



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**ELABORACION DE CASEINATO DE SODIO A PARTIR DE
LECHE FRESCA APTA PARA CONSUMO HUMANO
Y LECHE EN POLVO DE IMPORTACION DESVIADA
A ALIMENTACION ANIMAL**

FALLA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO QUIMICO
P R E S E N T A
ELIAZAR AGUIRRE MANDUJANO



V N A M

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

1989



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE GENERAL

	Página
LISTA DE CUADROS	i
LISTA DE FIGURAS	iii
RESUMEN	1
1. INTRODUCCION	3
1.1 Definición de leche	3
1.2 Composición de la leche	3
1.2.1 Grasa de la leche	3
1.2.2 Lactosa	6
1.2.3 Sales minerales	6
1.2.4 Proteínas	6
1.3 Coagulación de la caseína	14
1.4 Propiedades funcionales de proteínas en -- alimentos	15
1.4.1 Hidratación	17
1.4.2 Actividad superficial	17
1.4.3 Texturización	18
1.5 Elaboración de caseína	18
1.5.1 Pasteurización	19
1.5.2 Descremado	19
1.5.3 Precipitación	19
1.5.4 Lavado de la cuajada	24
1.5.5 Secado de la cuajada	27
1.6 Manufactura de caseinato de sodio	28
1.6.1 Disolución de la caseína	28
1.6.2 Secado de la disolución de caseina- to de sodio	33
1.7 Importancia del caseinato de sodio en la - industria alimentaria	33
1.8 Situación actual de la producción de leche en México	33

2.	MATERIALES Y METODOS	38
2.1	Análisis bromatológico de la leche utilizada	38
2.2	Reconstitución de la leche en polvo	38
2.3	Pasteurización de la leche	38
2.4	Descremado de la leche	39
2.5	Obtención de la caseína	39
2.5.1	Precipitación de la caseína	39
2.5.2	Corte de la cuajada de caseína	39
2.5.3	Desuerado	41
2.5.4	Lavado de la cuajada de caseína	41
2.5.5	Secado de la caseína	41
2.5.6	Molido de la caseína	41
2.6	Obtención del caseinato de sodio	43
2.6.1	Disolución de la caseína	43
2.6.2	Secado de la solución de caseinato .	46
2.6.3	Análisis realizados al caseinato de sodio	46
3.	RESULTADOS Y DISCUSION	
3.1	Análisis bromatológicos de la leche	46
3.2	Reconstitución de la leche descremada en -- polvo	48
3.3	Precipitación de la caseína	48
3.4	Lavado de la caseína	50
3.5	Rendimiento	52
3.6	Secado de la caseína	52
3.7	Dependencia de la viscosidad de la solución de caseína con el pH, la concentración y -- temperatura	52
3.8	Secado de la disolución de caseinato de sodio	56
3.9	Pruebas microbiológicas	57
4.	CONCLUSIONES	57
5.	BIBLIOGRAFIA	60

INDICE DE CUADROS

	Página
1. Propiedades fisicoquímicas de la leche de vaca..	4
2. Composición media de la leche de vaca	4
3. Composición detallada de la leche de vaca	5
4. Propiedades físicas de los isómeros de lactosa..	8
5. Composición proteica de la leche	8
6. Porcentajes de los diferentes tipos de caseína..	10
7. Propiedades de varias fracciones de caseína en - leche	10
8. Propiedades funcionales de ingredientes proteíni- cos alimenticios	16
9. Composición promedio de la leche descremada	16
10. Composición de caseína húmeda para obtención de caseinato de sodio	29
11. Composición de caseína seca para obtención de ca- seinato de sodio	29
12. Producción nacional de leche de vaca	35
13. Necesidades estimadas de leche fluída	35
14. Volúmen de las importaciones de leche en polvo..	36
15. Gradiente de temperaturas usadas en los lavados.	42
16. Análisis bromatológico de la leche fresca fluída	47
17. Análisis bromatológico de la leche en polvo	47
18. Humedad de la caseína de los diferentes trata- mientos	51

19.	Rendimiento de los diferentes tratamientos de caseína lavada	53
20.	Propiedades físicas del caseinato de sodio en solución para los diferentes tratamientos	54
21.	Análisis microbiológico de muestras de caseinato de sodio	58

INDICE DE FIGURAS

	Página
1. Estructuras de α y β -lactosa	7
2. Estructura de K-caseína	11
3. Acción de la chimosina en K-caseína para desestabilización de micetas. (coagulación)	13
4. Operaciones fundamentales en la elaboración de caseína	20
5. Relación de viscosidad contra pH	22
6. Volumen del coágulo contra pH de precipitación.	23
7. Tamiz móvil sinfín inclinado para separación de agua de lavado y coágulo.....	26
8. Operaciones fundamentales en la elaboración de caseinato de sodio	30
9. Viscosidad de soluciones de caseinato contra -- concentración de caseína	32
10. Metodología para la obtención de caseína a partir de leche descremada	40
11. Metodología para la obtención de caseinato de - sodio a partir de caseína	44
12. Equipo para la disolución de la caseína	45

RESUMEN

El componente protéico mayoritario de la leche es la caseína, aproximadamente el 78% de la proteína total, la cual puede ser removida por acción de agentes coagulantes. La coagulación de la caseína se lleva a cabo principalmente en dos formas: por acidificación (adicionando ácidos tales como: H_2SO_4 , HCl , CH_3COOH , etc...) y coagulación enzimática (adicionando enzimas proteolíticas o cuajos); posteriormente se hace reaccionar con álcalis, normalmente $NaOH$, para obtener la sal correspondiente (caseinato de sodio).

Los ingredientes proteínicos pueden ser adicionados en sistemas alimenticios con el fin de impartir alguna de las propiedades funcionales requeridas (texturales, reológicas, hidratación, etc.).

La forma más común como se utilizan las proteínas de la leche en sistemas alimenticios es como caseinatos, que pueden ser de calcio, de sodio y amonio favoreciendo así alguna de las propiedades funcionales e incrementar el valor nutricional del alimento, aumentando el valor de P.E.R. y la concentración de aminoácidos esenciales.

En México, los caseinatos se producen utilizando caseína de importación, lo cual implica una pérdida de recursos en la adquisición de dicho producto.

Por otro lado, la producción nacional de leche es insuficiente para cubrir las necesidades mínimas de la población, obligando a que se importe un gran volumen de leche en polvo, ya sea entera o descremada y de esta, aproximadamente el 1% (1500 - 1700 toneladas anuales), se desvían a consumo animal, debido a que en su transportación los sacos se rompen y sufren deterioro, subutilizando un producto necesario para la población, sobre todo infantil.

En el presente trabajo se propone la obtención de caseinato - de sodio a partir de leche en polvo de importación desviada a consumo animal de dudosa calidad sanitaria y de leche fluída de zonas de producción donde la conservación es difícil, con el fin de eliminar los gérmenes patógenos, principalmente Staphylococcus aureus.

Los resultados obtenidos muestran que sometiendo la leche tanto fluída como en polvo reconstituída, al proceso de obtención de caseinato de sodio, se logra una disminución importante en la cuenta estandar (valores inferiores a 30 000 $\frac{\text{colonia}}{\text{g}}$), cuenta de hongos (menor de 20 por gramo) y sobre todo la eliminación o por lo menos inhibición de Staphylococcus aureus, lo que indica que dicho proceso es una opción viable para el aprovechamiento de leche de dudosa calidad sanitaria no utilizada para consumo humano.

1. INTRODUCCION

1.1 Definición de leche

La leche es un líquido blanco, opaco, más viscoso que el agua, de sabor a zucarado, segregado por las glándulas mamarias de la hembra de los mamíferos. Las propiedades fisicoquímicas principales de la leche de vaca, cuando está — fresca, se muestra en el cuadro 1.

Se puede considerar a este sistema como una emulsión de materia grasa en una solución acuosa que contiene numerosos componentes en solución y otros en estado coloidal. El agua es el elemento más abundante, aproximadamente el 90% de la leche (1).

1.2 Composición de la leche

La composición media de la leche de vaca se observa en el cuadro 2 y en forma detallada en el cuadro 3 (1) (2).

1.2.1 Grasa de la leche

La materia grasa contenida en la leche puede ser dividida, con base a su comportamiento frente a potasa alcohólica, en fracción saponificable (lipídica) e insaponificable; constituyendo la primera el 99% del total.

Los componentes principales de la fracción insaponificable son los carotenoides, tocoferoles y esteroles.

Los lípidos simples (glicéridos y estéridos) y complejos (fosfátidos) forman la fracción saponificable, siendo los glicéridos los componentes mayoritarios (99%).

Los ácidos grasos más abundantes en los glicéridos son: el ácido mirístico, palmítico y estearico (1).

Cuadro 1. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LA LECHE DE VACA

Densidad a 15°C (g/ml)	1.030 - 1.034
Calor específico Cal/g	0.93
Punto de congelación °C	- 0.55°C
PH	6.5 - 6.6
Acidez °D	16 a 18°D
Indice de refracción	1.35
Punto de ebullición °C	100.17°C

Fuente: Veisseyre, R. (1)

Cuadro 2. COMPOSICION MEDIA DE LA LECHE DE VACA

COMPONENTE	PORCENTAJE
Grasa	3.39 - 4.30
Proteínas	3.20 - 3.50
Lactosa	4.70 - 5.20
Sales minerales	0.60 - 1.0

Fuente: Perez, G. (2)

Cuadro 3. COMPOSICION DETALLADA DE LA LECHE DE VACA

COMPONENTE	PORCENTAJE PROMEDIO	MACROCOMPONENTES
Grasa	3.75	Diglicéridos pero principalmente triglicéridos.
Lípidos	0.05	Lecitina, cefalina y esfingomielina.
Proteínas	3.38	78% de la proteína total son <u>caseínas</u> (27 g/litro) <ul style="list-style-type: none"> α - caseína 1.67% β - caseína 0.62% κ - caseína 0.12% λ - caseína 0.37% <p>Proteínas del suero 0.60%</p> <ul style="list-style-type: none"> α - lactoalbúmina 0.13% β - lactoglobulina 0.35% albúmina sérica 0.04% <p>Trazas de otras sustancias nitrogenadas.</p>
Lactosa	4.7 - 5.2	Disacárido formado por glucosa y galactosa
Sales minerales	0.6 - 1.0	Fosfato (Ca, K y Mg) 0.33% Cloruros (Na y K) 0.20% Citratos (Na, K, Ca y Mg) 0.32% Carbonatos (Na y K) 0.025%
Agua	87	
Otros (gases disueltos, vitaminas, enzimas, etc)....	0.05	

Fuente: Perez, G. (2)

Es el glúcido más importante de la leche, está formado por la -- unión de una molécula de β -galactosa y otra de α o β -glucosa, lo que da origen a la existencia de dos formas isoméricas, α y β , las cuales se encuentran en equilibrio (figura 1). Estas formas isoméricas de la lactosa se distinguen por la diferencia en sus propiedades físicas (cuadro 4) (3).

El poder edulcorante de la lactosa es 5 veces menor que el de la sacarosa y junto a las sales de la leche, es la responsable de su sabor característico.

Uno de los principales problemas que se presentan en los sistemas que contienen lactosa, es que esta puede reaccionar con sustancias nitrogenadas; los grupos amino básicos de las proteínas, péptidos y aminoácidos se adicionan rápidamente a los grupos carbonilo de los azúcares reductores y se condensan; el mecanismo de dicha reacción no se conoce con exactitud y se le denomina reacción de Maillard, en la cual se producen un conjunto de compuestos que imparten el oscurecimiento y la disminución en el valor nutritivo en alimentos; normalmente sucede cuando éstos se calientan a temperaturas altas o se almacenan por períodos muy largos (3) (4).

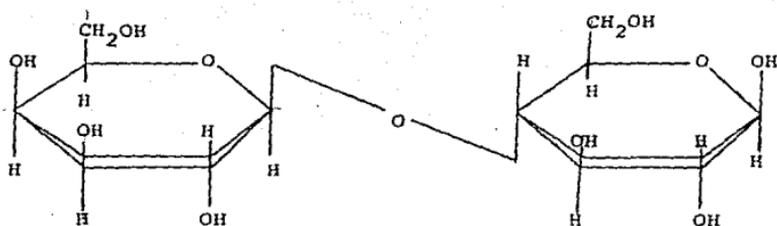
1.2.3 Sales minerales

La concentración de las sales minerales en la leche varía de 3 a 10 gramos por litro, una parte de ellas se encuentra en forma soluble y la otra en estado coloidal. Los elementos más abundantes son el potasio, calcio, cloro y fósforo, según se observa en el cuadro 2 (3).

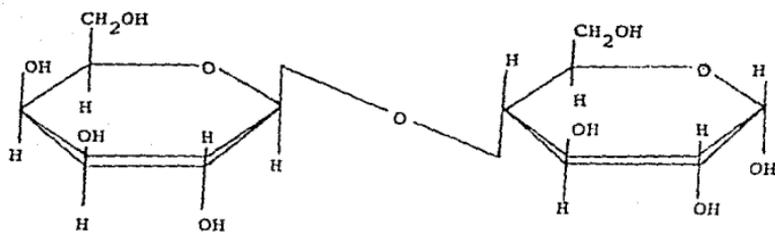
1.2.4 Proteínas

De los componentes nitrogenados, la caseína es la más abundante; representada del 77 al 82% de la proteína total, tal como se muestra en el cuadro 5 (5)

Las caseínas son fosfoproteínas que se encuentran en la leche en forma de granulos esféricos cuyo diámetro varía de 40 a 200 μ , las cuales pre



B- LACTOSA



α-LACTOSA

Fig. 1 ESTRUCTURAS DE α Y B-LACTOSA

Fuente: Alais, C. (3)

Cuadro 4. PROPIEDADES FISICAS DE LOS ISOMEROS DE LACTOSA

	α · H ₂ O	β
Poder rotatorio	+ 89	+35
Temperatura de fusión	202	252
Concentración de equilibrio (15°C)	38%	62%
Cristalización de las soluciones saturadas		
- por encima de 94°C	-	β - anhidra
- por debajo de 94°C	α - anhidra	-
Solubilidad inicial a 15°C (g/ 100 g de agua)	7	50
Solubilidad inicial a 100°C (g/100 g. de agua)	70	95

Fuente: Alais, C. (3)

Cuadro 5. COMPOSICION PROTEICA DE LA LECHE (g/litro)

Contenido total de proteína	32 - 37
Contenido total de caseína	25 - 30
Contenido total de proteínas del suero	5 - 6.5
Contenido total de sustancias nitrogenadas no protéicas	1.6 - 1.8

Fuente: Revista Española (4).

cipitan por acidificación a PH de 4.6 a 20°C (punto isoelectrico de la caseína). Todas ellas son moléculas de gran tamaño con altos residuos de fosforilo, el cual contribuye a la estabilidad de la molécula; tienen también un alto contenido de prolina, leucina y ácido glutámico.

La caseína entera esta constituida por las siguientes fracciones:

α_{s1} -caseína, α_{s2} -caseína, β -caseína, κ -caseína y δ -caseína; de las cuales las más abundantes son la α_{s1} , β y κ -caseína. En el cuadro 6 se muestran los porcentajes promedio de cada una (3)

Los porcentajes que corresponden a la α_s -caseína incluye la α_{s1} y la caseína α_{s2} .

El componente mayoritario es la α_{s1} -caseína, la cual está formada por una cadena polipeptídica con 199 residuos de aminoácidos y contiene cerca de 18 de fósforo, esto es, 8 grupos fosfato, 7 de los cuales están unidos entre los aminoácidos 42 a 80 (fracción ácida); esto trae como resultado una carga neta de -21 a PH de 6.6 y el resto de la molécula no tiene carga neta (región hidrofóbica), las propiedades de las fracciones de las caseínas están citadas en el cuadro 7. La α_{s1} -caseína contiene de 8 a 8.6% de residuos de prolina, los cuales están distribuidos en forma dispersa y no contiene residuos de cisteína, fig. 2 (2).

Debido a la porción ácida, la caseína α_{s1} es susceptible a los iones Ca^{2+} y la asociación $Ca-\alpha_{s1}$ -caseína precipita (1) (2) (6).

La fracción α_{s2} -caseína está constituida por cuatro tipos que son: α_{s2} , α_{s3} , α_{s4} y α_{s6} , los cuales poseen una cadena con 207 residuos aminoácidos y 10, 11, 12 y 13 grupos fosfato respectivamente. Se caracterizan por su bajo contenido en prolina y contienen 2 residuos de cisteína por molécula (2).

La β -caseína está constituida por una cadena polipeptídica de 209 residuos aminoácidos, siendo la arginina su N-terminal y la valina su C-terminal; contiene 35 residuos de prolina y 5 grupos fosfato, los cuales están distribuidos en el péptido terminal de 25 aminoácidos y esto le proporciona una fuerte carga negativa entre los residuos aminoácidos 13 a 21, lo que trae como consecuencia una elevada susceptibilidad al Ca^{2+} (2) (6).

Cuadro 6. PORCENTAJE DE LOS DIFERENTES TIPOS DE CASEINA

TIPO DE CASEINA	% DE CASEINA TOTAL
Caseína α_s	40
Caseína β	30
Caseína κ	15
Otras sustancias nitrogenadas	15

Fuente: Alais, C. (3)

Cuadro 7. PROPIEDADES DE VARIAS FRACCIONES DE CASEINA EN LECHE

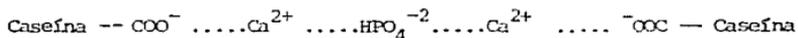
PROTEINA	% DEL TOTAL	PESO MOLECULAR	PUNTO ISOELECTRICO	No. DE RESIDUOS DE FOSFATO	RESIDUOS DE PROLINA POR MOLECULA	REGIONES HIDROFOBICAS
α_{s1} -caseína	44-46	22068 a 23724	4.2-4.76	8-10	17	1-44 90-113 132-199
α_{s2} -caseína	12	25230 -	-	10-13	10	90-120 150-207
β -caseína	32-35	23.944-24092	4.6-5.1	4-5	35	2/3 del C terminal
κ -caseína	8-12	19007 -	4.1-5.8	1	20	5-65 105-115

Fuente: Modler H.W. (6)

La K-caseína tiene propiedades químicas y físicas diferentes a las otras caseínas; esta formada por una cadena polipeptídica con 169 residuos aminoácidos. Tiene un bajo contenido de fósforo (0.2%), es decir de 1 a 2 grupos fosfato por molécula, por lo que se mantiene soluble en soluciones de calcio en condiciones que precipitan a todas las demás proteínas (incluso 0.4M). Sus aminoácidos más abundantes son serina, treonina y principalmente cisteína; es la única de las caseínas con cadenas laterales de fracciones glucídicas. Tiene la capacidad de estabilizar a otras caseínas contra la precipitación con calcio, por la formación de micelas coloidales (actuando como coloide protector). Es específicamente hidrolizada en un enlace peptídico particular por la enzima quimosina, que resulta en la desestabilización de las micelas y la formación de precipitados (coagulación) fig 3.

La presencia de diferentes monómeros proteicos en leche alcanza su máxima estabilidad gracias a la formación de micelas que imparten el color blanco. Una de las propiedades más sobresalientes de las caseínas α_1 , β y κ es la de poder asociarse para formar polímeros (asociación de moléculas idénticas) o complejas (asociación de moléculas diferentes). En presencia de calcio iónico, estos complejos se reúnen para formar agregados heterogéneos que suelen llamarse micelas, este complejo se denomina "fosfocaseinato ácido de calcio".

Las asociaciones entre caseínas se forman gracias a enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals. En presencia de calcio intervienen interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, por reducción de la repulsión electrostática así como la formación de puentes salinos con el calcio y el fósforo entre los grupos fosfato en moléculas de caseína adyacente y también entre los aminoácidos dicarboxílicos.



El fosfato de calcio en las micelas se encuentra asociado a éstas a través de una unión química, donde el fosfato inorgánico estaría como HPO_4^{-2} unido al calcio y asimismo a los grupos carboxilo de la caseína, lo anterior contribuye a mantener la estructura de las micelas (1) (2) (3).

Cuando son agregadas a sistemas alimenticios, proveen un incremento en

las interacciones entre las interfases lípido/agua o aceite/agua, incrementando la estabilidad del alimento (6).

1.3 Coagulación de la caseína

La coagulación de la caseína se puede llevar a cabo, principalmente en dos formas: acidificación o coagulación enzimática.

Acidificación. La acidificación espontánea de la leche o agregando ácido, provoca la destrucción de las micelas sin fraccionar la caseína, cuya precipitación es total hacia PH 4.7. Los iones H^+ , que proceden de la disociación del ácido, neutralizan las cargas negativas de las micelas. Por otra parte la afinidad por el agua del electrolito, añadido o desarrollado, origina cierta deshidratación de las mismas. Estos dos fenómenos provocan la floculación de la disolución coloidal.

La caseína isoelectrica está completamente exenta de calcio y no contiene más que fósforo proteico, por ocurrir en este proceso una migración progresiva fuera de las micelas, del calcio ligado a las caseínas y del fosfato de calcio. El coagulo formado pierde toda su flexibilidad, los granos no se unen realmente para formar una pasta homogénea y la cuajada queda simple y granulosa.

Coagulación enzimática. La desestabilización del sistema micelar es debida fundamentalmente a la proteólisis efectuada por la renina o quimosina, — aunque la hidrólisis la pueden llevar a cabo muchas enzimas y tener el mismo efecto de coagulación.

El cuajo o renina es una enzima obtenida del estómago de los animales jóvenes. Se obtiene especialmente de los terneros o corderos, del compartimiento llamado abomaso o cuajar o cuarto estómago.

Por lo general, para la desestabilización se consideran dos fases:

Fase primaria o enzimática. La renina hidroliza la K-caseína, entre los aminoácidos 105-106, que son fenilalanina y metionina respectivamente. Esta hidrólisis tiene como resultado la separación de la fracción hidrofílica soluble (macroglucopéptido) que contiene los residuos ácidos, el grupo fosfato y las -

unidades de carbohidrato, de la fracción hidrofóbica (para-kappa caseína) (2) - (3).

Fase secundaria o no enzimática. Las micelas modificadas se agregan en presencia de ión calcio. Conforme el poder estabilizante de la K-caseína es destruido por la acción enzimática, la carga en la superficie de las micelas se reduce, haciéndolas más susceptibles a la presencia del ión calcio y permitiendo interacciones micelares con la consiguiente coagulación. A través del microscopio electrónico se ha observado durante la coagulación, la formación inicial de estructuras cortas semejantes a hilos que unen las micelas, más tarde se transforman en fibrillas y las partículas de caseinato tienden a aglomerarse eventualmente en una red entrecruzada de estructuras fibrosas. Los glóbulos de grasa de la leche y el suero quedan atrapados dentro de la estructura.

El coágulo fresco representa un estado metaestable. La sinéresis es la retracción del retículo regular formado por las proteínas coaguladas, que engloban los glóbulos de grasa y el suero.

Se acepta que la κ_s y la K-caseína son gradualmente hidrolizadas por -- largo tiempo, llamándose en algunas ocasiones a esta etapa fase terciaria (3).

1.4 Propiedades funcionales de proteínas en alimentos.

Son aquellas que describen los efectos físicos de dichos productos; existen 7 propiedades funcionales principales, las cuales se enlistan en el cuadro 8 (6)

Los ingredientes proteínicos que más son utilizados son:

- Coprecipitados de calcio.
- Coprecipitados ácidos neutralizados con NaOH
- Caseinatos de sodio, etc...

Estos pueden ser adicionados en un sistema alimenticio específico con el fin de impartir una o más de las propiedades funcionales mencionadas en el cuadro 8. Las más relevantes se exponen a continuación.

Cuadro 8. PROPIEDADES FUNCIONALES DE INGREDIENTES PROTEINICOS ALIMENTICIOS

PROPIEDAD	ATRIBUTOS FUNCIONALES
Organolépticas	Sabor, olor, textura, color
Apariencia	Turbidez, color
Hidratación	Solubilidad, dispersabilidad, viscosidad, gelación, hinchamiento.
Surfactación	Emulsificación, espumabilidad, batido, horneabilidad.
Estructural	Elasticidad, cohesión, texturización, agregación.
Textural	Viscosidad, adhesión, agregación, texturización, gelación.
Reológicas	Agregación, gelación, viscosidad, extrudabilidad.

Fuente: Modler, H.W. (6)

Cuadro 9. COMPOSICION PROMEDIO DE LA LECHE DESCREMADA

Lactosa	50 g
Caseína	30 g
Proteínas solubles	5 g
Materias nitrogenadas no proteicas	1.5 g
Sustancias salinas	9.5 g
Extracto seco total	96 g

Fuente: Veisseyre, R. (1)

1.4.1 Hidratación

La capacidad de hidratación de las proteínas es de importancia primaria dentro de los sistemas alimenticios a los que se adicionan; productos con una alta capacidad de absorción de agua, como el caseinato de sodio, mayor de 200% (2.0 g. de agua absorbida/g de producto), funcionan perfectamente como atrapadores de agua en alimentos que requieren una humedad alta, por ejemplo, el queso, productos cárnicos, helados, etc...; mientras que productos con media y baja absorción de agua (100-200% y menor de 100% respectivamente), como son la caseína y los coprecipitados de calcio, se usan principalmente en panadería, e incluso en la fabricación de helados (6) (7).

La capacidad de hidratación de las proteínas de la leche depende de la composición de la proteína y de los procesos de secado que se llevan a cabo en la obtención de las mismas.

Durante las etapas de secado, ya sea por aspersión, secado en cilindro o secado al vacío, existen cambios físicos en la estructura proteínica y en su asociación molecular; pudiendo perder en forma irreversible la capacidad de rehidratación, como el caso en que ocurre una reducción en el área superficial, y por tanto, un decremento en el número de sitios posibles para la absorción de agua. Por otro lado, el secado por congelación preserva la macroestructura de los coágulos de proteína y con ello admite una rehidratación más con.

La mayor parte de las proteínas no están completamente rehidratadas, sino que presentan una actividad acuosa (a_w) de hasta 0.92, en la cual seis moléculas de agua rodean a cada sitio activo (con grupos carboxilos, aminos, imidazol y sulfhidrilo), formando enlaces por puente de hidrógeno generando así moléculas flexibles (6) (7) (8).

1.4.2 Actividad superficial

La actividad superficial de las proteínas de la leche es importante en varias aplicaciones en sistemas alimenticios debido a que forman emulsiones estabilizadas mediante un balance entre las fuerzas de atracción y repulsión. Las zonas polares de las cadenas aminoácidas son orientadas hacia la fase acuosa, mientras que los segmentos hidrofóbicos son orientados hacia la fase no po-

lar o lipídica, causando así una reducción en la energía libre del sistema y -- con ello la estabilización de la emulsión. Otros factores que contribuyen a la estabilidad son el tamaño y la carga de la fase discontinua o dispersa, la tensión interfacial, las características de la película absorbida, relación en peso de las dos fases y la viscosidad. Además las proteínas pueden incrementar la viscosidad en las emulsiones, como el caseinato de sodio, contribuyendo a la estabilidad, debido a que la viscosidad controlada la tasa a la cual la grasa adyacente o los glóbulos de esta pueden aproximarse formando una emulsión menos dispersa. Esta característica es aprovechada en varios tipos de alimentos donde es importante la formación de geles proteínicos en presencia de grasa, como queso y productos cárnicos, en los cuales el caseinato de sodio es usado como emulsificante de aceite y grasa (6) (7).

1.4.3 Texturización

La habilidad de las proteínas de la leche para formar o alterar la textura de los sistemas a los que se adicionan, les confiere una gran importancia y por ello son usados para elaborar productos con textura más aceptable por el consumidor. Por ejemplo en la elaboración de productos imitación queso, en la cual, la caseína forma una matriz proteica dentro de la cual estan atrapados los demás componentes (9).

1.5 Elaboración de caseína

La elaboración de caseína surgió como una necesidad para aprovechar la leche descremada obtenida durante el proceso de elaboración de mantequilla, principalmente en países Europeos, ya que se utilizaba como alimento de ganado bovino y porcino. La composición promedio de la leche descremada se observa en el cuadro 9.

La caseína puede elaborarse por dos procedimientos principales:

Procedimiento químico. La leche descremada se acidifica hasta un PH de 4.6 con el objeto de precipitar la caseína, se puede llevar a cabo con ácido clorhídrico (caseína al ácido clorhídrico), con ácido sulfúrico (caseína sulfúrica) o con cultivos lácticos (caseína láctica).

Procedimiento bioquímico. Se adiciona cuajo, obteniendo así, una caseína al cuajo en forma de paracaseinato de calcio (1).

Los procesos utilizados en la elaboración de caseína constan de las operaciones fundamentales que se enlistan en la figura 4 (10).

1.5.1 Pasteurización

Un requisito indispensable para la elaboración de caseína comestible es la pasteurización de la leche utilizada; aunque se lleve a cabo una pasteurización de los coágulos de caseína en las etapas de lavado, se recomienda pasteurizar la leche con el fin de destruir todos los gérmenes patógenos como Coxiella burnetti, Mycobacterium tuberculosis, Salmonella, etc... y la reducción de la flora banal con la finalidad de mejorar su conservación.

1.5.2 Descremado

La leche es descremada hasta obtener un contenido de grasa no mayor de 0.08%.

1.5.3 Precipitación

La leche descremada es precalentada hasta una temperatura de 32°C, - esto se puede llevar a cabo en una tina de producción de queso, provista de una camisa de vapor; este precalentamiento tiene la finalidad de obtener una temperatura ideal para la coagulación de la caseína; así, una temperatura menor a -- 29°C produce un coágulo pequeño y blando, lo cual puede provocar pérdida de coágulos finos de caseína en la etapa de lavado, mientras que en una coagulación a temperaturas mayores pueden formarse partículas elásticas, ocasionando dificultades en las etapas de lavado (11) (12) (13).

En esta etapa el agente precipitante será adicionado diluido en agua; -- utilizando 22.2 ml/100 lts. de leche descremada si es cuajo con fuerza 1.10000 y una concentración 2.5 M si es un ácido mineral (ácido clorhídrico o sulfúrico). Estos serán impulsados por una bomba de desplazamiento positivo con el -- fin de asegurar una razón de flujo constante de ácido a la leche descremada.

La temperatura del sistema se eleva a 44°C, manteniendo una agitación -- constante para permitir una acidulación completa. Es importante en este punto medir el PH en forma continua utilizando un potenciómetro.

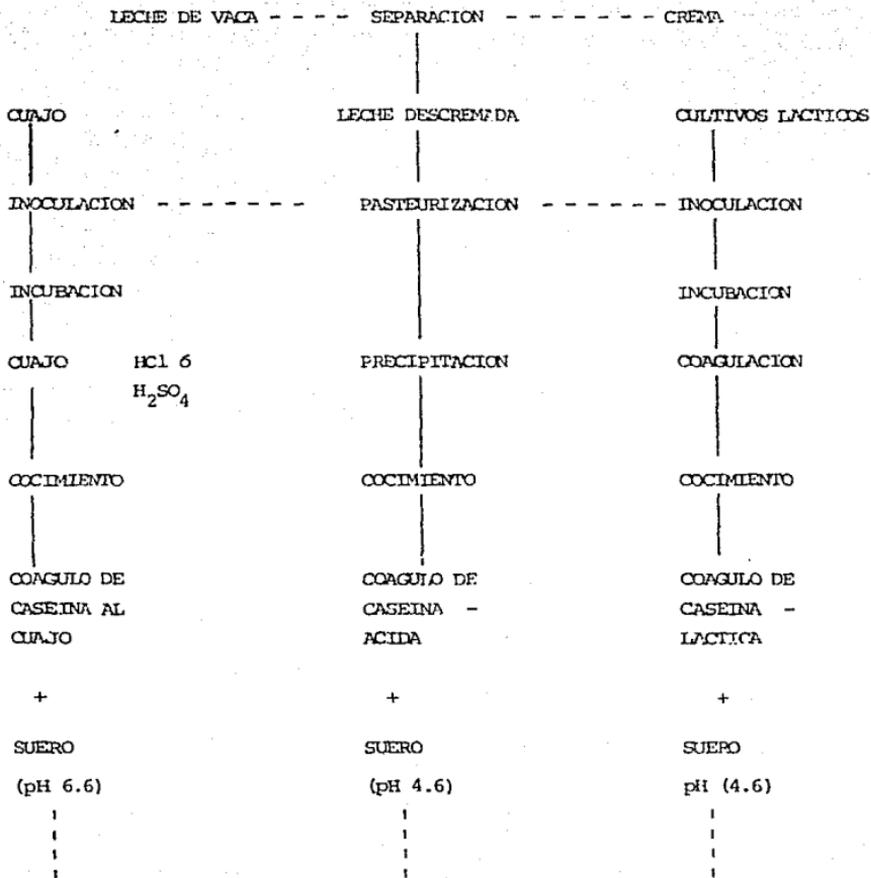


Fig. 4. OPERACIONES FUNDAMENTALES EN LA ELABORACION DE CASEINA

Fuente: Southward, C., Walker, N. (10).

El pH en la caseína ácida se controlará en 4.6 mediante la adición de HCl ó NaOH, según corresponda. En el caso de la caseína al cuajo, solo se mide el pH a la leche inicial y al final de la operación.

Para entender la importancia del pH de precipitación, es necesario considerar las propiedades químicas de la caseína en la leche.

A un pH neutro y cerca de 6.6, la caseína existe como un complejo de calcio llamado caseinato de calcio asociado con moléculas de fosfato de calcio, formando un coloide estable en solución.

Si el pH del sistema disminuye, el calcio es removido del complejo y la caseína queda inestable; a un pH de 4.6 (punto isoelectrico) la caseína precipita, al mismo tiempo todo el calcio, tanto el de la caseína como el del fosfato coloidal, es solubilizado, quedando así iones $H_2PO_4^-$ en solución (14).

Por lo tanto a un pH óptimo se obtiene una caseína desmineralizada, con un bajo contenido de cenizas, especialmente las correspondientes al calcio; estas influyen en forma directa en la viscosidad de tal forma que una caseína ácida precipitada a pH de 4.2 a 4.6 tiene una viscosidad mínima, mientras que una caseína obtenida a pH de 4.8 a 5.1 presenta un incremento en viscosidad; la figura 5 muestra estas variaciones (1) (5). Las curvas 3 y 4 muestran la variación en viscosidad de disoluciones de caseína precipitada a un pH alto de 5.05, sin añadir un agente secuestrante de calcio y adicionando ácido etilendiamino tetracético (EDTA) como agente quelante, respectivamente. Se puede observar en el caso en que se añadió EDTA, (curva 3) que la viscosidad fue mucho menor en comparación con la representada en disoluciones de caseína sin agente secuestrante (curva 4). Demostrando la relación directa que guarda el contenido de calcio con la viscosidad de estas disoluciones.

Existe además una relación inversa entre el pH de precipitación y el volumen del coágulo como se muestra en la figura 6.

Una vez concluida la precipitación de la caseína, se eleva la temperatura por medio de la camisa de vapor o con el uso de vapor directo hasta 63°C, lo anterior se realiza con el fin de inactivar la acción enzimática en el caso de la caseína al cuajo y obtener una mejor granulación de los coágulos de caseína (5).

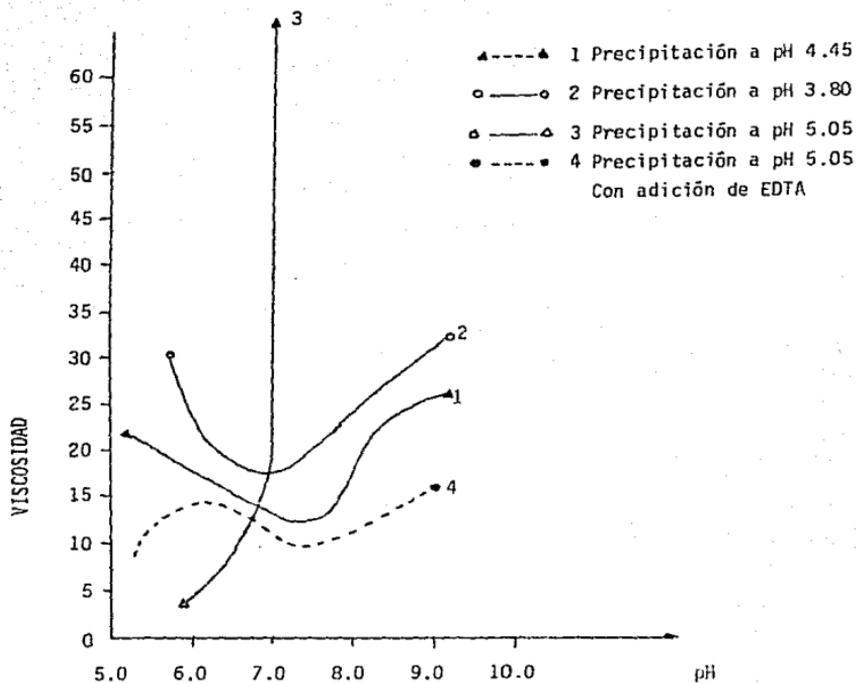


Fig. 5 INFLUENCIA DE PH DE PRECIPITACION DE CASEINA SOBRE LA VISCOSIDAD.
Fuente: Veisseyre, R. (1).

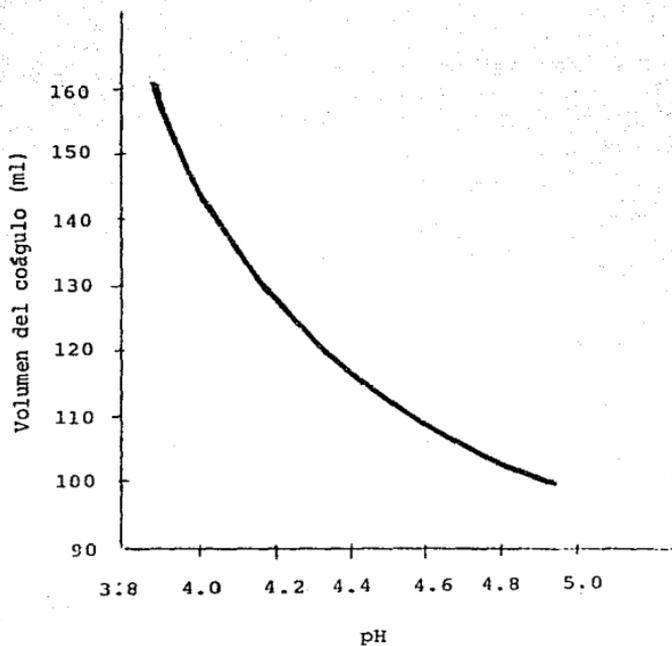


Fig. 6 VOLUMEN DEL COAGULO CONTRA pH DE PRECIPITACION
Fuente: O'Meara, G., Munro, P. (17)

Usando tamices de 90 mesh de acero inoxidable, bien sea por vibración o por gravedad, se separa el suero de los coágulos de proteína y posteriormente son llevados a los recipientes de lavado.

1.5.4 Lavado de la cuajada

En la operación de lavado de caseína, se somete la cuajada a cuatro lavados con agua a 55, 65, 75 y 25°C respectivamente.

El lavado tiene un doble fin.

-Eliminar las sales de calcio que son solubilizadas en el proceso de precipitación (caseína ácidas).

-La remoción de otro tipo de sólidos del suero remanentes en el coágulo, en particular la lactosa (caseínas ácidas y al cuajo).

La retención de calcio en el coágulo se debe a una acidulación del mismo, en general se presenta a pH alto de precipitación. Esto produce una caseína con alto contenido de cenizas y viscosidad alta, lo cual provoca muchos problemas en la producción de caseinatos (14) (15).

En caso de haber remanentes de lactosa en el coágulo se producirá la reacción de Maillard en la caseína durante los procesos de secado y almacenamiento, con la consecuente aparición de obscurecimiento y malos sabores en los caseinatos de sodio así obtenidos (1) (14).

El proceso de lavado se puede llevar a cabo en forma discontinua y continua.

- Lavado discontinuo. En este tipo de lavado, la cuajada se suspende en un volumen de agua igual a la mitad del volumen del suero que se eliminó, utilizando tinas verticales o bien las usadas en la elaboración de queso y agitadores potentes. Es posible obtener un lavado eficiente manteniendo la agitación durante 15 minutos. Por último los granulos son separados mediante un tamiz de acero inoxidable de 90 mesh, esta operación es repetida por 3 veces más variando las temperaturas del lavado.

- Lavado en continuo. Existen diferentes métodos del lavado en continuo, pero uno de los más utilizados es el propuesto por Muller y Hayes (16), consistente en el uso de agua fresca en la última etapa de lavado, circulada a contracorriente en las cubas. Posteriormente se separa la cuajada del agua de lavado mediante un tamiz móvil sin fin de Nylon, inclinado 30° (Fig. 17).

Los otros procedimientos de lavado solo varían en la forma como se realiza la separación de la cuajada, ya sea por tamices vibradores inclinados, tamices inclinados estacionarios o por gravedad (15) (17) (18).

En las etapas de lavado existe un proceso de difusión de la lactosa y sales minerales del coágulo hacia el agua de lavado, la velocidad de difusión se incrementa rápidamente en los primeros minutos y alcanza valores de equilibrio a los 15 minutos aproximadamente (14).

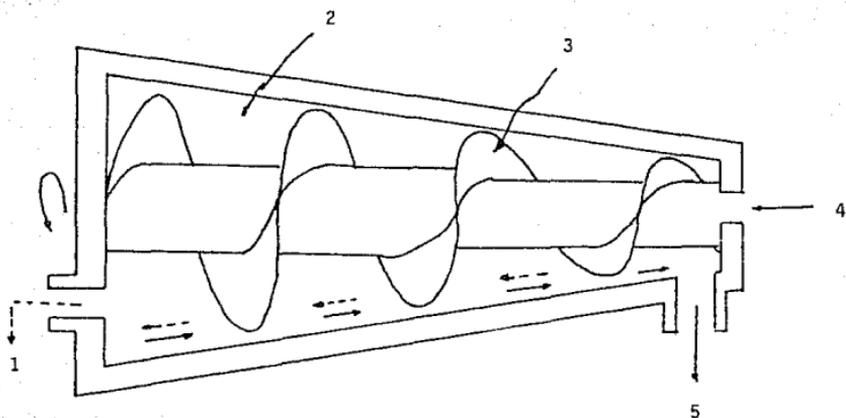
Los factores que afectan el proceso de difusión son:

- Pureza del agua
- Tamaño y composición de las partículas del coágulo
- Temperatura del agua de lavado

El agua de lavado debe ser lo más pura posible, pues la caseína puede fijar materias extrañas presentes en aguas turbias. En el caso de caseínas ácidas el pH se regula a 4.6 para entrar la formación de geles en la superficie de los granos que impiden la fusión, en casos en que el agua está muy ácida o bien, evitar el ablandamiento de los coágulos que conllevan a pérdidas de finos, si el agua de lavado es muy alcalina (1) (19).

Otro factor importante en el proceso de lavado es el perfil de temperaturas usadas, Muller y Hayes (16), establecen que un cuajo firme resulta de una precipitación y lavados con agua a valores correctos de pH, así como de temperaturas adecuadas que ayuden a la expulsión del agua de los gránulos en la etapa de prensado.

Así el primer lavado deberá ser a una temperatura cercana a la temperatura de precipitación 55°C , con el objeto de obtener una buena contracción del coágulo; si la temperatura del primer lavado se incrementa, por ejemplo a 65°C ,



—— Cuajada

----- Suero

1 Suero o agua

2 Acanaladura

3 Tornillo transportador

4 Llegada de la mezcla sólido-líquido

5 Cuajada desecada

Fig. 7 TAMIZ MOVIL SINFIN INCLINADO PARA SEPARACION DE AGUA DE LAVADO Y COAGULO.

Fuente: Veisseyre, R. (1).

la concentración disminuye, resultando una caseína con mayor humedad después — del prensado y con un contenido más elevado de lactosa y sales minerales (17).

La temperatura del agua del segundo o tercer lavado deberá ser de 75°C, con el fin de pasteurizar la cuajada en el caso de caseína comestible. La ventaja de esta pasteurización es la de reducir la cuenta bacteriana total que — puede haberse incrementado en operaciones anteriores existiendo además una menor posibilidad de contaminación en los pasos subsecuentes (17) (19).

La cantidad de agua a utilizar en cada lavado depende del coeficiente de difusión efectivo de la lactosa y de la eficiencia de la operación de lavado.

Bressan y Col. (20), Jordan (21) y Hobman (19) han desarrollado expresiones para determinar la eficiencia de las etapas de lavado, la cual depende del tamaño de partícula del coágulo, coeficiente de difusión del soluto y tiempo de contacto. Con estas expresiones se puede calcular la cantidad de agua a utilizar en cada lavado. Normalmente en lavados a contracorriente se requiere 1 litro de agua por cada 2 litros de leche descremada, aunque en algunos procesos se utilizan 2 litros de agua/2 litros de leche (14) (22).

1.5.5 Secado de la cuajada

Antes de llevar a cabo la operación de secado de la caseína, es importante minimizar la cantidad de agua a evaporar mediante prensado de los granulos, pudiendo disminuir la humedad hasta en 33% (1) (23).

El secado puede realizarse en secadores de diferentes tipos, los más — comúnmente utilizados son:

- Secador tunel. Consiste en un tunel de 25 metros de longitud por donde circula aire caliente, en su interior avanzan lentamente unos carros con bandejas, sobre las cuales se coloca la cuajada el rendimiento obtenido en este secador es de una tonelada/10 horas y las — temperaturas usadas no sobrepasan los 60°C.

- Secadores automáticos. Son diversos, por ejemplo, el secador tipo Bates, en el cual el coágulo es cribado por una malla y entonces transportado en charolas de acero inoxidable por acción vibratoria; consta de dos secciones: el presecador y el secador, la humedad final de la cuajada es de 30-35%, tiene una alta eficiencia del uso del aire caliente y flexibilidad en cuanto a manejo de diferentes tipos de coágulos (1) (14).

Las últimas etapas en la producción constan de una operación de molido y posteriormente envasado.

1.6 Manufactura de caseinatos

Los caseinatos pueden ser producidos a partir de caseína húmeda o en polvo, con las composiciones señaladas en los cuadros 10 y 11, por reacción con soluciones de álcali. En la figura 8 se muestran las operaciones involucradas en su manufactura (8).

1.6.1 Disolución

Quando se usa caseína en polvo, el proceso de disolución es más fácil (11). La caseína usada, ya sea seca o en polvo, es adicionada progresivamente junto con una solución de NaOH 2.5M a una tina equipada un agitador potente y una bomba centrífuga que permitan fuertemente la disolución. El álcali a usar puede ser también hidróxido de calcio, de potasio o de amonio.

Para preparar 100 kilos de disolución de caseinatos de sodio al 20%, es necesario mezclar 50 kilos de solución agua-álcali con 50 kilos de caseína con una humedad del 60% (24). Si se usa caseína seca, 30 kilogramos de caseína son mezclados con 70 litros de agua y con solución de hidróxido de sodio hasta obtener un PH de 6.7 (25).

El agua contenida en la tina de disolución deberá tener una temperatura de 50°C, a medida que la disolución progresa, la viscosidad aumenta y se hace necesario incrementar la temperatura hasta 70°C agitando constantemente a 400 rpm.

Cuadro 10. COMPOSICION DE CASEINA HUMEDA PARA OBTENCION DE CASEINATO DE SODIO.

COMPONENTE	PORCENTAJE
HUMEDAD	55 - 60
LACTOSA	menor 0.2
GRASA	menor 2.0
CALCIO	menor 0.15

Fuente: Australian Society of Dairy Science and Technology (11).

Cuadro 11. COMPOSICION DE CASEINA SECA PARA OBTENCION DE CASEINATO DE SODIO

COMPONENTE	PORCENTAJE
HUMEDAD	10 - 12
LACTOSA	menor 1.0
GRASA	máximo 2.0
CENIZAS	máximo 2.2 - 2.5

Fuente: Australian Society of Dairy Science and Technology (11).

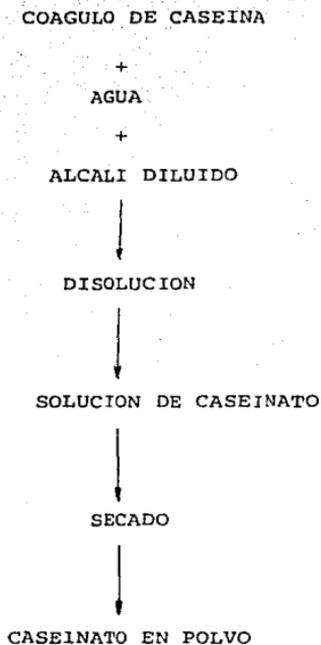


Fig. 8 OPERACIONES FUNDAMENTALES EN LA ELABORACION DE CASEINATO DE SODIO

Fuente: Southward, C. (7).

La cantidad de NaOH adicionado es variable y depende del origen de la caseína utilizada, si es usada caseína ácida (precipitada a un PH de 4.6), la cantidad óptima a usar es de 5.4 ml. de hidróxido de sodio 0.1 N por gramo de caseína seca adicionada. Es importante llevar un control de la cantidad de NaOH agregado, puesto que un exceso eleva el contenido final de cenizas del caseinato de sodio de 0.99 - 1.75% hasta valores de 3.4 - 5.0% (26).

El PH de la solución aumenta, aunque no en forma lineal, con la cantidad de hidróxido de sodio adicionado; Towler (25), propone la siguiente relación para calcular en forma aproximada el PH de la solución en función de la cantidad de NaOH agregado:

$$PH_{\text{caseinato}} = 90 c + PH_{\text{caseína}} + 0.4$$

Donde:

c: kilogramos de hidróxido de sodio/ Kilogramos de caseína seca.

Un problema importante que se presenta en la etapa de disolución es el incremento excesivo de la viscosidad de las soluciones de caseinato de sodio, por evitar un flujo adecuado hacia el secador por aspersión.

La viscosidad de estas soluciones depende principalmente de tres factores, concentración de caseína, temperatura y PH (25) (27).

A medida que se incrementa la concentración de caseína, la viscosidad aumenta en forma logarítmica (fig. 8) (27).

Cuando la concentración llega a valores cercanos al 9% se forman geles insolubles que dificultan la disolución y elevan la viscosidad.

La temperatura es otro factor importante en el proceso de disolución del caseinato que también influye en la viscosidad. En general, las altas temperaturas favorecen la disolución de la caseína, aunque existen dos limitaciones:

a).- En caliente, el coágulo tiende a endurecerse, generando así un problema en su disolución. Esto se puede resolver con una agitación adecuada.

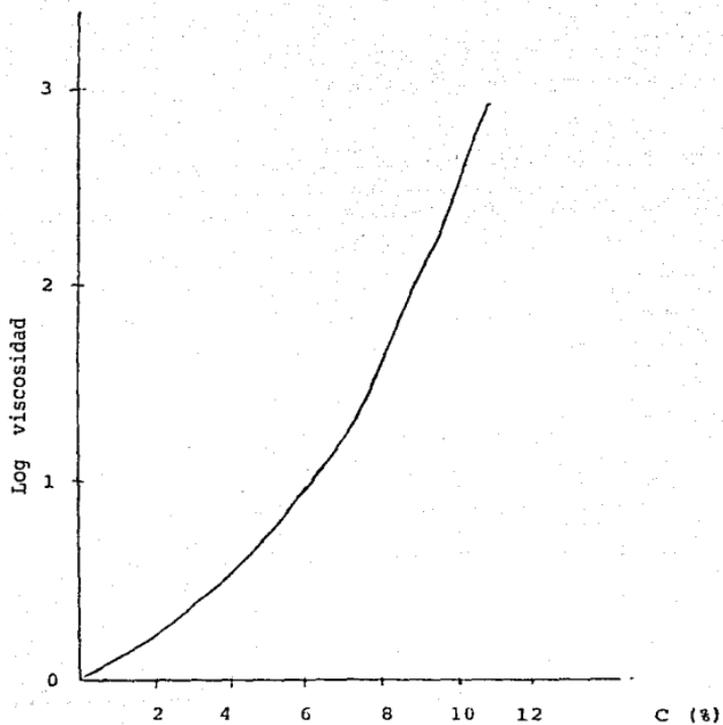


Fig. 9 VISCOSIDAD DE SOLUCIONES DE CASEINATO DE SODIO CONTRA
CONCENTRACION DE CASEINA

Fuente: Korolczuk, J. (27).

b).- Un calentamiento prolongado a temperaturas cercanas a 70°C conduce a cambios en el color de la solución, sabor y propiedades funcionales, sobre todo si existe una concentración importante de lactosa (14) (25).

Con base a lo antes expuesto, se pueden establecer condiciones óptimas para la elaboración de caseinato, los cuales son:

- El tamaño de partícula de la caseína en polvo debe ser reducido hasta 80-90 mesh.
- El PH de la disolución deberá ajustarse en un intervalo de 6.6 a -- 6.8 (normalmente 6.7 medido a una concentración de 5% a 25°C).
- La temperatura se fijará en 45°C durante la disolución y posteriormente se eleva hasta 70°C para pasar por el atomizador con una viscosidad mínima.

1.6.2 Secado

La operación de secado de la disolución se puede realizar por aspersión o por medio de rodillos. El más utilizado para uso alimenticio es el secado por aspersión; las temperaturas del proceso deben fijarse en 180°C en la entrada y 90°C en la salida, que permiten obtener un producto seco sin modificaciones en sus propiedades fisicoquímicas.

1.7 Importancia del caseinato de sodio en la industria alimenticia.

La forma más común como se utilizan las proteínas de la leche en sistemas alimenticios es como caseinatos, que pueden ser de calcio, amonio y principalmente de sodio, debido a que además de contribuir en la textura, incrementar la capacidad de enlazar agua, aumentar la actividad superficial, favorecer la dispersabilidad, también elevan el valor nutricional del alimento, por presentar una tasa alta de eficiencia proteica (PER) de 2.57, mayor aún que la de la caseína (6) (7).

1.8 Situación actual de la producción de leche en México.

México es un país deficitario en producción de leche, sin embargo, debido a su geografía, existen estados que tienen una producción mayor que la de

autoconsumo, como son: Aguascalientes, Coahuila, Chiapas, Chihuahua, Durango, - Guanajuato, Jalisco, Querétaro, Tabasco y Tlaxcala. Esto implica, que la leche producida en regiones en las que la transportación hacia las ciudades que -- cuentan con empresas procesadoras de este producto, sea difícil y por tanto, -- pierdan grandes volúmenes, sobre todo en épocas de lluvias, que es cuando la -- producción se incrementa.

Durante 1986, existieron excedentes en estas entidades de hasta 1 384 - millones de litros, de los cuales, algunos fueron canalizados a regiones defici- citarias como: Distrito Federal, Estado de México, Nuevo León y Guerrero que, - en ese mismo año presentaron un déficit de 2 154 millones de litros.

Sin embargo, a nivel nacional, la producción lechera durante 1986 fué - de 7 400 millones de litros aproximadamente, necesitándose un total de 9 500 mi- llones de litros para satisfacer las necesidades de la población. En los cua- - dros 12 y 13 se observa la producción nacional de leche a partir de 1980 hasta 1988 y la demanda desde 1988 hasta 1995 respectivamente (28).

Los faltantes de la leche fluida que se dan año con año, generan la ne- cesidad de importación de diversos países (Nueva Zelanda, Inglaterra, Francia, Irlanda, Canada y Estados Unidos) volúmenes considerables de leche en polvo pa- ra cubrir la demanda nacional, como se aprecia en el cuadro 14.

De los volúmenes importados, aproximadamente el 1% no es aprovechado - para el consumo humano y es destinado al consumo animal, debido a que se gene- ran roturas en los costales y en algunas ocasiones quedando el producto ex- - puesto al medio ambiente: aunque estos sacos son cubiertos posteriormente, lo cual no garantiza una buena calidad sanitaria, además es inconstable examinar los en forma unitaria para poder decidir su destino a consumo humano, por ello son destinados indiscriminadamente a consumo animal, subutilizando esa leche - (29).

Con base en lo anterior, en este trabajo se propone la elaboración de caseinato de sodio a partir de leches subutilizadas o no aprovechadas para con- sumo humano, como son las producidas en zonas rurales apartadas y las de impor- tación de dudosa calidad sanitaria. Obteniendo así un producto de elevado va- lor nutricional que hasta ahora es importado, con usos variados en la industria alimentaria.

Cuadro 12. PRODUCCION NACIONAL DE LECHE DE VACA

ANO	PRODUCCION DE LECHE: (MILLONES DE LITROS)	INCREMENTO EN RELACION AL AÑO ANTERIOR (%)
1980	6741.5	1.49
1981	6856.4	1.70
1982	6923.6	0.98
1983	6768.4	2.24
1984	6860.0	1.35
1985	7474.4	8.96
1986	7698.1	2.99
1988	8160.2	
1995*	9500	

*ESTIMADO

Fuente: Instituto Nacional de la Leche y comisión para el fomento - de la producción y el aprovechamiento de la leche A.C. (28).

- Programa Nacional de Alimentación 1983-1988 (31).

Cuadro 13. NECESIDADES ESTIMADAS DE LA LECHE FLUIDA (MILLONES DE LITROS)

AÑOS	MINIMA	MAXIMA
1986	8662.3	9569.3
1987	9088.5	9973.1
1988	9551.	10395.0
1989	10138.4	10209.2
1990	10316.6	10420.0
1991	10478.7	10638.8
1992	10646.3	10862.30
1993	10816.7	10090.36
1994	10989.7	11323.3
1995	11165.5	11561.0

Fuente: Memoria del Seminario Interno

LICONSA 1987.

Cuadro 14. VOLUMEN DE LAS IMPORTACIONES DE LECHE EN POLVO

AÑO	VOLUMEN (MILES DE TON.)
1980	194.691
1981	133.282
1982	97.427
1983	95.000
1986	119.391
1987	182.876
1988	173.000

Fuente: Instituto Nacional de la Leche

Subsecretaría de ganadería SARH. (1983) (28)

- Subgerencia de control de calidad CCNASUPO (29).

Los objetivos que se proponen son los siguientes:

-Presentar una alternativa para la utilización de la leche fluida que se produce en zonas donde la conservación es difícil, así como de la leche en polvo de importación de calidad sanitaria dudosa.

-Obtener un producto con condiciones microbiológicas aceptables para ser utilizado en sistemas alimenticios.

-Ajustar las condiciones de obtención del caseinato de sodio al equipo instalado en las plantas elaboradoras de productos lácteos, estableciendo las condiciones de operación para el equipo usado.

-Eliminar los gérmenes patógenos de leches contaminadas, principalmente Staphylococcus Aureus.

2 Materiales y metodos

La metodología experimental incluye las siguientes actividades:

- Análisis bromatológico de la leche
- Reconstitución de la leche en polvo
- Pasteurización de la leche
- Descremado de la leche
- Obtención de la caseína
- Obtención del caseinato de sodio

2.1 Análisis bromatológico de la leche utilizada

Se utilizaron muestras de 20 litros de leche para la preparación de la caseína, siendo esta de dos tipos: leche fluída y leche en polvo descremada de importación (procedente de Estados Unidos, Francia, Inglaterra, Irlanda y Nueva Zelanda), en sacos que son rechazados para el consumo humano, por presentar deterioro en el envase. Esta leche es de temperatura media (concentrada a 60° de 15 a 30 minutos y al vacío), proporcionada por CONASUPO. Se realizaron 10 tratamientos, cuatro utilizando leche fluída y seis con leche en polvo. En ambos casos fueron determinadas las siguientes pruebas:

pH	Potenciométricamente
Acidez	Valoración con NaOH 0.1N y fenolftaleína
Grasa	Método Gerber (30)
Proteína	Método Kjeldahl (30)

2.2 Reconstitución de la leche en polvo

Se llevó a cabo en una tina de acero inoxidable, utilizada para la elaboración de queso, en una concentración de 120 g/l a una temperatura de 40°C con agitación enérgica y continua. Se le adicionó 0.25 g de CaCl_2 /l.

2.3 Pasteurización de la leche

La leche fresca se pasteurizó a 72°C por 15 segundos en un pasteuriza

dor de placas.

2.4 Descremado de la leche

La leche fresca de vaca se descremó en una descremadora centrífuga, - con la finalidad de obtener una leche con un contenido de grasa menor del 1%, el cual se determinó por el método Gerber.

El tratamiento número 4, obtenido a partir de leche fluida y los tratamientos número 3 y 6 obtenidos a partir de leche en polvo reconstituida, fueron preparados por duplicado; la mitad de dichos tratamientos fueron inoculados con cepas de Staphilococcus Aureus de una concentración mayor de 10^6 col/ml. y la otra mitad con cepas de la misma concentración, las cuales fueron inactivadas mediante calentamiento a 63°C por 30 minutos.

2.5 Obtención de la caseína

Para la elaboración de la caseína se siguió la metodología que se muestra en la figura 10.

2.5.1 Precipitación de la caseína

Inicialmente se precalentó la leche descremada hasta una temperatura de 30°C y posteriormente se agregó el agente coagulante. En este caso se utilizó tanto HCl 2,5N así como cuajo microbiano Mucor Mieheli (con fuerza de 1/10 000). El ácido se adicionó hasta obtener un pH de 4.6 y el cuajo en una proporción de 2 ml/20 l de leche.

2.5.2 Corte de la cuajada

Transcurridos 5 minutos después de la coagulación o precipitación, se cortó la cuajada y se agitó con el objeto de disminuir el tamaño de los coágulos hasta un tamaño similar al de un grano de arroz teniendo cuidado de que no fueran más pequeños puesto que en la etapa de lavados puede haber pérdida de caseína.

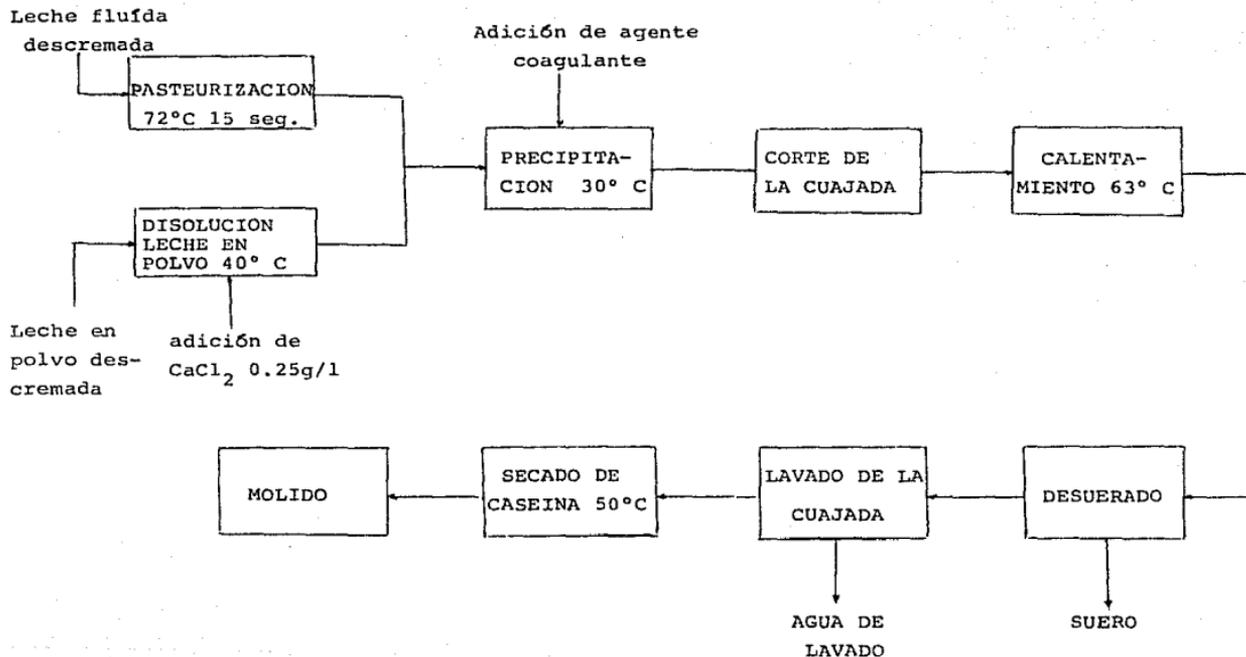


Fig. 10 METODOLOGIA PARA LA OBTENCION DE CASEINA A PARTIR DE LECHE DESCREMADA

2.5.3 Desuerado

El sistema se calentó a una velocidad de $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$. hasta alcanzar una temperatura de 63°C , con el fin de facilitar la salida del suero contenido en el coágulo, para llevar a cabo una mejor granulación de la caseína e inactivar la acción del cuajo.

Una vez alcanzada esta temperatura, se separó el coágulo del suero con el uso de mallas de 90 mesh.

2.5.4 Lavado de la cuajada

La cuajada obtenida en la operación anterior se lavó, utilizando un gradiente de temperaturas como lo indica el cuadro 15.

La cantidad de agua utilizada fué de 1.3 veces el volumen usado de leche descremada.

La temperatura del tercer lavado fué de 75°C con el objeto de pasteurizar la cuajada y así asegurar una disminución de microorganismos en una etapa posterior del proceso de producción.

Cada lavado tuvo una duración de 15 minutos y el sistema fué agitado continuamente para facilitar el intercambio de lactosa y sales minerales del coágulo hacia el agua de lavado.

2.5.5 Secado de la caseína

El coágulo de caseína ya lavado se prensó manualmente, obteniendo una caseína con aproximadamente 60% de humedad; posteriormente se desmenuzó en partículas uniformes. Se introdujo en una estufa, regulando la temperatura a 50°C durante 24 horas.

2.5.6 Molido de la caseína

Las partículas de caseína fueron molidas obteniendo un polvo fino

NO. DE LAVADO	TEMPERATURA (°C)
1	55
2	65
3	75
4	25

Cuadro 15. GRADIENTE DE TEMPERATURAS USADAS EN LOS LAVADOS DEL COAGULO DE CASEINA.

con tamaño de partícula de 90 mesh.

2.6 Obtención de caseinato de sodio

El diagrama que se muestra en la figura 11 presenta la metodología se guía para la elaboración de caseinato de sodio.

2.6.1 Disolución de caseína

Para la disolución de la caseína se utilizó el equipo que se mues tra en la figura 12.

En el vaso de precipitados de acero inoxidable se adicionaron 1000 mililitros de agua destilada, se calentó hasta una temperatura de 50°C, poste rior mente se agregaron alternativamente y con agitación continua, 200 g de ca seína sólida y 40 ml de NaOH 2.5N disueltos en 40 ml de agua destilada; la ve locidad del agitador se ajustó en 2 500 rpm. La operación de agitación se man tuvo durante 30 minutos, teniendo cuidado de evitar salpicaduras al exterior del vaso. La temperatura se controló en 50°C y el pH final en 6.7.

Una vez que la disolución de la caseína fué completa, se tomó una muestra de 300 ml a la cuál se le determinó pH, temperatura y la viscosidad, - ésta última a concentración de 5%.

Se realizó el procedimiento anterior pero utilizando 100 g de ca seína sólida y se disolvió de tal forma que se obtuvo una concentración final de 10%; de esta manera se realizaron dos tratamientos con caseína obtenida de leche fluida y cuatro tratamientos con caseína obtenida a partir de leche reconstituida.

La viscosidad fué medida a una temperatura de 50°C utilizando un viscosímetro Brookfield modelo RVT Synchro-Lectric viscosimeter.

El pH y la temperatura de la solución fué medida con un potenci metro-termómetro digital Conductronic P.C. 18.

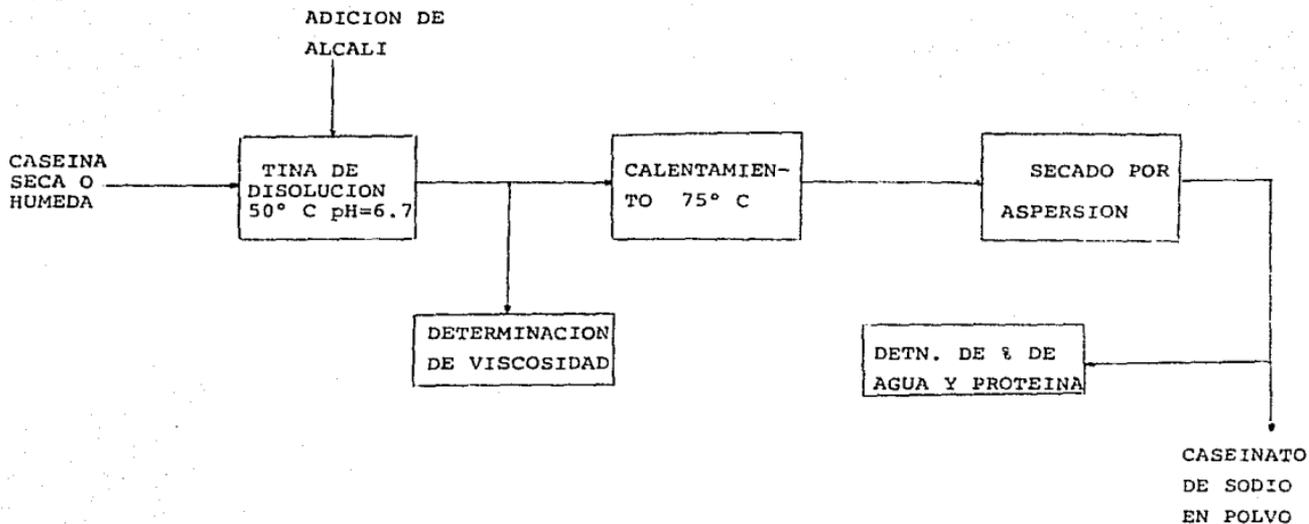
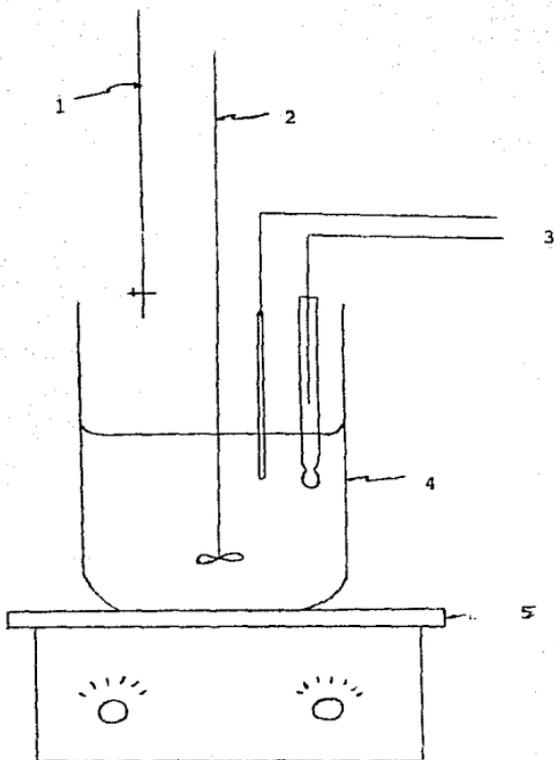


Fig. 11 METODOLOGIA PARA LA OBTENCION DE CASEINATO DE SODIO A PARTIR DE CASEINA



1. Bureta dosificadora de NaOH 2.5 M
2. Agitador
3. Medidor de pH y temperatura
4. Vaso de acero inoxidable
5. Parrilla de calentamiento

Fig. 12 EQUIPO PARA LA DISOLUCION DE LA CASEINA

2.6.2 Secado de la solución de caseinato

La temperatura de la disolución de caseinato de sodio fué incrementada hasta 75°C manteniendo agitación constante, posteriormente se pasó a través de un secador por aspersion del tipo Laboratory Minor-Niro Atomizer, - Denmark en el que se fijaron las temperaturas de entrada y salida en 180°C y 90°C respectivamente.

El caseinato de sodio obtenido fué envasado en frascos de vidrio esterilizados previamente.

2.6.3 Análisis realizados al caseinato de sodio

Fueron de dos tipos:

- Químicos: humedad, protefna y lactosa
- Microbiológicos: cuenta standard, coliformes totales, cuenta de hongos, Salmonella y Staphylococcus aureus, coagulasa positiva.

3 Resultados y discusión

3.1 Análisis bromatológicos de la leche

Los resultados obtenidos en las determinaciones realizadas a la leche fluida y leche en polvo descremada se muestran en los cuadros 16 y 17. En éstos se observa que la leche en polvo descremada presentó contenidos ligeramente menores en grasa y acidéz que la leche fluida. En cuanto al contenido de protefna, no hubo diferencias importantes.

La diferencia en acidéz pudo deberse a que en el caso de la leche fluida se utilizó aproximadamente 5 horas despues del ordeño, aumentando la acidéz ligeramente en ese período de tiempo.

La variación en el contenido de grasa se explica en función de la

Cuadro 16 Análisis bromatológico de la leche fresca

Tratamiento	pH	Acidez (°D)	Grasa (%)	Proteína (g/l)
1	6.5	17	0.05	36.0
2	6.6	16	0.04	36.2
3	6.7	16	0.05	36.1
4	6.6	18	0.05	35.7
5	6.6	18	0.05	36.0
6	6.5	19	0.04	35.8
7	6.5	18	0.04	36.2
8	6.6	16	0.05	36.0
9	6.6	17	0.04	36.1
10	6.5	17	0.05	36.1

Cuadro 17 Análisis bromatológico de leche en polvo descremada reconstituida

Tratamiento	Humedad (%)	pH	Acidez (°D)	Grasa (%)	Proteína (g/l)
1	2.9	6.7	15	0.02	36.3
2	3.1	6.6	15	0.03	36.6
3	2.8	6.7	16	0.02	35.9
4	2.9	6.7	15	0.03	36.1
5	2.9	6.6	15	0.02	36.0
6	2.8	6.7	15	0.03	36.2

eficiencia del descremado.

3.2 Reconstitución de la leche descremada en polvo

La leche descremada en polvo se disolvió en tinas de acero inoxidable, utilizadas en la elaboración de queso, agitando energica y constantemente. En las etapas iniciales del proceso se formaron agregados de partículas sólidas de leche difíciles de disolver; para evitarlo fué necesario agregarla en forma paulatina, manteniendo la agitación y la temperatura a 40°C. Este problema en solubilidad es determinante en las leches en polvo, puede deberse a diversos factores: desnaturalización de las proteínas, modificación de las micelas de fosfocaseinato de calcio, cristalización de la lactosa por absorción de humedad durante el almacenamiento y tamaño de partículas pequeño (1).

La temperatura a la cual se llevó a cabo la disolución así como la agitación favorecieron esta operación por presentarse un aumento en la humectabilidad y dispersabilidad de la leche en polvo (1).

3.3 Precipitación de la caseína

En la coagulación de la leche en polvo reconstituida, fué necesario adicionar cloruro de calcio para que se llevara a cabo en forma satisfactoria. Esto se debe a que durante el tratamiento térmico, que recibe en su fabricación, se produce desmineralización de las micelas de caseína, lo que influye en la formación de la matriz protéica del coagulo, ya que deben existir puentes salinos entre las moléculas de proteína para estructurar la matriz y conferirle firmeza y flexibilidad (1).

El tiempo de coagulación de la leche en polvo reconstituida fué ligeramente más alto (25-30 min), que el de la fluida, ya que presenta una menor concentración micelar de iones Ca^{2+} , lo que origina que el ión Na^+ predomine, provocando que las micelas de fosfocaseinato se destruyan y precipiten solo parcialmente. Influyendo también la formación de un complejo entre la -lactoglobulina y -caseína que disminuye en forma importante la actividad del cuajo ante la -caseína, este complejo se forma como resultado de un tratamiento ter

mico, como el de evaporación al cual es sometida la leche en polvo durante su elaboración (3).

La adición de cloruro de calcio además favorece el desuerado de la cuajada, por conferirle una estructura más abierta que evita la retención excesiva de suero (3).

En los tratamientos en los que se usó ácido clorhídrico como agente precipitante, se mantuvo el pH en 4.6, estando en el rango de pH óptimo de precipitación que propone O'meara y Munro (17).

Existe una relación inversa entre el pH de precipitación y el volumen del coágulo obtenido, así como de sus propiedades; debido a una mayor retención de agua en la cuajada y a un incremento en la desmineralización al disminuir el pH. Cuando se lleva a cabo la precipitación a un pH bajo, por ejemplo de 3.9 - 4.5 el volumen del coágulo es alto, pero su estructura es blanda y sensible, lo que conduce a pérdidas importantes en la etapa de lavado. Por otro lado, cuando el pH es alto, por encima de 4.7, se obtiene un coágulo pequeño con alto contenido de cenizas, muy elástico, tenaz y pegajoso, dificultando las etapas de lavado para la extracción de lactosa y sales minerales (11).

La caseína que se obtuvo mediante el uso de leche en polvo presentó diferentes propiedades a la caseína elaborada a partir de leche fluida. La primera es más granulosa, se muele más fácilmente y es menos dura y tenaz, mientras que la segunda es más elástica y firme; lo anterior es debido, como ya se explicó, a que la leche en polvo está parcialmente desmineralizada, lo cual implica una concentración más baja de Ca^{2+} y esto genera que los coágulos sean más blandos y frágiles.

La caseína al cuajo presentó una estructura más flexible y más firme que la ácida; esto se puede explicar con base a que el mecanismo de coagulación de esta caseína es diferente al que se lleva a cabo mediante la adición de ácido. Consiste en la desestabilización del sistema micelar, por acción enzimática en un sitio proteico específico en presencia de calcio, formando se paracaseinato de calcio, el cual presenta las características antes mencionadas, por la formación de una matriz proteica bien estructurada mediante u-

niones de las moléculas de caseína con el calcio iónico. En cambio en la coagulación ácida existe una migración del calcio micelar al suero y deshidratación de las micelas (1).

3.4 Lavado de la caseína

Las caseínas al cuajo presentaron una mayor dificultad para lavarse - debido a que los coágulos eran más grandes y elásticos, por las razones antes mencionadas, se hizo necesario cortarlos hasta un tamaño aproximado de 0.5 cm. En la caseína al ácido, la granulación se llevó a cabo con mayor facilidad desde el proceso de calentamiento a 63°C con el suero y en la tercera etapa de lavado cuando la temperatura alcanzó los 75°C facilitándose así la remoción de sales minerales y lactosa principalmente.

Debido a que en la caseína ácida el tamaño de las partículas fué menor que en la caseína al cuajo, la pérdida de finos en las etapas de lavado fué mayor.

Una vez terminado el lavado de los coágulos, se prensó la cuajada en forma manual de tal forma que se eliminara la mayor cantidad de agua; la humedad resultante en cada tratamiento se muestra en el cuadro 18.

La humedad de los diferentes tratamientos no presentó diferencias importantes.

La humedad relativamente alta de los coágulos después del prensado - puede ser explicada por dos factores: el prensado manual deficiente y la restricción de flujo de agua a través del gránulo por efecto de las altas temperaturas (31).

En el primer caso, el prensado deficiente no permite que se elimine la mayor parte del agua contenida en los coágulos.; en el segundo caso, al utilizar temperaturas de lavado superiores a 75°C, O'meara y Munro (17), establecen que se forma una capa superficial lisa en las partículas de caseína, las cuales normalmente son porosas, esto causa que el flujo de agua a través de la superficie del coágulo sea difícil y por lo tanto se obtiene una mayor humedad de la caseína.

Quadro 18. Humedad de la caseína de los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Humedad (%)
Caseína A	
1	63.5
2	64.8
3	62.6
4	64.0
Caseína B	
1	63.0
2	63.5
3	64.5
4	63.0
5	64.0
6	64.5

Donde: Caseína A: Caseína preparada con leche fresca.

Caseína B: Caseína preparada con leche en polvo reconstituida.

3.5 Rendimiento

Se determinaron los rendimientos del proceso de coagulación de caseína, pesando la cuajada obtenida y relacionándolo a la cantidad de leche utilizada (10 litros), los cuales se muestran en el cuadro 19.

Los tratamientos 3 y 4 de la caseína A y el 1, 2 y 3 de la caseína B presentaron rendimientos más altos, esto puede deberse a que cuando se lleva a cabo la precipitación con ácido, no solamente precipita la caseína de la leche, sino que también parte de las proteínas del suero, como las lactoglobulinas y lactoalbuminas, lo cual incrementa el rendimiento (3).

3.6 Secado de la caseína

En esta etapa, el color de los gránulos cambió de blanco a amarillo claro, siendo éste más oscuro cuando las temperaturas son superiores a 50°C.

El cambio de color puede deberse a que no se elimina totalmente la lactosa y a altas temperaturas se acelera la reacción de Maillard con el consecuente oscurecimiento del sistema.

3.7 Dependencia de la viscosidad de la solución de la caseína con el pH, concentración y temperatura.

En el proceso de disolución de la caseína fue importante la agitación del sistema, el control de pH y la temperatura. El cuadro 20 muestra los valores de las diferentes variables para los distintos tratamientos.

El pH de la solución del tratamiento 1 elaborado con la caseína B se fijó en 6.8, pero presentó dificultades en la disolución de los gránulos, teniendo tiempos de disolución hasta de 75 minutos y dentro del sistema se forman agregados de leche que al final no se disolvieron. Para eliminarlos se filtró la solución en una malla de 60 mesh y se siguió agitando por 5 minutos más.

Con el objeto de eliminar los problemas anteriores, se realizaron otras

Cuadro 19. Rendimiento de los diferentes tratamientos de caseína lavada.

Tratamiento	Rendimiento (g)
Caseína A	
1	562
2	580
3	612
4	620
Caseína B	
1	605
2	592
3	608
4	550
5	535
6	530

Quadro 20. Propiedades físicas del caseinato de sodio en solución para los diferentes tratamientos.

Tratamiento	pH Solución al 5% + = 20°C	Viscosidad 50°C (poise)	Concentración (%)
Caseína A			
1	6.7	-	20
2	6.7	-	19
3	6.7	11.5	10
4	6.7	10	10
Caseína B			
1	6.8	-	20
2	6.9	-	20
3	7.0	13	10
4	7.2	14.5	10
5	7.2	16	10
6	7.2	20	10

pruebas incrementando el pH en forma progresiva hasta pH 7.2, en estas condiciones la disolución fué más fácil, aunque la viscosidad de incremento.

La viscosidad de las soluciones preparadas a pH alto (superior a 6.7), son mayores, esto ocasionó problemas de flujo en la boquilla del aspersor del secador y limita la atomización. Los tratamientos 3,4,5 y 6 tienen concentración más baja (10%) reduciendo en forma importante los problemas del secador.

En todos los tratamientos se adicionó primero el hidróxido de sodio y alternativamente la caseína, con el fin de evitar que los coágulos se cubran con una capa gelatinosa, que impide la disolución de los mismos (25).

La cantidad de álcali adicionado es de aproximadamente 5.4 ml de NaOH 0.1N/g de materia seca, pero generalmente depende del pH de precipitación de la caseína utilizada.

Otro problema que se presentó en esta etapa, es que a concentraciones superiores del 9% se forman geles insolubles a pHs superiores de 6.5 y el tiempo de disolución se incrementa. Lo anterior es debido a que las proteínas de la leche contienen un número mayor de grupos carboxilo y fosfatos libres que grupos amino, de aquí que la carga neta negativa en soluciones básicas es mayor que la carga neta positiva de éstas en soluciones ácidas; por lo tanto, - las repulsiones electrostáticas, a pH alto, son mayores que a pH bajo y la formación de geles se ve favorecida a pH ácido, no así cuando el pH es mayor de 6.7.

Cuando las soluciones presentan un pH básico, se llevan a cabo rearrreglos en los enlaces disulfuros existentes entre la κ -caseína, β -caseína y las proteínas del suero, formandose nuevos enlaces rompiendose otros y de esta manera varía el peso molecular de los agregados. Sin embargo, es importante que el pH no alcance valores muy altos, pues la viscosidad se incrementa y el poder de hidratación disminuye provocando problemas en la agitación y el secado (27) (32).

Si el pH es disminuído, existe una menor cantidad del ión Ca^{2+} y en -

pHs básicos la concentración en las estructuras micelares es mayor, trayendo como resultado de que en las soluciones básicas el Ca^{2+} favorece la solvatación e incrementa la agrogación de la β -caseína con la κ -caseína y α_1 -caseína (formación de geles).

Los tratamientos 3, 4, 5 y 6 en los cuales, se fijó un pH de disolución más alto, presentaron una viscosidad mayor que aquellos en los que el pH fué menor.

3.8 Secado de la disolución de caseinato de sodio

La concentración de sólidos de la solución que entra al secador fué del 20% en los tratamientos 1 y 2 en caseína A y los tratamientos 3, 4 y 5 corresponden a la caseína D, mientras que en las restantes fué del 10%; en estas condiciones es necesario evaporar 4 kg de agua por kilo de polvo para los primeros y 2 kg para los segundos, lo cual provoca que la etapa de secado sea la más costosa.

Se realizaron pruebas para determinar las temperaturas óptimas a usar en el secador, y estas se fijaron en 180°C y 90°C de entrada y salida respectivamente, sin embargo es posible incrementarlas hasta en 260°C con el fin de aumentar la razón de evaporación del agua, aunque ésta última puede provocar un oscurecimiento del producto, sobre todo si su contenido de lactosa es elevado (7).

Cuando las temperaturas del secador fueron incrementadas (hasta 260°C y 130°C), el polvo de caseinato de sodio se quemó, lo anterior puede ser debido a que la viscosidad de la solución es muy alta, especialmente la de concentración del 20%, lo que provoca un flujo muy lento y la espina del secador se tapó.

Para obtener una eficiente atomización de la solución del caseinato de sodio fué necesario precalentar la solución hasta una temperatura de 90°C y la concentración de las soluciones se disminuyó hasta 10%; bajo estas condiciones el polvo obtenido presentó propiedades más aceptables y se eliminó el problema del tostado.

3.9 Pruebas microbiológicas

Los resultados de las pruebas microbiológicas realizadas a los diferentes tratamientos se observan en el cuadro 21.

La cuenta estándar fué ligeramente mayor en la muestra número 2; los valores que muestran las tres muestras, sin embargo fueron muy inferiores a los valores máximos aceptados (30 000 colonias/g).

La cuenta de hongos y cuenta de coliformes totales se encuentran en valores inferiores a los requeridos por los estándares para consumo humano (20- max. en 1 g); lo anterior puede deberse a que en el proceso se utilizan temperaturas elevadas y variaciones importantes en el pH, ayudando a inhibir el desarrollo microbiano.

La Salmonella y Staphylococcus aureus no se encontraron presentes, lo que indica que el proceso de elaboración utilizado también destruye o por lo menos inhibe el desarrollo de los gérmenes patógenos en el caseinato de sodio obtenido.

4 CONCLUSIONES

Considerando las condiciones utilizadas en el presente trabajo, se concluye:

- La elaboración de caseinato de sodio a partir de leche descremada es una opción viable para el aprovechamiento tanto de la leche en polvo descremada importada de dudosa calidad sanitaria no utilizada para consumo humano, así como la leche fluida de zonas de producción en las que su conservación es difícil.

- La calidad microbiológica del caseinato de sodio obtenido es de buena calidad y apto para consumo humano, por lo que el proceso puede ser implementado y de esta manera aprovechar los recursos lácteos disponibles en forma más eficiente.

Cuadro 21. Análisis microbiológico de muestras de caseinato de sodio.

	muestra 1	muestra 2	muestra 3
Cuenta estandar (colonias/g)	1000	1400	1000
Coliformes totales	10	10	10
Cuentas de hongos	10	10	10
Salmonella (en 25g)	ausente	ausente	ausente
Staphylococcus aureus coagulasa positiva (en 25g)	ausente	ausente	ausente

Donde: Muestra 1: Caseinato obtenido en el tratamiento no. 4 de caseína ácida preparada con leche fresca.

Muestra 2: Caseinato de sodio obtenido con caseína del tratamiento no. 3 de caseína ácida preparada con leche en polvo reconstituida.

Muestra 3: Caseinato de sodio obtenido con caseína del tratamiento no. 6 de caseína al cuajo preparada con leche en polvo reconstituida.

- Las variables que influyen principalmente en la calidad del producto son: Temperatura y pH de precipitación, siendo sus valores óptimos 30°C y 4.6 respectivamente, las temperaturas de los procesos de lavado (sus valores fueron 55, 65, 75 y 25°C), ellas fueron las responsables de las modificaciones en la estructura de los coágulos de caseína, lo que influye a su vez en las propiedades finales del caseinato de sodio.

Bibliografía.

- 1.- Veisseyre, R. Lactología Técnica. Edit. Acribia, España -- (1980). p. 541-572.
- 2.- Perez Gavilan J., Perez Gavilan J.P., Bioquímica y Microbiología de la leche Edit. Limusa, México (1984) p. 39-57.
- 3.- Alais, CH. Ciencia de la leche, Compañía Editorial Continental S.A. de C.V. México (1970) p. 31-53, 539-545.
- 4.- Badui, B.S. Química de los Alimentos Edit. Alhambra S.A. -- México (1984)
- 5.- Madrid, Vicente A. Producción y usos de la caseína. Revista Española de Lechería No. 108 (1978) p. 87-95.
- 6.- Modler H.W. Functional Properties of nonfat dairy ingredients -A Review. Modification of products containing casein. -- Journal of Dairy Science 68 (1985) p. 2195-2205.
- 7.- Southward C.R. Manufacture and applications of edible casein products. Manufacture and properties. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology 20 (1985), p. 79-101.
- 8.- Rüeg M., Moor U. Effect of calcium on the hydration of -- casein. Water vapour sorption and fine structure of calcium caseinates compared with sodium caseinates in the pH range 4.6-8.0. Journal of Dairy Research 51, (1984) p. 103-111.
- 9.- Vernon H.R. Casein. Food Products Developments 6 (5) (1972) p. 22-26
- 10.- Southward C.R., Walker N.J. The Manufacture and Industrial use of casein. New Zealand Journal of Dairy Science and -- Technology 15, (1980) p 201-217.

- 11.- Australian Society of Dairy Science and Technology. Casein Manual (1972) p. 1-27.
- 12.- Weal, B.C., Southward C.R. Recent Developments in casein - Manufacture. I. the production of Rennet casein by a "continuous cook" Process. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology 9 (1974) p. 2-5.
- 13.- Jablonka M.S., Munro P.A. Particle size distribution and calcium content of batch-precipitated acid casein curd: -- Effect of precipitation temperature and pH. Journal of Dairy Research No. 52 (1985) p. 419-428
- 14.- Hynd J. the Industrial Production of milk proteins. Journal of the society of Dairy technology vol. 28, No. 4 (1975) p. 197-203.
- 15.- Munro P.A. the densities of casein curd particules and caseinate solutions. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology No. 15 (1980) p. 225-238.
- 16.- Muller L.L., Hayes J.F.. Manufacture of low viscosity casein Australian Journal of Dairy Technology. No. 18 p 69-76.
- 17.- O' Meara, G.M., Munro P.A. the precipitation and shrinkage of acid casein curd: A preliminary study. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology No. 17 (1982) p. 147-159.
- 18.- Hobman P.G., Elston P.D. Separation of Whey from casein curd by Pressing. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology No. 11 (1976) p. 281-282.

- 19.- Hobman P.G. A model for predicting the water required to -- wash casein curd. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology No. 13 (1978) p. 229-235.
- 20.- Bressan J.A., Hobman P.G. Stage Efficiency in Continuous Counter-current Casein Washing Systems. New Zealand Journal of D. Sci. Tech. no. 20 (1985) p 117-127.
- 21.- Jordan P.J. A vertical vat for washing of casein curd New - Zealand Journal of Dairy Science and Technology No. 18 -- (1983) p. 27-33.
- 22.- Tressler, Donald K., Sultan William K. Food Products Formu- lary vol. 2. The Avi publishing company Inc. (1975) p. 277- -281.
- 23.- Vv. J.T., Munro P.A. Press Dewatering of Casein Curd New -- Zealand of Dairy Science and Technology No. 16 (1981) p. 165- -272.
- 24.- Webb, Byron H., Whittier Earle O. Byproducts from milk. The Avi publishing Inc. (1970) p. 331-355.
- 25.- Towler C. Conversion of casein curd to sodium caseinate -- New Zealand Journal of Dairy Science and Technology No. 11 (1976) p. 24-29.
- 26.- Roeper J. The Alkali Requirement or acid casein New Zea-- land Journal of Dairy Science and Technology No. 9; (3) - (1974) p. 128-131.
- 27.- Korolczuk J. Viscosity and Hydration of Neutral and acidic milk protein concentrates and caseins. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology No. 17 (1982) p. 135-140.
- 28.- Instituto Nacional de la Leche y comisi3n para el fomento - de la producci3n y el aprovechamiento de la leche A.C.

- 29.- Comunicación verbal. Subgerencia de Control de Calidad de Conasupo.
- 30.- Bateman. Nutrición Animal, Editorial Herrero Hnos. S.A. -- México (1970) p. 137-154, 198-204.
- 31.- Programa Nacional de Alimentación 1983-1988 Poder Ejecutivo Federal 1a. Edición Secretaría de Programa ción y Presupuesto. México (1983).