



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

TEMA:

**“ESTANDARIZACIÓN DE UN METODO QUIMICO PARA
CUANTIFICAR EL CONTENIDO DE SUERO DE QUESERIA EN LA
LECHE PASTEURIZADA MEDIANTE LA CORRELACIÓN DEL
CONTENIDO DE CASEÍNA Y PROTEÍNA SÉRICA”**

Trabajo de Investigación de Graduación. Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI). Presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniera en Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Autor: Fernanda Gabriela Núñez Vaca

Tutor: Ing. Carlos Moreno

Ambato - Ecuador

2014

APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

En mi calidad de tutor del trabajo estructurado de manera independiente (TEMI) sobre el tema: “Estandarización de un método químico para cuantificar el contenido de suero de quesería en la leche pasteurizada mediante la correlación del contenido de caseína y proteína sérica”, desarrollado por la egresada Fernanda Gabriela Núñez Vaca, estudiante de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica. Considero que el mencionado trabajo de investigación reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador que el H. Consejo designe:

Ambato, Junio del 2014

Ing. Carlos Moreno

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Yo, Fernanda Gabriela Núñez Vaca, declaro que:

El presente trabajo de investigación: “Estandarización de un método químico para cuantificar el contenido de suero de quesería en leche pasteurizada mediante la correlación de caseína y proteína sérica” es absolutamente original, auténtico y personal, en tal virtud, el contenido y efectos académicos que se desprenden del mismo son de exclusiva responsabilidad del autor.

Ambato, Junio 2014

Fernanda Gabriela Núñez Vaca

C.I. 1804280012

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS

CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el presente Trabajo de Graduación de acuerdo a las disposiciones emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Junio 2014

Para constancia firman:

Ing. Gladys Navas Miño

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Rubén Vilcacundo

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Quim. Lander Pérez

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

El presente Trabajo de Investigación, se lo dedico a mis padres Jaime y Piedad, son el ejemplo más grande que Dios me pudo dar, gracias a su esfuerzo y dedicación diaria, a sus consejos, a su apoyo incondicional por ello pude culminar mis estudios y cumplir esta meta.

A mis hermanas, Mony, Lore y Mayrita, siempre han estado junto a mí en cada momento de mi vida enseñándome con su ejemplo a luchar por mis sueños.

Mis sobrinas Mika, Joshe, Emy, Vale y Paula, ustedes han puesto un toque de alegría a mi vida y esto lo hago por ustedes quiero ser un ejemplo de lucha y constancia.

A ti David Peñafiel, mi gran Amor mi amigo, confidente mi esposo por ser mi apoyo incondicional y darme el regalo más precioso mi pequeño Jose David, hijo todo este esfuerzo es por ti y para ti...!!! les amo mucho y quiero que se sientan orgullosa de mi.

Fernanda Núñez Vaca

AGRADECIMIENTO

A mi padre celestial Dios por darme la fuerza para salir adelante, guiándome en cada paso de mi vida. El me bendice todos los días.

Agradezco a mis padres, porque siempre me han apoyado en cada paso de mi vida.

A la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos, Carrera Bioquímica por haberme acogido en sus aulas y darme la oportunidad de seguir mis estudios.

A mis amigos, a todos ellos que me han brindado su amistad y compartieron momentos importantes durante el transcurso de mi vida.

Fernanda Núñez Vaca

INDICE GENERAL DE CONTENIDOS

CAPITULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2.1 Contextualización.....	2
1.2.1.1 Contextualización Macro.....	2
1.2.1.2 Contextualización Meso.....	4
1.2.1.3 Contextualización Micro.....	6
1.2.2 Análisis Crítico.....	7
1.2.2.1 Relación Causa Efecto	9
1.2.3 Prognosis.....	10
1.2.4 Formulación del Problema.....	10
1.2.5 Preguntas Directrices.....	11
1.2.6 Delimitación.....	11
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	12
1.4 OBJETIVOS.....	13
1.4.1 Objetivo General.....	13
1.4.2 Objetivo Especifico.....	13

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	14
2.1 FUNDAMENTACIÓN CIENTIFICA TÉCNICA.....	15
2.1.1 La leche de vaca.....	15
2.1.2 Propiedades Físicas de la Leche.....	16
2.1.2.1 Aspecto.....	17
2.1.2.2 Color.....	17
2.1.2.3 Aroma.....	17
2.1.2.4 Sabor.....	17

2.1.2.5 Consistencia.....	18
2.1.2.6 Densidad.....	18
2.1.2.7 Punto de congelación.....	18
2.1.2.8 Acidez.....	18
2.1.3 Propiedades Químicas de la Leche Vaca.....	19
2.1.3.1 Agua.....	19
2.1.3.2 Grasa.....	19
2.1.3.3 Hidratos de Carbono.....	20
2.1.3.4 Enzimas de leche.....	20
2.1.3.5 Sales de leche.....	20
2.1.3.6 Microbiología de la leche.....	21
2.1.4 Composición Proteica de la Leche.....	22
2.1.5 Caseína.....	25
2.1.6 Suero de Quesería.....	27
2.1.6.1 Proteínas del suero.....	29
2.1.6.2 Tipos de lactosuero.....	29
2.1.6.3 Desnaturalización de las proteínas.....	31
2.1.6.4 Factores que influyen en la comp. de la leche.....	31
2.1.6.4.1 Factores no nutricionales.....	32
2.1.6.4.2 Influencias nutricionales.....	34
2.1.7 Minerales Ceniza y Sales.....	35
2.1.8 Vitaminas.....	36
2.1.9 Punto de Congelación.....	37
2.1.10 Fabricación del queso.....	37
2.1.10.1 Pasteurización de la leche.....	37
2.1.10.2 La coagulación.....	37
2.1.10.3 Formación de la cuajada.....	38
2.1.10.4 Corte de la cuajada.....	38
2.1.10.5 Batido de la cuajada.....	39
2.1.10.6 Reposo y desuerado.....	39
2.1.10.7 Lavado de y salado de la cuajada.....	39
2.1.10.8 Moldeado y prensado.....	39

2.1.10.9 Salado del queso.....	40
2.1.10.10 Maduración del queso.....	40
2.1.11 Adulteraciones de leche.....	41
2.1.11.1 Tipos de adulteraciones en la leche.....	41
2.1.12 Efecto curativo del suero.....	43
2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSOFICA.....	44
2.3 FUNDAMENTACIÓN LEGAL.....	44
2.4. CATEGORIAS FUNDAMENTALES.....	47
2.4.1 Variable Independiente.....	47
2.4.1.1 Calidad de leche cruda entera.....	48
2.4.1.2 Calidad de leche cruda entera tratada.....	48
2.4.1.3 Normas INEN de calidad microbiológica.....	49
2.4.2 Variable Dependiente.....	49
2.5 Hipótesis.....	50
2.5.1 Hipótesis nula.....	50
2.5.2 Hipótesis Alternativa.....	50
2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS.....	50
2.6.1 Variable Independiente.....	51
2.6.2 Variable Dependiente.....	51
2.7 Diagrama de Flujo de los Métodos utilizados.....	52
2.8 Metodología.....	53

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 MODALIDAD BASICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	57
3.2 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	58
3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	59
3.3.1 Población.....	59
3.3.2 Muestra.....	59
3.3.3 Diseño experimental.....	60
3.3.4 Respuestas Experimentales.....	60

3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	62
3.4.1 Variable Independiente.....	62
3.4.2 Variable Dependiente.....	62
3.5 RECOLECCION DE LA INFORMACIÓN	63
3.5.1 Fuente Primaria.....	63
3.5.2 Fuente secundaria.....	63
3.6 PLAN PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	64
3.6.1 Procesamiento.....	64

CAPITULO IV

ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 ANALISIS DE RESULTADO.....	65
4.2 INTERPRETACION DE DATOS.....	68
4.2.1 Materia Prima.....	68
4.2.2 Respuestas Experimentales.....	68
4.3 ANALISIS QUIMICO DE LECHE PASTEURIZADA ADULTERADA.....	69

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES.....	74
5.2 RECOMENDACIONES.....	76

CAPITULO VI

PROPUESTA

6.1 DATOS INFORMATIVOS.....	77
6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA.....	78
6.3 JUSTIFICACIÓN.....	79
6.4 OBJETIVOS.....	80
6.4.1 Objetivo General.....	80
6.4.2 Objetivo Especifico.....	80
6.5 ANALISIS DE FACTIBILIDAD.....	80
6.6 FUNDAMENTACIÓN.....	80

6.7 METODOLOGÍA.....	82
6.8 ADMINISTRATIVO.....	85
6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN.....	86

INDICE DE GRAFICOS

Grafico # 1 ÁRBOL DE PROBLEMAS.....	9
Grafico # 2 COMPONENTES DE LA LECHE.....	16
Grafico #3 CATEGORIAS FUNDAMENTALES.....	47
Grafico # 4 REGRESIÓN LINEAL PROMEDIO DE %Nc/Nt vs SUERO DE QUESERIA AÑADIDO.....	70
Grafico #5 CURVA ESTANDAR DE PROMEDIOS.....	71

INDICE DE TABLAS

TABLA #1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE.....	21
TABLA #2 CONCENTRACIÓN PROTEÍNAS DE LA LECHE DE VACA.....	24
TABLA # 3 CONTENIDO DE PROTEÍNAS EN LECHE DE VACA	25
TABLA # 4 PRINCIPALES CONSTITUYENTES DE LA LECHE DE VACA.....	26
TABLA #5 TIPOS DE SUERO.....	30
TABLA # 6 ESPECIFICACIONES DE LA LECHE PASTEURIZADA.....	46
TABLA # 7 DETALLE DEL DISEÑO EXPERIMENTAL.....	60
TABLA #8 NÚMERO DE TRATAMIENTOS Y NIVELES	65
TABLA # 9 PORCENTAJE DE Nc/Nt REGISTRADOS EN DIFERENTES PROPORCIONES CON SUERO DE QUESERIA.....	66
TABLA #10 PROMEDIO DE REPLICAS RELACION %Nc/Nt vs % SUERO.....	73
TABLA # 11 REFERENTE DE % DE SUERO CUANTIFICACIÓN.....	81

INDICE DE ANEXO

ANEXO A

TABLA # 12 ANÁLISIS DE VARIANZA.....	92
TABLA # 13 ANÁLISIS DE VARIANZA DATOS CUANTIFICADOS.....	92
TABLA #14 TABLA REFERENTE DE CUANTIFICACIÓN.....	93
TABLA # 15 DATOS RÉPLICA #1.....	94
TABLA # 16 DATOS RÉPLICA #2.....	95
TABLA # 17 DATOS RÉPLICA #3.....	95
TABLA # 18 DATOS RÉPLICA #4.....	96
TABLA # 19 DATOS RÉPLICA #5.....	96
TABLA # 20 DATOS RÉPLICA #6.....	97

.ANEXO B

GRÁFICOS

Gráfico # 6 Réplica # 1.....	99
Gráfico # 7 Réplica # 2.....	100
Gráfico # 8 Réplica # 3.....	101
Gráfico # 9 Réplica # 4.....	102
Gráfico # 10 Réplica # 5.....	103
Gráfico # 11 Réplica # 6.....	104
Gráfico # 12 Cuantificación Regresión Lineal.....	105
Gráfico # 13 Curva Estándar con respecto a la Cuantificación.....	105
Gráfico # 14 Diagrama de flujo Pasteurización de la Leche.....	106
Gráfico # 15 Diagrama de flujo Queso Fresco.....	107

ANEXO C

CUADROS

Cuadro # 1 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES/VARIABLE INDEPENDIENTE.....	61
Cuadro # 2 VARIABLE DEPENDIENTE.....	62
Cuadro # 3 PLAN DE MEJORAS.....	83
Cuadro # 4 ADMINISTRACIÓN DE LA PROPUESTA.....	85

Cuadro # 5 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN	86
---	----

ANEXO C

FOTOGRAFIAS

FIGURA # 1 Preparacion de muestras adulteradas con suero de queseria.....	110
Figura # 2 Precipitación de caseína.....	110
Figura # 3 Caseína precipitada.....	111
Figura # 4 Digestión muestras.....	111
Figura# 5 Destilación muestras.....	112
Figura # 6 Resultado titulable.....	112

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS

CARRERA INGENIERIA BIOQUIMICA

TEMA: “Estandarización de un método químico para cuantificar el contenido de suero de quesería en la leche pasteurizada mediante la correlación entre el contenido de caseína y proteína sérica”.

RESUMEN EJECUTIVO

El objetivo del presente trabajo de investigación fue estandarizar un método químico para cuantificar el contenido de suero de quesería en la leche pasteurizada mediante la correlación entre el contenido de caseína y proteína sérica para esto se aplicó el diseño experimental de un solo factor aleatorizado con 7 observaciones y 6 repeticiones, siendo cuantificadas, mediante ecuaciones polinómicas para obtener datos referentes para diversos porcentajes de adulteración, con lo cual se determinó el aspecto influyente de manera individual.

El método se basa en una determinación caseína y el contenido de nitrógeno proteico en la leche. Mediante el uso de los métodos de Rowland y Método de Kjendahl, con el fin de calcular el porcentaje de suero añadido, se realizó una curva estándar preparando el contenido de caseína relativa en función del porcentaje de suero de leche correspondiente. Los resultados de 7 análisis con 6 repeticiones en diferentes porcentajes de la leche pasteurizada genuina (0%, 5%, 15%, 30%, 50%, 75% y 100%) proporcionadas por el Instituto Agropecuario Luis A. Martínez da como resultado que ha mayor porcentaje de suero en la leche pasteurizada es menor el número de caseína de la misma, la leche con el menor porcentaje de suero es el apropiado para el consumo, si existe una adulteración el consumidor debe saber lo que adquiere, siempre y cuando se dé un buen tratamiento al suero de quesería puesto que, en proporciones adecuadas no habría

inconveniente, y el consumidor pague por una bebida láctea, mas no leche pasteurizada.

Al desarrollar una curva de correlación entre el contenido de proteína total y caseína, para los diferentes niveles de adulteración de la leche con el suero, calculamos el porcentaje de suero añadido, con un nivel de confianza del 97% ,en el proceso de la adulteración de la leche con suero de quesería mediante las pruebas preliminares realizadas se obtuvo que el mejor tratamiento sin duda alguna es el que no posee suero de quesería.

Para lo cual los datos obtenidos de la cuantificación se tomarán como un referente para futuros análisis.

INTRODUCCIÓN

Se entiende como leche al producto integral del ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene que da la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación. Esto además, sin aditivos de ninguna especie.

El suero de quesería es uno de los derivados lácteos que se obtiene a partir de la leche entera. Las posibilidades para el uso del suero de quesería en la industria alimentaria son amplias, una de ellas puede ser su incorporación en leches fluida o en polvo, con la finalidad de aumentar la cantidad de sólidos en esos alimentos, lo cual, de acuerdo a la reglamentación sanitaria vigente está prohibido y debe considerarse como un fraude

Entre las adulteraciones más frecuentes que se hacen a la leche, se pueden mencionar: adición de sustancias químicas no permitidas como la adición de agua y cloruros; adición de preservantes o neutralizantes; tratamientos térmicos inadecuados que alteran la conformación nativa de las proteínas; adición de suero dulce, entre otros. Estas adulteraciones ocurren en cualquier etapa de la producción como en el transporte o en el procesamiento de la misma, y con éstas se persigue aumentar los volúmenes de leche, a fin de incrementar las ganancias.

Se han desarrollado varios métodos para detectar y cuantificar la presencia de suero de quesería en la leche, estos se diferencian por su sensibilidad y la complejidad de los equipos necesarios. El análisis con proteína y caseína ofrece la mejor posibilidad para detectar esa forma de adulteración. El propósito de esta investigación es detectar la presencia del suero de quesería en muestras de leche pasteurizada que se encuentran en venta.

CAPITULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN

Estandarización de un método químico para cuantificar el contenido de suero de quesería en la leche pasteurizada mediante la correlación entre el contenido de caseína y proteína sérica.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La leche como producto procesado puede llegar al consumidor en diferentes presentaciones y en cualquiera de ellas puede existir adulteración con diversos propósitos, siendo una de los más comunes la obtención de un mayor rendimiento en el producto final. En la actualidad se da atención especial a la detección de suero lácteo que se pueden adicionar de forma fraudulenta a la leche fluida, en especial a la leche pasteurizada. El suero es la fase acuosa separada de la cuajada que resulta de la coagulación enzimática de la leche en el proceso de

elaboración del queso; el lacto-suero representa del 80% al 90% del volumen total de la leche que entra a dicho proceso y contiene 25% de las proteínas de la leche, casi 10% de grasa y de la totalidad de lactosa. El suero de quesería puede ser adicionado líquido o en polvo a la leche fluida o deshidratada, según se trate. (Ayala A., 2007)

1.2.1 CONTEXTUALIZACIÓN

1.2.1.1 CONTEXTUALIZACION MACRO

La producción mundial de leche se ha mantenido relativamente estable a lo largo de la década de los años 90, con un crecimiento de un 0.5% anual en dicho lapso. En 1999, la producción de leche de vaca fue similar a los registrados 10 años atrás, mientras que la expansión de la producción de las leches de búfala y cabra (de entre el 2% y 4 % anual) explicó gran parte del aumento en la producción total. Según FAO, las exportaciones mundiales de leche de vaca, fresca y entera alcanzaron en 1998 los 4.500 millones de litros, por un monto cercano de los USD\$ 2000 millones. El volumen comercializado representa apenas el 1% de la producción de leche cruda. Las transacciones se efectúan, generalmente entre países limítrofes. (USDA., 2011)

La utilización del lactosuero en la industria alimentaria en México es relativamente reciente debido a la falta de tecnología para su procesamiento. Sin embargo, actualmente se importan grandes volúmenes, lo que permite su utilización en la elaboración de productos alimentarios.

Dicha sustitución ha generado en México por ejemplo un grave problema, ya que aun cuando la producción nacional fue de 8.315.711 litros durante 1998, existió un déficit de alrededor de 12 millones de litros de leche diarios, por lo cual México ocupó el quinto lugar como importador de leche deshidratada en el ámbito mundial, durante el mismo año; dicha

importación fue de 140.123 toneladas, lo que generó una erogación de 242 737 dólares. Teniendo en cuenta el déficit mencionado y dadas las propiedades y características del suero de quesería, además de su precio, se ha inducido a una importación que asciende a 56.264 dólares en lacto-sueros en 1998, situación que podría propiciar la adición de dicho subproducto a la leche por parte de las plantas industrializadoras con el propósito de obtener un mayor rendimiento económico. La leche puede ser adulterada en forma voluntaria o involuntaria. En esencia, la adulteración se puede definir como algo que se agrega a la leche y que produce cambios en el volumen y/o en su composición química. Uno de los contaminantes más frecuentes es el agua, la cual es detectada por las plantas lecheras a través de la prueba de crioscopia. (Alcázar M., 2000)

Una de las prácticas fraudulentas más comunes a nivel de América del Sur en la producción e industria de la leche, es la adición de agua con el objetivo de aumentar su volumen. Este fraude debe recibir especial atención por parte de las autoridades sanitarias como de las industrias procesadoras en función de las representaciones de índice legal y económico que representa.

Los métodos que pueden aplicarse a la detección de agua o suero a la leche están basados en la medición de una propiedad física que varía proporcionalmente a la cantidad de agua o suero adicionada al producto, tal como ocurre con un punto de congelación, el índice de refracción, el peso específico y la conductividad eléctrica, de donde derivan respectivamente los métodos crioscópico, refractométrico, lactométrico y conductímetro.

Paralelamente al aguado es frecuente a la adición de cloruros y/o azúcar para ocultar 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 cualquier tipo de sustancia añadida a la leche pasteurizada. (Alcázar M., 2000)

1.2.1.2 CONTEXTUALIZACION MESO

En el Ecuador, la actividad lechera se concentra en la región interandina, donde se ubican los mayores productores lecheros. Esto se confirma según los últimos datos del Censo Agropecuario del 2005, donde el 73% (1.879.872 litros) de la producción nacional de leche proviene de la sierra, aproximadamente un 19% (489.282 litros) en la costa y un 8% (206.013 litros) en el oriente y región insular.

La leche fluida disponible se destina en un 25% para elaboración industrial (19% leche pasteurizada y 6% para elaborados lácteos) y 35% para industrias caseras de quesos frescos, por tal razón el porcentaje de producción de leche a nivel nacional destinado para la elaboración de productos lácteos es del 60%.

Para consumo humano directo se dispone de un 39 % y aproximadamente el 1% se comercializa con Colombia en la frontera.

En el Ecuador existe una gran demanda de productos lácteos fermentados como es el caso del yogur, y yogur con probiótico, debido a que con sus propiedades contribuyen a preservar y mejorar la salud, esto ocurre cuando las bacterias ácido lácticas del producto se complementan con las bacterias presentes en nuestra flora intestinal y ayudan al buen funcionamiento del aparato digestivo. Hoy en día la población se ve limitada en el consumo de productos lácteos debido a las enfermedades que están ligadas con la intolerancia y la intolerancia a la lactosa, por lo que se ve la necesidad de poner al alcance de dicha población un alimento que sea de un alto grado de digestibilidad de lactosa, como son los productos fermentados, en donde la lactosa ha desaparecido de su composición, transformándose especialmente en ácido láctico. (Alcázar M., 2000).

En la ciudad de Latacunga los productores de leche advierten, que el mercado todavía no se regulariza y denuncian que esto se debe a que en

el país campea la adulteración del producto (mezclada con suero), lo que genera excedente. Pese a que el Gobierno dice que los resultados de las muestras realizadas aún se están validando, ya existirían informes que demostrarían el problema, sin embargo, no hay sanciones. Pablo Grijalva, presidente de la Asociación de Ganaderos de la Sierra y Oriente explicó que “no mejora la demanda de leche, sobre todo en el centro del país, y el problema se da principalmente por la sustitución, hay fábricas que adulteran la leche con suero”. Según sus estimaciones, son 200.000 litros diarios de leche que se han dejado de vender, es decir, “200.000 litros de suero se mezclan para ser vendidos”. Pero la cifra sería más alta. Según José Fernández, representante de los pequeños y medianos productores de Cotopaxi, “se habla de que a nivel de zona centro son 500.000 litros diarios de suero que entran a las fábricas lácteas para ser mezcladas. El 80% de las empresas de Cotopaxi adulteran la leche. (AGSO.,2011).

Según la Dirección de Salud de Cotopaxi, tras la indagación en el Instituto Nacional de Higiene “Leopoldo Izquieta Pérez las marcas El Tambo, Amazonas, Superlan y Multileche, y se enviaron para los análisis y se determinó que la leche contenía un 35 % de suero. Además, registraba residuos bacteriológicos y químicos.

Ahora, los propietarios de las empresas deberán esperar la citación de la Dirección Provincial de Salud para que expongan sus argumentos. Luego de eso, podrían ser sancionados con siete u ocho días de clausura y 10 salarios mínimos básicos por marca.

Este problema tiene como antecedente una aparente sobreproducción de leche en el país, que se presentó a inicios de este año. Cotopaxi es la tercera provincia en oferta lechera con alrededor de 300 000 litros por día.

Los pequeños productores denunciaron que la sobreoferta se debía al uso excesivo de suero en el procesamiento de la leche. José Fernández, representante de este gremio, señaló que 500 000 litros diarios de suero

entran a las fábricas lácteas para ser mezclados en la zona central del país. (El Comercio, 2011)

La producción lechera nacional tiene una perspectiva excedente por la demanda generada en los programas sociales de alimentación de gobierno que por primera vez ha asignado anticipadamente los recursos para las compras y mantiene una demanda creciente de lácteos para la elaboración de sus productos. (AGSO.,2011).

1.2.1.3 CONTEXTUALIZACION MICRO

La Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, a través de su Laboratorio Acreditado de Control de Alimentos, LACONAL en cumplimiento con el compromiso adquirido con las comunidades de Pequeños y Medianos Productores de leche de las provincias de Cotopaxi, Chimborazo y Tungurahua finalizó la primera etapa del proceso de Evaluación de la Calidad de la leche que se consume en Ambato. Los resultados dejan entrever que la solución al problema de adulteración de la leche es cuestión de ética y falta de compromiso social de cierto sector industrial de procesamiento de leche, dijo Romel Rivera, en entrevista con la prensa. 23 Docentes, 13 Ayudantes de Laboratorio y Estudiantes de las Carreras de Alimentos y Bioquímica de la Facultad. Para el estudio y análisis de leches se establecieron un total de 148 muestras de leche (incluyendo bebidas lácteas), de 30 marcas comerciales, recolectadas durante el período del 20 de enero/2011 al 8 de febrero/2011. Inicialmente se hablaron de 46 marcas en el mercado, pero 16 desaparecieron sin explicación. En esta investigación se definió la calidad estándar de la leche, como un producto altamente perecedero y con diversos usos industriales. Se lo definió en función de once variables: (%) Grasa, (%) Sólidos No Grasos, (%) Sólidos totales disueltos, (%) Agua añadida, (%) Proteína, Punto de congelación, Conductividad, pH, Temperatura, %Lactosa y Densidad, Indicadores

Microbiológicos y requisitos de etiquetado. Los valores de referencia utilizados están definidos por la Norma Ecuatoriana NTE INEN 10:2009.

Una vez concluida esta primera fase de estudio la Facultad de Ciencia e ingeniería en Alimentos ha determinado problemas muy graves en lo que se refiere a la calidad de la leche, por lo que se hace necesario un seguimiento para establecer ciertas adiciones que están causando adulteraciones que van en perjuicio no solo de los productores de leche, sino de toda la comunidad.

El peligro de alimentarse con estos productos altamente tóxicos está presente en los devastadores cuadros de enfermedades colectivas: “trastornos neurológicos y tumores malignos, cáncer de estómago, páncreas hígado y colon” y otra cantidad de complicaciones que afectan la salud. (Repositorio UTA,2012)

1.2.2 ANÁLISIS CRITICO

La leche es un alimento muy importante en la nutrición de los seres humanos y animales mamíferos, para su desarrollo corporal, aporte de anticuerpos, material de información sobre enfermedades, calcio y demás componentes que vuelven a la leche un alimento completo y complejo por ser una emulsión muy estable de agua, grasa y proteínas.

La presente investigación busca estandarizar un método químico para cuantificar la cantidad de suero añadido a la leche mediante la correlación entre el contenido de caseína y proteína sérica. Con esto se desea contribuir a la población en el mejoramiento de su alimentación por medio del consumo de leche de mejor calidad, pues si bien el suero es un producto lácteo que posee características especiales, como poseer lactoalbumina que es la proteína de más alto valor biológico conocida, se convierte en un adulterante cuando se lo mezcla con leche entera, pues la

definición del INEN (1983) es *el producto integro, no alterado, ni adulterado ,exento de calostro , obtenido por ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de vacas sanas y bien alimentadas.*

En consecuencia, si se desea vender leche con la adición de suero se debe hacerlo con otra denominación diferente, informando al consumidor de la presencia de suero de quesería o del tipo de suero incluido; por lo tanto identificar y cuantificar la cantidad de suero añadido se vuelve una necesidad imperiosa en especial para el propósito de control de calidad.

1.2.2.1 Relación causa – efecto

Efecto

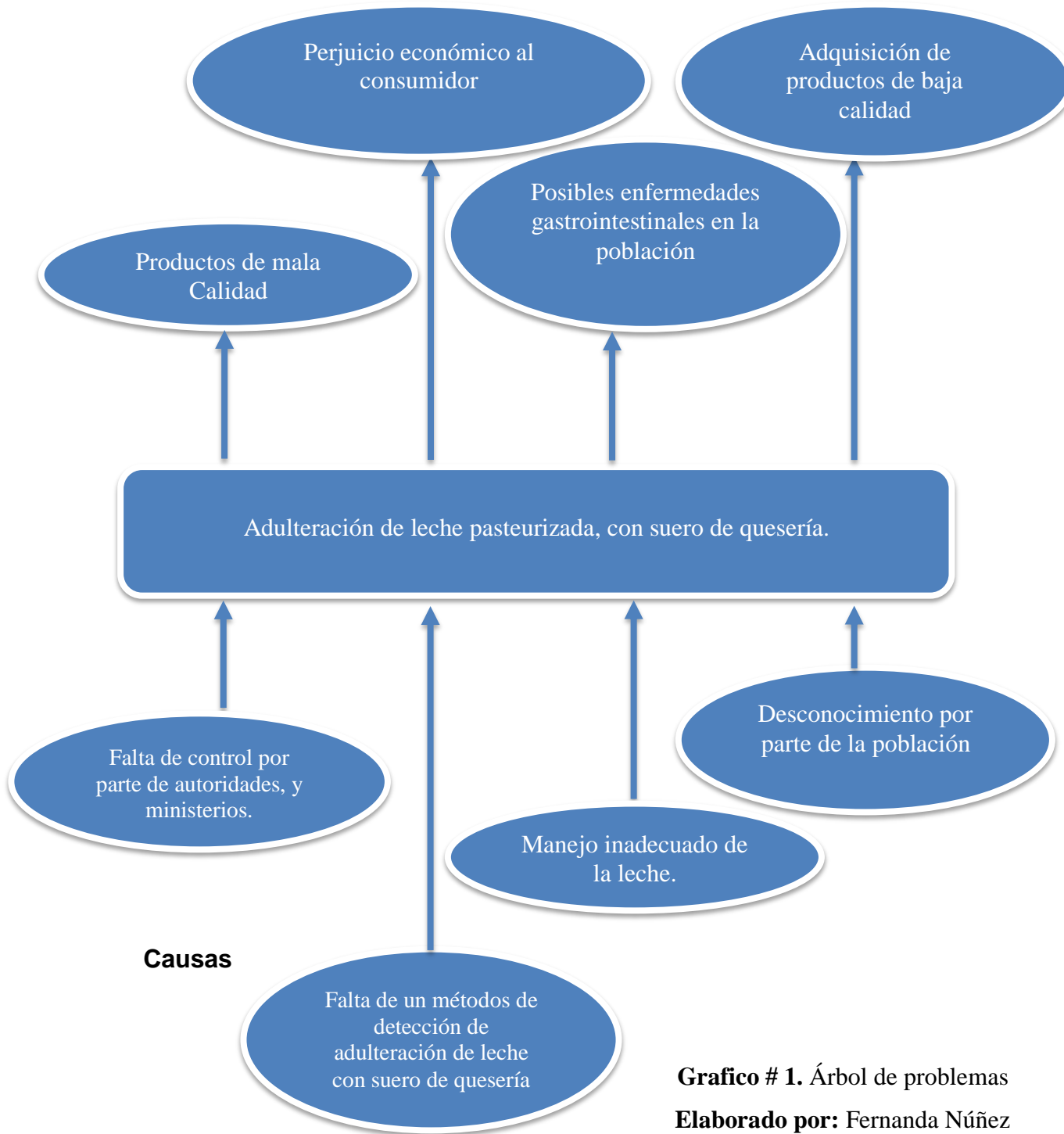


Grafico # 1. Árbol de problemas
Elaborado por: Fernanda Núñez

1.2.3 PROGNOSIS

La adición de elementos a la leche puede significar un incremento notorio a las ganancias económicas de los productores de leche por lo que muchas veces estos realizan estas prácticas de una forma excesiva disminuyendo de forma notoria la calidad de los productos derivados de la leche y la leche en sí.

Además, el manejo inadecuado de los componentes que son adicionados a la leche produce altos niveles de contaminación al no ser tratados adecuadamente, por lo tanto el consumidor debería saber lo que está consumiendo.

En caso de no desarrollarse un método de detección de niveles de suero de quesería en leche pasteurizada, la población de la Provincia de Tungurahua, seguirá siendo perjudicada, por la adulteración de la leche, por lo que es necesario cumplir con los estándares de calidad y establecer una seguridad en este alimento, adoptando medidas que permitan reducir o eliminar este tipo de anomalías o adulteraciones que repercutirán en un futuro en nuestra salud.

1.2.4 FORMULACION DEL PROBLEMA

Las industrias procesadoras y/o comercializadoras de leche tienen problemas de adulteración de leche con suero de quesería, dado que este no se percibe sensorialmente y que además tiene un menor precio que la leche. Esta práctica representa fraudes económicos para los consumidores y tiene un gran impacto desfavorable en sus procesos, así como en la calidad de sus productos.

Por lo que es necesario el desarrollo de un método de detección de suero de quesería, en leche pasteurizada mediante caseína y proteína, utilizando esta técnica que se acopla a los implementos existentes en el laboratorio, para obtener una información fidedigna, que permitirá dar a conocer a la sociedad de este problema.

1.2.5 PREGUNTAS DIRECTRICES

- ¿Se detectara la adulteración de la leche con suero de quesería?
- ¿En qué proporciones bajara la concentración de proteína por la adición de suero?
- ¿Se logrará determinar la adulteración de la leche con este método?.
- ¿El método de cuantificación a utilizar servirá como referente para determinación de suero de quesería en leche pasteurizada?.

1.2.6 DELIMITACION

Campo Científico: Bioquímica

Área: Lácteo

Sub área: leche

Sector: control de calidad

Sub – sector: adulteración de leche

Ubicación de la Investigación

Temporal: Marzo 2012- Abril 2014

Espacial: Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Laboratorios de LACONAL.

1.3 JUSTIFICACION

Es importante aportar un nuevo método para detectar la adulteración de la leche pasteurizada con suero de quesería. La leche es un producto de mucha aceptación a nivel de consumidores en todo el mundo debido a su gran valor nutricional y a que tiene muchas formas de industrialización.

Una forma de enfrentar esta situación es mediante un control que exija la declaración correcta de la cantidad de suero añadida a leches y su expendio con otra denominación como puede ser producto lácteo.

Existe un gran interés en el desarrollo y estandarización de métodos cuantitativos que permitan detectar las adulteraciones con estas fracciones lácteas. En el país no se conocen métodos estandarizados y reconocidos o aceptados para cuantificar la adición de suero a la leche, por ello se vuelve una necesidad imperiosa que exista un método probado para detectar la adición de suero y cuantificarlo.

Los métodos analíticos habituales no permiten la caracterización de la leche y los quesos respecto al proceso tecnológico seguido en su elaboración, lo que hace necesaria la búsqueda de nuevos procedimientos para evaluar estos parámetros.

Este trabajo permitirá desarrollar y aplicar un método capaz de detectar adiciones de suero en la leche. Se tomara en cuenta varios parámetros de control, garantizando el cumplimiento de los derechos ciudadanos relacionados con la seguridad, la protección del consumidor.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

- Estandarizar un método químico para cuantificar el contenido de suero de quesería en leche pasteurizada mediante la correlación de caseína y proteína sérica.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Preparar muestras de leche adulteradas con suero de quesería en varios niveles de adición de suero.

- Determinar el contenido de proteína total y caseína en las muestras de leche adulteradas.
- Desarrollar una curva de correlación entre el contenido de proteína total y caseína, para los diferentes niveles de adulteración de la leche con el suero.
- Cuantificar el método químico para la detección de suero de quesería en leche pasteurizada, utilizando ecuaciones polinómicas de segundo grado.
- Sugerir un método químico para cuantificar el contenido de suero de quesería en la leche pasteurizada como un análisis adicional en el Laboratorio de Análisis y Control LACONAL.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La Norma ecuatoriana NTE INEN 3 define a la leche como: “El producto íntegro, sin adición y sustracción alguna, exento de calostro, y obtenido por el ordeño higiénico completo e ininterrumpido de vacas sanas y bien alimentadas”. La composición detallada de la leche no difiere sólo de una especie animal a otra sino que tiene un amplio margen de variación, dentro de la especie, e incluso entre individuos de una raza de una misma especie.

Para conservar la leche y mejorar sus características organolépticas se hace necesario transformarla en derivados. Algunos de estos productos, por el hecho de contener menor humedad y mayor acidez, como el queso, se conservan mucho más tiempo que la leche.

La leche es un producto alimenticio de gran importancia por sus propiedades nutritivas y alto valor biológico. En Ecuador se producen aproximadamente 250 mil litros de leche diarios, los cuales se destinan a la elaboración de diferentes productos lácteos, entre ellos la leche pasteurizada, leche en polvo, quesos y otros productos lácteos que forman parte de la dieta de los ecuatorianos.

El consumo extensivo de la leche y productos lácteos hace que estos alimentos estén sometidos a posibles adulteraciones con ganancias financieras para los productores sin escrúpulos. Estas prácticas deben ser detectadas, ya que pueden repercutir negativamente en la calidad del producto, etiquetado e incluso la salud.

Hasta ahora se han desarrollado varios métodos para detectar la adulteración de la leche por agregado de suero, diferenciándose por diversas técnicas, por lo cual este trabajo de investigación está enfocado al desarrollo de procesos de análisis acoplándonos a los materiales del laboratorio existentes.(Gutiérrez J.,2007)

2.1 FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA

2.1.1 La Leche de Vaca

La leche de vaca está formada por glóbulos de grasa suspendidos en una solución que contiene el azúcar de la leche la lactosa, proteínas, fundamentalmente la caseína y sales de calcio, fósforo, cloro, sodio, potasio y azufre. No obstante es deficiente en hierro y es inadecuada como fuente de vitamina C.

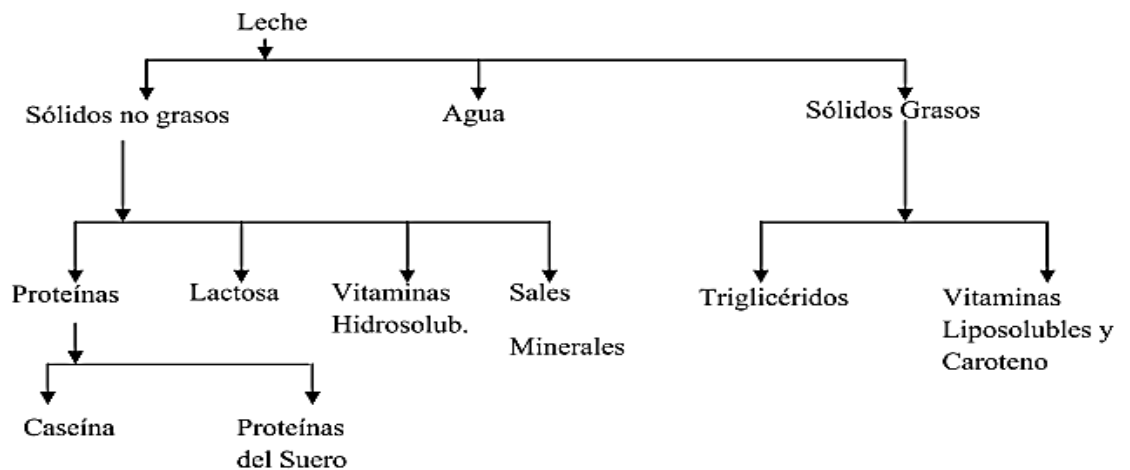
La leche con una composición normal posee una densidad específica que normalmente varía de 1,023 a 1,040 g/ml (a 20°C) y un punto de congelamiento que varía de -0,518 a -0,543°C. Cualquier alteración, puede ser fácilmente identificada debido a que las características de la leche no se encontrarán más en el rango normal.

El componente principal de la leche es el agua, pero dependiendo de la especie, contiene cantidades que varían de lípidos, proteínas y carbohidratos que se sintetizan dentro de la glándula mamaria. También se encuentran presentes en cantidades más pequeñas, minerales y otros componentes solubles en la grasa y en el agua, derivados directamente

del plasma, de proteínas específicas de la sangre y de intermedios de la síntesis mamaria.

La leche animal se compone principalmente de agua (80 - 90%). La grasa de la leche se encuentra en emulsión y se encuentra distribuido en el líquido a manera de glóbulos minúsculos que pueden unirse unos a otros formando una capa de crema, cuando la leche fresca se deja en reposo. El aspecto lechoso característico de la leche se debe principalmente a las proteínas y sales de calcio disueltas en ella, el color amarillo de la crema se debe a la presencia de caroteno, un pigmento amarillo anaranjado que se convierte en vitamina A (retinol) en el organismo. (Salvador y L.,2009)

Grafico # 2 Componentes de la leche



Fuente: De la Torre, 2003.

2.1.2 Propiedades físicas de la leche de vaca

La leche al igual que otras sustancias, es un líquido blanco amarillento, con propiedades físicas muy importantes como: color, olor, sabor, densidad, punto de ebullición y otras que determinan su calidad y que permiten juzgarla como buena o mala.

2.1.2.1 Aspecto

La coloración de una leche fresca es blanca porcelana, cuando es muy rica en grasa, presenta una coloración ligeramente amarillenta, debido a la riboflavina y los carotenoides componentes de la grasa de la leche de vaca. La leche pobre en grasa o descremada presenta ligeramente un tono azulado. (Keating P., 1992)

2.1.2.2 Color

Normalmente es blanco mate. Este tono de la leche entera se debe a la dispersión del espectro de luz por la presencia de los glóbulos de grasa. La homogenización de la leche puede hacer parecer al producto más blanco, mientras que el agrupamiento o enracimado de los glóbulos de grasa podrían hacer decrecer la blancura. Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento. (Normas NTE INEN 4,2012)

2.1.2.3 Aroma

Es la mezcla sentida por el gusto y el olfato. Normalmente la leche fresca es de gusto dulce ligeramente azucarado y untuoso, el olor nos recuerda a la vaca o al establo. Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños. (Normas NTE INEN 4,2012)

2.1.2.4 Sabor

La leche fresca y limpia tiene un sabor medio dulce y neutro por la lactosa que contiene y adquiere por contacto, fácilmente sabores a ensilaje, establo, hierba, etcétera. (Keating P., 1992)

2.1.2.5 Consistencia

La leche es líquida, parece homogénea, pero en realidad, es una emulsión de materia de grasa en una solución acuosa que contiene varios solutos, unos en estado coloidal y otros disueltos. (Keating P., 1992)

2.1.2.6 Densidad

La densidad es el peso por unidad de volumen y es el promedio de las densidades de sus componentes individuales, del grado de hidratación de las proteínas y del volumen específico del sistema leche - grasa. La densidad promedio de la leche normal a 15 °C se encuentra entre 1,030-1,034 g/cm³. (Normas NTE INEN 4,2012)

2.1.2.7 Punto de congelación o punto crioscópico

Es un valor constante igual a - 0,55 °C, inferior al punto de congelación del agua, debido a la presencia de los sólidos disueltos de la leche, una disminución o aumento de la concentración de la solución influirá en este valor. (Keating P., 1992)

2.1.2.8 Acidez

La acidez de la leche aumenta muy rápido bajo la influencia de los fermentos lácticos, los cuales transforman la lactosa en ácido láctico, este ácido no existe en la leche sana y fresca, pero se produce muy rápido en una leche mantenida a una temperatura favorable y por la contaminación de los microorganismos. La acidez de la leche oscila entre 0,15 a 0,16 %, los valores menores de 0,15 pueden ser debidos a leches mastíticas, aguadas, o bien alteradas con algún producto químico alcalinizante. El pH de la leche varía de 6.6 – 6.7, siendo ligeramente ácido. (Keating P., 1992)

2.1.3 Propiedades químicas de la leche de vaca

2.1.3.1 Agua

En todos los animales, el agua es el nutriente requerido en mayor cantidad y la leche suministra una gran cantidad de agua, conteniendo aproximadamente 90% de la misma. La cantidad de agua en la leche es

regulada por la lactosa que se sintetiza en las células secretoras de la glándula mamaria. El agua que va en la leche es transportada a la glándula mamaria por la corriente circulatoria. La producción de leche es afectada rápidamente por una disminución de agua y cae el mismo día que su suministro es limitado o no se encuentra disponible. Esta es una de las razones por las que la vaca debe de tener libre acceso a una fuente de agua abundante todo el tiempo. (Keating P., 1992)

2.1.3.2 Grasa

La grasa constituye desde el 3,5 hasta el 6,0% de la leche, variando entre razas de vacas y con las prácticas de alimentación. Una ración demasiado rica en concentrados que no estimula la rumia en la vaca, puede resultar en una caída en el porcentaje de grasa (2,0 a 2,5%). La grasa se encuentra presente en pequeños glóbulos suspendidos en agua, cada glóbulo se encuentra rodeado de una capa de fosfolípidos, que evitan que los glóbulos se aglutinen entre sí repeliendo otros glóbulos de grasa y atrayendo agua. Siempre que esta estructura se encuentre intacta, la leche permanece como una emulsión. La mayoría de los glóbulos de grasa se encuentran en la forma de triglicéridos formados por la unión de glicerol con ácidos grasos.

Las proporciones de ácidos grasos de diferente largo determina el punto de fusión de la grasa y por lo tanto la consistencia a la mantequilla que deriva de ella. La grasa de la leche contiene principalmente ácidos grasos de cadena corta (cadenas de menos de ocho átomos de carbono) producidos de unidades de ácido acético derivadas de la fermentación ruminal.

Esta es una característica única de la grasa de la leche comparada con otras clases de grasas animales y vegetales. Los ácidos grasos de cadena larga en la leche son principalmente los insaturados (deficientes

en hidrógeno), siendo los predominantes el oleico (cadena de 18 carbonos), y los polinsaturados linoleico. (Walstra P., 1984)

2.1.3.3 Hidratos de carbono

El principal carbohidrato en la leche es la lactosa. A pesar que es una azúcar, la lactosa no se percibe por el sabor dulce. La concentración de la lactosa en la leche es relativamente constante y promedia alrededor de 5%(4.8%-5.2%), la leche en polvo desnatada contiene un 52% y el lactosuero en polvo un 70%. La concentración de lactosa es similar en todas las razas lecheras y no puede alterarse fácilmente con prácticas de alimentación. (Walstra P.,1984)

2.1.3.4 Enzimas de la leche

Las enzimas o diastasas son biocatalizadores secretados por las células vivas. Muchas de las enzimas de la leche se inactivan en la pasteurización, por lo que se pueden utilizar como indicadores de los tratamientos térmicos. La mayor parte de las enzimas de la leche son hidrolasas, deshidrogenasas y oxigenasas. (Walstra P.,1984)

2.1.3.5 Sales de la leche

Las sales de la leche son fosfatos, cloruros y citratos de potasio, sodio, calcio y magnesio, la cantidad de sales presentes en la misma no es constante. Los cloruros de sodio y los de potasio están totalmente ionizados, mientras que los fosfatos de calcio, magnesio y citrato están, una parte en forma soluble y otra en forma de complejos coloidales en equilibrio, muy débil, con el complejo caseína. (Ortiz M., 1994) Las sales de potasio y calcio son las más abundantes en la leche. La cantidad de sales presentes en la misma no es constante. El calcio junto con la caseína, son los responsables de la coagulación de la leche mediante el cuajo. (Amiot J., 1991)

La composición química concreta de la leche depende del animal que la produzca. La composición química porcentual de la leche:

Tabla # 1 Composición química de la leche

COMPONENTE	Leche de vaca
Agua	87 %
Lactosa g/100ml	4,90
Proteínas totales g/100ml	3.3
Nitrógeno total mg/100ml	550
Caseína g/100ml	2,90
Lactoalbúmina g/100ml	0.11
Lactoglobulina g/100ml	0,36
Grasa total g/100ml	3,8
Calcio mg/100ml	125
Fósforo mg/100ml	96

Elaborado por : Fernanda Núñez

2.1.3.6 Microbiología de la leche

La leche debido a su compleja composición bioquímica y por su alto contenido de agua, es un buen sustrato para los microorganismos saprófitos y también para los patógenos que la utilizan como sustrato para su reproducción.

La actividad de las bacterias saprófitas prácticamente no tiene influencia sobre la salud, pero son indicadoras de:

- la higiene en el ordeño, y la posterior conservación de la leche.

Entre la flora bacteriana existente en:

- la leche cruda,
- leche pasteurizada, y
- productos lácteos hay importantes diferencias. Intervienen muchas variables y el tipo de bacterias y la contaminación de productos alimenticios dependen de:

1. Los microorganismos pueden producir cambios deseables en las características físico químicas de la leche durante la elaboración de diversos productos lácteos.
2. Los productos lácteos y la leche pueden contaminarse con microorganismos patógenos o sus toxinas y provocar enfermedad en el consumidor.
3. Los microorganismos pueden causar alteraciones de la leche y productos lácteos afectando la calidad de sus subproductos. (Olieman C.,1995)

2.1.4 Composición Proteica de la leche

Debido a que las proteínas son el principal constituyente de los órganos y estructuras blandas del cuerpo animal, se requiere de una provisión abundante y continúa de ellas en el alimento durante toda la vida para crecimiento y reposición. Las proteínas contienen Carbono, Hidrógeno y Oxígeno, además de un porcentaje constante y considerable de Nitrógeno. La mayoría de las proteínas contiene también Azufre y algunas tienen Hierro y Fósforo. Las proteínas son polímeros de aminoácidos, los que varían en cuanto a cantidad y tipo entre proteína y proteína.

Se considera que existen dos tipos fundamentales de proteínas lácteas. Una cantidad relativamente pequeña se halla adsorbida en la película que rodea a los glóbulos grasos, se denominan proteínas de la membrana del glóbulo de grasa, no se conocen muy bien la naturaleza de estas proteínas pero parece ser que algunas actividades enzimáticas de la leche se hallan localizadas allí. La eliminación de esta película suele dar lugar a la aparición de grasa libre, capaz de alterar las características de solubilidad de la leche en polvo.

La mayor parte de las proteínas lácteas son retenidas en la leche descremada tras la separación de los glóbulos grasos

Las proteínas son el alimento más importante de la leche y una parte esencial de nuestra dieta. Están presentes como solución en la leche, y las proteínas que consumimos se rompen en compuestos más simples en el sistema digestivo y el hígado.

Las proteínas son el alimento más importante de la leche y una parte esencial de nuestra dieta. Están presentes como solución en la leche, y las proteínas que consumimos se rompen en compuestos más simples en el sistema digestivo y el hígado. Entonces estos compuestos se transportan a las células del cuerpo, donde se utilizan como material de construcción para construir la propia proteína del cuerpo. Ciertas proteínas activas, las enzimas, controlan a la gran mayoría de las reacciones químicas que ocurren en un organismo.

Las proteínas son moléculas gigantes acumuladas de unidades más pequeñas llamadas los aminoácidos, y una molécula de proteína consiste en una o más cadenas entrelazadas de aminoácidos. (Olieman C., 1995).

Tabla # 2 Concentración de proteína en leche

Componente	Conc. en leche g / Kg	% del total de proteína w / w
Caseína		
α1-caseína	10.0	30.6
α2-caseína	2.6	8.0
β caseína	10.1	30.8
κ-caseína	3.3	10.1
Caseína Total	26.0	79.5
Proteína del suero		
α- lactoalbúmina	1.2	3.7
β- lactoglobulina	3.2	9.8
Albumina del suero sanguíneo	0.4	1.2
Inmunoglobulinas	0.7	2.1
Misceláneos	0.8	2.4
Proteínas del suero totales	6.3	19.3
Proteína del glóbulo de grasa	0.4	1.2

Elaborado por: Olieman C. y van Riel, J.A.M, (1995)

La composición de la leche y las características de sus constituyentes son bien conocidas. Esta composición determina su calidad nutritiva, su valor como materia prima para la elaboración de alimentos y muchas de sus propiedades. Además de carbohidratos, lípidos, agua, vitaminas y sales minerales, la leche contiene proteínas en una proporción de 30 a 35g/litro, constituyendo ésta la fracción más compleja. Dentro de esta fracción pueden distinguirse las caseínas, que son un grupo de proteínas específicas de la leche, que contienen fosfato y son insolubles a pH 4.6 y 20° C, y las proteínas de suero, que permanecen en disolución al citado pH. Además, existen las denominadas proteínas menores y las enzimas, que aunque son despreciables en peso, tienen una actividad importante. (Walstra y Jenness., 1984)

Tabla # 3 Contenido de Proteínas de la Leche de Vaca

Contenido total en proteínas	32/33g/lt
Contenido en caseínas	25/30g/lt
Contenido Prot. Sericas	5/6.5 g/lt

Elaborado por: Fernanda Núñez

2.1.5 Caseínas

Con este nombre se conocen al grupo predominante de las proteínas presentes en la leche. Las proteínas de la leche consisten de 80 % de caseína, que alternadamente se compone de un número de componentes que juntos forman partículas o micelas complejas. Por acción del cuajo o ácidos precipita, produciendo una masa coagulada llamada cuajada, que

además de caseína, arrastra grasa, agua y algunas sales. Esta masa coagulada es la que después de prensada, salada y madurada se convertirá en el queso que todos conocen, de ahí que la palabra caseína derive de la palabra latina caesus, que quiere decir queso. La caseína es una fosfoproteína, conteniendo, en su molécula, ácido fosfórico. Cuando el pH de la leche, está alrededor de 6.6, la caseína está presente como caseinato de calcio, a su vez la acidez de la leche se incrementa, por acción de la adición de ácido o por acidificación natural, el ácido remueve el calcio y el fosfato del caseinato de calcio, transformándolo en caseína. La caseína se coagula cuando el pH desciende a 5.2 y es menos soluble en su punto izoeléctrico (pH4.6). La coagulación se reconoce por la formación de la cuajada. (Recio I., 1996)

La caseína precipitada puede tornarse nuevamente soluble por la adición de calcio o una base, por el cambio del PH más allá del punto isoeléctrico. De hecho la caseína se purifica por su precipitación con ácido y disolución con bases por varias veces. A pesar que la caseína no se coagula comúnmente en el hervido, podrá haber coagulación, si la leche estuviera ligeramente ácida o si se emplean temperaturas elevadas. Así la leche fresca ligeramente ácida tiene tendencia a coagular. La coagulación por el calor constituye un problema en la fabricación de leche evaporada. A pesar que se considera comúnmente la caseína como una proteína simple, en realidad es una mezcla de proteínas como se demuestra por electroforesis. Por este método se estudia el movimiento de las proteínas en un campo eléctrico. Así se demuestra que la caseína está en realidad conformada por tres componentes: caseínas α , β y δ , cada una se mueve a una velocidad diferente en el campo eléctrico. De las tres, la caseína α es la más importante, comprendiendo cerca de tres cuartos de la caseína total, la δ -caseína está presente en cantidad menor. (Ortiz M., 1994)

Tabla # 4 Principales constituyentes de la leche de vaca (g/100g de leche)

Agua	87.5
Grasas	3.8
Proteínas gr	3.3
Caseínas	2.6
Proteínas del suero	0.7
Lactosa gr	4.7
Calcio gr	0.12
Sólidos no grasos gr	8.7
Sólidos totales gr	12.5
Minerales gr	0.72
Energía Kcal	61

Realizado por: Fernanda Núñez

Aplicaciones de la caseína

La caseína generalmente se emplea en la industria para la fabricación de pinturas especiales y en la preparación de tejidos, clarificación de vino, elaboración de preparados farmacéuticos, la fabricación de plásticos (botonería, peines y mangos de utensilios), pinturas, la cual ha sido usada desde la antigüedad por los egipcios, pegamento en relojería, carpintería (recomendadas para maderas terciadas), papel, vidrio, porcelana. La caseína industrial se vende en grano, fino o grueso. La “harina de caseína”, está finamente molida.

2.1.6 Suero de Quesería

El suero es un subproducto resultante de la elaboración de quesos que se distingue por su elevado valor nutritivo. Sin embargo, grandes cantidades de este subproducto no se aprovechan adecuadamente, y muchas veces se vierten en los ríos aledaños a los centros productores,

como parte de los efluentes fabriles. La alta demanda biológica de oxígeno de estos desechos, estimada entre 30 y 50 mil partes por millón (ppm), los convierte en graves focos de contaminación ambiental.

El suero de queso es un sub producto integrado por compuestos valiosos, como por ejemplo, las proteínas séricas que poseen un gran valor biológico; en consecuencia su obtención y aprovechamiento oportuno revisten importancia para la economía de las industrias relacionadas.

El suero es la porción acuosa que se separa de la cuajada durante la elaboración convencional de queso o la manufactura de caseína. Constituye del 85 al 90% del volumen de la leche usada para la transformación a queso y retiene aproximadamente el 55 % de los nutrientes de la leche. (Codex.,1994)

Nutrientes del suero de leche

El suero, es un subproducto de la fabricación de queso fresco, aunque tiene un contenido proteico bajo, sus proteínas son de alto valor biológico (por su contenido en triptófano, lisina y aminoácidos azufrados), tienen una calidad igual a las del huevo y no son deficientes en ningún aminoácido. Además, el suero presenta una cantidad rica de minerales donde sobresale el potasio, seguido del calcio, fósforo, sodio y magnesio. Cuenta también con vitaminas del grupo B (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, cobalamina) y ácido ascórbico. Así mismo, posee lactosa, glúcido reductor, que por hidrólisis produce glucosa y galactosa, siendo esta última componente importante de los tejidos nerviosos. El suero de leche contiene hidratos de carbono en forma de lactosa o azúcar de leche. La lactosa es un disacárido compuesto de una molécula de glucosa y una molécula de galactosa.

Cien gramos de suero de leche líquido contienen 4,7 g de azúcar de leche. La lactosa es el componente principal del suero de leche y la que le confiere sus propiedades más importantes. Dado que el azúcar de leche como disacárido es fácilmente asimilable por el organismo, la lactosa constituye una buena fuente de energía. La proteína en los lactosueros

incluye la fracción denominada glicomacropéptido, que constituye aproximadamente el 4% de la caseína total y que pasa al lactosuero debido a la acción enzimática del cuajo o renina sobre la caseína. Esta fracción representa cerca del 13 % de la proteína total (N x 6.38) en un lactosuero típico. (Rosas R. 1998)

2.1.6.1 Proteínas del Suero

Aparte de las caseínas, la leche contiene proteínas del suero, siendo las más importantes la β -lactoglobulina, α lactoalbúmina, inmunoglobulinas y seroalbúminas. También se encuentran pequeñas cantidades de enzimas y proteínas asociadas al glóbulo graso.

Las proteínas son totalmente diferentes y por lo tanto tienen tipos totalmente diversas. En general, las proteínas del suero tienen valores alimenticios muy altos y se utilizan extensamente en el sector alimenticio. La proteína del suero también se llama suero proteína constituida por las albúminas y globulinas. (Ramadan A., 2005).

Las albúminas son solubles en agua y soluciones diluidas de sales neutras, en cuanto las globulinas son insolubles en agua pero si en las soluciones diluidas son sales neutras. Estas proteínas pueden ser precipitadas por la adición de ciertas sales y coaguladas por el calor, sin embargo ninguna es coagulada por la renina.

Las albúminas tienen un peso molecular de 17,000 y las globulinas de 69,000. Cuando se calienta la leche, las albúminas forman un precipitado floculento que se asienta en el fondo y paredes del recipiente.

La beta- lactoglobulina, es la principal proteína del suero (66%); la alfa- lactoalbumina compone cerca del 22% y las inmunoglobulinas comprenden cerca del 10% de las proteínas totales del suero. (Ramadan A., 2005).

2.1.6.2 Tipos de lactosueros

Los sueros lácteos, procedentes de quesería, se dividen en dos categorías: suero dulce y ácido.

Tabla # 5 Tipos de sueros

Constituyente	Suero dulce (%)	Suero acido(%)
Sólidos	6.4	6.5
Agua	93.6	93.5
Grasa	0.05	0.04
Proteína	0.55	0.55
NNP*	0.18	0.18
Lactosa	4.8	4.9
Sales minerales	0.5	0.8
Ca	0.043	0.12
P	0.04	0.065
Na	0.05	0.5
K	0.16	0.16
Cl	0.11	0.11
Acido láctico	0.05	0.4

*Nitrogeno no proteico

Fuente: Ronda,2000.

Sueros ácidos: se producen en su mayor parte en la fabricación de caseína, por la incorporación de un ácido que produce su coagulación, el ácido empleado suele ser el clorhídrico.

Los lacto-sueros de quesos más ácidos tienen mayor contenido de minerales que los lacto-sueros de quesos menos ácidos, esto tiene implicaciones importantes a la hora de procesar el lacto-suero para convertirlo en un requesón, en una bebida, o en otro alimento.

Sueros dulces: obtenidos por la elaboración de quesos de pasta prensada, utilizando para la coagulación cuajo. Presentan una acidez no muy elevada, comprendida entre 5 a 26° Dornic. (Fredeen A., 2003).

2.1.6.3 Desnaturalización de las proteínas.

Mientras que las proteínas se encuentran en un hábitat con la temperatura y el pH dentro de sus límites de tolerancia, mantienen todas sus funciones biológicas.

Pero si son sometidas a tratamientos térmicos severos, se altera su estructura, término que recibe el nombre de desnaturalización. El mismo fenómeno, ocurre cuando las proteínas son expuestas a la acción de ácidos o bases, a la radiación o a una agitación violenta. Las proteínas se desnaturalizan y pierden su solubilidad original.

Cuando las proteínas son desnaturalizadas cesa su actividad biológica.

La desnaturalización de las proteínas implica modificaciones en la estructura de la proteína que traen como resultado una alteración o desaparición de sus funciones. Este fenómeno puede producirse por una diversidad de factores, ya sean físicos cómo: el calor, las radiaciones ultravioleta, las altas presiones; o químicos cómo: ácidos, bases, sustancias con actividad detergente. Este fenómeno genera la ruptura de los enlaces disulfuro y los puentes de hidrogeno, generando la exposición de estos. Cuando la proteína es desnaturalizada pierde sus funciones cómo: viscosidad, velocidad de difusión y la facilidad con que se cristalizan. La reversibilidad de la desnaturalización, depende que tan fuertes sean los agentes que desnaturalizaron la proteína. Todo depende del grado de ruptura generado en los enlaces

2.1.6.4 Factores que influyen en la composición de la leche

Sobre la composición de la leche influyen factores nutricionales y factores no nutricionales.

2.1.6.4.1 Factores no nutricionales

a. Raza

Existen notables diferencias entre razas con relación a los componentes mayores de la leche, donde se distingue la raza Holstein con niveles de sólidos más bajos si se compara con otras razas como la Jersey, que registra la mayor composición.

La raza constituye hoy uno de los factores más relevantes a considerar en la composición de la leche, puesto que la grasa y proteína lácteas son caracteres genéticos con alta heredabilidad. (Douglas Jr., 1982)

b. Nivel de producción

Los rendimientos en grasa, proteína, sólidos no grasos y sólidos totales son altos y positivamente correlacionados con la producción de leche. Sin embargo los valores porcentuales de los mismos en la composición de la leche disminuyen en la misma proporción.

El concepto del rendimiento de los componentes lácteos contra la composición de la leche se puede ilustrar comparando diferentes producciones de leche con una composición en proteína similar. Si la producción o rendimiento por vaca se incrementa de 29,5 a 31,8 Kg. mientras la composición de la proteína permanece constante en 3.1 por ciento, se alcanzan incrementos de 0.07 Kg. más de proteína por día. Si el porcentaje de la proteína aumenta de 3.1 a 3.2 por ciento mientras que la producción por vaca se mantiene a 29, 5 Kg, los aumentos de la producción o rendimiento de la proteína por sólo 0.03 Kg por vaca por día. (Douglas Jr., 1982)

c. Estado de la lactación

El curso de la lactancia, no solo afecta la producción de leche, sino también la composición. Normalmente, un aumento en el rendimiento de leche es seguido por una disminución en los porcentajes de grasa y proteína en leche mientras los rendimientos de estos componentes permanecen igual o en aumento.

Los cambios en los rendimientos productivos durante el ciclo de lactancia, influyen de manera inversa a la composición. Generalmente, en el primer tercio de la lactación y concomitante con el pico de lactancia, se registran las menores concentraciones de grasa, proteína y sólidos de la leche, situación que se invierte al final de la lactancia. (Douglas Jr., 1982)

d. Salud de la ubre

La mastitis es la enfermedad que más afecta la producción y la composición de la leche y por ello ha sido ampliamente estudiada. Los cambios que ocurren en la composición de la leche con niveles altos de células somáticas, provocan una reducción en el contenido de grasa y caseína y un aumento en el contenido de suero de leche.

Estos cambios en las proteínas de leche, en unión con modificaciones en la lactosa, el contenido del mineral y pH de leche, tienen como resultado bajos rendimientos en la producción de queso y alteraciones en las propiedades y en la aptitud industrial de esa leche. (Dubash J.,2004).

e. Época del año.

Los porcentajes de grasa y de proteína son más altos durante el invierno y más bajos durante el verano. Esta variación está relacionada con cambios en la disponibilidad y calidad de los alimentos y las condiciones climáticas. Durante el verano los pastos son bajos en fibra y se deprimen los niveles de grasa en la leche. Además la alta temperatura y humedad relativa, disminuyen los niveles de consumo. Durante el invierno disminuye la disponibilidad y la calidad de los alimentos (pastos y

forrajes), por lo que aumentan los niveles de grasa en leche, pero disminuye la producción de leche.

Los factores ambientales en la mayoría de los casos influyen directamente en el nivel de consumo de los animales dando como resultados variaciones significativas en la producción de leche y en la composición. (Dubash J.,2004).

2.1.6.4.2 Influencias nutricionales.

Del conjunto de alteraciones en las características físico-químicas de la leche, la concentración de grasa es la que resulta más sensible a cambios nutricionales y puede variar casi 3.0 unidades porcentuales. Los efectos que tiene la alimentación sobre la concentración de la proteína láctea pueden producir cambios hasta de 0.60 unidades porcentuales. (Fredeen A., 2003)

Las concentraciones de la lactosa y minerales, no responden previsiblemente a ajustes en la dieta y tampoco se han reportado efectos sensibles sobre el pH, la acidez y el peso específico de la leche. (Dubash J.,2004).

a. Nivel de alimentación.

Las vacas con bajos niveles de alimentación reducen la producción de leche y el porcentaje de lactosa solo dentro de ciertos límites, sin embargo se producen aumentos en el porcentaje de grasa láctea. Por regla general, cualquier ración que aumenta la producción de leche reduce generalmente el porcentaje de grasa en la leche.

Durante el primer tercio de la lactación, las demandas nutricionales de la vaca lechera, son mayores que la capacidad física de cubrir dichas demandas y ocurre un proceso de balance energético negativo. (Fredeen A., 2003)

b. Enfermedades metabólicas.

Los rebaños lecheros de alta producción deben contar con un adecuado balance de nutrientes, especialmente en los períodos de mayores necesidades nutricionales, que se corresponden con el inicio de la lactación. En el período inicial, la vaca llega al nivel máximo de producción y a su vez el consumo voluntario se deprime, además los aportes de la dieta no logran cubrir los elevados requerimientos metabólicos, debiendo movilizar sus reservas corporales para compensar esta situación. (Fredeen A., 2003).

2.1.7 Minerales Cenizas y Sales

La leche contiene un número de minerales, con una concentración total menor al 1%, prácticamente todos los minerales del suelo, de donde se ha alimentado la vaca, están presentes en la leche. De los minerales presentes en la leche, el calcio es el más significativo desde el punto de vista nutricional, está presente en forma abundante y fácilmente asimilable por el organismo.

Estudios dietéticos han mostrado que las deficiencias de calcio en nuestras dietas son debidas al bajo consumo de leche. Se torna difícil planear una dieta adecuada sin el uso de productos lácteos. El fósforo también es considerable en la leche pero de menor importancia nutritiva que el calcio ya que puede ser proveído por otras fuentes alimentarias comunes. (Fredeen A., 2003).

Las cenizas y sales de la leche no son términos sinónimos, las primeras son el residuo blanco que permanece después de la incineración de la leche a 600°C y están compuestas por óxidos de sodio, potasio, calcio, hierro, fósforo y azufre, más algo de cloruro. El azufre y fracciones de fósforo y hierro, proceden de las proteínas.

Las sales de la leche son fosfatos, cloruros y citratos de potasio, sodio, calcio y magnesio. Los cloruros de sodio y los de potasio están totalmente ionizados, mientras que los fosfatos de calcio, magnesio y citrato están,

una parte en forma soluble y otra en forma de complejos coloidales en equilibrio, muy débil, con el complejo caseína.

Aproximadamente dos tercios del contenido total de calcio de la leche adoptan una configuración coloidal dispersa y solo un décimo de él se encuentra ionizado. El estado de equilibrio entre el calcio iónico y las formas ligadas o en complejos desempeña un papel importante en la estabilidad física de los productos lácteos elaborados. Por acidificación, se ioniza más calcio y ello contribuye a la desestabilización de la caseína. (Douglas J., 1982).

2.1.8 Vitaminas

Las vitaminas son sustancias orgánicas que se producen en concentraciones muy pequeñas en plantas y animales. Las vitaminas dan a la leche su gusto y son esenciales para los procesos normales de la vida. La leche contiene muchas vitaminas, entre las más conocidas figuran la A, B1, B2, C y D. De estas las vitaminas A y D son liposolubles y el resto hidrosolubles, es preponderantemente rica en riboflavina, es una buena fuente de Vit. A y tiamina, sin embargo es pobre en niacina y ácido ascórbico. (Fredeen A., 2003)

En la leche, los niveles de Vit. A y el de su precursor, el caroteno, están propensos a ser más elevados en el verano, cuando la vaca lo consume abundantemente debido a su alimentación más verde que en el invierno.

Las diferentes razas varían en su capacidad para transformar el caroteno en Vit. A. Como la Vit. A es liposoluble, se presenta en los productos lácteos en razón a su tenor de grasa. La leche contiene más Vit. D en verano que en invierno, debido a la mayor alimentación verde y al incremento de luz solar. Estas variaciones estacionales son corregidas en algunos países por la adición de vitamina D. Las vitaminas hidrosolubles están presentes en todas las formas de crema y leches. . (Fredeen A., 2003)

2.1.9 Punto de congelación y Ph

El punto de congelación de la leche fluctúa entre -0.54 y -0.59 °C, el cual depende del contenido en lactosa, proteínas y sales minerales. El punto de congelación baja por la presencia de estas sustancias en agua. El pH de la leche varía de 6.6 – 6.7, siendo ligeramente ácido. Un indicador que se utiliza para medir la acidez titulable de la leche es la Fenolftaleína. (Olieman C., 1995).

2.1.10 FABRICACIÓN DEL QUESO

2.1.10.1 Pasteurización de la leche

La pasteurización consiste en calentar la leche a 63°C durante 30 minutos o 73°C durante 15 segundos (proceso continuo con pasteurizador de placas). El tratamiento de pasteurización se aplica para destruir, al menos en parte, la flora indeseable de la leche que puede producir defectos en el queso. De esta forma las fermentaciones se desarrollan de manera menos irregular y más fácil de controlar y se puede obtener un producto de calidad uniforme.

2.1.10.2. La coagulación

Para coagular la leche destinada a la elaboración de queso se utilizan dos métodos: la acidificación y la adición de cuajo, que dan lugar a dos tipos de cuajada, llamadas ácido y enzimático. Estas cuajadas tienen propiedades y comportamientos muy distintos y las diferencias entre los tipos son la base de la tecnología utilizada para fabricar las distintas variedades de queso y determinan las características individuales de cada una de ellas.

En la industria quesera el método que más se utiliza es la coagulación enzimática de la leche. Consiste en añadir a la leche una enzima que tiene la propiedad de hidrolizar el complejo caseína. (Douglas et al, 1982).

2.1.10.3 Formación de la cuajada

Es la solidificación de la leche debido a la precipitación de la caseína, la cual encierra la mayor parte de la grasa y una gran cantidad de agua. La cuajada tiene la apariencia de una gelatina de color blanco y se forma al cabo de 30 minutos después de haber echado el cuajo. (Douglas et al, 1982).

2.1.10.4 Corte de la cuajada

Es la división del coágulo de caseína, por medio de la lira. El corte tiene por objeto transformar la masa de cuajada en granos de un tamaño determinado, para dejar escapar el suero. El tamaño de los granos de cuajada depende del contenido de agua que se desea en el queso. Para fabricar quesos blandos, los cuales contienen bastante agua, es necesario cortar el bloque de cuajada en granos grandes. Por el contrario para obtener quesos duros, con poca agua en el interior de la masa, los granos deben ser muy pequeños. El corte de la cuajada debe ser hecho con mucha delicadeza, pues de otro modo habrán muchas pérdidas por pulverización de los granos y por la salida de grasa, la cual puede pasar al suero, cambiara su color verde amarillento casi transparente por una coloración blanquecina. Todo esto disminuirá el rendimiento en la conversión de leche a queso. (Douglas et al, 1982).

2.1.10.5 Batido de la cuajada

Es la agitación de los granos de cuajada dentro del suero caliente, para que salga el suero que poseen en su interior. Conforme avanza el batido, el grano disminuye de volumen y aumenta su densidad, por la pérdida paulatina de suero. Debe tenerse en cuenta que la alta acidez y la alta

temperatura facilitan o estimulan la contracción del grano y la salida del suero. (Douglas et al, 1982).

2.1.10.6 Reposo y desuerado

Al finalizar el batido, se saca el agitador y los granos de cuajada se depositan rápidamente en el fondo en razón de su mayor peso. Después, se puede empezar a sacar parte del suero que ya no se lo necesita. (Douglas et al, 1982).

2.1.10.7 Lavado y salado de la cuajada

El lavado es la mezcla de los granos de cuajada con agua caliente, con el propósito de sacar el suero, cargado de lactosa y de ácido láctico, del interior de aquellos y reemplazarlo con el agua. De esta manera diluyendo la lactosa se detiene la acidificación de la cuajada e ingresa agua para conservar una consistencia blanda o semidura en el futuro queso. (Douglas et al, 1982).

2.1.10.8 Moldeado y prensado

El moldeado es la colocación de los granos de cuajada dentro de un molde, para dar forma al queso. El prensado debe ser muy suave al comienzo y después puede aumentarse la presión paulatinamente. Si el queso es sometido a una fuerte presión desde el comienzo, cuando aún tiene mucho suero, se produce una fuerte deshidratación en la parte exterior de la masa. Este desuerado desigual produce un queso con corteza muy dura, con una masa periférica reseca, que al cortarla se deshace como si fuera arena, y con una masa interior demasiado blanda y ácida. (Douglas et al, 1982).

2.1.10.9 Salado del queso

La sal no se utiliza solamente como condimento: desempeña un papel técnico fundamental en la fabricación de queso facilitando el desuerado, es decir, la eliminación del agua libre; también contribuye a la formación de una corteza que es, en algunas variedades de queso, más gruesas que en otras.

El principal efecto de la sal es controlar la maduración actuando como un agente de conservación selectivo. Inhibiendo el desarrollo de algunas bacterias indeseables impidiendo así la aparición de defectos del aroma. (Dubach J., 2004).

2.1.10.10 Maduración del queso

La maduración es la transformación, por la acción de los microbios, de la cuajada ácida y sin olor, en una masa de sabor agradable y aroma característico, propia del queso maduro.

Durante este tiempo se produce la transformación bioquímica, gradual y más o menos acusada, de los componentes del queso. En este proceso se desarrolla el aroma y tienen lugar diversas modificaciones físicas. (Douglas et al, 1982).

2.1.11 Adulteración de la leche

La leche puede ser adulterada en forma voluntaria o involuntaria. En esencia, la adulteración se puede definir como algo que se agrega a la leche y que produce cambios en el volumen y/o en su composición química. Uno de los contaminantes más frecuentes es el agua.

2.1.11.1 Tipos de adulteraciones en la leche

- **Adulteración con agua**

Una de las prácticas fraudulentas más comunes en la producción e industria de la leche, es la adición de agua con el objetivo de aumentar su volumen. Este fraude 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 pueden aplicarse a la detección de agua adicionada a la leche, están basados en la medición de una propiedad física que varía proporcionalmente a la cantidad de agua adicionada al producto, 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.

- **Adulteración con azúcar**

Puesto que el glúcido predominante de la leche es la 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 con agua. La sacarosa es un disacárido compuesta por una molécula de fructosa más una de glucosa. En la leche pueden encontrarse moléculas de glucosa proveniente de la hidrólisis de lactosa, pero debe estar exente de fructosa; por lo tanto los métodos utilizados para detectar sacarosa se fundamentan en la determinación de la fructosa con la utilización de ciertos reactivos.

- **Adulteración con antibióticos**

Otro método de adulterar la leche son los antibióticos. Los métodos de detección de antibióticos son tan sensibles que basta que una vaca del rebaño haya sido tratada, para que sea detectado inmediatamente en el estanque. Las plantas lecheras exigen leche sin antibióticos ya que

al ser transformada en queso o yogurt estos no permitirán una maduración y por lo tanto, no es posible obtener un producto de calidad.

- **Adulteración con cloruros**

El contenido normal de cloruros en la leche es de 0.07 a 0.13% esta concentración aumenta en la leche mastíticas. Con frecuencia se encuentra aumentado en las 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 esta manera el punto de congelación no varía. Por esta razón es siempre recomendable que paralelamente a las determinaciones crioscópicas, se procede a medir el porcentaje de cloruros y/o azúcar para poder detectar esa posible adulteración. (Dubach J., 2004).

- **Enfermedades por leche adulterada**

Las enfermedades más comunes por el consumo de leche adulterada son problemas renales, pues no solo existe una contaminación con suero de quesería sino con melamina.

La melamina es rica en nitrógeno y es relativamente barata. Al sumarlo a leche diluida en agua, el químico hace que el valor de proteína parezca más alto de lo que en verdad es. Las pruebas estándar de control de calidad estiman los niveles de proteína midiendo el contenido de nitrógeno.

Existe poca información científica sobre los efectos del compuesto sobre los seres humanos. Los expertos médicos advierten, no obstante, que aún

si en las víctimas que desarrollaron cálculos renales por consumir la leche contaminada se eliminan las piedras, la melamina se cristalizaría en los conductos de los riñones y los bloquearía, lo que podría causar daño e incluso insuficiencia renal. (Rosas R.,1998).

2.1.12 Efecto curativo del suero

Manifiesta que las propiedades terapéuticas más importantes del suero son las siguientes:

- Estimulante del peristaltismo intestinal
- Regenera la flora intestinal
- Estimula y desintoxica el hígado
- Favorece la eliminación del exceso de líquido en los tejidos
- Activa la eliminación de toxinas por los riñones
- Mejora la asimilación de nutrientes
- Corrige el medio orgánico.

2.2 FUNDAMENTACION FILOSOFICA

Augusto Comte, citado por Gutierrez A. (1985), el investigador no puede salir de los límites del conocimiento “positivo”, la ciencia no puede alcanzar la esencia material tan solo describe los nexos externos entre los fenómenos observados, sin dilucidar las leyes que rigen su cambio.

Este estudio se puede entender que al realizar un método de detección de suero de leche en leche pasteurizada es una forma de enfoque para el control de la calidad del producto, para de esta manera tener un alimento inocuo, para que la leche tenga una composición y características físico químicas óptimas.

Es por ello que se hace indispensable una evaluación adecuada para la detección de adulteraciones de leche, con el propósito de plantear medidas correctivas en beneficio de la salud pública.

Para esta investigación se considerara el paradigma positivista también denominado paradigma cuantitativo, empírico analítico racionalista, ya que trata de predecir que algo va a suceder y luego verificarlo o comprobarlo, rigiéndose por las leyes que permiten explicar, predecir y controlar los fenómenos del mundo natural y pueden ser descubiertas y descritas por los investigadores con métodos adecuados, ya que se basa en la experiencia y es válido para todos los tiempos y lugares, con independencia de quien lo descubre.

2.3 FUNDAMENTACION LEGAL

Según NTE INEN 09, la leche fresca es un producto integro, sin adición ni sustracción alguna, exento el calostro, obtenido por ordeño higiénico, completo o ininterrumpido de vacas sanas y bien alimentadas. La leche pasteurizada según NTE INEN 10 es un producto lácteo sometido a un proceso térmico suficiente para asegurar la destrucción total de los gérmenes patógenos y toxicogénicos, sin modificación sensible de su naturaleza físico-químico, características biológicas y cualidades nutritivas. La leche deberá presentar aspecto normal, estar limpia, exenta de calostro, preservantes y materias extrañas a su naturaleza deberá, además obtenerse por ordeño higiénico, completo de vacas sanas y bien alimentadas.

Artículos de la Constitución de la República del Ecuador (46)

Art. 13.- Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales. El Estado ecuatoriano promoverá la soberanía alimentaria.

Art. 32.- La salud es un derecho que garantiza el Estado, cuya realización se vincula al ejercicio de otros derechos, entre ellos el derecho al agua, la alimentación, la educación, la cultura física, el trabajo, la seguridad social, los ambientes sanos y otros que sustentan el buen vivir.

El Estado garantizará este derecho mediante políticas económicas, sociales, culturales, educativas y ambientales; y el acceso permanente, oportuno y sin exclusión a programas, acciones y servicios de promoción y atención integral de salud, salud sexual y salud reproductiva. La prestación de los servicios de salud se regirá por los principios de equidad, universalidad, solidaridad, interculturalidad, calidad, eficiencia, eficacia, precaución y bioética, con enfoque de género y generacional.

La leche ensayada de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes, deberá cumplir con las especificaciones establecidas en la tabla.

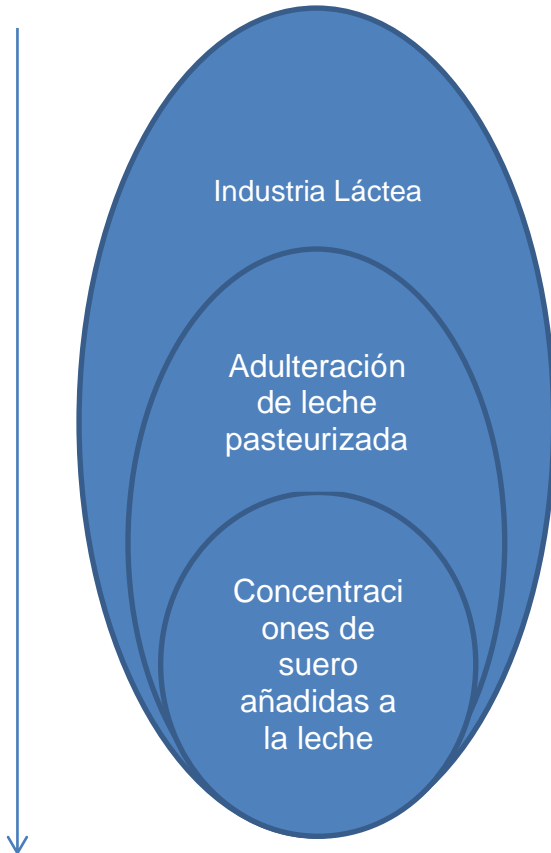
Tabla # 6 Especificaciones de la leche Pasteurizada

Requisitos	Unidad	Mínima	Máxima	Método de ensayo
Densidad relativa a 20 °C	-	1.028	1.031	INEN 011
Contenido de grasa	%	3.0	-	INEN 012
Acidez Titulable	%	0.13	0.16	INEN 013
Proteínas	%	2.9	-	INEN 016
Sólidos totales	%	11.3	-	INEN 014
Cenizas	%	0.65	0.80	INEN 014
Punto de Congelación	°C	-0.540	-0.512	INEN 015

Fuente: Norma INEN N.- 10 2003

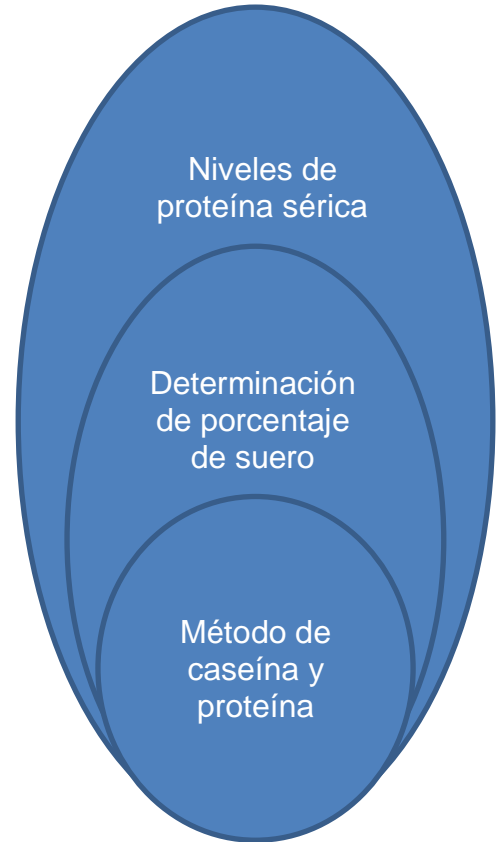
2.4 CATEGORIAS FUNDAMENTALES

Superordinación



Variable Independiente

Supraordinación



Variable Dependiente

Gráfico # 4: Inclusiones Conceptuales.

Elaborado por: Fernanda Núñez.

2.4.1 Variable Independiente Concentraciones de suero añadidas a la leche pasteurizada.

2.4.1.1 Calidad de leche cruda entera.

En nuestro medio, sin haber pruebas escritas o gráficas, se conoce que hay el riesgo de adulteración de materia prima por parte de los productores. Alteraciones que van desde agregación de agua no potable, hasta sustitución de algún componente con otro no apto para el consumo (sustitución de materia grasa propia de leche por manteca vegetal, carbonatos de calcio, óxidos de zinc, etc).

Esto por años se ha generado una problemática social, entre los consumidores que desean un producto de alta calidad a bajo precio y los productores que tratan de obtener más ingresos por el bajo precio de materia prima y alto costo que implica obtener la misma.

2.4.1.2. Calidad de leche cruda entera tratada.

Los problemas que se presentan cuando existen adulteraciones en materia prima, afectan a todos los estratos de procesamiento y conservación de leche.

En el caso de la tecnología de pulsos eléctricos el aumento de agua, por citar un ejemplo, provoca que la conductividad del medio aumente → la del microorganismo descienda, la resistividad del medio disminuya → la del microorganismo incremente, y en conjunto estos factores casi inutilizan la tecnología de pulsos eléctricos.

Una correcta y responsable obtención y manipulación de materia prima genera condiciones más favorables para el éxito de tecnologías de pulsación eléctrica.

2.4.1.3. Normas INEN de calidad microbiológica

En nuestro país, las normas INEN son los parámetros ineludibles que todo producto alimenticio debe tener para su aprobación hacia la venta pública y consumo humano.

2.4.2. Variable dependiente: Niveles de proteína sérica

Las proteínas séricas son proteínas globulares que se encuentran en el suero tras la acidificación de la leche a un pH 4.6, no intervienen en la formación de la cuajada, a estas proteínas se las detectan en el suero de quesería. Son solubles a pH bajos.

Las más importantes dentro de las proteínas séricas son las lactoalbumina y lactoglobulina, son solubles en agua y fácilmente precipitan en ácidos

Albúminas: son el 75% de las proteínas del suero y el 11% de las proteínas totales, solubles en presencia de SO_4Na_2 (Sulfato de sodio). Hay 3 tipos:

-lactoglobulina

-lactoalbumina

- seroalbuminas

Globulinas: 10-12% de las proteínas solubles, siendo una fracción heterogénea con actividad inmunológica significativa.

Proteosas-peptonas: son el 10 % de las proteínas solubles. Siendo un grupo muy heterogéneo.

2.5 HIPÓTESIS

2.5.1 Hipótesis Nula

H0: El método químico a desarrollar, no es el apropiado para la determinación de suero de quesería en leche pasteurizada, por lo tanto no se puede cuantificar con ecuaciones polinómicas.

2.5.2 Hipótesis Alternativa

H1: El método químico a desarrollar, será el apropiado para la determinación de suero de quesería en leche pasteurizada, por lo tanto se puede cuantificar con ecuaciones polinómicas.

2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES

La leche como producto procesado puede llegar al consumidor en diferentes presentaciones y en cualesquiera de ellas puede existir adulteración con diversos propósitos, uno de ellos obtener mayor rendimiento en el producto final, tal es el caso de la adición de suero de quesería; éste es la fase acuosa separada de la cuajada que resulta de la coagulación enzimática de la leche en el proceso de elaboración del queso; el lacto-suero representa del 80% al 90% del volumen total de la leche, casi 10% de grasa y de la totalidad de lactosa.

La leche es un producto de mucha aceptación a nivel de consumidores en todo el mundo debido a su gran valor nutricional y a que tiene muchas formas de industrialización. Por estas razones el sector lechero tiene gran importancia socioeconómica mundialmente, sin embargo industrias procesadoras y/o comercializadoras de leche tienen problemas de adulteración de leche con suero de quesería (SQ), dado que este no se percibe sensorialmente y que además tiene un menor precio que la leche. Esta práctica representa fraudes económicos para los consumidores y tiene un gran impacto desfavorable en sus procesos, así como en la calidad de sus productos.

Normalmente son pocas en realidad los análisis de este tipo, para detectar la adulteración de la leche que se realizan en el laboratorio, dado que, no existe una técnica validada, por lo que se pretende ejecutar un nuevo método de detección de adulteración de leche pasteurizada con

suero de quesería mediante proteína y caseína lo que se realizara en este tema de investigación.

2.6.1 Variables Independientes

Industria Láctea

Adulteración de leche Pasteurizada

Concentraciones de suero añadido a la leche

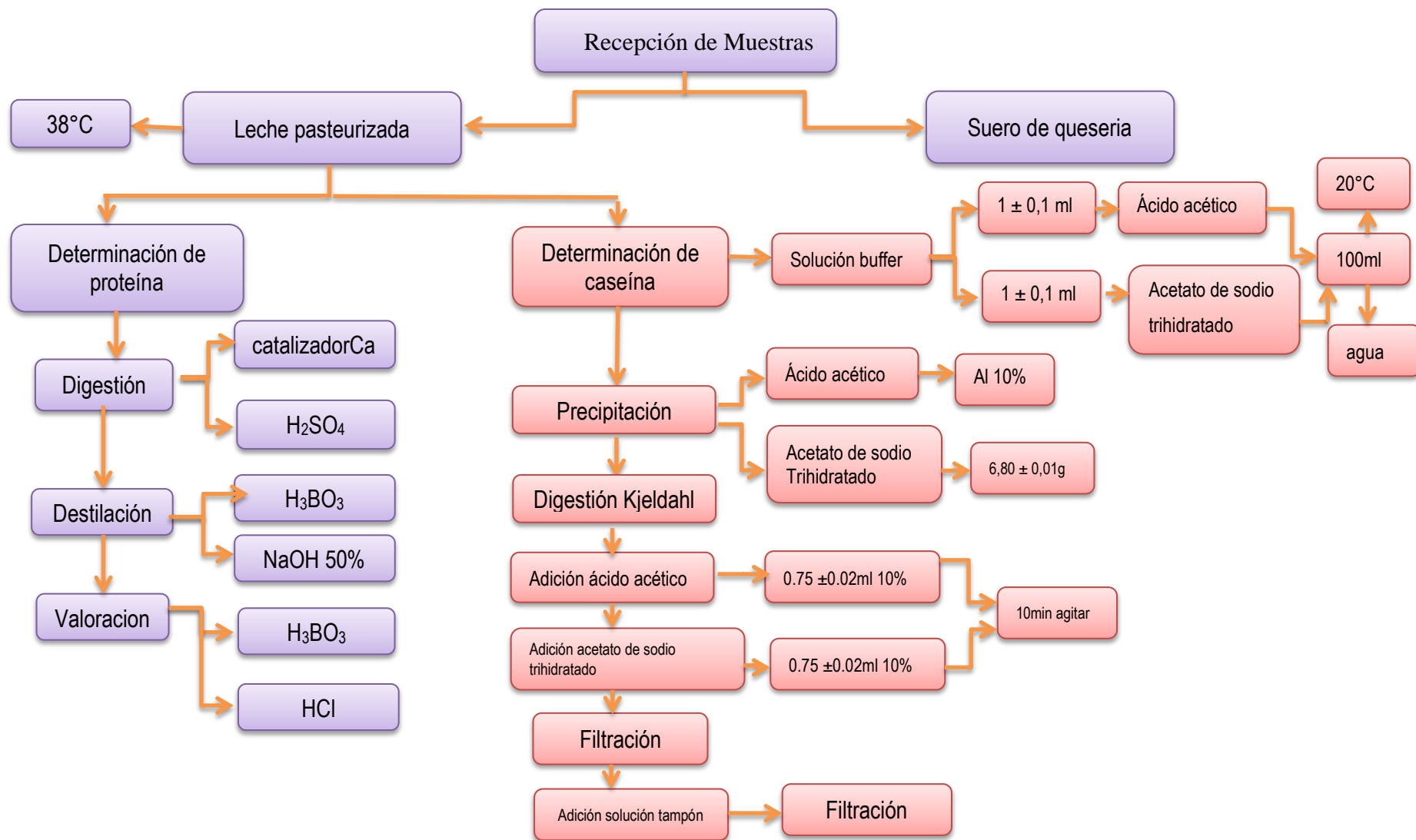
2.6.2 Variables Dependientes

Niveles de Proteína Sérica

Determinación de porcentaje de suero

Método de Caseína y proteína

2.7 Diagrama de Flujo de los Métodos utilizados:Rowland y Kjendahl



2.8 Metodología

El método para detectar la adulteración de leche pasteurizada con suero de quesería, se basa en la relación de la caseína y el nitrógeno proteico, determinados por el método Kjeldahl y el método de Rowland. Se analizaron 7 muestras de leche pasteurizada con suero de quesería proporcionadas por el Instituto Agropecuario Luis A. Martínez las mismas que tuvieron 6 replicas, cada muestra, lo que permitió mediante una curva estándar establecer el contenido de caseína relativa trazando contra el correspondiente porcentaje de suero.

Las muestras de leche fueron recolectadas semanalmente, al igual que el suero de quesería, también proporcionado por el Instituto Agropecuario Luis A. Martínez, los cuales fueron almacenadas a 4°C en una refrigeradora y se evaluó su acidez diariamente. Al igual que la leche, el suero de quesería se pasteurizó a 63°C por 30 min, el mismo que duró 5 días. De todas las semanas ninguna muestra de leche como de suero registro acidez alta.

La temperatura con la que trabajamos fue de 19°C promedio de las semanas trabajadas en el laboratorio.

El nitrógeno fue determinado por el procedimiento de digestión Kjeldahl.

Determinación de caseína

En las muestras de leche pasteurizada y el suero nitrógeno caseinico (Ncas), se determinó entre (Nt) y nitrógeno no caseinico NCN. El nitrógeno no caseinico (NCN) fue determinado después de la precipitación de la caseína a un pH 4.6 usando ácido acético y la solución de acetato de sodio en un tubo de Kjeldahl de acuerdo al método de Rowland.

Se ocupó una solución de acetato de sodio, 1M / L, diluyendo el volumen en agua fresca a 20 °C la cual se preparó semanalmente. Además

preparamos una solución de ácido acético al 10% (v / v), utilizando cantidad analítica de ácido acético glacial.

Solución Buffer.-Diluimos $1 \pm 0,1$ ml de acetato de sodio y $1 \pm 0,1$ ml 10% de ácido a 100 ml con agua a 20°C. Preparandola semanalmente.

Pesamos en un matraz una porción de la muestra aproximadamente 3 gr, en nuestro caso fue por un peso directamente en el matraz. La porción pesada colocamos en un tubo de digestión Kjeldahl (o tubo de digestión), añadimos 70ml de H₂O en el matraz, enjuagamos toda la leche en el cuello de botella y en la bombilla.

La adición de ácido acético y acetato de sodio y la filtración debió ocurrir dentro de 15 minutos de la adición de la leche y la adición del agua. Esto minimiza la degradación proteolítica de la caseína.)

Añadimos 0,75mL10% de ácido acético, al matraz y agitamos suavemente. Asegurándonos que todo el ácido se añadió al bulbo del matraz agitamos la mezcla a temperatura ambiente durante 10 minutos.

Añadimos 0,75 ml de acetato de sodio, y agitamos dócilmente. Vertimos la mezcla del matraz Kjeldahl a través de papel filtro de pliegues (Whatman N ° 1, 15 cm, N-libre, o su equivalente) y recogemos su filtrado. (Algo de caseína se precipito y se mantuvo en el frasco y algunos se ubicaron en el papel de filtro. No fue necesario eliminar el precipitado del frasco.)

Dejamos escurrir por completo antes de verter de nuevo.

Inmediatamente después de verter la mezcla en papel de filtro (no dejamos que el precipitado seque en el cuello del matraz de Kjeldahl), usamos la bomba dispensadora para añadir 30ml solución tampón, al matraz de Kjeldahl, enjuagando cualquier precipitación del cuello del frasco hacia abajo en la bombilla.

Agitamos para mezclar. Vertimos la mezcla sobre el papel de filtro después de la primera filtración se completa, se combinaron filtrados.

Lavamos inmediatamente el cuello de Kjeldahl con una alícuota adicional de 30 ml de la solución tampón, agitamos para mezclar y filtrar con el mismo papel de filtro después de la segunda filtración está completo. El filtrado debió ser limpio y libre de partículas. Si las partículas aparecen, se reciclaba filtrado a través de papel filtro o se repetía la prueba.

Desechamos el filtrado. Retiramos el papel de filtro después de la filtración y después de que el papel de filtro se haya secado ligeramente. Si alguna precipitación permanece en el labio ya sea interior o exterior del matraz de Kjendahl, limpiar con papel de filtro para que se adhiera el papel de filtro precipitado. Colocamos el papel de filtro en un matraz Kjeldahl, con las soluciones del catalizador. Seguidamente procedemos con el método de Kjeldahl.

Método de Kjeldahl

El procedimiento que realizamos en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos, LACONAL fue el siguiente:

Digestión.- Calentamos el equipo a 420°C, pesamos 3gr de la muestra en nuestro caso fue la caseína precipitada, por el método de Rowland, añadimos dos tabletas Kjeldahl con 15ml H₂SO₄. Abrimos la llave de alimentación de H₂O que va al depurador el mismo que siempre debe poseer agua de 1600 a1800 ml. El tiempo es de 60 min.

Destilación.- esta ocurre al añadir NaOH al 40% en 6 segundos, el tiempo de reacción es 1min y el tiempo de destilación 6.5min. Las muestras disolvemos en 70ml de H₂O y colocamos en el equipo con 30ml de ácido bórico. Finalmente titulamos con HCl al 0.1N.

Cuantificación del Método de Estandarización

Para la cuantificación del contenido de suero de quesería en leche pasteurizada se efectuó mediante una ecuación polinómica de segundo grado la misma que se tomo en cuenta, los promedios de las replicas de los análisis de adulteración de leche realizadas en el laboratorio.

Cualquier ecuación de segundo grado o cuadrática se puede expresar de la siguiente forma:

$$ax^2 + bx + c = 0$$

Donde **a**, **b** y **c** son unos parámetros que habrá que sustituir por los números reales que corresponda en cada caso particular, en este caso tomando como referentes los datos obtenidos en los diferentes porcentajes de adulteraciones.

Los resultados a obtener los calculara directamente el programa de EXCEL, pues con la ecuación y los datos obtenidos de las replicas de nuestros análisis, automáticamente se procede a su computo, lo que no tendrá un margen de error muy mínimo, lo cual nos permitirá tener como referente para posteriores análisis con distintos porcentajes.

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

3.1 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación que se va a desarrollar implica dos modalidades: la primera documental o bibliográfica, puesto que se requiere una revisión previa en tesis, trabajos de investigación, planes, sitios en Internet, experiencias en proyectos similares, entre otros; que permite conocer distintos enfoques, teorías o conceptualizaciones y criterios de diferentes autores sobre el tema a investigar, de modo que sustente y favorezca el camino de la investigación.

En una segunda etapa se debe considerar una modalidad de investigación experimental, de modo que de esta manera se alcancen los objetivos de predicción y de control en relación con la hipótesis puesta a prueba en el estudio; es así que dicha investigación requiere el uso de laboratorios que ofrezcan las facilidades para efectuar dicha propuesta, ya que en efecto se deberá analizar las causas y efectos de las variables de estudio, entendiendo la naturaleza e implicaciones sobre el problema.

Al iniciar una investigación se debe comenzar a explorar fuentes de información útil, que sea un complemento para la formación académica para así poder obtener una investigación veraz, la misma que estableciendo un diseño experimental acorde a lo que se pretende realizar permitirá tomar en cuenta las propiedades óptimas de la leche pasteurizada sin adulteración evaluando los procedimientos y datos a obtener.

3.2 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio, en primera instancia, es de tipo bibliográfico por tratarse de tecnologías nuevas de difícil acceso a la información y escasos recursos bibliográficos. Para solucionar el problema propuesto se requirió de revisión documental de manera periódica donde se estableció adecuadamente los protocolos para la ejecución de la fase experimental, y también se conoció la existencia de resultados obtenidos y experiencias de investigadores anteriores, para solucionar un problema igual o similar.

Además es de tipo experimental, puesto que todos los resultados fueron obtenidos por medio de experimentos preparados in situ sobre las muestras del alimento a tratarse. La investigación experimental o de laboratorio permite manipular ciertas variables independientes para observar los efectos en las perspectivas variables dependientes, con el propósito de precisar la relación causa – efecto.

El nivel o tipo de investigación que alcanza este trabajo es de asociación de variables, puesto que su objetivo global es valorar el comportamiento de una de las variables en función de las otras y su grado de relación entre sí.

Esta investigación será de Correlación ya que se realiza una relación entre la variable independiente y la variable dependiente, se tratara de identificar si hay significancia entre estas variables que serán % de suero

añadido, a leche pasteurizada en diferentes concentraciones, estos asociados por los diferentes análisis a realizar incluida su cuantificación.

3.3 POBLACION Y MUESTRA

3.3.1 Población

El presente proyecto de investigación, considera como población a la leche pasteurizada proveniente del Instituto Agropecuario Luis A. Martínez, Delical, que se adultero en el laboratorio con suero de quesería obtenido en el lugar antes mencionada.

3.3.2 Muestra

Todo análisis se realizó con 5 litros de leche y 5 litros de suero de quesería.

3.3.3 Diseño Experimental

De acuerdo al problema de Investigación se aplicará un diseño experimental de un solo factor aleatorizado con 7 observaciones y 6 repeticiones, con lo cual se determinó el aspecto influyente de manera individual.

Tabla # 7 Diseño Experimental un solo factor aleatorizado

Tratamientos:

Nc/Nt =

tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6
A0						
A1						
A2						
A3						
A4						
A5						
A6						

3.3.4 Respuestas experimentales

Las respuestas experimentales se obtuvieron mediante el Método de Rowland y Método de Kjendahl descritos en el capítulo 2 en el ítem 2.7.

3.4 Operacionalización de variables Cuadro #1

3.4.1 Variable Independiente

Categoría	Sub Categoría	Indicadores	Item	Técnicas e instrumentos
<p>Concentración de suero añadido a la leche.</p> <p>La leche tiene problemas de adulteración con suero de quesería (SQ), dado que este no se percibe sensorialmente y que además tiene un menor precio que la leche. Esta práctica representa fraudes económicos para los consumidores y tiene un gran impacto desfavorable en sus procesos, así como en la calidad de sus productos.</p>	Suero de quesería	<p>Porcentaje relación caseína/ proteína sérica</p> <p>ml/lt</p>	<p>¿Cuáles son los porcentajes de suero añadido en leche pasteurizada?</p> <p>¿Bibliográficamente cuáles son los parámetros de control para adición de suero u otras sustancias a leche pasteurizada?</p> <p>¿La cantidad de suero añadido afecta a su composición?</p>	<p>Método de Rowland</p> <p>Método de Kjendahl</p>

Realizado por: Fernanda Núñez, 2012.

3.4.2 Variable Dependiente Cuadro #2

Categoría	Sub Categoría	Indicadores	Item	Técnicas e instrumentos
<p>Niveles de Proteína Serica.Las proteínas séricas totales también se conoce como: suero de proteína total</p> <p>Son proteínas globulares que permanecen en el suero tras la acidificación de la leche a pH = 4,6 o por la acción del cuajo, no interviniendo en la formación de la cuajada, razón por la que también se las denomina proteínas séricas.</p>	<p>Proteína Total</p> <p>Caseína</p>	<p>Porcentaje relación caseína/ proteína sérica</p> <p>ml/lt</p>	<p>¿La cantidad de suero de quesería añadido afecta las propiedades de la leche?</p> <p>¿Debido a que las industrias lecheras añaden suero de quesería?</p>	<p>Método de Rowland</p> <p>Método de Kjendahl</p>

Realizado por: Fernanda Núñez, 2012.

3.5 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN PROCEDIMIENTOS ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

“Las técnicas utilizadas para la recolección de la información serán la observación directa pues se estará en contacto con el objeto de estudio en escenarios y ambientes debidamente preparados y equipados para realizar la investigación que conduzca a la comprobación o rechazo de las hipótesis planteadas”.

El plan de recolección de información que se empleó en este trabajo de investigación es de dos tipos:

3.5.1 Fuente primaria

La información se recolectó de manera continua durante la etapa experimental a través de un seguimiento en las propiedades físico-químicas que varían durante el proceso de estandarización del método para la detección de suero de quesería.

Los parámetros de control que se consideró en el plan de recolección de información son:

Análisis físicos: Método de Rowland, Método de Kjendahl, Cuantificación con ecuaciones polinómicas de segundo grado.

3.5.2 Fuente secundaria

Las fuentes secundarias hacen referencia a la información que se recolectó de fuentes bibliográficas como libros, revistas científicas, proyectos similares, trabajos publicados en internet, etc.

3.6 PLAN PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION

3.6.1 PROCESAMIENTO

Estudio crítico de la información recolectada, en otras palabras se realiza una limpieza de la información defectuosa (contradictoria, incompleta, no pertinente, etc.). Duplicación de la recolección, en ciertos casos individuales, para evaluar la confiabilidad de los análisis.

Cuadros según variables de cada hipótesis: manejo de información mediante el empleo del programa EXCEL, análisis estadístico de datos para interpretación de resultados a través del programa InfoStat. Representaciones gráficas.

CAPITULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

4.1 ANALISIS DE LOS RESULTADOS

A continuación se representan

Número de repeticiones por tratamientos 6

Numero de tratamientos 7

Número de unidades experimentales (t x r) 42

Cada unidad experimental estuvo correspondida por 50ml de leche pasteurizada.

Tabla #8 Numero de tratamientos y niveles de suero expresados en porcentaje

tratamientos	% suero
A0	0
A1	5
A2	15
A3	30

A4	50
A5	75
A6	100

Fuente: Fernanda Núñez

La tabla # 8 nos muestra los tratamientos los mismos que corresponden a las replicas de los análisis que realizamos para determinar la adulteración de la leche, y los niveles que corresponden a los porcentajes de suero añadidos en muestras aforadas.

A continuación se representa en la tabla los porcentajes correspondientes a Nitrógeno caseinico dividido para nitrógeno total, los mismos que serán graficados para verificar si el método funciona comprobando con la cuantificación mediante ecuaciones polinómicas de segundo grado, y la grafica de una curva estándar.

Tabla #9 Porcentajes de Nc/Nt registrados al añadir en diferentes proporciones suero de quesería en leche pasteurizada

Tratamientos	% suero añadido	% R1	% R2	% R3	% R4	% R5	% R6
A0	0	81.02	81.78	81.21	83.01	82.98	82.9
A1	5	79.37	80.48	78.5	79.67	78.6	78.36
A2	15	75.68	75.69	74.64	77.26	75.47	74
A3	30	72.27	71.73	70.25	72.27	68.87	67.02
A4	50	62.89	60.63	60.47	61.39	59.17	57.93
A5	75	49.55	46.86	47.68	48.65	45.23	43.82
A6	100	28	25.2	20.16	23.45	16.29	19.54

Fuente: Fernanda Núñez

Se obtuvieron 7 tratamientos con 6 repeticiones cada uno, teniendo un experimento factorial $7 * 6$.

En el Anexo A la tabla # 12 corresponde al Análisis de Varianza de los resultados experimentales de la relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche. Esta posee un nivel de significación $\alpha = 0,05$ el mismo que nos permitirá sacar conclusiones estadísticas. El análisis de probabilidad comparado con alfa al (0,05), nos permite hacer una prueba de hipótesis para la cual tomamos en cuenta las establecidas en nuestro tema de investigación.

En este caso como podemos observar en la tabla #12 nuestro análisis de probabilidad es <0.001 lo cual nos permite rechazar nuestra H_0 , existiendo una diferencia significativa Podemos decir de esta manera que el valor de F para tratamientos es altamente significativo.

Además demuestran el grado de confiabilidad que tuvo el método estando en un rango de 96% a 97% de confianza.

Las determinaciones químicas, tanto para el nitrógeno de la caseína como para el nitrógeno total se realizaron en: la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato (UTA); Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL) de la ciudad de Ambato.

En el Anexo B grafica # 12 se representa un Análisis de Varianza con una regresión lineal de la Cuantificación, el cual como se observa que se rechaza de la misma manera H_0 . El coeficiente de determinación o error cuadrático, fue de 0.97 lo cual explica el “nivel de certidumbre o acierto” con que las variables independientes juntas, permiten pronosticar la Variable dependiente. Esta tabla nos permite tener un referente para posibles análisis en diversos porcentajes de adulteración de suero.

4.2 INTERPRETACIÓN DE DATOS

4.2.1 Materia prima

La materia prima utilizada en esta investigación fue el suero de quesería que se la adquirió del Instituto Agropecuario Luis A. Martínez, en la Ciudad de Ambato Provincia de Tungurahua. La leche fue pasteurizada previamente tomando en cuenta los diferentes análisis de control establecidos por las normas INEN. Anexo B - Grafico # 16 .

Seguidamente se colocó en la tina, en la cual se realizó el proceso de la elaboración del queso, el mismo que dejamos el tiempo establecido hasta obtener el desuerado. El suero de quesería que se obtuvo se pasteurizó a una temperatura de 65 °C por 30 min, el mismo que tiene un tiempo de duración de aproximadamente 5 días, pasado este período perderá su composición física-química.

4.2.2 Respuestas experimentales

Una vez que se obtuvo la materia prima, las muestras se prepararon en un balón aforadas a 50ml, los mismos que contenían la cantidad de suero correspondiente a los diversos porcentajes establecidos para el análisis, tomando en cuenta las muestras de leche pasteurizada pura. Su determinación se basa en precipitar la caseína (Nc) situándola al pH de su punto isoeléctrico (mínima solubilidad) mediante un tampón de ácido acético-acetato (pH = 4.6) y separarla por filtración. El líquido filtrado contiene el Nitrógeno no caseínico (NNC), que incluye las proteínas del suero y el NNP, y se valora por análisis mediante el método de Kjeldahl. La solución ácida con contenido de componentes N no caseínico de la muestra, se separó después de la precipitación de la caseína por filtración.

Los reactivos utilizados fueron preparados semanalmente en agua desionizada a 20°C, utilizando calidad analítica de las soluciones.

La filtración ocurrió en el transcurso de 15 min de la adición de la leche y agua. Esto minimiza la degradación proteolítica de la caseína. Seguidamente se realizó el método a otra porción de las muestras el método de Kjendahl para determinación de nitrógeno total. Finalmente con los datos obtenidos de Nc y Nt se cuantifico el método químico, mediante ecuación polinómica.

4.3 Análisis Químicos de las Leche Pasteurizada Adulterada.

Para los análisis correspondientes se los calculó con la siguiente fórmula, la cual permitió obtener los valores de % Nc y Nt :

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(V_S - V_B) * N * 14.01}{W * 10}$$

Dónde:

V_S: Volumen (ml) de ácido estandarizado para titular la muestra

V_B: Volumen (ml) de ácido estandarizado usado para titular el blanco

N: Normalidad de HCl

14.01: peso atómico del N

W: peso (g) de porción de muestra o standard

10: factor para convertir mg/ g a porcentaje

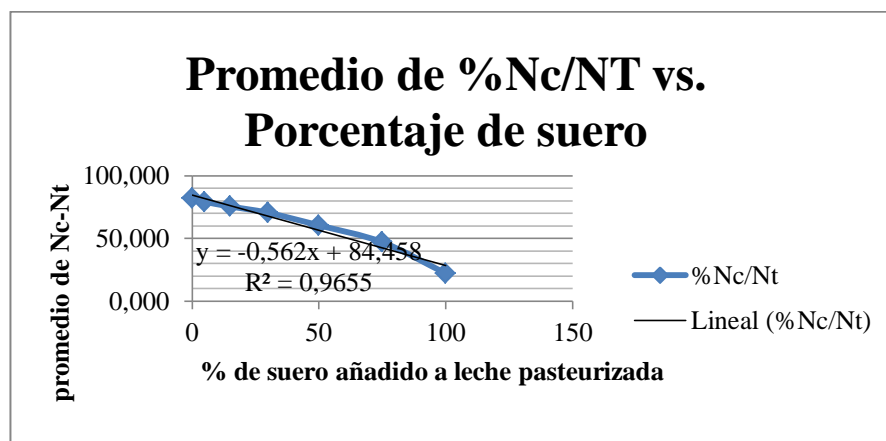
Esta fórmula se utilizó, tanto para el nitrógeno total como para nitrógeno caseínico. Una vez realizado estos cálculos se dividió el nitrógeno total (mg/100ml) sobre el Nitrógeno de la caseína (mg/100ml)

Para obtener el valor de %Nc/%Nt se realizó la división entre los resultados el % de nitrógeno total que corresponde al método de Kjendahl y el % de nitrógeno caseinico correspondiente al método de Rowland, aplicando la fórmula de Kjendahl.

Tabla #10 Promedio de réplicas- Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada

% suero añadido	%Nc/Nt
0	82,15
5	79,1633333
15	75,4566667
30	70,4016667
50	60,4133333
75	46,965
100	22,1066667

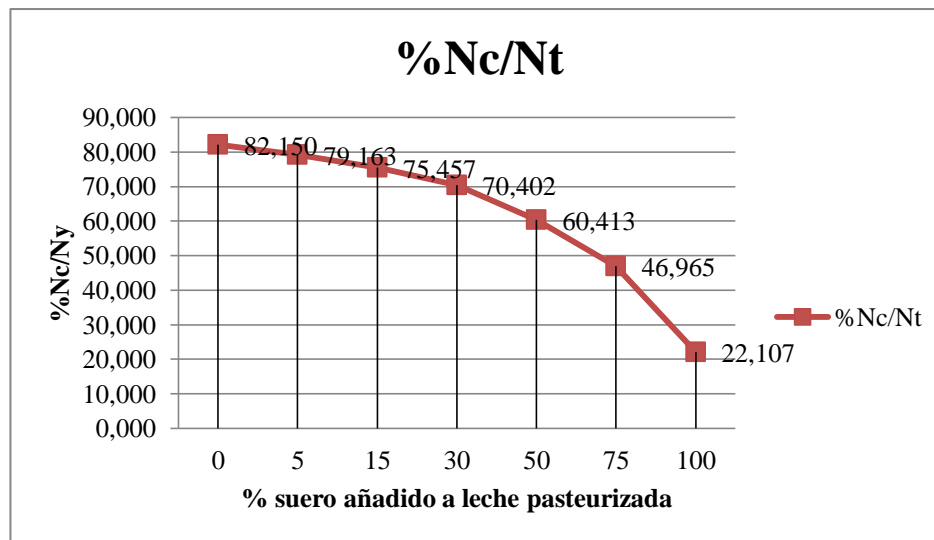
Grafica # 4 Regresión lineal del promedio de %Nc/Nt vs. Porcentaje de suero



El experimento nos arroja en cuanto al porcentaje añadido de suero en leche pasteurizada y los promedios de % de Nc/Nt existiendo una relación estadística altamente significativa (0.965 de confiabilidad), es

decir a medida que incrementamos suero de quesería en leche pasteurizada el % de Nc/Nt disminuye.

Grafico #5 Promedio %Nc/Nt vs. % de Suero de quesería en leche pasteurizada



Elaborado por: Fernanda Núñez

En la tabla # 10 corresponde al promedio de las réplicas de la relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada de cada una de las muestras a estudiar. El primer análisis corresponde a la leche solo pasteurizada el cual se observa una cantidad de 82.15% de Nc/Nt el cual según datos bibliográficos es un estimado optimo pues no existe ningún tipo de adulteración. A medida que se añade el 5% de suero en la leche se aprecia en la grafica un descenso del %Nc/Nt en este caso el promedio fue de 79.16% lo que implica una adulteración ya notario a comparación del primer análisis Aproximadamente al colocar 2.5mg/50ml puede estar justificado el suero de quesería.

Lo contrario al añadir 15% y 30% de suero, lo cual en datos representa el 75.45% y el 70.40% se nota un gran disminución de %Nc/Nt confirmando que a mayor adición de suero de quesería disminuye los números de caseína en la leche.

A esto se los comparó con los análisis con el 50% y 75%, lo cual, en datos corresponden al 60.41% y el 46.96% siendo notorio la disminución de %Nc/Nt al añadir suero de quesería se toma en cuenta a las caseínas en este tipo de análisis de adulteración puesto que las proteínas de la leche consisten de 80 % de caseína, que alternadamente se compone de un número de componentes que juntos forman partículas o micelas complejas,

El suero de quesería analizado equivalente al 100% de nota su bajo contenido de proteína en este caso la caseína este es un grupo predominante de las proteínas presentes en la leche. Esto fue evidente en las muestras adulteradas puesto que fue solo suero el analizado por lo tanto los resultados fueron notables.

La Tabla # 12 nos muestra el análisis de varianza de Nc/Nt vs.El % suero añadido los resultados arrojados muestran que se obtuvo el valor de F el cual es mayor que el F crítico, esto significa que los cambios entre los factores en los ensayos tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre los resultados de esas pruebas. El valor del F de tablas al 0.05 diferencia significativa (95% de confiabilidad).

Al realizar una regresión lineal nos permite obtener una relación donde x es el porcentaje de suero que es la variable independiente, independientemente del suero añadido será el porcentaje de suero, y es el porcentaje de suero a calcular. Por lo tanto lo que se pretende calcular es **Y** con la fórmula:

$$Y = a + bx$$

Dónde:

a :ordenada al origen

b :pendiente de la recta

De este promedio se obtuvieron los siguientes resultados Anexo A donde se pudo observar que el valor de R que es el coeficiente de correlación que nos da la relación de la variable x con la variable y, y si es una linealidad la cual debe ser menor a uno en este caso nuestro valor fue de 0.96 que es muy aceptable con respecto a la linealidad. El coeficiente de determinación r^2 es la confiabilidad del modelo matemático que estamos pronosticando esta confiabilidad es de 0.96 este es bueno por lo que podemos decir que nuestro modelo matemático tiene una confiabilidad aceptable.

Para la cuantificación Anexo A tabla # 14, de este método se llevo a cabo una ecuación polinómica de segundo grado tomando en cuenta los datos obtenidos en la adulteración de leche pasteurizada en Excel, este proceso se lo realizo por un costo beneficio, pues no todas las industrias lácteas pueden adquirir ciertos equipos para la determinación de adulteración de la leche y leche pasteurizada. El costo-beneficio en este método permite principalmente obtener los mayores y mejores resultados al menor esfuerzo invertido, tanto por eficiencia técnica como por motivación humana. Se supone que todos los hechos y actos pueden evaluarse bajo esta lógica, aquellos dónde los beneficios superan el costo son exitosos, caso contrario fracasan.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Mediante el proceso realizado se logró estandarizar un método químico para cuantificar la adulteración de leche pasteurizada con suero de quesería, el método resulto efectivo mediante la utilización de ecuaciones polinómicas de segundo grado, se obtuvo además el número de caseína en el fluido de leche y un procedimiento muy útil para la detección de la adulteración.

Además se prepararon muestras de leche adulteradas con suero de quesería en varios niveles de adición de suero, las mismas que eran provenientes del Instituto Tecnológico Agropecuario Luis A. Martínez. Estas muestras se aforaron a 50ml colocando el porcentaje de suero con relación de (v/v).

Se determinó el contenido de proteína total y caseína en la leche pasteurizada adulterada en diversos porcentajes, esto se estableció mediante los métodos utilizados, estas pruebas realizadas sin duda dio como resultado que la leche con el menor porcentaje de suero es el apropiado para el consumo, siempre y cuando el consumidor este informado de lo que adquiere, y se le dé un buen trato a el suero de quesería puesto que en proporciones adecuadas no habría inconveniente, y el consumidor pague por leche mas no por una bebida láctea.

Desarrollamos una curva de correlación entre el contenido de proteína total y caseína, para los diferentes niveles de adulteración de la leche con el suero, calculamos el porcentaje de suero añadido, con un nivel de confianza del 97% en el proceso de la adulteración de la leche con suero de quesería mediante las pruebas preliminares realizadas se obtuvo que el mejor tratamiento sin duda alguna es el que posee el menor porcentaje de suero de quesería. La cuantificación se realizó mediante una ecuación polinómica de segundo grado, el mismo que se tomara como referente para futuras investigaciones a diversos porcentajes. Se realizó mediante este método la cuantificación por un costo beneficio, pues no todas las industrias lácteas constan de un equipo y recursos necesarios para la determinación de suero de quesería en leche pasteurizada, además como un análisis rápido se puede tomar como referencia y tener un estimado de % de adulteración.

Sugeriremos un método químico para cuantificar el contenido de suero de quesería en la leche pasteurizada al Laboratorio Control y Análisis de Alimentos, LACONAL, este servirá como un análisis rápido y de bajo costo, pues este Laboratorio no posee métodos validados para detección de suero, por lo tanto este método químico permitirá conocer un adyacente porcentaje de suero añadido, del mismo modo este laboratorio no posee equipos adecuados como espectrofotómetros y HPLC, para la

detección exacta de adulteraciones de bebidas ya sea lácteas u otras por lo tanto se debe acoplar a los equipos y materiales existentes.

5.2 RECOMENDACIONES

Para optimizar recursos y reducir costos de producción se realizó las pruebas solo con caseína para la obtención de estos resultados, se recomienda reutilizar las pruebas con la determinación de fosforo, el cual permitirá obtener datos más confiables de los obtenidos.

Para estudios complementarios, o análisis que puedan realizar LACONAL se puede optar por la adquisición de los materiales y reactivos con la finalidad de realizar estos estudios los mismos que se pueden desarrollar a todas las empresas e industrias lecheras que requieren ciertos análisis esto permitirá también tener un control de las leches adulteradas.

Sugerir se realice un estudio detallado de la adulteración de la leche con suero de quesería y una curva estándar con el procedimiento completo, además una cuantificación en un laboratorio acreditado para que de esta manera se pueda obtener una alternativa de análisis con sus respectivos respaldos legales de comercialización.

CAPITULO VI

PROPUESTA

6.1 DATOS INFORMATIVOS

Tema: "Sugerir el método de caseína y proteína sérica como un como un análisis adicional en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos, LACONAL siendo este un parámetro de comparación que permita determinar la calidad de la Leche."

Institución Ejecutora: Universidad Técnica de Ambato - Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos, LACONAL.

Beneficiarios: Industrias lácteas del país, estudiantes de la carrera de Ingeniería en alimentos, consumidor final.

Ubicación: Ambato - Ecuador.

Tiempo estimado para la ejecución: 25 semanas

Equipo Técnico Responsable: Egda. Fernanda Núñez, Ing. Carlos Moreno

Costo: \$ 3800

6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

La leche es un producto de mucha aceptación a nivel de consumidores en todo el mundo debido a su gran valor nutricional y a que tiene muchas formas de industrialización. Por estas razones el sector lechero tiene gran importancia socioeconómica mundialmente, sin embargo industrias procesadoras y/o comercializadoras de leche tienen problemas de adulteración de leche con suero de quesería (SQ), dado que este no se percibe sensorialmente y que además tiene un menor precio que la leche.

Esta práctica representa fraudes económicos para los consumidores y tiene un gran impacto desfavorable en sus procesos, así como en la calidad de sus productos. (SAGAR, 1999).

Las caseínas son un grupo de proteínas que contienen fósforo y son específicas de la leche, en donde se encuentran casi siempre en forma de micelas y precipitan a un pH de 4,6. Se conocen seis tipos de caseínas: α_1 (alfa s1), α_2 (alfa s2), β (beta), γ (gamma), κ (kappa) y λ (lambda). La caseína κ tiene propiedades físico-químicas únicas, si se compara con las otras proteínas de la leche.

Algunas de estas propiedades son: insensibilidad a precipitación por iones calcio, por lo que se mantiene soluble en soluciones de calcio con concentración es que precipitan a todas las demás caseínas. (Fredeen A., 2003).

Debido a su condición de alimento perecedero y al gran riesgo de pérdida en lo económico que esto significa, la calidad de la leche se ve afectada en ciertos aspectos, tales como el microbiológico a causa de la falta de higiene y el físico químico a causa de adulteraciones, con las consiguientes consecuencias de índole nutricional, económica y legal.

Por otra parte, los métodos analíticos habituales no permiten la caracterización de la leche y los quesos respecto al proceso tecnológico seguido en su elaboración, lo que hace necesaria la búsqueda de nuevos procedimientos para evaluar estos parámetros

6.3 JUSTIFICACIÓN

En el campo de la calidad de alimentos son de particular interés la leche y sus derivados, dada su importancia social y económica. La leche sigue siendo uno de los alimentos más importantes para el humano desde el punto de vista nutricional, por lo cual es necesario producir leche de alta calidad. Existe una demanda creciente en los elevados estándares de calidad requeridos por las autoridades sanitarias y por el público consumidor; sin embargo, el riesgo de adulteración con suero de quesería es alto. Por esta razón, en diversos se ha puesto especial atención en la reglamentación para uso en la elaboración de productos lácteos.

Tomando en cuenta que en la actualidad hay nuevos productos como los concentrados de proteína de suero (lactosuero) que son utilizados como adulterantes en leche.

El propósito en sí de la presente investigación es establecer el método de estandarización como un análisis adicional en el Laboratorio de Análisis y

Control LACONAL siendo este un parámetro de comparación que permita determinar la calidad de la Leche.

6.4 OBJETIVOS

6.4.1 OBJETIVO GENERAL

Sugerir el método de estandarización como un análisis adicional en el Laboratorio de Análisis y Control LACONAL siendo este un parámetro de comparación que permita determinar la calidad de la Leche.

6.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

6.4.2.1 Obtener leche pasteurizada equilibrada con respecto a las adulteraciones.

6.4.2.2 Ejecutar análisis de características físico químicas principales del suero el cual nos permita reforzar la investigación accediendo a resultados más confiables.

6.4.2.2 Realizar análisis cuantificados acreditados para determinar con exactitud los porcentajes de adulteraciones en leche pasteurizada.

6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

De la investigación efectuada se desprende que la presente propuesta es factible de realizarla. Los recursos humanos, materiales y financieros

están al alcance de quienes llevarán adelante las acciones del indicado trabajo, conviene tener en cuenta varios aspectos como:

- Político: Predisposición de las autoridades para otorgar permisos necesarios.
- Sociocultural: Su implantación fortalecería beneficio compartido (productores-comercializadores).
- Tecnológico: Esta propuesta consta con la tecnología adecuada.
- Organizacional: Las personas encargadas cuentan con el apoyo necesario.
- Económico y financiero: Los recursos necesarios serán autofinanciados por la persona interesada en este producto.

La puesta en marcha de la presente propuesta resulta factible ya que el costo de la materia prima no es muy elevado y también se espera obtener resultados que ayuden a la sociedad a saber qué es lo que consumen en realidad.

6.6 FUNDAMENTACIÓN

La adulteración de la leche con suero de quesería constituye un fraude al consumidor, competencia desleal al productor y afecta la cadena productiva lechera. Este tipo de adulteración es difícil de detectar, excepto por el método propuesto de la caseína y proteína sérica.

La calidad de la leche cruda tiene fundamental importancia para obtener un producto uniforme y de buenas cualidades, a pesar de los adelantos en los diseños y características de los equipos, se puede afirmar que es imposible hacer productos de calidad aceptable si se cuenta con leche de calidad pobre o inferior.

Por ello se debe controlar diariamente la leche que se recibe y tener suficiente criterio para su admisión o rechazo.

Las diferentes pruebas para la leche cruda pueden ser realizadas en campo o en la receptoría de la planta, tal es el caso de determinaciones de temperatura, caracteres organolépticos, lactofiltración y la prueba lactométrica o peso específico, mediante las cuales es posible reconocer algunas leches inaceptables, evitando que dañen la leche de buena calidad al mezclarse en camiones cisterna o tanques de almacenamiento. En la actualidad, frente a una visión globalizante y competitiva, se obliga a este sector de la producción, a ser más eficiente. El comercio internacional sin barreras tarifarias hará que la industria lechera se transforme en un negocio mundial.

Como todo negocio, la producción de leche debe ser vista como una empresa, y como tal, el generar utilidades, deberá ser su principal objetivo organizacional.

Por lo cual es necesario establecer un análisis necesario para controlar la adulteración con suero de quesería y poder determinar la aceptabilidad del producto que vamos a consumir en base al trabajo experimental.

6.7 METODOLOGÍA

Dentro del modelo operativo se encuentra el desarrollo de los cuatro objetivos específicos planteados en la presente propuesta:

1. Diagrama de flujo y descripción de proceso del desarrollo de la tecnología de elaboración.
2. Análisis de las condiciones correctas de la materia prima a examinar, los cuales se tomarán como una guía para mantener el producto en excelentes condiciones.
3. Realizar el estudio respectivo en los laboratorios LACONAL.

Cuadro # 3 Plan de mejoras

Fases	Metas	Actividades	Responsables	Recursos	Presupuesto	tiempo
Formulación de la propuesta	Utilización del método para análisis en LACONAL	Revisión bibliográfica. Visita técnica al área de producción.	Egda. Fernanda Núñez. FCIAL	Humanos Técnicos Económicos	400	7 días
Desarrollo preliminar de la propuesta	Mantener el método y a los análisis correspondientes como un requisito indispensable para cualquier permiso.	Elaboración del manual de procesamiento.	Egda. Fernanda Núñez. FCIAL	Humanos Técnicos Económicos	600	20 días

Implementación de la propuesta	Ejecución de la Propuesta	Capacitación al personal para su aplicación.	Egda. Fernanda Núñez. FCIAL	Humanos Técnicos Económicos	500	7 días
Evaluación de la propuesta	Comprobar errores y aciertos	Chequear el lugar de trabajo. Entrevista con el personal.	Egda. Fernanda Núñez. FCIAL	Humanos Técnicos Económicos	300	7 días

Elaborado por: Fernanda Núñez.

6.8 ADMINISTRATIVO

Cuadro # 4

Administración de la propuesta.

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsable
Indicador de porcentaje de suero de quesería añadida	Adulteraciones en la materia prima	Otorgar valor agregado a MP.	Análisis de costo por unidad de producto.	Egda. Fernanda Núñez
Analizar mediante este método la leche pasteurizada.	Falta de conocimiento de la población actual, de lo que realmente consumen	Obtener un producto que garantice la salud del consumidor.	Implementar las variables definidas para obtener un producto aceptable e inocuo.	
			Dar a conocer a las personas los verdaderos porcentajes de suero que se encuentra en la leche que consumen.	
			Presentar el producto libre de adulteraciones.	

Elaborado por: Fernanda Núñez

6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN.

Cuadro # 5 Previsión de la evaluación.

Preguntas Básicas	Explicación.
¿Quién solicita evaluar?	<ul style="list-style-type: none">• Comerciantes• Productores
¿Por qué evaluar?	Porque debe hacer control en el proceso de elaboración.
¿Para qué evaluar?	Para garantizar la salud del consumidor y corregir errores.
¿Qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none">• Tecnología utilizada• Situación actual
¿Quién evalúa?	FCIAL
¿Cuándo evaluar?	Constantemente desde las pruebas hasta el producto terminado.
¿Cómo evaluar?	Mediante comparación entre normas y fichas de observación de parámetros del producto.
¿Con qué evaluar?	Análisis del producto terminado.

Elaborado por: Fernanda Núñez.

BIBLIOGRAFÍA

7. Citas Bibliográficas

1. Agso, Asociación de Ganaderos de la Sierra y el Oriente. (2011). PREOCUPACIÓN DE LECHE ADULTERADA INTRANQUILIZA A GANADEROS. Recuperado de [http:// Diario La Hora](http://Diario La Hora). Edición nacional del 04/04/2011.
2. ALCAZAR, Montañes CD.(2000). "Detección de Glucomacropeptido (GMP) como indicador de adulteración con suero de quesería en leche deshidratada". Recuperado de <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/837/83711204.pdf>.Pag. 23/24.Accedido el 12/12/2011.
3. AMIOT, J. (1991). Ciencia y Tecnología de la Leche. Madrid – España; Edición. Acribia S.A, España, pp.: 1-3,9,11,20,21,33,37, 42, 45, 249, 251, 252.
4. AYALA, Ramírez Acacia (2007). " Detección de suero de quesería en leches ultra pasteurizadas mexicanas mediante la cuarta derivada del espectro de absorción". Recuperado de <http://www.ejournal.unam.mx/rvm/vol39-01/RVM039000102.pdf>.
5. CODEX, Committee on Milk and Milk Products (CCMMP) (1994). Elaborar normas mundiales, códigos y textos afines para la leche y los productos lácteos. Informe de la primera sesión del Codex, Roma, IDF.Edición Novena. Febrero 2010.
6. DEL SOCORRO HERRERA M, Verdalet . Características Físico – Químicas de sueros de queso dulce y acido producidos en el combinado de quesos de Bayamo. Revista Club Aliment. Nutr., El suero de queso ¿Producto vital o simple desecho?. 2009. pp. 19(1):21-25.
7. DOUGLAS Jr, F.W., Tobias, M.L., Groves, H.M., Farrell, J. (1982). Quantitative determination of total protein, casein and whey protein of processed dairy products. J. DairySci. pp.65, 339-345.

8. DUBACH, José. (1988) .“El ABC para la quesería rural de los Andes”. Quito, Ecuador. 2a. pp.: 2, 80-82.
9. DUBACH, J. 2004.“El ABC para la quesería rural de los Andes”. Quito, Ecuador. Edición 3ª. Editorial: Proyecto quesería rurales del Ecuador. pp.32-43.
10. FREDEEN, A. (2003). Considerations in the milk nutritional modification of milk composition. Editorial: Animal Fedd Science Technology. pp. 59: 185-197.
11. GUTIERREZ, Julio, (2007). “Tecnología de Lácteos”. Universidad Técnica de Ambato UTA-FCIAL, pags: 9-12.
12. GODED, M. Y MUR, A. (2004). “Técnicas modernas aplicadas al análisis de la leche”, Madrid, España. Edición 1a, Editorial DOSSAT pp. 37 – 42, 62 – 64, 86.
13. KEATING P,(1992). Determinación del tiempo de maduración del queso tipo cheddar, con adición de orégano (*oreganumvulgare*). Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/TESIS.pdf>. Edición 2006.
14. MIRANDA O, Fonseca PL, Ponce I,Cedeño C, Sam L, Martí L. Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso. Características distintivas y control de la calidad. Cuba Aliment. Nutr. 2007;pp 17:38.
15. OIEMAN, C. y van Riel, J.A.M. (1995).Detection of rennet whey solids in skim milk powder and buttermilk powder with reversed-phase HPLC.Neth. MilkDairypp. 171-184.
16. ORTIZ, M.C. y Sarabia, L.A. (1994). Límite de detección. Curvas características de detección. Avances en Quimiometría Práctica, (Ed. R. Cela). Universidad de Santiago de Compostela, pp. 189-209.
17. RAMADAM Atra, Gyula Vatai, (2005).Investigation of ultra and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose.pp.67:325-332.
18. RECIO, I. (1996). Evaluación de distintos aspectos de la calidad de la leche mediante el estudio de la fracción proteica por electroforesis capilar. Universidad Complutense de Madrid.pp.231-241. TesisDoctoral.
19. REVILLER, A.(1985) Tecnología de la leche: Procedimiento, manufactura y análisis. Costa Rica: LICA, México, 1999.

20. ROSAS, R.J.; Jaramillo, A.C.J.; Durán B.C. (1998): Detección de suero de quesería como agente adulterante en leche control deshidratada mediante electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS. Memorias del Congreso Panamericano de Control de Mastitis y Calidad de la Leche. Mérida, México.1998.
21. SALVADOR y León. (2009). Aplicación de tres métodos analíticos para la detección de suero de quesería en leche UHT comercializada en la ciudad de México. México. Edición. 34, pp. 406-412.
22. SAGAR, Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Centro de Estadística Agropecuaria. Boletín anual FAO de estadísticas, México (DF), 1999.
23. USDA, United States Department of Agriculture (2011). Seguridad Alimentaria y las Importaciones. Edición 39. Recuperado por www.ars.usda.gov/is/espanol/kids/animals/story4/sp.annie.htm.
24. WALSTRA, P. y Jenness, R. (1984). Detección de caseinato y suero en leche y productos lácteos mediante técnicas electroforéticas, cromatografías y espectroscópicas. Recuperado por <http://eprints.ucm.es/tesis/far/ucm-t25082.pdf>. pp. 106-108.

Páginas de Internet

25. El Comercio (2011). El control del uso del suero en la leche se intensifica en Cotopaxi. Recuperado por <http://www.elcomercio.com/pais/>. Edición nacional 04/06/2011.
26. NORMA NTE INEN 10 (2009). "Leche pasteurizada, requisitos". 1ra edición, 4ta revisión.
27. Recuperado por: <http://www.dsalud.com>. 2009. El suero de leche, una fuente de proteínas poco conocida.

28. Recuperado por: <http://www.fcagr.unr.edu.ar>. 2009. El análisis sensorial, una herramienta para la evaluación de la calidad desde el consumidor.
29. Recuperado por: <http://www.herbogeminis.com>. 2007. La industria alimentaria.
30. Recuperado por: <http://www.melodysoft.com>. 2009. El suero de leche.
31. Recuperado por : <http://repo.uta.edu.ec/>

ANEXO A

Respuestas experimentales

Tablas

Tabla #12 Resultados Análisis de Varianza.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16627,87	6	2771,31	589,53	<0,0001
%suero añadido	16627,87	6	2771,31	589,53	<0,0001
Error	164,53	35	4,70		
Total	16792,40	41			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,54126

Error: 4,7009 gl: 35

%suero añadido	Medias	n	E.E.	
0,00	82,15	6	0,89	A
5,00	79,16	6	0,89	B
15,00	75,46	6	0,89	C
30,00	70,40	6	0,89	D
50,00	60,41	6	0,89	E
75,00	46,97	6	0,89	F
100,00	22,11	6	0,89	G

Tabla # 13 Análisis de Varianza Cuantificación

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
%Nc/Nt	101	0,97	0,97	8,50	501,52	509,36

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

	Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor
const	86,50	0,56	85,38	87,61	154,13		<0,0001
% suero	-0,58	0,01	-0,60	-0,56	-60,22		<0,0001

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	29268,66	1	29268,66	3626,60	<0,0001
% suero	29268,66	1	29268,66	3626,60	<0,0001
Error	798,98	99	8,07		
Total	30067,64	100			

Tabla # 14 referente de Cuantificación de adulteración de Suero de quesería

% suero	%Nc/Nt	51	59,86
0	80,39	52	59,26
1	80,17	53	58,66
2	79,95	54	58,05
3	79,72	55	57,44
4	79,48	56	56,81
5	79,23	57	56,18
6	78,98	58	55,54
7	78,71	59	54,89
8	78,44	60	54,24
9	78,17	61	53,58
10	77,88	62	52,91
11	77,59	63	52,23
12	77,29	64	51,55
13	76,99	65	50,86
14	76,67	66	50,16
15	76,35	67	49,45
16	76,02	68	48,74
17	75,69	69	48,02
18	75,34	70	47,29
19	74,99	71	46,55
20	74,63	72	45,81
21	74,27	73	45,06
22	73,90	74	44,30
23	73,52	75	43,54
24	73,13	76	42,76
25	72,73	77	41,98
26	72,33	78	41,20
27	71,92	79	40,40
28	71,50	80	39,60
29	71,08	81	38,79
30	70,65	82	37,97
31	70,21	83	37,15
32	69,76	84	36,32
33	69,30	85	35,48
34	68,84	86	34,63
35	68,37	87	33,78

36	67,90	88	32,92
37	67,41	89	32,05
38	66,92	90	31,17
39	66,42	91	30,29
40	65,92	92	29,40
41	65,40	93	28,50
42	64,88	94	27,59
43	64,35	95	26,68
44	63,82	96	25,76
45	63,27	97	24,83
46	62,72	98	23,90
47	62,17	99	22,95
48	61,60	100	22,00
49	61,03		
50	60,45		

Elaborado por: Fernanda Núñez

Replica # 1

Tabla # 15 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.

% suero añadido	% Nc/Nt
0,00	81,02
5,00	79,37
15,00	75,68
30,00	72,27
50,00	62,89
75,00	49,55
100,00	28,00

Elaborado por: Fernanda Núñez

Replica #2

Tabla # 16 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.

% suero añadido	% Nc/Nt
0,00	81,78
5,00	80,48
15,00	75,69
30,00	71,73
50,00	60,63
75,00	46,86
100,00	25,20

Elaborado por: Fernanda Núñez

Replica # 3

Tabla # 17 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.

% suero añadido	% Nc/Nt
0,00	81,21
5,00	78,50
15,00	74,64
30,00	70,25
50,00	60,47
75,00	47,68
100,00	20,16

Elaborado por: Fernanda Núñez

Replica # 4

Tabla # 18 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.

% suero añadido	% Nc/Nt
0,00	83.01
5,00	79.67
15,00	77.26
30,00	72.27
50,00	61.39
75,00	48.65
100,00	23.45

Elaborado por: Fernanda Núñez

Replica # 5

Tabla # 19 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.

% suero añadido	% Nc/Nt
0,00	82,98
5,00	78,66
15,00	75,45
30,00	68,87
50,00	59,17
75,00	45,23
100,00	16,29

Elaborado por: Fernanda Núñez

Replica # 6

Tabla # 20 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.

% suero añadido	% Nc/Nt
0,00	82,90
5,00	78,36
15,00	74,00
30,00	67,02
50,00	57,93
75,00	43,82
100,00	19,54

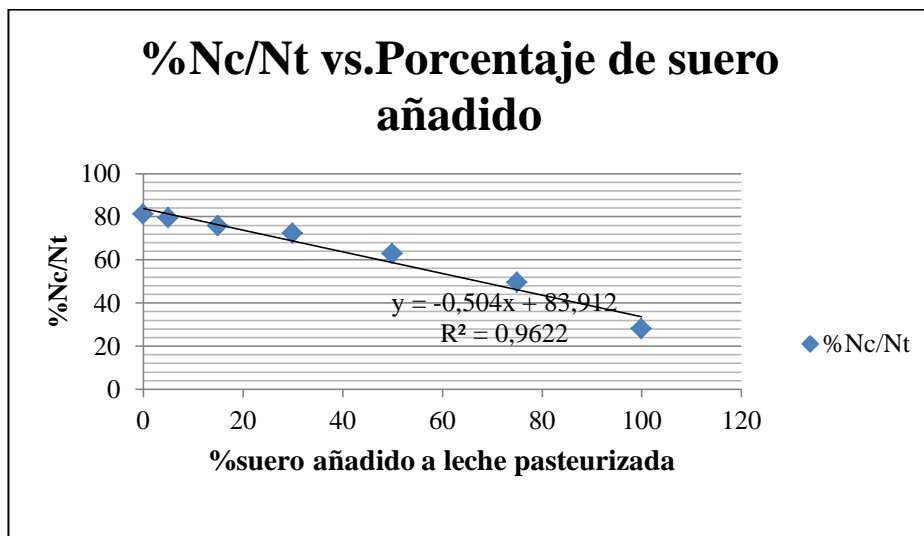
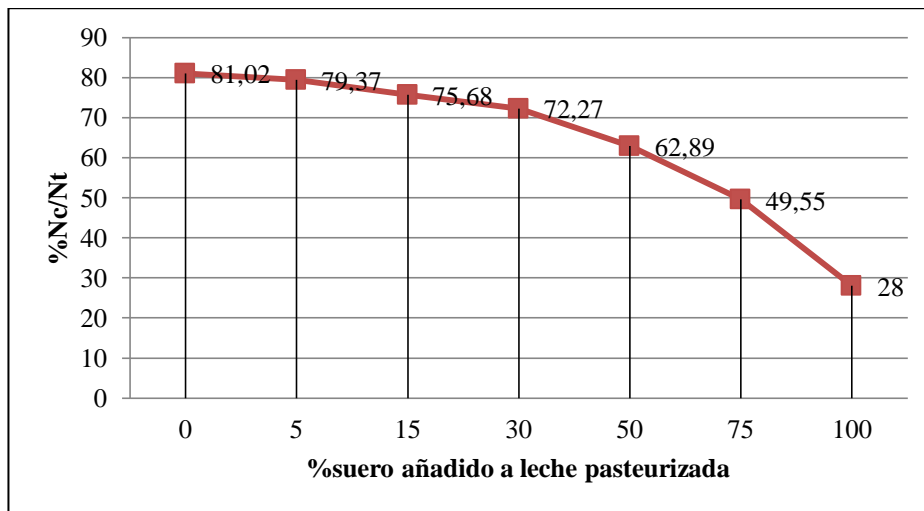
Elaborado por: Fernanda Núñez

ANEXO B

GRAFICAS

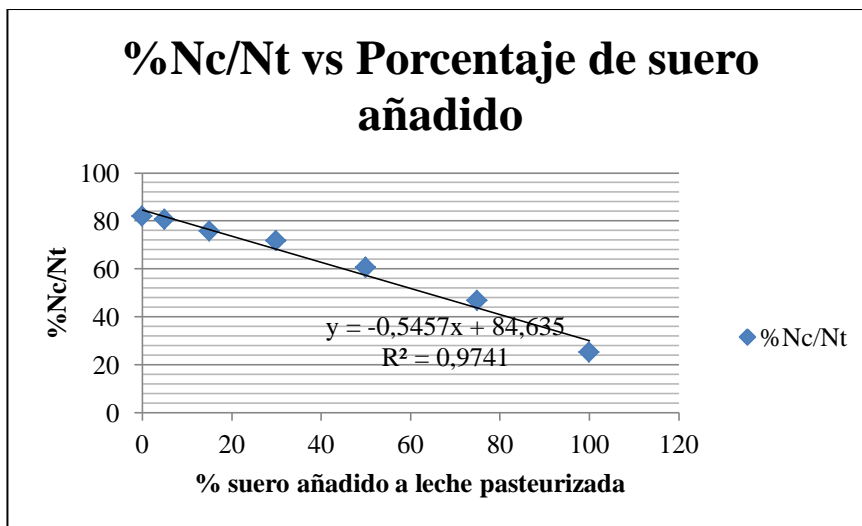
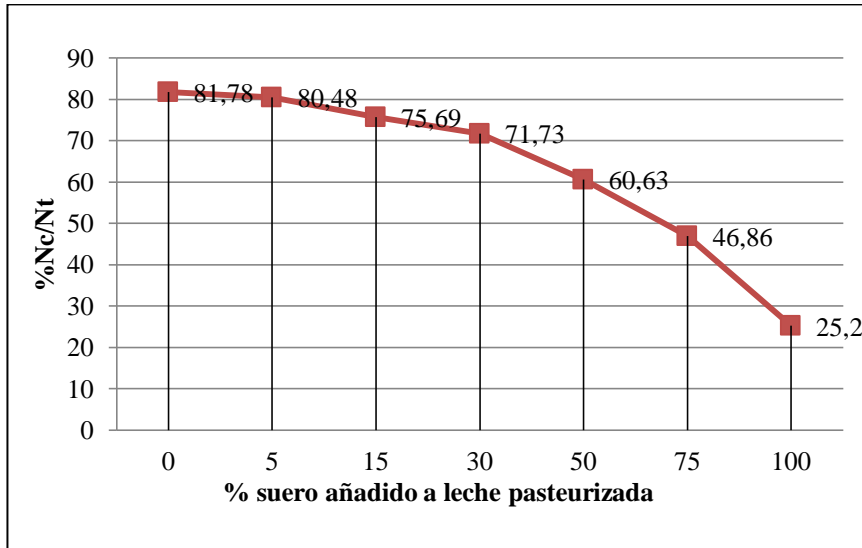
Grafica # 6

Replica # 1 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.



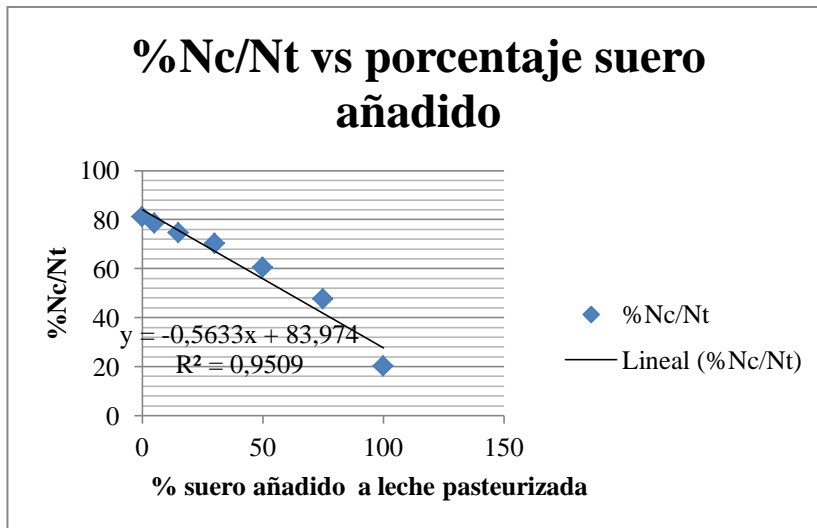
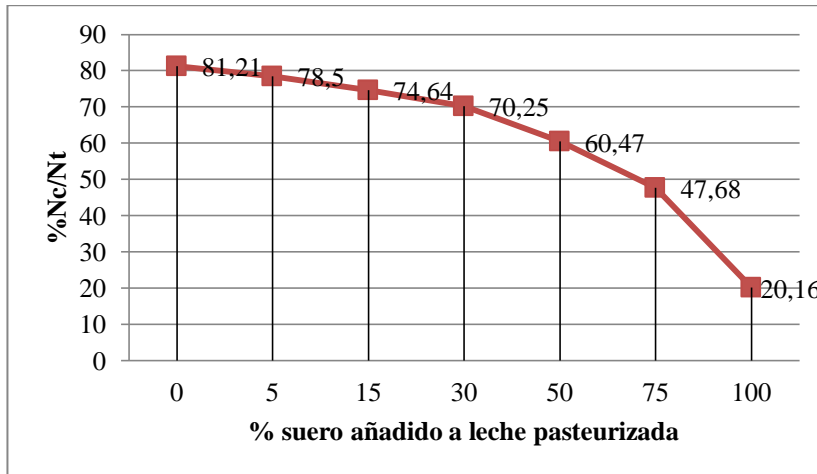
Grafica # 7

Replica #2 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.



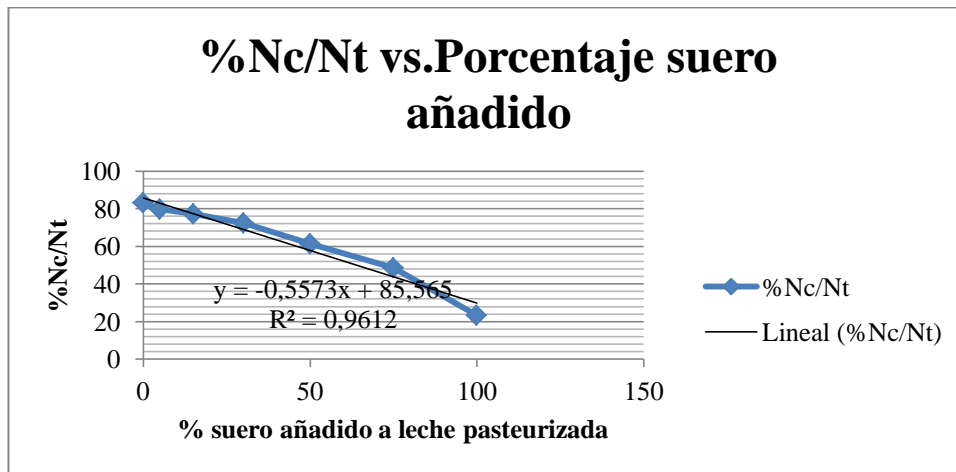
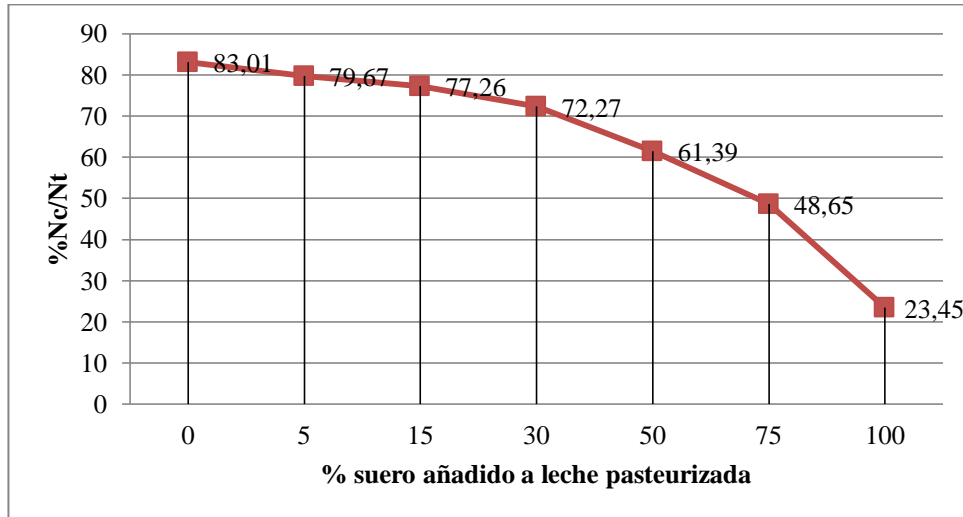
Grafica # 8

Replica # 3 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.



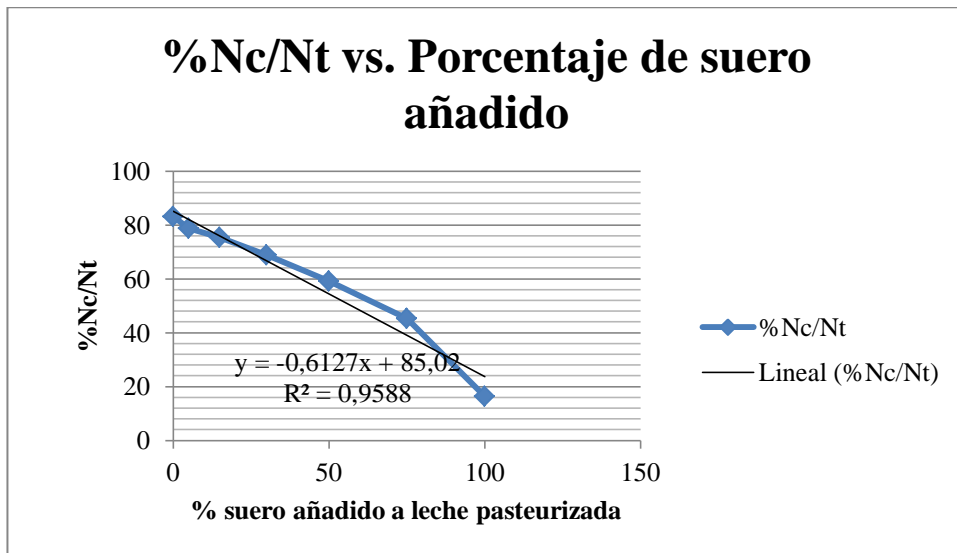
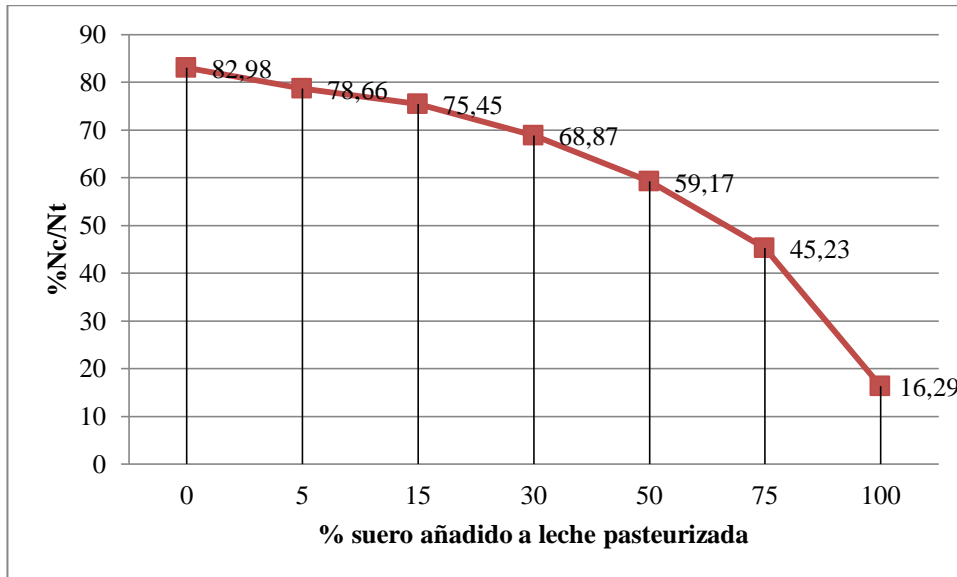
Grafica # 9

Replica # 4 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.



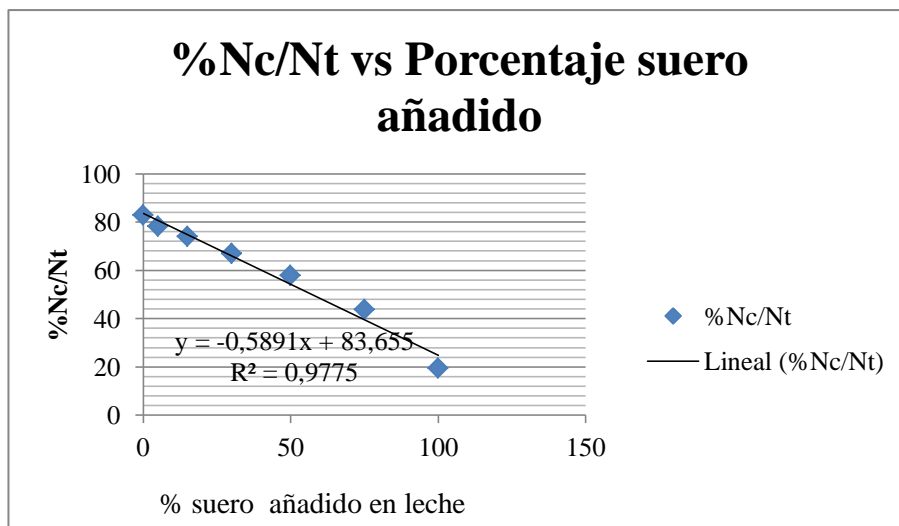
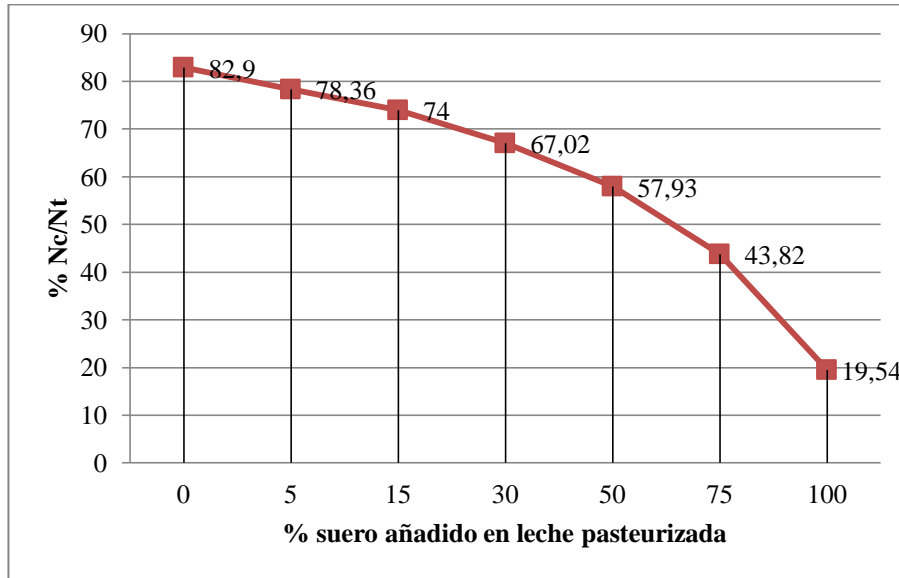
Grafica # 10

Replica # 5 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.



Grafica # 11

Replica # 6 Relación entre el contenido de caseína y el porcentaje de suero de quesería en leche pasteurizada.



Grafica # 12 Cuantificación Regresión Lineal

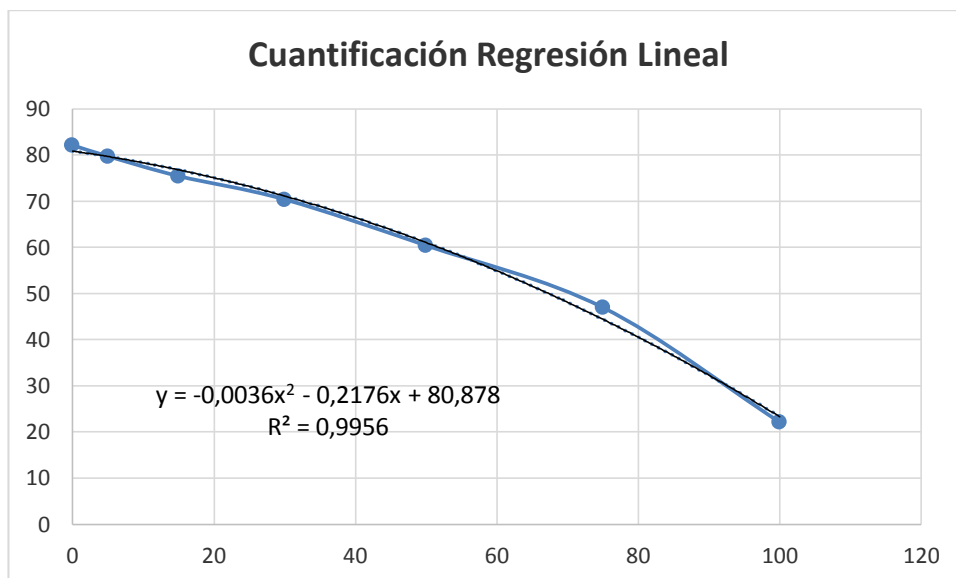


Grafico # 13 Curva Estándar con respecto a la Cuantificación

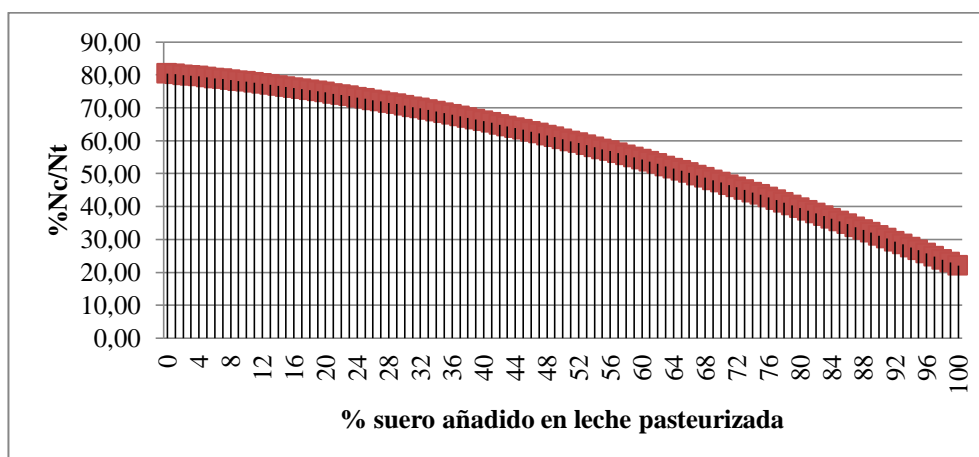


Grafico # 14

Diagrama de Flujo Pasteurización de la leche

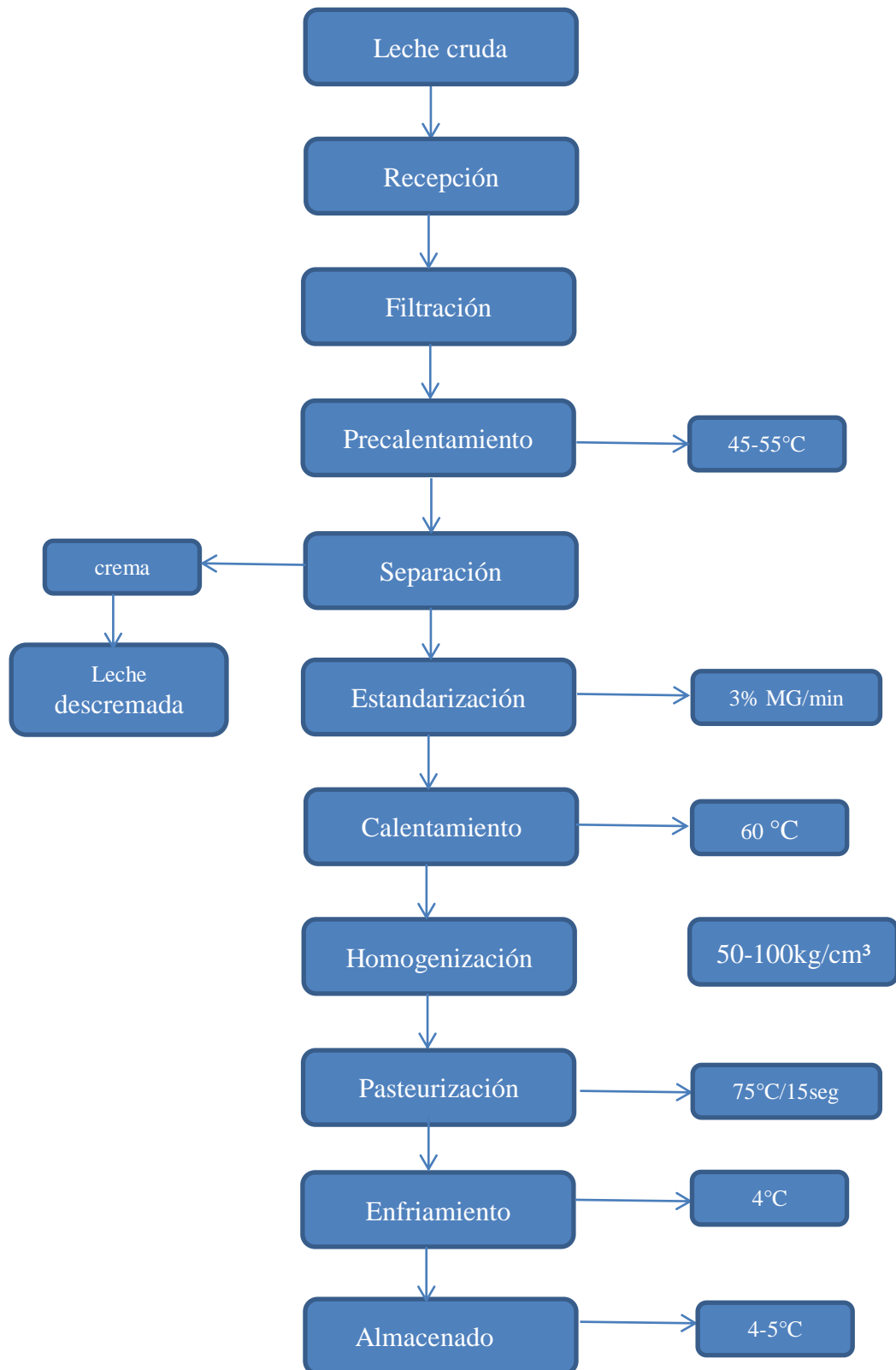
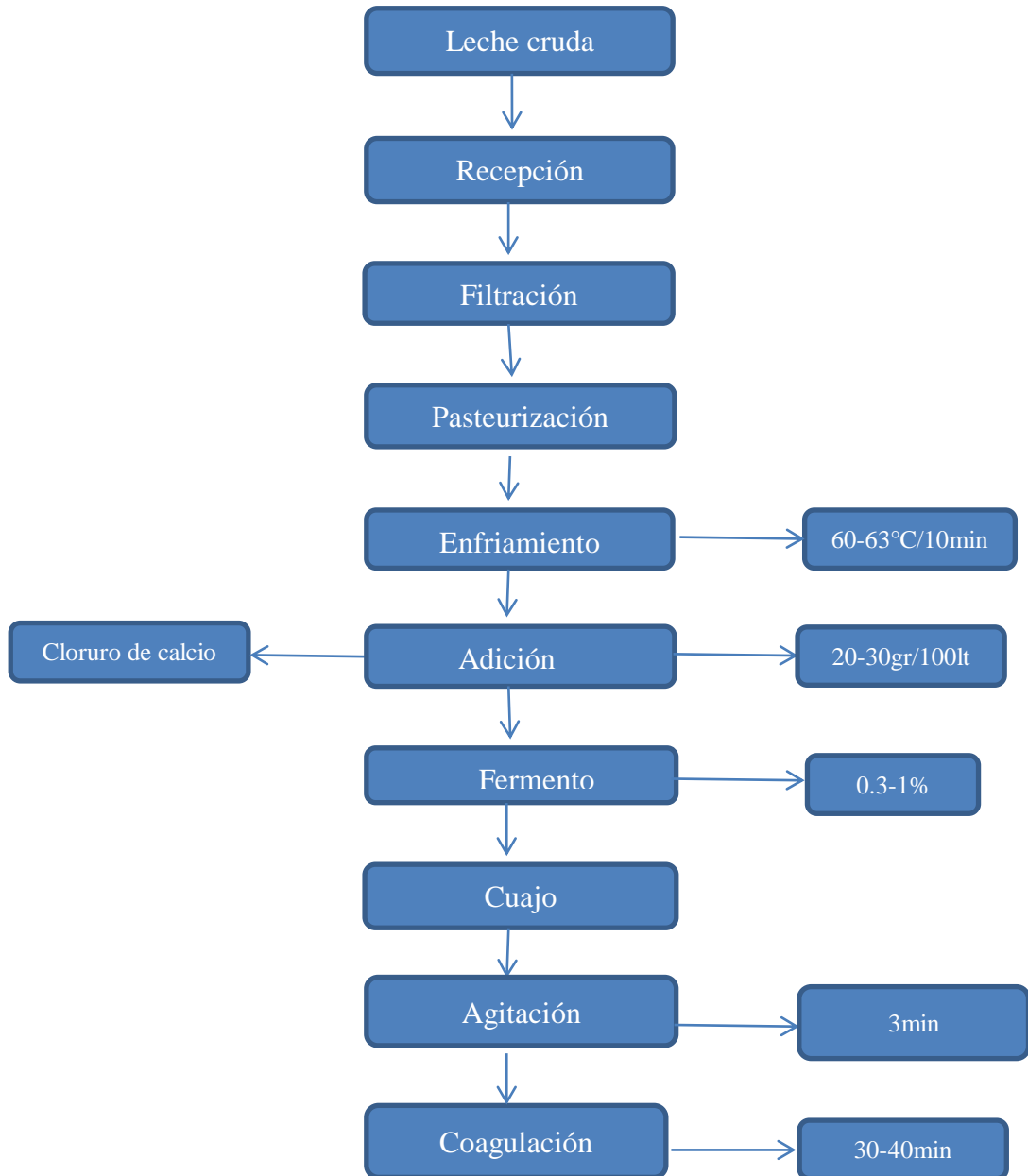
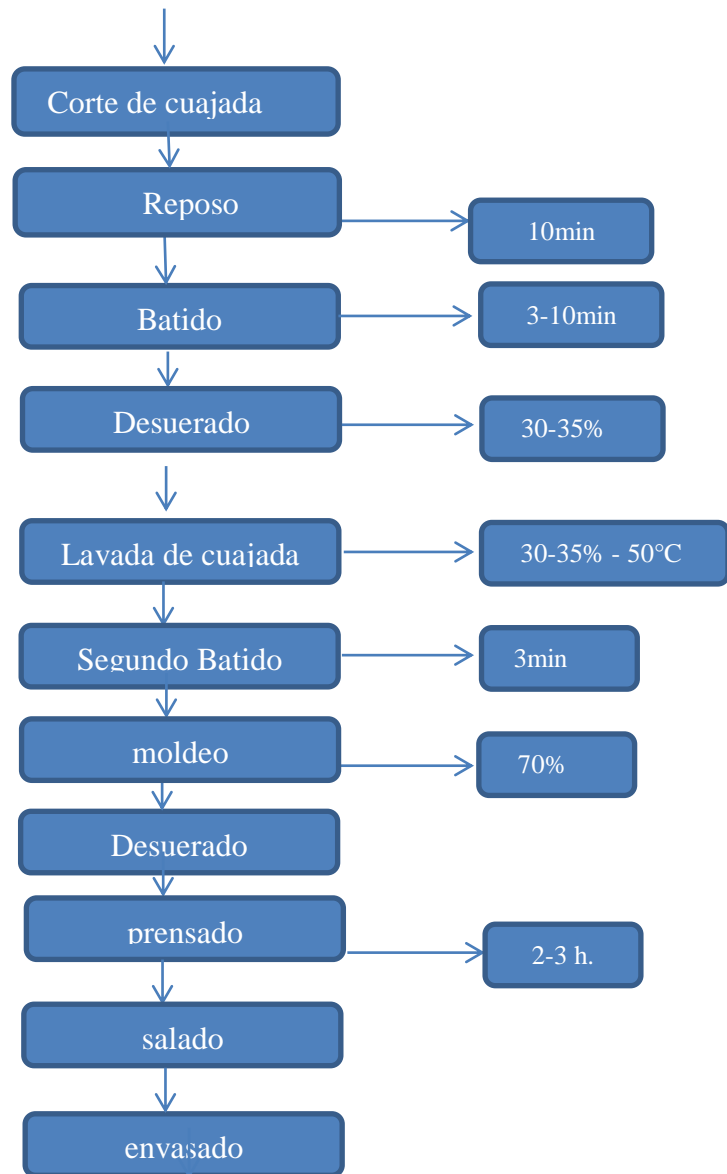




Grafico # 15

Diagrama de flujo Queso Fresco





ANEXO C

FOTOGRAFIAS

FIGURA # 1 Preparacion de muestras adulteradas con suero de queseria



Elaborado por: Fernanda Núñez

Figura # 2 Precipitación de caseína



Elaborado por: Fernanda Núñez

Figura # 3 Caseína precipitada



Elaborado por: Fernanda Núñez

Figura # 4 Digestión muestras



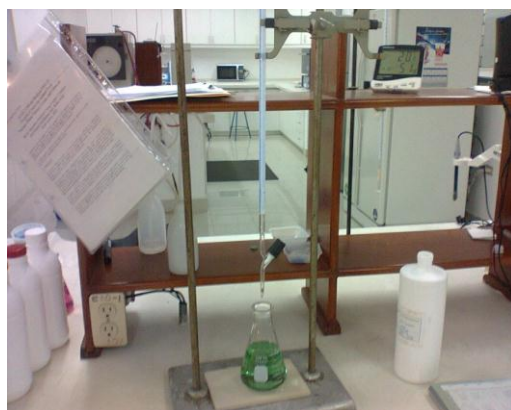
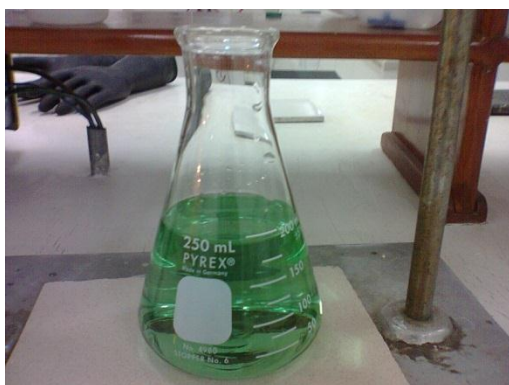
Elaborado por: Fernanda Núñez

Figura# 5 Destilación muestras



Elaborado por: Fernanda Núñez

Figura # 6 Resultado titulable



Elaborado por: Fernanda Núñez