metilo, y se deja llegar la extremidad de la alargadera que esta en el erlenmeyer a la disolución de ácido sulfúrico. Se vierte a continuación en el matraz de kjeldahl, mediante el embudo, una cantidad de disolución de NaOH al 30%, suficiente para que el líquido quede netamente alcalino, procediéndose después a la destilación durante aproximadamente una hora.
- d. Para asegurarse que todo el amoníaco ha destilado, se efectúa una prueba con papel de tornasol a una gota de destilado.
- e. Luego por último, se valora con NaOH 1N el exceso de ácido sulfúrico que no ha sido neutralizado por el amoníaco.
- f. Los cálculos se realizan de forma siguiente:

El equivalente del nitrógeno es igual a 14, como resulta de la reacción:



Por lo que:

$$\% \text{ de Nitrógeno} = \frac{14 \cdot (a - b) \cdot 100}{1\,000 \cdot p} = \frac{1,4(a - b)}{p}$$

Donde: a= Mililitros de H₂SO₄ 1N presentes en el matraz erlenmeyer
 b= Mililitros de NaOH 1N empleados en la valoración.
 p= Peso de queso.

Admitiendo que las distintas sustancias nitrogenadas del queso contengan como media el 15,7 por 100 de nitrógeno, tendremos:

$$\% \text{ de Sustancias Nitrogenadas} = \% \text{ N.} \frac{100}{15,7} = \% \text{ N} \times 6,37$$

Nota: El anhídrido fosfórico y el óxido de cobre aceleran el proceso de mineralización de la sustancia orgánica; el primero, aumentando la temperatura de ebullición del ácido sulfúrico; el segundo, catalizando la reacción de oxidación.

Determinación De La Conductividad Eléctrica De La Leche

Objetivos

- Demostrar que existe una correlación directamente proporcional entre la conductividad (k) y la concentración de sólidos totales en la leche.
- Demostrar dependencia de la conductividad eléctrica con la temperatura.

Fundamento

Las propiedades eléctricas (conductividad y propiedades dieléctricas de alimentos) son, quizá las menos estudiadas de todas las propiedades físicas de alimentos. Sin embargo, el conocimiento de las propiedades eléctricas es muy útil en la industria de alimentos por sus aplicaciones: la medida de propiedades eléctricas se utiliza muchas veces como medida indirecta de algunos parámetros de alimentos, por ejemplo, la humedad. Otras veces se hace uso de una propiedad eléctrica para alterar las propiedades de un producto (pasteurización eléctrica) (Lewis, 1993).

Probablemente los tres casos en que se ha hecho uso de las propiedades eléctricas con mayor frecuencia son:

1. - determinación del contenido de humedad
2. - evaluación de la calidad de un producto
3. - calentamiento dieléctrico

La medida de la conductividad eléctrica se ha propuesto como un método de control de calidad en leche para detección de sales, aguado y leche mastítica, así como un medio de automatizar el control de la composición de productos lácteos durante el procesado. El efecto de la temperatura es importante en la determinación de la conductividad eléctrica. Fernández (1984) definió que en el rango de 10°C a 70°C existe una relación no lineal directa entre la conductividad y la temperatura y es representada por:

$$k = a + bt + ct^2. \quad (1)$$

Se ha demostrado también que a medida que la composición de la leche aumenta en proteínas y grasa disminuye el valor de k. Igualmente Fernández (1984) estudió el efecto de la composición de la leche con la variación de la conductividad a temperaturas dadas obteniéndose la siguiente ecuación:

$$K = \{ (B_0 + B_1 r) + (C_0 + C_1 r) s + [(B_2 + C_2 s) + (B_3 + C_3 s) r + (B_4 + C_4 s) r^2] t \} s \quad (2)$$

Donde:

$$K = \text{sm}^{-1}$$

$$T = \text{°C}$$

$$S = \% \text{ en sólidos totales}$$

$$R = \% \text{grasa/sólidos no grasos}$$

Parámetros:

No.	Coefficiente Bi	Coefficiente Ci
0	0,0399	-0,000828
1	-0,0443	0,001135
2	0,00179	-0,0000239
3	-0,000837	-0,0000325
4	-0,004268	0,000213

Materiales y equipos

- ✓ Leche en diferentes concentraciones (1.5%, 3% y 4.5%)
- ✓ Agua destilada
- ✓ Vasos de precipitación de 50 ml
- ✓ Termómetro
- ✓ Multitester (resistencia en OHM)
- ✓ Cocinilla

Metodología

- ❖ Preparar la leche ha diferentes concentraciones de sólidos adicionando agua (1,5, 3,0 y 4,5%).
- ❖ Vaciar 100 mL de cada solución de leche en los vasos y colocarlos a diferentes temperaturas (ambiente, 40, 60 y 80°C). Medir la temperatura para observar si ha llegado a la temperatura deseada
- ❖ Inmediatamente colocar cada las puntas del Multitester en la leche y leer la resistencia en OHM
- ❖ Llenar la Tabla 17

Tabla 17. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA DE LA LECHE A DIFERENTES CONCENTRACIONES Y TEMPERATURAS

	Temperaturas			
	°C Ambiente	40 °C	60°C	80°C
1,5%				
3,0%				
4,5%				

Cálculos:

- Se calcula el valor de la conductividad eléctrica (k) mediante la expresión:

$$k = 1/R_m \text{ (siemens)} \quad (3)$$

donde:

R_m = medida de la resistencia en Ohms

(1 siemen = 1mho = 1 ohm⁻¹)

- Represente gráficamente los valores k experimentales frente a la temperatura para cada concentración de leche.
- Con los valores obtenidos de s y r de la concentración 1 y las temperaturas, calcúlese k teórico mediante las fórmulas (1) y (2)
- Represente gráficamente los k teóricos y experimentales versus la temperatura para la concentración 1 y comente las diferencias.

Capítulo VIII

Preparación de soluciones

En el laboratorio de control de calidad a nivel de planta es necesario contar con soluciones normales, molares, molales, porcentuales, partes por millón y partes por billón adecuadamente valoradas con el objeto de que una determinada evaluación química o física cuantitativo sea lo más preciso y se aproxime a los valores reales establecidos.

Considerando que la leche es una materia prima altamente perecible, los factores controlables como son la acidez total, % de grasa, % ST., SNG, Lactosa, etc., debe ser estrictamente determinados a nivel de laboratorio por lo que es muy importante contar con soluciones cuidadosamente valoradas o factoradas, para que de esta forma la calidad final del producto lácteo presente "cero defectos" y la calidad en el mercado permanezca constante.

En mérito a lo indicado, presentamos el procedimiento de la preparación de algunas soluciones principales que se emplean en el análisis de leche y derivados, y a la vez el proceso de valoración de las mismas:

8.1. Solución de NaOH para la Determinación de la acidez en Soxhlet (°SH) de leche y derivados.

Considerando que:

1 N -----> 1 equivalente -----> 1 Litro de solución

1 N -----> 40 g -----> 1 Litro de solución

1/4N -----> X -----> 1 Litro de solución

$$X = 10 \text{ gramos de NaOH} / 1 \text{ Litro .}$$

Por lo tanto para preparar un litro de solución 1/4N de NaOH, es necesario pesar 10 gramos de Hidróxido de sodio; el pesado debe efectuarse cuidadosamente, evitando de que el tiempo de pesado sea lo más

rápidamente ya que la soda es altamente higroscópica; se recomienda pesar en un beaker de 10 mL. para que inmediatamente se le agregue agua en la misma y luego introducir a la fiola para su aforo.

8.2. Solución de NaOH al 0,1N.

De la misma forma se plantea la ecuación y se efectúa el calculo:

$$\begin{array}{l} 1N \text{ -----} > 40 \text{ g -----} > 1 \text{ litro de solución} \\ 0.1N \text{ -----} > X \text{ -----} > 1 \text{ litro de solución} \\ X = 4,0 \text{ gramos} / 1 \text{ Litro.} \end{array}$$

8.3. Solución de NaOH al 1/9 Normal para Acidez Dornic.

$$\begin{array}{l} 1N \text{ -----} > 40 \text{ g -----} > 1 \text{ Litro de solución} \\ 1/9N \text{ -----} > X \text{ -----} > 1 \text{ Litro de solución} \\ X = 4,444 \text{ gramos/1Litro} \end{array}$$

8.4. Solución de NaOH 1/7N Para Determinar el Índice Proteico

$$\begin{array}{l} 1N \text{ -----} > 40 \text{ g -----} > 1 \text{ Litro de solución} \\ 1/7N \text{ -----} > X \text{ -----} > 1 \text{ Litro de solución} \\ X = 5,714 \text{ gramos/ 1 Litro.} \end{array}$$

Una vez preparada la solución de soda para cada normalidad se realiza la normalización de las mismas; por ejemplo vamos factorar la solución de NaOH 1/4N; para tal efecto utilizaremos Una solución patrón de HCl al 0,1N: Primeramente calculamos el gasto teórico, mediante la ecuación estequiométrica:



Esta reacción estequiométrica de neutralización se produce según:

1 Mol NaOH(0.1N) debe ser neutralizado con 1 mol HCl al 0.1N; por lo tanto según la ecuación:

$$V_1 N_1 = V_2 N_2$$

Para valorar se toma arbitrariamente 10 mL de NaOH al 1/4N, y será valorado con V₂ de HCl al 0.1N : $10 \text{ mL} \times 1/4\text{N} = V_2 \times 0.1\text{N}$
 $V_2 = 25 \text{ mL. (Gasto teórico).}$

Por lo que decimos que para neutralizar 10 mL de NaOH al 1/4N se debe utilizar 25 mL de HCl al 0.1N.

Ahora en la titulación propiamente dicho determinamos el gasto práctico: Como ejemplo hemos obtenido un gasto de 25,6 mL.. Concluida la titulación recurrimos a la expresión del Factor de Valoración:

$$F = \frac{\text{GASTO PRÁCTICO}}{\text{GASTO TEÓRICO}}$$

$$F = 25,6 / 25,0 = 1,024$$

Por lo tanto podemos indicar que considerando el factor 1,024; implica que es necesario agregar 24 mL. de agua destilada por cada 1000 mL. de disolución de NaOH 1/4N, luego nuevamente se valora hasta que el gasto práctico sea igual a 25 mL. Generalmente la valoración se debe realizar con 3 repeticiones.

8. 5. Solución De Electrodo del pH-metro; 3M de Cloruro de potasio

Conociendo la masa molecular del KCl que es igual a 74,555 g/mol, por lo que se tiene la siguiente relación:

$$\begin{array}{l} 1 \text{ M} \text{ -----} > 1 \text{ PM} \text{ -----} > 1 \text{ Litro de solución} \\ 3 \text{ M} \text{ -----} > x \text{ -----} > 1 \text{ Litro de solución} \\ x = 223,665 \text{ gramos/1 litro.} \end{array}$$

8.6. Solución de Fenolftaleína en alcohol al 1% para grados Dornic:

1 Sol. Porcentual = Es el número de % en gramos /100 mL.
 Pesar 1 gramo de fenolftaleína, el cual se diluye a 100 mL en alcohol etílico al 96°.

8.7. Solución de Fenolftaleína en alcohol al 2% para Soxhlet-Henkel (°SH).

Pesar 2 gramos de fenolftaleína, luego llevar a una fiola de 100 mL. con alcohol etílico de 96° ó 95°.

8.8. Solución de Oxalato de Potasio al 28% para determinar el Índice Proteico.

Considerando que ésta es una sal, se pesa 140 gramos de oxalato de potasio, luego aforar en una fiola a 500 mL. con agua destilada.

8.9. Solución Standard de KCl al 10% para sumergirlos y conservar electrodos del pH-Metro.

Pesar 50 gramos de KCL , y luego llevar a una fiola, aforar con agua destilada a 500 mL.

8.10. Solución de Sulfato de Cobalto Para Solución Patrón de Titulación

Esta solución patrón de color rosado pálido Standard se prepara pesando 12,5 gramos de $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, el cual se afora en una fiola a 250 mL. con agua destilada.

8.11. Solución Fisiológica.

Esta solución consiste en preparar una disolución de NaCl QP. al 0,85%, lo que implica que se debe pesar 8,5 gramos de NaCl, el cual se lleva a una fiola y se afora con agua destilada a 1000 mL.

8.12. Solución de Anaranjado de Metilo.

Esta solución al 1%, para la cual se pesa 0,1 gramos, luego se lleva a una fiola y se afora a 100 mL. con agua destilada.

8.13. Solución de H_2SO_4 Para la Determinación de Grasa según Gerber.

Este tipo de soluciones son las denominadas, soluciones diluidas, para la cual es necesario conocer ciertas características de pureza de la sustancia, como es el porcentaje de pureza, densidad y utilizando el principio del cuadrado de

Pearson se calcula las cantidades a utilizar. Por ejemplo el ácido sulfúrico químicamente puro, presenta una densidad de 1,84 lo que corresponde a un QP de pureza de 97%; ahora para la determinación de grasa según Gerber en leche, se necesita ácido sulfúrico con una densidad de 1,82 lo que corresponde a una pureza de 91%; bajo estas condiciones pasamos a preparar la solución.

Solución Inicial QP.
H₂ SO₄ al 97%
(P)

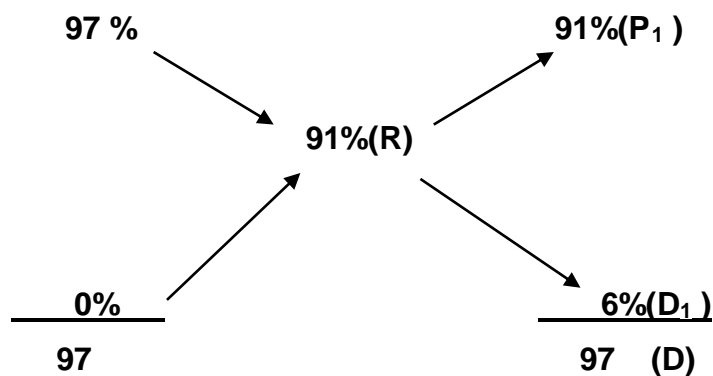
Partes De la solución
de H₂ SO₄ al 97%
que se usará (P₁).

Solución Requerida
A un % de Pureza
Determinado.(R)

Solución diluyente
% de Pureza
H₂O al 0%
(D)

Partes de la so-
lución diluyente
que se usará
(D₁)

Por lo tanto según el cuadrado de Pearson se tiene que la cantidad de ácido sulfúrico que se desea preparar para determinar grasa es al 91% y se requiere de 2 litros:



Por lo tanto la Cantidad de Ácido sulfúrico al 97% que se utilizará será:

Para preparar 97 mL. se requiere 91 mL de Ácido sulfúrico al 97%

Ahora para 2000 mL. se requiere X mL. de Ácido sulfúrico al 97%:

$$X = \frac{91 \times 2000}{97} = 1876 \text{ mL. de Ácido sulfúrico al 97\% que se requiere.}$$

Luego para calcular la cantidad de agua se determina por diferencia:

$$\text{mL H}_2\text{O} = 2000 - 1876 = 124 \text{ mL de agua destilada para obtener una solución final.}$$

8.14. Solución de Ácido Sulfúrico para Determinar Grasa Según Van Gulik.

Se procede de con la misma metodología, y se diluye al ácido sulfúrico hasta una concentración de 62% con un densidad de 1.52; Haciendo los cálculos se tiene:

Medir 681 mL de ácido sulfúrico al 91% , Densidad 1,82.

Medir 319 mL de agua destilada y mezclar, para obtener 1000 mL de ácido sulfúrico al 62% y una densidad de 1,52.

¡ADVERTENCIA!

La forma de mezclar el ácido sulfúrico con el agua es de la siguiente manera: Nunca se debe verter el agua hacia el ácido por que la reacción es muy violenta (exotérmica); siempre primero se añade el agua al recipiente de mezcla y luego se añade el ácido muy lentamente y con mucha precaución (puede realizarse en baño maría de agua fría). El recipiente de mezcla más recomendable puede usarse de un material de PVC resistente.

También la finalidad de ésta forma de mezclar el ácido hacia el agua, se debe a que la concentración del ácido sulfúrico debe aumentar gradualmente a partir de cero, y no bajar bruscamente desde el 97%. Por otro lado se conoce que la liberación de calor al mezclar agua y ácido puede provocar la expulsión de la mezcla fuera del recipiente y quemar al operador o a las personas de su alrededor.

8.15. Preparar Una solución De alcohol etílico al 68%

El alcohol químicamente puro presenta una pureza de 95% en volumen de alcohol etílico con una densidad relativa de 0,81; bajo estas condiciones si se quiere preparar 1000 mL. de solución al 68%, haciendo los cálculos según el cuadrado de Pearson se tiene:

Medir 716 mL. de alcohol etílico al 95%

Medir 284 mL. de agua destilada y mezclar en una fiola.

8.16.Solución Básica Roja

Para preparar esta solución se parte de una solución de NaOH al 0,25 N y fenolftaleína al 1% y se afora a 500 mL. Medir 36 mL de NaOH al 0,25N y luego se agrega 20 mL. de fenolftaleína al 1% y se afora a 500 mL. con agua destilada.

8.17. Solución de Azul de Metileno para la Prueba de Reductasa

Esta solución se prepara pesando 1 gramo de azul de metileno o en todo caso una pastilla de la misma, el cual se diluye con 200 mL. de agua destilada y hervida. El tiempo de preparado no debe exceder los seis días al momento de ser usado.

8.18.Solución de azul de Metileno para Coloración de preparaciones Microscópicas.

Es necesario, para preparar esta solución para uso en microscopía la mezcla debe contener: 0,3 gramos de azul de metileno, 30 mL de alcohol etílico de 95% y luego aforar en una fiola con agua destilada a 100 mL. Su preparación debe ser reciente.

8.19. Preparación De Catalizador Para Determinar proteína Según Método Kjeldahl.

Los catalizadores más activos y utilizados para la digestión ácida de proteínas son la mezcla de sulfatos con selenio activo, una de las formas de preparar dicha mezcla catalítica es de la siguiente manera:

Pesar 18,77 gramos de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

 pesar 90,00 gramos de K_2SO_4

 Pesar 0,40 gramos de Selenio Finamente pulverizados.

Una vez pesados, se mezcla hasta que presente una mezcla homogénea en un mortero y se tiene el catalizador.

8.20. Preparación del Ácido Bórico al 4%.

Se pesan 40 gramos de H_3BO_3 , si es necesario en agua caliente. Enfriar y aforar a 1000 mL. Y luego agregar unas gotas del indicador de Tashiro.

8.21. Preparación del Indicador de TASHIRO.

Para la preparación, es necesario medir 25 mL. de una solución alcohólica de azul de metileno al 0,05%, luego medir 25 mL. de solución de rojo de metilo al 0,1%; mezclar y agitar hasta que se tenga una solución homogénea.

8.22. Valoración De Las Soluciones de Limpieza de Tuberías y Otros.

Generalmente las soluciones que se emplean para la limpieza "CLEANING-IN-PLACE", son el Hexametáfosfato de sodio, poderoso secuestrante, NaOH al 2% y Ácido nítrico al 2%.

La valoración de estas soluciones se realiza de la siguiente manera:

Evaluación de La Concentración de Soda Cáustica

Valorar tomando 10 mL. de solución de soda, añadir 2 a 3 gotas de fenolftaleína y luego titular con HCl 0,1N; y en base a la siguiente tabla se determina la concentración real de la solución alcalina de limpieza:

<u>mL de HCl al 0,1N</u>	<u>Concentración en % de Soda</u>
3,00 mL.	1,20
3,50	1,40
4,00	1,60
4,50	1,80
5,00	2,00
5,50	2,20
6,00	2,40
6,50	2,60
7,00	2,80

Evaluación De La Concentración De Ácido Nítrico

La valoración de la solución ácida se realiza utilizando una solución de NaOH al 0,1N ; se toma 10 mL de muestra ácida se añade 2 a 3 gotas de methylorange, luego titular con NaOH al 0,1N; luego se efectúa el calculo mediante la siguiente Tabla:

<u>mL. De NaOH al 0,1N</u>	<u>Concentración de Ácido Nítrico %</u>
2,00	1,20
2,20	1,30
2,40	1,40
2,60	1,50
2,80	1,70
3,00	1,90
3,20	2,00
3,40	2,15
3,60	2,25
3,80	2,35
4,00	2,50

8.23. Preparación Del REACTIVO de ROSS.

Para la preparación del reactivo de ROSS es necesario seguir los siguientes pasos para obtener un adecuado sistema en disolución; para tal efecto es necesario preparar dos soluciones de la siguiente manera tal como recomienda Lees (1982).

1. Solución A.

En esta primera disolución, se pesan 7.145 gramos de 2,4 Dinitrofenol la cual se disuelve en 230 mL. de una disolución de NaOH al 5%, dicha mezcla se realiza en baño maría o también puede realizarse en agua a una temperatura de 100°C, hasta que el 2,4 Dinitrofenol se disuelva totalmente; Una vez que se tenga una solución homogénea, se le adiciona 2.5 gramos de **Fenol** y si es que la solución una vez mezclado con el fenol no se aclara, se recomienda calentar toda la mezcla hasta que se aclare totalmente.

2. Solución B

Para este caso se pesa 100 gramos de Tartrato de Sodio Y Potasio y se disuelve en 500 mL. de agua destilada, se agita bien y se obtiene una solución homogénea.

Ahora, para obtener la **solución o reactivo de ROSS.** se mezclan las soluciones preparadas A y B, llevar a una fiola y se afora a 1000 mL. con agua Destilada.

8.24. Preparación Del Reactivo de ROSS en base al 2,4 Dinitrofenolato de Sodio.

La preparación es idéntica a la realizada anteriormente, esto se procede siempre y cuando que no se cuenta en el laboratorio con el 2,4 Dinitrofenol. Por lo que se procede tal como se indica a continuación:

1. Solución A

Pesar 8 gramos de 2,4 Dinitrofenolato de Sodio y 2.5 gramos de Fenol y se disuelve en 200 mL. de hidróxido de sodio al 5%.

2. Solución B

Pesar 100 gramos de Tartrato de Sodio y Potasio y diluirlo en 500 mL. de agua destilada.

Luego se mezcla ambas soluciones en una fiola y se aforan a un volumen de 1000 mL. con agua destilada.

8.25. Preparación De Una Solución Para Usar Como Revelador De Azúcares En La Determinación Por Cromatografía En Capa Fina.

Para La determinación De azúcares, ya sea de leche u otros alimentos; es necesario contar con un revelador para identificar los azúcares en los Cromato placas. Para tal efecto se usa los siguientes reactivos: o también denominado **solución de Anilina - Di fenilamina**, que se prepara como sigue:

- a. Primeramente se enmasa 0.5 gramos de Anilina y luego se pasa a diluir en 50 mL. de agua destilada, se agita y se mezcla totalmente.
- b. Por otro lado se enmasa 0.5 gramos de Di fenilamina, se disuelve en 50 mL. de Acetona, agitar hasta diluir totalmente.

Luego Una vez preparada ambas soluciones, se pasa a Mezclar ambas soluciones, se agita hasta homogeneidad y luego añadir 10 mL. de una disolución de Ácido Fosfórico con bastante precaución, y finalmente se obtiene el revelador. La preparación de cada uno de estos reactivos deben tener una preparación reciente.

8.26. Preparación De La Solución Que Se Utiliza Como Revelador De Aminoácidos En La Determinación Por Cromatografía En Capa Fina.

Como es ampliamente conocido, en la determinación por cromatografía en capa Fina de los aminoácidos, el revelador más usado es la **Ninhidrina** en solución; para tal efecto se prepara de la siguiente Manera:

- a. Enmasar 0.2 gramos de Ninhidrina y luego mezclar con 100 mL. de acetona QP. y agitar hasta homogeneidad, luego llevar a un frasco hermético.

8.27. Equivalencias Matemáticas y Físicas Más Usuales.

Múltiplos y Submúltiplos

M	mega	10^6	π	= 3,1416	1 cal	= 4,18 J
k	Kilo	10^3	e	= 2,7183	1 Faraday	= 96 485 culombios
m	mili	10^{-3}	ln 10	= 2,303	1 Angström	= 10^{-10} m
μ	micro	10^{-6}	log N = lnN/ln10		6,02. 10^{23} Daltons	= 1 g
n	nano	10^{-9}	π radianes	= 180°	1curio=	$3,7 \cdot 10^{10}$ desintegraciones/seg
p	pico	10^{-12}				

8.28. Reactivos Usuales En Laboratorio de Leche y Derivados

Nombre	Fórmula	Masa Molecular	% Pureza	Densidad	Molaridad	Normalidad
Ácido Acético Glacial	C ₂ H ₄ O ₂	60,0	99,5	1,05	17,4	17,4
Ácido clorhídrico	HCl	36,5	36,0	1,17-1,18	12,0	12,0
Ácido Nítrico	HNO ₃	63,0	65,0	1,40	14,0	14,0
Ácido Perclórico	HClO ₄	100,5	60,0	1,54	9,20	9,20
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	98,1	97,0	1,84	18,0	36,0
Agua Oxigenada	H ₂ O ₂	34,0	3,0	-----	0,9	(10 vol.)
Alcohol de 96°	C ₂ H ₆ O	46,0	94,0	0,81	16,7	-----
Amoníaco	NH ₃	17,0	15,0	0,94	8,3	8,3

Capítulo IX

Miscelaneas de Examen

1. Distinga entre el plasma de leche y suero de leche
2. Defina la grasa de leche
3. Por qué el carter untable de la mantequilla se ablanda gradualmente cuando se cambia a un ambiente caluroso.
4. Cual es la diferencia entre una grasa verdadera y un fosfolípido?
5. Si la leche de la raza Holstein presenta 3,5% de grasa
6. Indique tres maneras en que la caseína difiere de la albúmina.
7. Defina una reacción anfoterita
8. Defina punto isoeléctrico.
9. Escriba la formula estructural de un aminoácido
10. Diferencias entre un azúcar reductor y no reductor
11. Que minerales de la leche mas importantes para el cuerpo humano?
12. Como se activa la enzima lipasa en la leche?
13. Porque se debe alimentar a las vacas con forrajes conservados en silos y alfalfa fresca después de cada ordeño?
14. A qué factores se debe el color blanco de leche?
15. Defina la gravedad específica y densidad de la leche?
16. Por qué la leche tiene más bajo el punto de congelación que el agua?
17. Cuales son los factores que afectan la tensión superficial de la leche?
18. Que constituyentes son la causa principal de la espuma en la leche?
19. Por qué es el suero de mantequilla que presenta alto porcentaje de lecitina?
20. Cual es la diferencia entre un Ohmio (Ohm) y miliohmio (mho)?
21. Que causas hace que la leche cambie a un color bronceado cuando se somete a altas temperaturas?
22. ¿A que componente se debe el sabor cocido de la leche?
23. ¿Qué significa estabilidad de calor en la leche?
24. ¿Cuales son algunos de los factores que afecta el punto de congelación de la leche?

25. ¿Qué método de mezclando una muestra de leche es el mejor?
26. ¿Qué precauciones deben tomarse cuándo se colectan las muestras de leche en la granja en los tanques de enfriamiento?
27. ¿Que significa una muestra compuesta?
28. ¿Indique dos métodos de obtener muestras compuestas verdaderas de leche?
29. ¿cuál es uno de los preservativos más buenos para las muestras compuestas?
30. ¿Cual es la diferencia entre formaldehído y formalina?
31. ¿Qué significa la prueba de Babcock en la Industria de leche?
32. ¿Cuales son los reactivos usados en la prueba de babcock? En la prueba de Gerber?
33. ¿Muestre cómo calcular la capacidad de volumen de 8 gramos de leche en la prueba de la botella entre el cero y 8 graduaciones por ciento?
34. Que significa una grasa insaturada.
35. ¿qué se significa por un menisco?
36. ¿ El método Gerber es una prueba para determinar grasa en productos lácteos, y cuales son las ventajas sobre la prueba de Babcock?
37. ¿Indique los cinco reactivos que se usan en la prueba de Monjonnier?
38. ¿Por qué se usan dos tipos de éteres?
39. ¿Cual es la ventaja de un lactómetro de Quevenne?
40. ¿Que es un picnómetro?
41. ¿Que son los Sólidos no grasos de la leche?
42. ¿En la leche de vaca normal la gravedad específica aumenta o disminuye con el aumento de la grasa? Explique?
43. ¿Si se añade agua a la leche la cantidad de grasa disminuye tanto como la sólido-no-grasos? Explique?.
44. ¿Por qué es posible adulterar la leche desnatando y añadiendo agua, y todavía deja la composición aparentemente normal?
45. ¿Cual es el propósito del test de Fosfatasa?
46. ¿Cuales son los límites de exactitud del test de fosfatasa?
47. ¿Que factores afecta al test de la fosfatasa en la leche?
48. ¿Que factores afecta la estabilidad de la proteína en la leche y derivados?
49. ¿Porque se homogeneizan propiamente la leche?

50. ¿Cuales son los tipos de adulteraciones comunes en productos lácteos?
51. ¿Como contribuyen los avances de la moderna tecnología al problema de la adulteración en leche y derivados?
52. ¿Que es un Crioscopio?
53. ¿Que métodos se puede usar para detectar la presencia de grasas no lácteas en la mantequilla?
54. ¿Qué problemas ha causado el uso de antibióticos para tratar la mastitis a la industria de la lechería?
55. ¿Que significa Overrum?
56. ¿Porque es necesario preparar mantequilla en recipientes cerrados?
57. ¿Escribe las reacciones químicas que tienen lugar en el salado de la mantequilla?
58. ¿Distinga entre la acidez aparente y real de la leche?
59. ¿Explicar una reacción anfoterica?
60. ¿Por qué agente y de qué compuesto se forma la acidez real en la leche?
61. ¿Es la fenolftaleina un buen indicador en la determinación de la acidez de la leche? Porque?
62. ¿Que porción de leche o crema contiene ácido láctico?
63. ¿Que es el calostro?
64. ¿Porque las vacas que tienen mastitis baja la acidez de la leche?
65. ¿Que es un buffer? Cuales son los principales buffers en leche?
66. ¿Describe el electrodo de calomel?
67. ¿Escriba la formula estructural, isomería, del ácido láctico?
68. ¿Que es una bacteria?
69. ¿Como se reproduce una bacteria?
70. ¿Qué condiciones son nesarios para el crecimiento de la s bacterias?
71. ¿Cual es el principio de la prueba de la reducción del azul de metileno en la leche?
72. ¿Indique algunas ventajas y desventajas el organismo ***Streptococcus lactis*** en la industria lechera?
73. ¿Cual es el mejor test para la detección de la mastitis?
74. ¿Que significa bacteria patógena?

75. ¿Como se diferencia la levadura de la bacteria?
76. ¿Cuales son los dos factores más grandes que afectan el contenido bacteriano de la leche?
77. ¿Describe la diferencia entre fermentación homo láctica y Heteroláctica?
78. ¿Clasifique a las bacaterias lácticas?
79. ¿Cuales son las características fisiológicas de las bacterias lácticas?
80. En una planta industrial de leche se dispone de leche descremada con un contenido de grasa de según el análisis de laboratorio de 0, 40%; también la planta cuenta con crema de leche con 38% de materia grasa. A partir de estas materias primas, se necesita para 1000 k de crema con un contenido de materia grasa de 32% destinado para la elaboración de mantequilla.
81. La planta de leche Biolac, cuenta con leche con 2,4% de grasa y 8,70% de SNG, y leche en polvo desgrasado con 98,5% de SNG. A partir de estos, es necesario preparar 99,78k con contenido de 11,1% de SNG.
82. Se dispone de cantidades adecuadas de leche entera con un contenido de grasa de 4,90% y de 8,55% de SNG, leche descremada fresca sin grasa y leche descremada en polvo desgrasado con 96% de SNG procedente de la misma leche entera; a partir de estas leches es necesario obtener 687 litros de leche doblemente enriquecida para elaborar manjar blanco con 1,6% de grasa y 9,1% de SNG y una densidad de 1,032. Realice sus cálculos para determinar los pesos de cada componente.
83. En una planta se dispone de cantidades adecuadas de leche mezclada de vaca provenientes de dos rutas de acopio, que presentan un contenido de grasa después de la mezcla 6,3% de grasa y 8,95% de SNG; crema de leche con 43,50% de grasa; leche descremada en polvo con 96,5% de SNG y sin grasa; azúcar y estabilizador. A partir de estos es necesario preparar 100 k de mezcla que presente 11% de grasa, 12% de SNG, 13% de azúcar, y 0,3% de estabilizador y con 36,3% de ST; dicha mezcla se destinará a la elaboración de helados.
84. Defina con sus propias palabras ¿Qué es la leche?
85. ¿Cuáles son las propiedades físicas y químicas de la leche?

86. ¿Considera usted que la composición de la leche depende de la especie de donde provenga? ¿En que componentes serían esas diferencias?
87. ¿Cuáles son los factores que causan la variabilidad de la leche en su composición y propiedades?
88. ¿En qué consiste la complejidad de la leche?
89. ¿cuáles son las modificaciones que sufre la leche desde su ordeño, cambios de temperatura y durante su proceso tecnológico?
90. ¿Describa brevemente las diferentes fases de la leche?
91. ¿Cuáles son los componentes principales de la leche? Descríbalos brevemente.
92. ¿Describa brevemente cuáles son los efectos que causan los tratamientos térmicos sobre la leche?.
93. ¿Cuáles son las principales bacterias que se pueden encontrar en la leche?
94. ¿Cuáles son las levaduras y los mohos que se pueden encontrar en la leche o en los productos obtenidos de los procesos de industrialización?
95. ¿Qué medidas se deben tener en cuenta para evitar la contaminación de microorganismos en la leche?
96. ¿Qué entiende usted por calidad de la leche?
97. ¿Cuáles son los principios fundamentales del aseguramiento de la calidad de la leche?
98. ¿Qué entiende por el Análisis de riesgos y control de puntos críticos en un proceso industrial?
99. ¿Cuáles con las condiciones necesarias para que un control de riesgos sea eficaz y eficiente?
100. ¿Qué aspectos se deben tener en cuenta para el control de la calidad de la leche cruda?
101. ¿A qué se refiere la estandarización de la leche?

Capítulo X

Bibliografía

1. Alais, Ch., 1986: Ciencia de la Leche; Editorial CECSA., MÉXICO.
2. Alvarado, J. de D., 1993: Propiedades Físicas De La Leche; Ponencia Presentada En El Curso Internacional "Propiedades Físicas y Análisis Térmico De Alimentos", Marzo 10-12; Ambato-Ecuador.
3. Anon., 1971: Normas C.E.E. Propuestas Para la calidad y comercialización de leche líquida. European News, Octubre 13.
4. Atherton, H. V., 1981: Chemistry And Testing Of Dairy Products; AVI Publishing Company, INC. Westport, Connecticut. Pág.36, 71, 155, 246.
5. Badui, S. D., 1988: Diccionario De Tecnología De Los Alimentos; Editorial Alhambra; MÉXICO.
6. Belitz, H. D. y Grosch, W., 1992: Química De Los Alimentos; Editorial Acribia; Zaragoza España.
7. Berrueta, J., Labajos, B. y Coca, J., 1992: Utilización De Enzimas En a Industrias Alimentarias; Rev. Alimentación Equipos y Tecnología; Diciembre. Pág. 79-85.
8. Beerens, H. y Luquet, F. M., 1992: Guía de práctica Para El Análisis Microbiológico De La leche y Los Productos Lácteos; Editorial Acribia; Zaragoza España.
9. Bernal, I., 1993: Análisis De Alimentos; Academia Colombiana De Ciencias Exactas, Físicas y Naturales; Santa fe de Bogotá, D.C.
10. Calvo, M.M. y Olano, A., 1989: Formation of Galactose During Heat Treatment of milk and Model Systems; J. Dairy Res.,56 Pág.737-740.
11. Casado Cimiano, P., 1991: Guía para el análisis químico de la leche y derivados lácteos; ediciones Ayala, España.
12. Crueger, W. y Crueger, A., 1993: Biotecnología. Manual de microbiología Industrial, Editorial Acribia; Zaragoza España. Pág. 213 - 245.
13. Earle, R. L., 1992: Ingeniería de Los Alimentos; 2da. Edición; Editorial Acribia; Zaragoza España.
14. Egan, H., Kirk, R.S., Sawyer, R., 1990: Análisis Químico De Alimentos de

- Pearson; Editorial CECSA., México.
15. Funke - Gerber. , 1995: Laboratory Equipment, for milk and Food Testing; Funke-DR. N. Gerber GMBH; Total Catalogue; Berlín.
 16. García, F.S. y Barracó S. M., 1994: Alteraciones Reológicas en Procesos Fermentativos Lácteos. Yogur. rev. Alimentaria, Julio-Agosto. Pág. 41-48.
 17. Gómez, R., Peláez, C., 1988: Food Chemistry; 28, 159.
 18. Keating, P., Gaona, 1986: Introducción A La Lactología; Editorial LIMUSA; MÉXICO.
 19. Kunz, B., 1986: Cultivo de Microorganismos para la producción de Alimentos; Editorial Acribia, España.
 20. Lees, R., 1982: Food Analysis; Analytical And Quality Control Methods for the Food. Manufacturer And Buyer; Editorial Leonard Hill Books, Gran Bretaña. Pág.38, 39, 122, 191.
 21. Lewis, M.J., 1993: Physical Properties Of Foods And Food Processing Systems; Editado by Ellis Horwood Ltd., Publisher, Market Cross House, Cooper Street, England. Pág. 51 - 53.
 22. Lotti, G. y Galoppini, C., 1986: Análisis Químico Agrario; Editorial Alhambra; Madrid España. Pág. 196, 209, 219, 224.
 23. Luquet, F. M., 1993: Los productos Lácteos, Transformación y Tecnologías; Editorial Acribia, Zaragoza España.
 24. Mafart, P., 1994: Ingeniería Industrial Alimentaria; Vol.I; Procesos físicos de Conservación. Editorial Acribia, Zaragoza España. Pág. 267-271.
 25. Macarulla, J. M. y Marino, A., 1988: Bioquímica Cuantitativa: Volumen I: Cuestiones sobre Biomoléculas; Editorial REVERTÉ. MÉXICO.
 26. Macarulla, M. J., y Goñi F. M., 1984; Bioquímica Humana; Editorial REVERTÉ, México.
 27. Madrid, V. A., 1993: Manual de Tecnología de Quesos; Ediciones Madrid, España.
 28. Madrid, V. A., 1992: Manual de Industrias De Los Alimentos; Ediciones Madrid, España.
 29. Marshall, R.T., 1978: Características de la leche fresca y control de la calidad en los Estados Unidos. Boletín IDF, 18.

30. NOVO, 1986: Novo's Handbook of Practical Biotechnology; A publication of Novo Industri A/S Enzymes Division, Bagsvaerd, Denmark; Pág. 45 - 47.
31. Osborne, D. R. y Voogts, P. 1989: The Analysis of nutrients in Food. Academic Press. London.
32. Ott, D. B., 1992: Manual de Laboratorio de Ciencia de Alimentos; Editorial Acribia, Zaragoza España.
33. Pérez G., J. y Pérez G., E., 1984: Bioquímica y Microbiología De La leche; Editorial LIMUSA; México.
34. Quinteros, R. R., 1993: Ingeniería Bioquímica; Teoría y Aplicaciones; Editorial Alhambra; México. Pág. 17-29.
35. Ranken, M. D., 1992: Manual De Industrias De Los Alimentos; Editorial Acribia; Zaragoza, España. Pág. 98 - 100.
36. Revilla, A., 1982: Tecnología De La Leche; Procesamiento Manufactura y Análisis; Instituto Interamericano De Cooperación Para La Agricultura; San José, Costa Rica. Pág. 245 - 255.
37. Santos, P., 1987: Leche y productos Lácteos; Editorial Trillas; México. Pág. 54 - 120
38. Schmidt - Hebbel, H. 1981: Avances En Ciencia y Tecnología De Los Alimentos; MERCK QUÍMICA CHILENA. Pág. 84 - 110.
39. Schaafsma, G., 1989: Effects of Heat Treatment on the Nutritional Value; Bolentin of the IDF, 238, Pág.68-70.
40. Scriban, R., 1985: Biotecnología; Editorial El Manual Moderno, S:A: de C.V. México. Pág. 30, 279, 287, 324, 325, 341, 343, 348, 355, 356, 481, 490, 493, 609.
41. Soroa y Pineda J.M., 1974: Industrias Lácteas; Editorial AEDOS. México.
42. Spreer, E., 1992: Lactología Industrial; 2da. Edición; Editorial Acribia; Zaragoza España. Pág. 105-109.
43. Tamime, A.Y. y Robinson, R. K., 1991: Yogur. Ciencia y Tecnología, Editorial Acribia España. Pág. 357 - 367.
44. Timm, F., 1992: Fabricación De Helados; Editorial Acribia, Zaragoza España.
45. Teply, M. y Meyer, A., 1980: Fabricación De Productos Lácteos; Editorial Acribia; Zaragoza España. Pág. 5, 16, 23, 30 - 51.

46. Walstra, P. y Jenness, R., 1987: Dairy Chemistry And Physics; Editorial John Wiley and Sons, Inc. New York.
47. Warner, N. J., 1980: Principios De La Tecnología De Lácteos; AGT Editor, S.A. México. Pág. 99.
48. Whittemore, C. T., 1984: Lactation Of The Dairy Cow; Editorial LONGMAN GROUP LIMITED; British. Pág. 9, 23, 97.
49. Wong, D.W.S., 1995: Química de los Alimentos: Mecanismos y teoría; Editorial Acribia, Zaragoza España. Pág.96-102.
50. Veisseyre, R., 1980: Lactología Técnica; Editorial Acribia; Zaragoza España.