

**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**  
**Facultad de Ciencias y Humanidades**  
**Departamento de Química**

**EFFECTO DE LA HOMOGENIZACION A**  
**ALTA PRESION EN LA DISTRIBUCION DE**  
**NITROGENO EN LECHE ENTERA Y BAJA EN GRASA**

**MONICA MARIA SUHR MUÑOZ**

**BIBLIOTECA**  
**DE LA**  
**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

**Guatemala**

**1996**

**EFFECTO DE LA HOMOGENIZACION A  
ALTA PRESION EN LA DISTRIBUCION DE  
NITROGENO EN LECHE ENTERA Y BAJA EN GRASA**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Departamento de Química

EFECTO DE LA HOMOGENIZACION A  
ALTA PRESION EN LA DISTRIBUCION DE  
NITROGENO EN LECHE ENTERA Y BAJA EN GRASA

MONICA MARIA SUHR MUÑOZ

Trabajo de graduación presentado para optar  
al grado académico de Ingeniera en género  
de licenciada en Ciencia de Alimentos

Guatemala

1996

Vo. Bo.:

(f) Ana Silvia Colmenares de Ruiz  
Lic. Ana Silvia Colmenares de Ruiz  
Asesora

Tribunal:

(f) Ana Silvia Colmenares de Ruiz  
Lic. Ana Silvia Colmenares de Ruiz

(f) Patricia Palacios de Palomo  
Lic. Patricia Palacios de Palomo

(f) Rodolfo Bressani  
Ing. Rodolfo Bressani

Fecha de Aprobación: 13 de mayo de 1,996

A Dios.  
A mis papás.  
A mis abuelitos.  
A mis tíos.  
A mi novio Pablo.  
A mis hermanas y sobrinos.  
A mis amigos.

Un agradecimiento especial al Dr. Ronald L. Richter y al departamento de lácteos de la Universidad de Texas A&M, Estados Unidos; y a la Lic. Ana Silvia de Ruiz, mi asesora, por su ayuda invaluable.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN .....	xiii
I. INTRODUCCION .....	1
II. ANTECEDENTES .....	3
III. JUSTIFICACION .....	23
IV. OBJETIVOS .....	24
V. HIPOTESIS .....	25
VI. MATERIALES Y METODOS .....	26
A. Materiales .....	26
B. Métodos .....	27
VII. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	30
A. Unidad experimental .....	30
B. Tamaño de la muestra .....	30
C. Análisis Estadístico .....	31
VIII. RESULTADOS .....	32
IX. DISCUSION .....	35
X. CONCLUSIONES .....	41
XI. RECOMENDACIONES .....	42

	Página
XII. BIBLIOGRAFIA .....	43
APENDICE .....	46
A. Cuadros y gráficas de resultados .....	46

## LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
2.1	Composición aproximada de leche.	4
2.2.	Diferentes cantidades de proteínas presentes en leche.	5
2.3	Principales compuestos de nitrógeno no proteico en leche.	9
Fig. 2.1	Características del proceso de homogenización.	15
2.4	Efecto de la homogenización en algunas características físicas de la leche relacionadas con la presión de homogenización.	16
2.5	Efecto de la homogenización en el valor nutritivo de la leche.	17
8.1	Efecto de la presión de homogenización en la temperatura de la leche.	46
8.2	Nitrógeno total y porcentaje de proteína en leche baja en grasa homogenizada a varias presiones.	47
8.3	Nitrógeno total y porcentaje de proteína en leche entera homogenizada a varias presiones.	47
8.4	Análisis de varianza del efecto de la homogenización en el contenido total de nitrógeno en leche.	48
8.5	Efecto de la presión de homogenización en el contenido de nitrógeno de la caseína en leche.	49
8.6	Análisis de varianza del efecto de la homogenización en el contenido de nitrógeno de la caseína en leche.	49
8.7	Efecto de la presión de homogenización en el contenido de nitrógeno del suero en leche.	50

	página
8.8	Análisis de varianza del efecto de la homogenización en el contenido de nitrógeno del suero en leche. 50
8.9	Efecto de la presión de homogenización en el contenido de nitrógeno no proteico en leche. 51
8.10	Análisis de varianza del efecto de la homogenización en el contenido de nitrógeno no proteico en leche. 51

## LISTA DE GRAFICAS

Gráficas		Página
1	Nitrógeno total en leche baja en grasa homogenizada a altas presiones.	52
2	Nitrógeno total en leche entera homogenizada a altas presiones.	53
3	Nitrógeno de la caseína en leche baja en grasa homogenizada a altas presiones.	54
4	Nitrógeno de la caseína en leche entera homogenizada a altas presiones.	55
5	Nitrógeno del suero en leche baja en grasa homogenizada a altas presiones.	56
6	Nitrógeno del suero en leche entera homogenizada a altas presiones.	57
7	Nitrógeno no proteico en leche baja en grasa homogenizada a altas presiones.	58
8	Nitrógeno no proteico en leche entera homogenizada a altas presiones.	59

## RESUMEN

Por medio de la medición del nitrógeno se puede determinar el valor proteico y, por ende, el valor nutricional de la leche. El nitrógeno en la leche se encuentra distribuido como nitrógeno de la caseína, nitrógeno del suero y nitrógeno no proteico. Puede ser separado en sus diferentes fracciones por métodos sencillos de precipitación con ácidos.

La homogenización es un proceso utilizado en la industria láctea, pero los efectos de la homogenización a alta presión todavía están en estudio.

En este estudio se pretendió determinar el cambio en la distribución del nitrógeno en leche causado por la homogenización a altas presiones de hasta 100 MPa.

Se determinó que la homogenización a altas presiones aumenta la temperatura y esto ocasiona cambios significativos en la distribución del nitrógeno. Las proteínas séricas se ven afectadas, precipitando junto con la caseína. El nitrógeno no proteico no se vio afectado significativamente debido a que su fracción es muy pequeña.

Se encontró relación entre el contenido de grasa en la leche y las proteínas, ya que la leche entera sufre mayores cambios en la distribución de nitrógeno que la leche, baja en grasa, después de la homogenización a altas presiones.

## I. INTRODUCCION

La homogenización es un proceso industrial comúnmente utilizado en la industria láctea para modificar las propiedades de la leche y de los productos lácteos como el queso y el yogurt. Es el proceso de forzar un líquido por un orificio angosto a alta presión. Esto produce una combinación de fuerzas hidrodinámicas de corte, ruptura y turbulencia que causa cambios en los componentes de la leche (González, 1994).

La homogenización causa la ruptura de los glóbulos de grasa en glóbulos más pequeños, afecta su distribución debido al alto estrés involucrado en el proceso y reduce la tendencia de los glóbulos a aglomerarse. Esto estabiliza las fases de la leche, la hace más blanca e incrementa la sensación en la boca al modificar la viscosidad.

Otros componentes de la leche, principalmente las proteínas, también son modificadas. Según Iwada y Tsugo (1960), la distribución del nitrógeno, proteico y no proteico, cambia al ser homogenizada hasta 20MPa. Actualmente en la industria la homogenización de la leche se lleva a cabo a no más de 25 MPa.

En estudios recientes, se ha encontrado que la homogenización a presiones mayores que éstas pueden dar mayor estabilidad al yogurt con bajo contenido de sólidos y grasa (Lin, 1995); mejorar las cualidades de emulsión de la grasa de la leche y sus características organolépticas (González, 1994). Sin embargo, la información acerca del comportamiento de la leche y sus componentes a presiones mayores de 20 MPa es incompleta y a veces nula.

El propósito de esta investigación fue estudiar los efectos en la distribución de nitrógeno en la leche bajo presiones de 0 a 100 MPa en leche entera y en leche baja en grasa. Se determinó el nitrógeno total; el nitrógeno de la caseína, la proteína principal de la leche; el nitrógeno en el suero; y el nitrógeno no proteico por el método de micro-Kjendahl.

Se utilizó leche entera y leche baja en grasa para determinar si la grasa afectaba la distribución de nitrógeno. Además, se trabajó con dos temperaturas diferentes: una menor a la temperatura de desnaturalización de las proteínas (40°C) y otra mayor (75°C), para poder

determinar si el cambio en la distribución de nitrógeno es debido a la temperatura generada por la homogenización a altas presiones o solamente debido a la homogenización en sí.

## II. ANTECEDENTES

### I. Leche

La leche es un fluido complejo que contiene muchos componentes en varios estados de dispersión (Webb, 1980). Los principales constituyentes de la leche son: agua, grasa, proteínas, lactosa y sales minerales. También contiene pequeñas trazas de otras sustancias tales como pigmentos, enzimas, vitaminas, fosfolípidos y gases (Alfa-Laval, 1994). La composición de la leche determina su calidad nutricional, su valor como materia prima para hacer productos alimenticios y muchas de sus propiedades. Una clasificación burda de los principales constituyentes de la leche con porcentajes aproximados se presenta en el Cuadro 2.1 (Walstra, 1984).

#### A. Grasa

Si se deja en reposo la leche, se forma una capa de nata en la superficie. La nata consta de glóbulos de grasa flotando libremente. El glóbulo de grasa tiene una membrana delgada que consta de proteínas y fosfolípidos. La membrana protege la grasa de ser descompuesta por las enzimas presentes en la leche. Los glóbulos de la grasa son las partículas más grandes presentes en la leche. Sus diámetros oscilan entre 0.1 y 20 micras (Alfa-Laval, 1994).

## CUADRO 2.1

## Composición Aproximada de Leche

Componente	Contenido Promedio % (p/p)	Rango % (p/p)	Porcentaje Promedio de Materia Seca
Agua	87.3	85.5-88.7	
Sólidos no grasos	8.8	7.9-10.0	69
Grasa en materia seca	31	21-38	
Lactosa	4.6	3.8-5.3	36
Grasa	3.9	2.4-5.5	31
Proteína	3.25	2.3-4.4	26
caseína	2.6	1.7-3.5	20
Sustancias minerales	0.65	0.53-0.80	5.1
Acidos orgánicos	0.18	0.13-0.22	1.4
Misceláneos	0.14		1.1

(Walstra, 1984).

## B. Proteínas

La leche contiene varios cientos de tipos distintos de proteínas, muchas de las cuales se encuentran en muy pequeñas cantidades. Los tres principales grupos de proteínas se distinguen por su diferente comportamiento y por su forma de existencia y están indicados en el Cuadro 2.2 (Alfa-Laval, 1994).

**CUADRO 2.2**  
**Diferentes Cantidades de Proteínas presentes en la Leche**

Tipo de proteína	concentración proteínas en leche (g/kg)	% total de proteínas en leche entera (w/w)
Caseínas	26.0	79.5
$\alpha$ -caseínas	12.6	38.6
$\kappa$ -caseínas	3.3	10.1
$\beta$ -caseínas	10.1	30.8
Proteínas del Suero	6.3	19.3
Seroalbúminas bovinas	0.4	1.2
$\beta$ -lactoglobulinas	3.2	9.8
$\alpha$ -lactoalbumina	1.2	3.7
Inmunoglobulinas	0.7	2.1
Misceláneas(incluye proteo-peptonas)	0.8	2.4
Proteínas de la membrana del glóbulo graso	0.4	1.2
<b>TOTAL</b>	<b>32.7</b>	<b>100</b>

(Alfa-Laval, 1994).

### 1. *Caseínas*

La caseína es la proteína principal de la leche. Tiene la siguiente composición: C, 53.0; H, 7.05; N, 15.65; S, 0.76; y P, 0.85% (Webb, 1980). Las caseínas representan más o menos el 80% del total de proteínas de la leche (Walstra, 1984). Forman fácilmente polímeros que forman complejos moleculares llamadas micelas. Existen tres subgrupos: la  $\alpha$ -caseína, y  $\kappa$ -caseína y la  $\beta$ -caseína (Alfa-Laval, 1994).

La caseína en una muestra de leche se precipita estabilizando el pH a 4.6, su punto isoelectrico. Para estabilizar el pH e incrementar la velocidad de precipitación de la caseína, se agrega a la leche ácido acético para dar un pH un poco más ácido que el punto isoelectrico. Después de unos minutos, se agrega acetato de sodio para que el pH llegue al punto isoelectrico y se estabiliza allí (Webb, 1980).

Las caseínas son las proteínas de la leche más termoestables y no están sujetas a desnaturalización por calor (Hall y Harper, 1976).

### 2. *Proteínas del suero (Seroproteínas)*

El suero es el líquido remanente del cuajo al hacer queso o precipitar la caseína de la leche. Este grupo de proteínas es aproximadamente 0.6 a 0.7% de la leche. Las proteínas que se encuentran en mayor proporción en el suero son: la  $\alpha$ -lactoalbumina y la  $\beta$ -lactoglobulina (Webb, 1980). También contiene albúmina bovina del suero, inmunoglobulinas y proteasas-peptonas; y otras proteínas menores como la lactoferrina, lactolina, glicoproteína y transferrina de la sangre (Marshall, 1990). La más importante de éstas es la  $\beta$ -lactoglobulina que representa más o menos el 50% del total de proteínas del suero (Milk Industry Foundation, 1989).

El suero contiene más de la mitad de sólidos presentes en la leche original, incluyendo 20% de las proteínas y la mayoría de la lactosa(70-80%), minerales y vitaminas solubles en agua . Tienen un alto valor nutricional (Marshall, 1990). Las proteínas del suero en general y la  $\alpha$ -lactoalbúmina en particular son de alto valor nutritivo. Su composición de aminoácidos es muy

cercana a la que es considerada biológicamente óptima. Es por esto que los preparados de proteínas de suero son muy utilizados en la industria alimenticia (Alfa-Laval, 1994).

Las proteínas del suero son solubles a todos valores de pH, un factor que las distingue de las caseínas. Excepto por la fracción estable de la proteasa-peptonas, las proteínas del suero son sensibles a la temperatura arriba de 60°C. El grado de desnaturalización depende de los componentes de la proteína, concentración de sólidos, pH, fuerza iónica, temperatura y tiempo de exposición (Marshall, 1990).

La desnaturalización de las proteínas del suero, que involucran cambios en la configuración de las moléculas de proteínas, expone grupos sulfidrilo y cambia las características de la proteína para que ésta se aglomere (Hall y Harper, 1976).

### *3. Proteínas de la membrana del glóbulo graso*

Estas proteínas constituyen un grupo que se caracteriza por formar cubiertas protectoras alrededor de los glóbulos de grasa. Su consistencia puede ser desde suave y gelatinosa hasta bastante firme y fuerte. Las proteínas con residuos de lípidos se llaman lipoproteínas. Los lípidos y los aminoácidos hidrófobos de estas proteínas hacen que las moléculas dirijan sus puntos hidrófobos hacia la superficie de la grasa, mientras que las partes menos hidrófobas se orientan hacia el agua (Alfa-Laval, 1994).

Otras proteínas de este grupo se unen a estas capas de proteína de la misma forma, dando lugar a un gradiente hidrófobo desde la superficie de la grasa hacia el agua. Este gradiente en las membranas es un lugar ideal para la absorción de moléculas en cualquier grado hidrófobo. Fosfolípidos y enzimas lipolíticas son absorbidas especialmente dentro de la membrana (Alfa-Laval, 1994).

### *4. Enzimas*

Las enzimas son un grupo de proteínas producidas por organismos vivos que tienen la capacidad de provocar reacciones bioquímicas y de afectar su curso y velocidad.

Dos factores influyen en la actividad de las enzimas en forma importante: el pH y la temperatura. La temperatura óptima de actividad oscila entre 25-50°C. De 50-120°C son destruidas casi completamente y se inactivan, pero la temperatura de inactivación varía según el tipo de enzima. Algunas enzimas presentes en la leche son la peroxidasa, catalasa, fosfatasa y lipasa (Alfa-Laval, 1994).

### C. Nitrógeno

La mayor parte del nitrógeno en la leche se encuentra como caseína, albúmina y globulina y peptonas de la proteólisis. La leche también contiene nitrógeno en la forma de amoníaco, urea, creatinina, ácido úrico y aminoácidos, y algunas trazas en forma de vitaminas, enzimas y fosfolípidos (Shahani, 1951). No se encuentra mucha información disponible sobre el significado de la presencia de peptonas de la proteólisis y los compuestos de nitrógeno no proteicos y su posible papel en los cambios de las propiedades de la leche bajo varios tipos de tratamiento (Fox, 1960). El contenido de proteína en los materiales biológicos se estima determinando el contenido de nitrógeno, usualmente por el método de Kjeldahl, y multiplicando este contenido de nitrógeno por un factor que, en el caso de los productos lácteos, es 6.38 (Webb, 1980).

### D. Nitrógeno no proteico

El nitrógeno no proteico total en la leche varía entre 25 - 30 mg por 100 ml de leche, constituyendo de 5 a 6% del nitrógeno total en la leche. Esta cantidad en la leche varía con el animal, raza y alimentación; sin embargo, no depende de la estación del año. (Webb, 1980). Los compuestos incluidos aquí son de bajo peso molecular y no son precipitados con las proteínas en ácido tricloroacético al 12%. Los principales componentes se encuentran listados en el Cuadro No. 2.3. La urea constituye aproximadamente la mitad del nitrógeno no proteico de la leche (Walstra, 1984).

**CUADRO 2.3**  
**Principales Compuestos de Nitrógeno No Proteico en Leche**

	Reporte Reciente	Rango en Literatura
Urea-N	142	84-280
Creatina-N	25	6-20
Creatinina-N	12	2-9
Ácido Úrico-N	8	5-8
Acido Orotico-N	15	12-13
Acido Hipúrico-N	4	4
Péptido-N	32	
Amonia-N	9	3-14
$\alpha$ -amino ácido-N	44	29-51
<b>NNP Total</b>	<b>296</b>	<b>229-308</b>

*Nota:* Contenidos en mg por kg de leche

(Walstra, 1984).

## E. Efectos del Calor

La leche es un material termolábil en el que todos los componentes mayores pueden ser alterados física o químicamente por calor, siendo los cambios mayores al inducirse mayor calor. La sensibilidad al calor de los componentes de la leche en orden decreciente de sensibilidad son: enzimas libre, proteínas del suero, enzimas ligadas, sistema caseína-fosfato de calcio, lactosa y los lípidos de la leche (Fox, 1984).

Los efectos del calor son la evolución de  $H_2S$ , formación de sabor a cocido, una disminución en el potencial de oxidorreducción, desarrollo de propiedades antioxidígenicas y una disminución de la tensión del cuajo (Milk Industry Foundation, 1989).

### 1. *En la grasa*

La grasa no se ve afectada por temperaturas menores a  $100^{\circ}C$ . A temperaturas mayores, los glóbulos tienden a agruparse (Alfa-Laval, 1994).

### 2. *En las proteínas*

La caseína no sufre algún cambio detectable a temperaturas inferiores a  $100^{\circ}C$ , pero se producen cambios fácilmente detectables en las micelas de caseína cuando se calientan por encima de  $65^{\circ}C$ . Como se mencionó con anterioridad, las caseínas son las proteínas de la leche más termoestables y no están sujetas a desnaturalización por calor (Hall y Harper, 1976).

Las proteínas séricas comienzan a desnaturalizarse a una temperatura de  $65^{\circ}C$  y se encuentran casi totalmente desnaturalizadas cuando la leche se calienta a  $90^{\circ}C$  durante 60 segundos. Después de calentar la leche a  $75^{\circ}C$  o más por un minuto aproximadamente, la leche comenzará a oler y tendrá un sabor a cocido. Esto es debido a la liberación de compuestos que contienen azufre que provienen de la  $\beta$ -lactoglobulina y otras proteínas sulfuradas (Alfa-Laval, 1994).

Debido a la desnaturalización la solubilidad de las proteínas cambia, pudiéndose precipitar éstas con la caseína al haber acidificación. Sin embargo, requiere un tratamiento térmico más drástico que la pasteurización (Hall y Harper, 1976).

Cada proteína individualmente exhibe diferentes grados de susceptibilidad de desnaturalización por calor, y la situación se complica aún más debido a las interacciones entre ellas. La sensibilidad en orden decreciente de las proteínas del suero para desnaturalizarse, como reportadas por Nakanishi *et al.*(1967) y Damicz (1966) son: inmunoglobulinas, albúmina del suero,  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactalbumina (Hall y Harper, 1976). Estos datos coinciden con estudios electroforéticos en donde la leche se calienta a varias temperaturas y la caseína y las proteínas desnaturalizadas del suero son precipitadas por acidificación, las primeras proteínas que precipitan son las inmonoglobulinas, seguidas por las albúminas del suero de la sangre, la  $\beta$ -lactoglobulina y finalmente por la  $\alpha$ -lactoglobulina, que es muy resistente al calor (Jenness, 1959).

Los cambios en las propiedades de formación de cuajo de la leche debido al calor tienen por lo menos dos aspectos prácticos: El desarrollo de cuajo suave, significativo desde el punto de vista de la nutrición del infante, mientras que el otro concierne la incapacidad de las proteínas de la leche a aglomerarse en la producción de queso cottage. Estos fenómenos son relacionados con la floculación de las proteínas del suero debido a su desnaturalización por calor. Otra explicación es que las proteínas del suero reaccionan químicamente con la caseína, destruyendo así la capacidad de la caseína de formar cuajos firmes. Para reforzar la explicación anterior, se pueden citar indicaciones de interacciones entre la  $\beta$ -lactoglobulina y los componentes de la caseína en datos electroforéticos (Jenness, 1959).

#### *Interacción entre $\beta$ -lactoglobulina y $\kappa$ -caseína inducida por calor*

La interacción entre  $\beta$ -lactoglobulina y  $\kappa$ -caseína durante la exposición de la leche al calor ha sido reportada en detalle por McKenzie (1967). La interacción entre estos dos ocurre en los tratamientos con calor en los que se ha desnaturalizado más del 50% de las proteínas del suero; es una reacción que depende del tiempo. Esta interacción tiene las siguientes funciones: (a)

minimiza la salida o formación de sulfidrilos y  $H_2S$ ; (b) minimiza la coagulación del sistema de proteínas de la leche con tratamientos con calor subsecuentes; (c) mejora las características de cuerpo de productos con cultivo; (d) mejora el rendimiento de queso Cottage; (e) y provee las bases para precipitados de calcio-proteína (Hall y Harper, 1976).

## II. Homogenización

La homogenización es el proceso de emulsificar un líquido en otro o la forma de dispersar uniformemente partículas sólidas a través de un líquido (Alfa-Laval, 1994). La leche es homogenizada forzándola a través de un orificio a altas presiones causando turbulencia, cavitación e incrementando el mezclado (González, 1994).

La homogenización se usa en la industria láctea para influenciar la estabilidad, uniformidad, consistencia, viscosidad, vida de anaquel, tiempo de reacción, sabor y color de los productos lácteos. La homogenización a alta presión está emergiendo como un campo de estudio para las industrias láctea, alimenticia, de bebidas, biotecnología, cosmética, farmacéutica y química (APV Homogenizers, 1994). Se utiliza para recobrar proteínas de células u otros bioquímicos de los microorganismos (Popper y Knorr, 1990).

Actualmente en la industria, la temperatura de homogenización es de 60-70°C a una presión de 15-25 MPa (150-250 bar) (Alfa-Laval, 1994).

La intensidad del cambio en el sistema de la leche aumenta al incrementar la presión de homogenización. La estabilidad del sistema de emulsión, indicado por la ausencia de la capa de crema, se denomina a la eficiencia de homogenización, que también incrementa como función de la presión (Harper y Hall, 1976).

El tipo de homogenizador, la presión de homogenización, el contenido de grasa, temperatura, viscosidad de la grasa y el plasma, y la naturaleza del surfactante son factores que afectan el proceso de homogenización (APV Homogenizers, 1993).

La homogenización a alta presión parece ser un método importante de disminuir el conteo microbiano inicial, mientras ayuda a minimizar el daño hecho por estrés innecesario de calor (Popper y Knorr, 1990).

Según Clouston y Willis (1969) y Gould y Sale (1970), la homogenización a alta presión y el estrés mecánico no inactivan las esporas pero las inducen a germinar, resultando en una resistencia menor a tratamientos de inactivación. La mayoría de microorganismos serán destruidos por cambios estructurales en la membrana celular a raíz de las altas presiones de homogenización (Vardag y Kroner, 1995).

Generalmente, los beneficios de la leche homogenizada en la elaboración de quesos son: (1) pérdidas menores de grasa en el suero, (2) mayores rendimientos de quesos, (3) menores pérdidas por encogimiento durante la maduración, y (4) menor pérdida de grasa a temperaturas elevadas (Webb, 1980).

Según Iwada y Tsugo (1960), como la homogenización incrementa el nitrógeno soluble en agua, la maduración en la manufactura de queso será más rápida con leche homogenizada que con no homogenizada. Además, la cantidad de nitrógeno que se mueve dentro del suero del queso puede ser comparativamente mayor y la razón de recuperación de nitrógeno menor que con leche no homogenizada.

#### A. Efectos fisicoquímicos

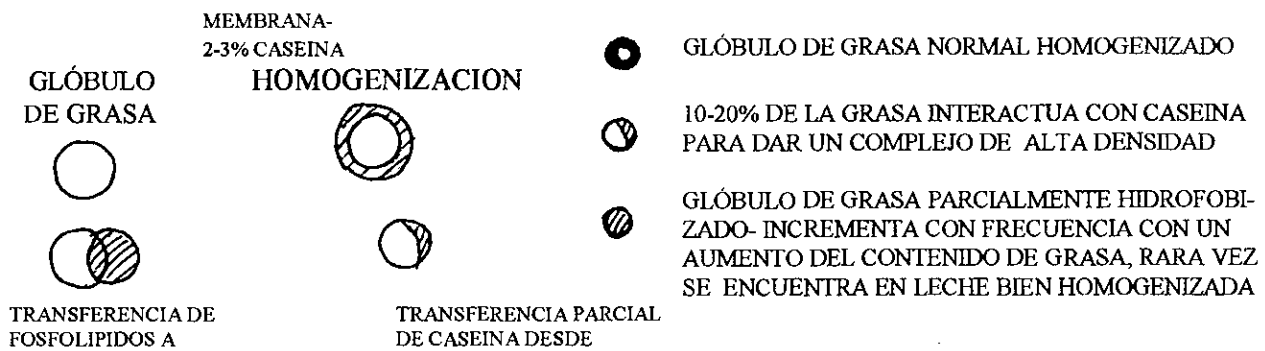
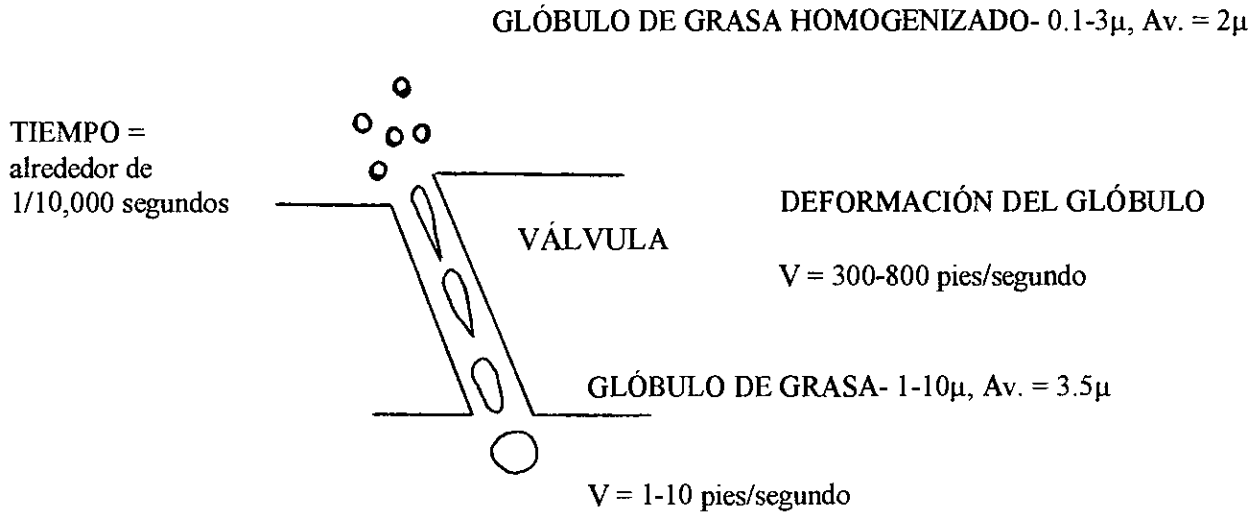
Los cambios más importantes que sufre la leche durante la homogenización se reflejan en las transformaciones físicas de los glóbulos de grasa y en las interacciones de lípidos y proteínas. (González, 1994).

Las características del proceso de homogenización que causan alteraciones en los componentes de la leche y sus características se representan en la Figura 2.1, indicando: (a) un agregado de energía en forma de calor dentro del sistema, (b) la corta duración del proceso y la

aceleración repentina y desaceleración que lo acompaña. Los cambios en las características de la leche debido a homogenización y los cambios fisicoquímicos asociados con eso se encuentran resumidos en el Cuadro 2.4 (Harper y Hall, 1976).

**FIGURA 2.1**

**Representación Diagramática del Proceso de Homogenización**



LECHE DESCREMADA

(Harper y Hall, 1976).

### CUADRO 2.4

#### Efecto de la Homogenización en Algunas Características Físicas de la Leche Relacionadas con la Presión de Homogenización.

Presión de Homogenización psi	% Migración de Fosfolípidos a fase de leche descremada	% Grasa que Interactuó con Caseína (Complejo alta densidad)	% Reducción Tensión cuajo en leche con % grasa de		
			3.6	4.2	5.1
1000	11.5	11	14	21	33
1500	15.2	13	--	--	--
2000	15.9	18	41	51	52
3000	16.0	23	55	68	69
4000	14.8	32	61	66	69
8000	1.0	36	--	--	--

(Harper y Hall, 1976).

## B. Efecto en el valor nutritivo

Se ha reportado que la homogenización mejora la digestibilidad de la leche. El efecto de la homogenización en la mejora de el coeficiente de absorción y utilización de las proteínas en animales de laboratorio se puede ver en el Cuadro 2.5 (Walstra, 1984)

**CUADRO 2.5**  
**Efecto de la Homogenización en el Valor Nutritivo de la Leche**

	Leche Regular	Leche Homogenizada (2000psi)
Coeficiente de Digestibilidad (%)	89.3-98	89.3-97
Coeficiente de Absorción (%)	42.3	71.8
Utilización de la Proteína (%)	76.3	87.2
Ganancia de peso (gramos)	2.7	3.4

(Walstra, 1984).

## C. Cambios en las proteínas

La información acerca de los cambios específicos inducidos en las proteínas de la leche por la homogenización son limitados (Hall y Harper, 1976).

Cuando la leche se procesa por homogenización, la caseína, albúmina y globulina son en cierta parte desnaturalizadas, lo que causa un cambio en la distribución del nitrógeno (Rowland, 1938).

Las características de las proteínas de plasma sufren cambios significativos que contribuyen en las características de la leche homogenizada. En muchos aspectos, la leche homogenizada representa la forma desnaturalizada de su contraparte no homogenizada (Webb, 1980). Los cambios en las proteínas como resultado del calor que acompaña a la homogenización y los cambios que ocurren en su superficie minimizan el agrupamiento y reducen así la velocidad de cremosidad (Harper y Hall, 1976).

Granikov *et al.* (1976) enseñó una disminución en el tamaño de las partículas de caseína desde un promedio de 1075 Å en la leche cruda a 595 Å después de homogenización a 100 atm (1470 psi). El mismo efecto no se encontró en leche descremada homogenizada y se relacionó a la desgregación de las partículas de caseína durante la homogenización y su adsorción en la superficie de las membranas de los glóbulos de grasa (Hall y Harper, 1976).

La desestabilización de las proteínas es uno de los cambios más importantes que ocurren durante el proceso de homogenización, siendo directamente relacionados con defectos como *cream feathering* y "*spaghetti ring*". Nuestro conocimiento de los cambios que ocurren en las proteínas como resultado de la homogenización es incompleta. Sabemos que cambios relacionados con el calor ocurren a temperaturas sobre 74°C, incluyendo desnaturalización de proteínas y formación de compuestos sulfidrilos. "*Feathering*" es básicamente una coagulación de las partículas de caseína en los glóbulos de grasa debido al calor y es incrementado por el calcio libre (Hall y Harper, 1976).

Rowland (1938) observó que si la leche se calienta, el 80% de las proteínas del suero cambian de tal manera que precipitan con la caseína cuando ésta es precipitada a pH 4.6. Consideró que este 80% representa la lactoglobulina y lactalbumina, y que el 20% restante es una proteína separada a la que denominó proteopeptona. Las proteosas y peptonas son polímeros de aminoácidos con un peso molecular menor al de las proteínas. Generalmente son formadas por la degradación hidrolítica parcial de las proteínas. No son desnaturalizadas por el calor. La naturaleza de las proteínas en esta fracción no ha sido claramente establecida. El tema se

complica por el hecho de que la fracción puede consistir en parte de proteínas nativas y en parte de productos de degradación que resultaron de el tratamiento térmico (Jenness, 1959).

En cuanto a la distribución de nitrógeno, según Iwada y Tsugo (1960), mientras la presión de homogenización o la frecuencia de la homogenización aumenta, el nitrógeno de la caseína disminuye, mientras que el nitrógeno del suero aumenta de un 3 a un 8% y el nitrógeno no proteico aumenta de un 4 a un 6%.

Algunos autores creen que las partículas de caseína son dañadas considerablemente por homogenización, lo que produce compuestos de un bajo peso molecular que no precipitan a un pH 4.6 (Badui, 1990).

En estudios realizados se pueden resumir los siguientes resultados: 1. Las proteínas se adsorben irreversiblemente.

2. Ocurre desnaturalización lenta en al superficie.

3. Las micelas de caseína son adsorbidas, pero se encuentran desplazadas en una capa fina que consiste en fragmentos de micelas y posiblemente submicelas.

4. Las proteínas del suero, menos las proteasas-peptonas, también son adsorbidas (Fox, 1983).

#### D. Cambios en el sistema lipídico

Después de ser homogenizada, le leche adquiere nuevas características y propiedades que hacen que se reduzca su tendencia al cremado y se aumente la estabilidad de la fase lipídica; se desarrolla un estado de dispersión de la grasa que no tiene capacidad de formar agregados lipídicos. La homogenización reduce las reacciones de oxidación iniciadas por el cobre y los fosfolípidos de la membrana que se solubilizan en el suero (Badui, 1990). Esto se atribuye a que la membrana original de glóbulos se rompe para dar lugar a una nueva constituida por diferentes proteínas, caseínas y por el suero, que se unen a la superficie del glóbulo mediante enlaces hidrófobos (Badui, 1990).

Cada glóbulo de grasa está rodeado por una capa protectora llamada membrana, cuya función es prevenir que el glóbulo de grasa se flocule o agregue y protege la grasa contra el

ataque enzimático. Esta membrana está compuesta de fosfolípidos y glicoproteínas (Walstra, 1984).

El cambio más importante en la capa superficial de la membrana consiste en la adsorción de materiales nuevos porque parte de la membrana original se ha perdido por contacto con burbujas de aire o por un aumento en el área superficial de la grasa. El material que se adsorbe principalmente son las proteínas del plasma. (Fox, 1983)

Si la leche es homogenizada, la mayor parte de la superficie de la membrana será nueva porque el área superficial de la grasa aumenta por un factor de 5-10. En la leche recombinada (hecha por la homogenización de la mezcla de leche descremada y grasa) las capas de la superficie son completamente nuevas (Fox, 1983).

Los glóbulos de grasa pueden dañarse, perdiendo así parte de su membrana. Consecuentemente, adquieren una capa de proteínas del plasma en la parte dañada. Cuando los glóbulos de grasa se rompen, aumentando el área superficial, la absorción de proteínas es considerable. Esto sucede durante la evaporación y la homogenización de la leche. La gran mayoría de los glóbulos homogenizados están cubiertos con proteínas del plasma, especialmente caseína (Walstra, 1984).

El calor, combinado con agitación, puede causar coalescencia de los glóbulos de grasa y su ruptura puede causar que las proteínas de la membrana sufran cambios y desnaturalización y algunas proteínas, probablemente las del suero, son absorbidas (Walstra, 1984).

Los procesos de tratamiento de la leche pueden alterar la membrana del glóbulo de grasa. Algunas proteínas del suero y fosfato de calcio probablemente son depositadas en los glóbulos de grasa durante el calentamiento, aunque no existe evidencia directa de ello (Fox, 1983).

Fox *et al.* (1960) encontraron que la mayor cantidad de proteína en el complejo proteína-lípido era la caseína y que probablemente estaba asociada con la fracción de grasa por fuerzas apolares. Además, postularon que la cantidad de grasa unida a la caseína es una función del tamaño de la micela. Esta micela es activada en el momento en que pasa a través de la válvula del homogenizador, predisponiéndola a la interacción con la fase lipídica.

Jackson y Brunner (1960), fraccionando la proteína presente en la interfase proteica/lipídica de leche homogenizada, reportaron concentraciones altas de caseína y menor cantidad de proteínas del suero. La fracción de caseína parecía estar formando un complejo con una fracción lipídica no identificada (Webb, 1980).

Según Alfa-Laval (1994), la leche que se homogeniza debe tener un contenido de grasa máximo del 12%. Si tiene un contenido de grasa mayor, no debe ser homogenizada ya que se formarían grumos debido, sobre todo, a la falta de material (caseína) para cubrir los recién formados glóbulos de grasa. Para una buena homogenización se necesitan aproximadamente 0.2 gramos de caseína por gramo de grasa.

Según Fox (1983), a bajas temperaturas, algunas lipoproteínas presentes en el plasma de la leche tienden a adsorberse a los glóbulos de grasa.

La composición de la capa superficial de adsorción depende de las condiciones durante la adsorción. Algunas variables importantes son:

a. *Composición de la fase continua.* Las proteínas son adsorbidas en proporción a su concentración. El plasma da una capa de caseína y proteínas del suero (carga total de proteínas de aprox. 8 mg de proteína/m<sup>2</sup> de superficie de glóbulo de grasa).

b. *Intensidad de agitación.* Si la agitación es leve, las proteínas llegan a la interfase por difusión. Si la agitación es vigorosa, como en un homogenizador, las proteínas llegan a la superficie de la membrana por convección y las partículas más grandes, particularmente las partículas con un tamaño similar a los glóbulos de grasa, son adsorbidas preferentemente. Además, la atracción de adsorción de las micelas de caseína más grandes es mayor para los glóbulos más pequeños. Consecuentemente, los glóbulos más pequeños adquieren mucha más proteína por unidad de área superficial si están presentes ambas micelas de caseína y proteínas del suero.

c. *Temperatura*. En general, mientras mayor es la temperatura (como a 70°C) durante la adsorción, más delgada es la capa de proteína. Esto se debe a que la caseína puede esparcirse más rápido sobre una interfase agua-aceite a una mayor temperatura.

d. *Tratamiento térmico*. Un tratamiento térmico antes de la adsorción puede causar que la capa de adsorción sea mas gruesa talvez debido a la asociación de las proteínas del suero con las micelas de caseína (Fox, 1984).

Los glóbulos de grasa que están cubiertos mayormente de caseína toman parte en cualquier reacción de la caseína. Si el pH se acerca al punto isoelectrico de la caseína, si se agrega cuajo o si el producto se calienta hasta el punto en que las micelas de caseína se inestabilizan, los glóbulos se unen y coagulan. Los glóbulos de grasa actúan, hasta cierto punto, como partículas grandes de caseína y la concentración efectiva de caseína es entonces mayor, por lo que la coagulación ocurre más rápido (Fox, 1984).

#### E. Efecto en la temperatura del producto

La presurización inmediatamente antes de la homogenización y la fricción causados por la alta velocidad del fluido eleva la temperatura del producto de 2-2.5°C por cada 100 bares (Popper y Knorr, 1990). Según Alfa-Laval (1994), cada 40 bares de caída de presión eleva la temperatura del producto 1°C.

### III. JUSTIFICACIÓN

En la industria láctea alrededor del mundo, la homogenización se utiliza para dar a la leche características de uniformidad, estabilidad de sus fases, un color más blanco y homogéneo. Las presiones de homogenización que actualmente se están utilizando son menores a 25 MPa. Actualmente, las empresas de productos lácteos de EE.UU. están interesadas en investigar el efecto de la homogenización a altas presiones en las características fisicoquímicas de la leche.

Esta investigación pretende estudiar una parte de los efectos de la homogenización de la leche a presiones mayores, contribuyendo así con el desarrollo de la tecnología de la industria láctea. Se pretende determinar cómo afecta la presión hasta 100 MPa en la distribución del nitrógeno en leche cruda entera y baja en grasa.

Se han hecho estudios anteriores (Iwada y Tsugo, 1960) en la que se estudió la distribución de nitrógeno al ser homogenizada la leche hasta 20 MPa; sin embargo, no existe información sobre la distribución de nitrógeno en leche homogenizada a altas presiones.

El nitrógeno en la leche está presente en la caseína, su proteína principal, en el suero, como nitrógeno no proteico y, en menores cantidades, en la membrana del glóbulo de grasa. Para encontrar el valor proteico de la leche, se multiplica la cantidad de nitrógeno por un factor de 6.38.

Conocer cómo afecta la homogenización a altas presiones la distribución de nitrógeno de la leche ayuda a conocer en qué fracción de la leche existe el mayor valor nutritivo. Ayuda a saber bajo qué condiciones es necesario homogenizar la leche para obtener valores de nitrógeno o proteína deseados en alguna fracción específica. Por ejemplo, si se desea aumentar la cantidad de nitrógeno en la fracción de la caseína que se utiliza para hacer un queso, o aumentarla en la parte del suero para hacer un requesón con un valor proteico más elevado que el normal.

Según Iwada y Tsugo (1960), como la homogenización incrementa el nitrógeno soluble en agua, la maduración en la manufactura de queso va a ser más rápida con leche homogenizada que con leche no homogenizada.

## IV. OBJETIVOS

### A. Generales

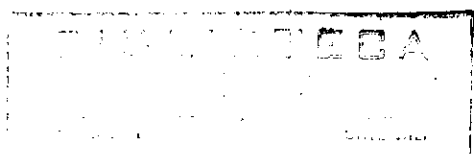
1. Determinar la distribución de nitrógeno en leche cruda entera y baja en grasa al homogenizar a altas presiones a dos temperaturas diferentes.
2. Determinar si ocurre cambio en la distribución de nitrógeno en leche cruda entera y baja en grasa debido a la temperatura, a la alta presión de homogenización o ambas.

### B. Específicos

1. Determinar la distribución de nitrógeno en la leche homogenizada por el método de micro-Kjendahl; determinando el nitrógeno total, nitrógeno de la caseína, nitrógeno en el suero y nitrógeno no proteico.
2. Realizar homogenización de la leche a cinco presiones a dos temperaturas distintas.
3. Relacionar los cambios en la distribución de nitrógeno en la leche homogenizada a altas presiones con los cambios en características que sufre la leche al ser homogenizada.
4. Comparar la diferencia en distribución de nitrógeno en leche homogenizada entera y baja en grasa, observando cómo afecta la presencia de grasa en la leche.

## V. HIPÓTESIS

La distribución de nitrógeno en leche cruda entera de vaca será afectada por la homogenización a altas presiones, mientras que la leche cruda baja en grasa lo será en menor grado debido a la presencia de grasa en la primera.



## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Materiales

#### *Leche*

La leche cruda entera y descremada fue recolectada de la lechería de la Universidad de Texas A&M. La leche se separó utilizando un separador 340 De Laval (De Laval Inc. Chicago, IL). El contenido de grasa de la leche y crema se obtuvo utilizando el método de Mojonier (Milk Industry Foundation, 1989). La leche entera tenía un promedio de 3.6% de grasa, mientras que la baja en grasa 1%.

#### *Equipo*

1. La leche se calentó con agitación en una marmita enchaquetada de pasteurización calentado con vapor de acero inoxidable. (Cremería TAMU)
2. Se utilizó un homogenizador de dos etapas Rannie 12.51 H (APV Rannie Inc., St. Paul, MN).
3. Equipo de micro-Kjendahl: digestor, frascos Kjendahl, aparato de destilación Kjendahl.
4. Balanza Analítica Mettler Toledo
5. Bureta 50 ml PYREX
6. Pipetas volumétricas de 5 y 10 ml PYREX
7. 12 frascos erlenmeyer 50 ml PYREX
8. Pipeteros de plástico
9. Perlas de ebullición
10. Vaselina
11. Pissetas de agua
12. Guantes de asbesto
13. Pinzas de metal
14. Soportes de metal

15. Termómetro de dial (°C y F)
16. Hielera con hielo
17. Botes plásticos de 1 lt. para recolectar muestras.

### *Reactivos*

1. Ácido sulfúrico concentrado, grado reactivo
2. Tabletas para Kjendahl (Keltabs): 1.5 g  $K_2SO_4$ , 0.015g Se
3. Solución al 4% de ácido bórico
4. Solución hidróxido de sodio-tiosulfato de sodio: 60g NaOH + 5g  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ /100 ml  $H_2O$
5. Solución 0.02N de ácido clorhídrico estandarizado
6. Indicador rojo de metilo-verde bromocresol: 1 parte 0.2% solución de rojo de metilo alcohólico y 5 partes 0.2% solución verde bromocresol alcohólico.

### B. Métodos

En base a los objetivos planteados se presenta el siguiente plan de investigación:

#### 1. Homogenización de la leche cruda

Se utilizaron 60 galones de leche por corrida. Primero, se calentó la mitad de la leche, 30 galones, hasta 40°C en un marmita de pasteurización con agitador previamente desinfectada. Se homogenizó el batch a las siguientes presiones: 0, 20, 40, 60, 80 y 100 MPa. La temperatura fría se escogió para que no se excediera la temperatura de desnaturalización de la leche aun a presiones elevadas; la temperatura caliente es representativa de la temperatura a la cual la leche se homogeniza regularmente en la lechería de la Universidad de Texas A&M.

Se tomaron muestras de aproximadamente 1/2 litro por nivel de presión de homogenización. Se tomó la temperatura de la leche a la salida del homogenizador e inmediatamente después se enfrió en un baño de agua de hielo hasta 4°C. Se limpió y desinfectó

la marmita y luego se calentaron los siguientes 30 galones hasta 75°C. Se homogenizaron a las mismas presiones, repitiendo el procedimiento.

## 2. Distribución de nitrógeno

La determinación de la distribución de nitrógeno en las diferentes fracciones en la leche se llevó a cabo por el método de micro-Kjeldhal (AOAC, 1985): nitrógeno total, nitrógeno de la caseína, nitrógeno del suero y nitrógeno no proteico. Las fracciones de la leche se separaron siguiendo el método especificado por Rowland (1937).

### *Determinación de nitrógeno*

El nitrógeno se determinó por el método de micro-Kjeldhal (AOAC, 1987). El porcentaje de proteína presente en las muestras de leche se encuentra multiplicando el nitrógeno total por un factor de conversión para productos lácteos de 6.38.

El nitrógeno no presente en la caseína y el nitrógeno no proteico se determinaron por el procedimiento de Rowland (1938). El nitrógeno de la caseína se determinó por diferencia entre el nitrógeno total y el nitrógeno no presente en la caseína. El nitrógeno del suero se calculó como la diferencia entre el nitrógeno de la caseína y el nitrógeno no proteico.

### *Determinación de nitrógeno total*

Se utilizará el método de semi-micro Kjeldahl descrito en el AOAC con algunos cambios en el procedimiento que se describen a continuación: Se pesó 0.5 ml de muestra de leche en un frasco de Kjendahl de 200 ml. Se agregó 1 pastilla catalizadora. Se agregó 3 ml de ácido sulfúrico concentrado y perlas de ebullición. Se digirió durante media hora subiendo la temperatura paulatinamente hasta que la solución se puso transparente. Se continuó la digestión a fuego alto por una hora y media. Se dejó enfriar, se agregó un poco de agua y se dejó enfriar nuevamente. Se destiló con 10 ml de la solución de hidróxido de sodio y tiosulfato de sodio y se recibió en 5 ml de una solución de ácido bórico al 4%. Se tituló con ácido clorhídrico 0.02N.

### *Determinación del nitrógeno no presente en la caseína*

La determinación de nitrógeno presente en la caseína después de la homogenización se hizo de la siguiente manera:

Se pesó 10 ml de leche en un frasco graduado de 100 ml. Se añadió 70-80 ml de agua a 40°C y 1 ml de solución de ácido acético al 10%. Se mezcló y después de 10 minutos se agregó 1 ml de solución 1N de acetato de sodio y mezcló nuevamente. Se dejó enfriar y se agregó agua hasta la marca de 100 ml, se mezcló y dejó estar hasta que la caseína y la grasa se asentaron. Se filtró en un papel filtro Whatman No. 40 dentro de un frasco. Con 2 ml del filtrado se realizó el método de determinación de nitrógeno Kjendahl descrito anteriormente (Rowland, 1937).

El nitrógeno no presente en la caseína se encontró al restar el nitrógeno presente en la caseína del total de nitrógeno.

### *Determinación de nitrógeno no-proteico*

Para la determinación de nitrógeno no proteico se pesaron 10 ml de leche en un frasco graduado de 50 ml. Se diluyó hasta la marca con solución de ácido tricloroacético al 15% y se mezcló inmediatamente. Después que el precipitado se asentó, se filtró en papel Whatman No. 40. Con 5 ml del filtrado se llevó a cabo el método de determinación de nitrógeno Kjendahl, descrito anteriormente (Rowland, 1937).

## VII. DISEÑO EXPERIMENTAL

### A. Unidad experimental

El factor bajo estudio fue leche entera y baja en grasa. Se pretendió determinar si cambia la distribución de nitrógeno en la leche al ser homogenizada a altas presiones. Esta investigación fue parte de una serie de investigaciones complementarias referente al comportamiento de la leche y derivados de la leche sujeta a altas presiones de homogenización. Estos estudios están siendo realizados por el departamento de Ciencias de la Leche en la Universidad de Texas A&M bajo supervisión del Dr. Ronald L. Richter, jefe del departamento. La investigación incluye exámenes electroforéticos de las proteínas después de la homogenización a altas presiones (en estudio), determinación del cambio de características físicas y químicas de los glóbulos de grasa de la leche (González, 1994), los cambios en la distribución de los componentes de la leche y trabajos con la consistencia del yogurt (Lin, 1995).

### B. Tamaño de muestra

Se realizaron dos repeticiones de la homogenización a altas presiones (0,20,40,60,80 y 100 MPa) en ambas temperaturas (40 y 75°C) de leche entera y dos de leche baja en grasa. En cada corrida se utilizaron 60 galones de leche.

En cada prueba se separó la caseína, el suero y el nitrógeno no proteico y se determinó el nitrógeno presentes en cada fracción y el nitrógeno total.

Se realizaron las siguientes repeticiones del método de micro-Kjeldahl: 2x2x4x3x2 (dos veces x dos temperaturas x N total, caseína, suero, no proteico x tres repeticiones de cada uno, dos tipos de leche). Cada dato de determinación de nitrógeno se realizó por triplicado y se le sacó un promedio estadístico.

### C. Análisis estadístico

Se utilizó el análisis estadístico de ANOVA (Análisis de varianza) con prueba de Tukey para determinar si hubo un cambio en la distribución de nitrógeno debido a la presión de homogenización, a la temperatura o a la interacción de temperatura y presión. Se utilizó el programa de software estadístico SAS. Con la prueba de Tukey se hizo comparaciones entre éstas para determinar si afectaba en la distribución de nitrógeno la clase de leche utilizada.

## VIII. RESULTADOS

### Efecto de la temperatura de homogenización

El efecto de la presión y temperatura de homogenización en la leche que entra al homogenizador se muestra en el cuadro 8.1. Para ambas, leche entera y baja en grasa, se observó un incremento en temperatura cuando la presión de homogenización aumentaba. El aumento de temperatura por cada 100 MPa de incremento de presión para leche baja en grasa fue de 26.5°C y 21.0°C a 40°C y 75°C respectivamente; mientras que para la leche entera el aumento de temperatura fue de 22.5°C a ambas temperaturas.

### Nitrógeno total

Los datos de la concentración de nitrógeno total en la leche después de la homogenización se encuentran resumidos en los cuadros 8.2 y 8.3. La concentración de nitrógeno varió de 0.49 a 0.53 mg de nitrógeno por cada 100 ml de leche.

La presión de homogenización, la temperatura de homogenización y la interacción de estos parámetros no afectaron significativamente la concentración total de nitrógeno en la leche, como se muestra en los resultados del análisis estadístico en el cuadro 8.4.

Se observa en las gráficas #2 y # 3 que el nitrógeno total se mantuvo constante durante la homogenización a las diferentes presiones en ambos tipos de leche. En la leche baja en grasa, la cantidad de nitrógeno presente fue un poco más alto que para la leche entera.

### Nitrógeno de la caseína

Como lo muestra el cuadro 8.5, los valores de nitrógeno de la caseína en leche baja en grasa fueron iguales a los de la leche entera procesadas bajo las mismas condiciones.

La temperatura a la que se homogenizó la leche afectó significativamente la distribución del nitrógeno, aunque la presión de homogenización y el tipo de leche no afectaron (Cuadro 8.6). En las gráficas # 3 y # 4 se puede visualizar que en ambos tipos de leche, entera y baja en grasa, el nitrógeno de la caseína es mayor a 75° C que a 40°C.

### Nitrógeno del suero

El cuadro 8.7 presenta el contenido de nitrógeno en el suero de ambos tipos de leche a las diferentes presiones de homogenización utilizadas. Hubo una diferencia estadísticamente significativa en la distribución de nitrógeno del suero debido a la temperatura y el tipo de leche, pero no por la presión de homogenización como se muestra en el cuadro 8.8. La cantidad de nitrógeno en el suero es más alta para leche descremada que para leche entera. Para ambos tipos de leche, el nitrógeno del suero es menor a 75°C que a 40°C.

En ambos tipos de leche, el nitrógeno varió a 40° C siguiendo el mismo patrón que a 75° C. En leche descremada el nitrógeno del suero subió y bajó cada 20 MPa aproximadamente, mientras que en la leche entera, bajó paulatinamente (gráficas #5 y #6).

### Nitrógeno no proteico

El cuadro 8.9 presenta la cantidad de nitrógeno no proteico. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre la temperatura, la presión o el tipo de leche en la distribución del nitrógeno no proteico según el análisis estadístico presentado en el cuadro 8.10.

En las gráficas #7 y #8, se puede observar la cantidad de nitrógeno no proteico, en g/ml, según las variaciones con las diferentes presiones de homogenización. Las gráficas siguen un patrón aleatorio.

La misma gráfica muestra que para ambos tipos de leche los valores son más altos a 75°C, pero no son valores estadísticamente significativos.

## IX. DISCUSIÓN

En este estudio se determinó la distribución de nitrógeno en leche entera y en leche baja en grasa homogenizadas a diferentes presiones y a diferentes temperaturas iniciales de homogenización. Se escogieron dos temperaturas de homogenización debido a que las proteínas de la leche son termosensibles. Se escogió homogenizar leche a 40°C para que la temperatura fuera menor que la temperatura a la que ocurre desnaturalización de proteínas; y por otro lado, la temperatura normal a la que se homogeniza la leche es 75°C.

La distribución de nitrógeno en la leche varió debido a que la homogenización a altas presiones involucra acción mecánica y turbulencia dentro del homogenizador, que afecta la leche física y químicamente.

### Efecto de la temperatura de homogenización

Al ir aumentando la presión de homogenización, la temperatura de la leche incrementaba, como se muestra en el cuadro 8.1. Estos incrementos son consistentes con los observados por González (1994) que encontró un aumento de 25.56°C por cada 100 MPa de leche descremada homogenizada a 62.5°C y 18.89°C MPa para leche con 3.0% grasa homogenizada a 79.5°C. Sin embargo, Olson (1995) reportó incrementos en temperatura mayores que las enumeradas por González: 33, 31 y 32°C por cada 100 MPa para leche entera, leche con bajo contenido de grasa y leche descremada homogenizada utilizando un microfluidizador. Popper y Knorr (1990) encontraron que la temperatura de un fluido aumenta de 20°C hasta aproximadamente 55°C en la homogenización de una sola etapa a 1,500 bar o 150 MPa.

Este aumento de la temperatura se debe a las fuerzas de corte y acción mecánica dentro del homogenizador. Cuando la leche se homogenizó a 40°C, la temperatura máxima de la leche al salir del homogenizador, que no excedió los 68°C, no fue suficientemente alta como para causar una desnaturalización extensiva de las proteínas de la leche. La caseína, siendo una proteína termoestable, no es desnaturalizada a estas temperaturas, aunque sus micelas pudieron cambiar su estructura. Sin embargo, una parte de las proteínas séricas pudieron sufrir desnaturalización.

La desnaturalización de las proteínas de la leche se observa cuando la temperatura de la leche es aproximadamente 75°C (Shahani, 1951). Consecuentemente, como la leche fue homogenizada a 75°C a presiones mayores a 20 MPa ocurrió desnaturalización parcial de las proteínas. Esto causó interacciones entre proteínas que afectó la distribución de las proteínas de la leche.

Las temperaturas alcanzadas durante la homogenización a presiones altas llegó a exceder 50°C, por lo que la inactivación de microorganismos puede llegar a ser importante.

### Nitrógeno total

La concentración de nitrógeno total en la leche y el porcentaje de proteínas presentes en la misma después de la homogenización a alta presión se encuentran resumidos en los cuadros 8.2 y 8.3. La medición del nitrógeno representa la cantidad de proteínas presentes en la leche y por lo tanto su calidad nutricional. El nitrógeno total se mantuvo constante durante la homogenización a las diferentes presiones en ambas leches, lo que puede observarse en las gráficas # 1 y # 2. La concentración de nitrógeno es una línea casi horizontal, lo que indica que el contenido total de

nitrógeno en ambos tipos de leche se mantiene constante durante todas las presiones de homogenización. Además, las curvas a ambas temperaturas son iguales. Esto era de esperarse ya que las condiciones de procesamiento no fueron suficientes como para causar degradación de las proteínas o la volatilización de compuestos de nitrógeno. Sin embargo, es posible que la distribución de las proteínas cambie después de la homogenización de la leche.

La concentración de nitrógeno fue diferente entre la leche baja en grasa y la entera. La concentración de nitrógeno en la leche baja en grasa fue mayor que en la leche entera. Esto es normal y esperado ya que la remoción de la grasa de la leche resulta en una concentración mayor de los componentes restantes de la leche.

La presión de homogenización, la temperatura de homogenización y la interacción de estos parámetros no afectó significativamente la concentración total de nitrógeno en la leche, como se muestra en los resultados del análisis estadístico en el cuadro 8.4.

#### Nitrógeno de la caseína

Los cuadros 8.5 y 8.6 muestran que el tipo de leche no afectó la cantidad de nitrógeno presente en la caseína. El contenido de nitrógeno no varió entre la leche baja en grasa y la entera. Como era de esperarse, el factor temperatura sí es significativo en el análisis de varianza. El nitrógeno de la caseína fue más bajo en ambos tipos de leche a 40° C que a 75° C. En la leche homogenizada a 75° C, las temperaturas de salida fueron suficientemente altas para desnaturalizar parcialmente las proteínas de la leche y causar interacciones entre ellas. En leche entera, llegó hasta 94°C. K-caseína y las proteínas del suero, especialmente la  $\beta$ -lactoglobulina, interactuaron y se precipitaron en el punto isoeléctrico a mayores temperaturas, incrementando así la fracción

de nitrógeno de la caseína en la leche. En las gráficas #3 y #4, se puede observar que en ambos tipos de leche, el nitrógeno de la caseína es mayor a 75° C. González (1994) reportó un incremento en la viscosidad de la leche con 3% grasa homogenizada a 79.5°C probablemente debido al incremento de la razón grasa a proteína, a la agregación de los glóbulos de grasa y coalescencia en el producto, así como también a las interacciones entre la  $\beta$ -lactoglobulina desnaturalizada y la  $\kappa$ -caseína.

Los datos encontrados en la homogenización de leche descremada son consistentes con estudios anteriores sobre el tema. En la gráfica # 3, el nitrógeno de la caseína en gN/ml de leche, se gráfica contra la presión en MPa. El nitrógeno de la caseína disminuyó levemente hasta 40 MPa. Iwada y Tsugo (1960) reportaron un descenso en el nitrógeno de la caseína en leche descremada hasta presiones de homogenización de 40 MPa, mientras la presión incrementaba. Esto puede ser causado porque las partículas de caseína son dañadas considerablemente por el proceso de homogenización, produciendo compuestos de bajo peso molecular que no precipitan a un pH 4.6. En la leche entera homogenizada a 40°C también se detectó un ligero descenso en el nitrógeno de la caseína hasta 40 MPa.

Después de 40 MPa, la distribución del nitrógeno de la caseína no fue afectado, el nitrógeno de la caseína permaneció casi estable mientras incrementaba la presión, por lo tanto, no hay una diferencia significativa entre presiones de homogenización. Esto puede deberse al método de medición, el procedimiento puede no ser lo suficientemente sensible a detectar pequeños cambios en la distribución de nitrógeno.

### Nitrógeno del suero

Hubo una diferencia estadísticamente significativa en la distribución de nitrógeno del suero debido a la temperatura y el tipo de leche, pero no debido a la homogenización. (Cuadro 8.8). A 75°C, temperatura de entrada al homogenizador, el nitrógeno en el suero es menor que a 40°C en ambos tipos de leche. Esto está relacionado con el hecho que el nitrógeno de la caseína es mayor. Estos cambios están más marcados en la leche entera que en la leche baja en grasa (gráficas #5 y #6). En la leche entera pudo ser que la mayoría del nitrógeno del suero interactuó con el material lipídico para formar la nueva membrana del glóbulo graso, y el corte y el calor causados por la homogenización desnaturalizó las proteínas del suero, cambiando su solubilidad, haciéndolas precipitar a pH 4.6. Además, parte de las proteínas del suero forman enlaces con la  $\kappa$ -caseína, precipitando así en el punto isoelectrico de la caseína. De esta manera, ésta fracción de nitrógeno del suero no se filtró adecuadamente en la separación del nitrógeno que no proviene de la caseína y fue medido como nitrógeno de la caseína de la resta del nitrógeno no proveniente de la caseína del nitrógeno total. Las proteínas del suero sí son afectadas considerablemente por el tratamiento térmico.

Los valores de nitrógeno en el suero fueron mayores para la leche baja en grasa que para la leche entera (Cuadro 8.7) por el mismo hecho de que en la leche baja en grasa aumenta la proporción de sólidos al faltar la grasa.

### Nitrógeno no proteico

Los cuadros 8.9 y 8.10 muestran que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre la temperatura o la presión en la distribución del nitrógeno no proteico en leche homogenizada

entera o baja en grasa. El nitrógeno no proteico constituye alrededor del 5% del nitrógeno total y el método Kjendahl puede no ser lo suficientemente sensitivo. En la primera fase del experimento, se separaron la caseína del suero y el nitrógeno no proteico por el método de Rowland (1938). Pudo inducirse cierto error en los cálculos durante esta separación.

El nitrógeno no proteico en leche baja en grasa a 40°C incrementó levemente, como lo reportaron Iwada y Tsugo (1960) hasta 40 MPa; mientras que a 75°C permaneció constante. Este incremento probablemente se deba a la fragmentación de las proteínas de la leche.

## X. CONCLUSIONES

A. La distribución de nitrógeno en ambas leches, entera y baja en grasa, al homogenizar a altas presiones de hasta 100 MPa varió. Este cambio se debió al aumento de temperatura y cambios físicos involucrados en el proceso de homogenización a altas presiones.

B. La temperatura a la que la leche es homogenizada afectó la distribución de nitrógeno de la leche. A temperaturas mayores a 75°C aproximadamente, ocurre desnaturalización de las proteínas e interacciones entre ellas. Así, parte de las proteínas del suero interactúan con la caseína, precipitando con ésta; reduciendo así la fracción de nitrógeno en el suero y aumentando la fracción en la caseína. El nitrógeno no proteico, que constituye sólo una pequeña porción, no varió significativamente.

C. El tipo de leche afectó en la distribución de nitrógeno al ser homogenizada a altas presiones. La leche entera sufrió mayores cambios en la distribución de nitrógeno que la leche baja en grasa.

## XI. RECOMENDACIONES

A. Para la determinación de nitrógeno no proteico y sus cambios, es necesario utilizar un método de determinación más exacta porque el porcentaje es poco en la leche y el Método de Kjeldahl (AOAC, 1984) no fue lo suficientemente sensitivo. Talvez podría utilizarse un método espectroscópico infrarrojo que recomienda la AOAC, No. 16.083 (AOAC, 1984).

B. Continuar estudios donde se determine los cambios en la distribución del nitrógeno en leche recombinada con porcentajes diferentes de grasa en leche.

C. Continuar analizando los efectos de la homogenización a a altas presiones en las propiedades fisicoquímicas de la leche y los productos lácteos.

## X. BIBLIOGRAFÍA

AOAC, 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*.  
Virginia, U.S.A. 14 ed.

APV Homogenizers Brochure, 1994.

Badui, S. 1990. *Química de los Alimentos*. Segunda edición. México: Editorial Alhambra  
Mexicana. 607-610 pp.

Fox, K.K., et.al. 1960. *J. Dairy Sci.* (43): 1396.

Fox, P. 1984 . *Developments in Dairy Chemistry-2*. NY: Applied Science Publishers. 430 pp.

Gonzalez de Cossio, C. 1994. *Effect of High Pressure Homogenization on the Physical Properties  
of Milk*. M.S. thesis. Texas A&M University, College Station. 67 pp.

Hall y Harper, 1976. *Dairy Technology and Engineering*. 200 pp.

Jackson, R.H., and Brunner, J.R. 1960. *J. Dairy Sci.* (43): 912.

Jennes, R. y S. Patton. 1959. *Principles of Dairy Chemistry*. London: Chapman and Hall. 100-  
140 pp.

*J. Dairy Sci.* August 1984. 67(8):1699-1706 pp.

Lin, Ch. 1995. Effect of High Homogenization Pressure on the Stability Properties of Yoghurt. Thesis, TAMU.

Marshall, K. Chapter 11. New Zealand Dairy Research Institute, Parmlerston North, New Zealand.

Milk Industry Foundation. 1989. Milk Facts. Washington, DC.

Olson, D.W., Harned, H.H., and White, C.H. 1994. Comunicación Personal. Mississippi State University, Mississippi State, MS.

Popper, L. y D. Knorr. 1990. Applications of High-Pressure Homogenization for Food Preservation. Food Technology. July. pags. 84-89.

Richter, R. 1995. Comunicación Personal. Texas A&M University, College Station, TX.

Rowland, S. 1938. The Determination of the Nitrogen Distribution in Milk. J. D. Research, 9: 42-46.

Shahani, K y H. Sommer. 1951. The Protein and Non-Protein Nitogen Fractions in Milk. Metods of Analysis .

Vardag, T. y P. Korner. 1995. High-Pressure: A Real Alternative in Food Processing. Food Marketing and Technology. (2): 42-47 pp.

Walstra, P. y R. Jenness. 1984. Dairy Chemistry and Physics. NY: John Wiley and Sons. 467 pp.

Webb, B., A. Johnson, J. Alford. 1980. Fundamentals of Dairy Chemistry Connecticut: Avi Publishing Company. 730 pp.

## APÉNDICE

### Cuadros y Gráficas de Resultados

**Cuadro 8.1**

**Efecto de la Presión de Homogenización en la Temperatura de la Leche**

Presión (MPa)	Temperatura Entrada (°C)	Temperatura Salida Leche Baja en Grasa (°C)	Temperatura Salida Leche Entera (°C)
0	40.00±0.05	39.50±0.05	41.50±0.05
20	40.00±0.05	44.00±0.05	47.00±0.05
40	40.00±0.05	50.50±0.05	53.00±0.05
60	40.00±0.05	56.00±0.05	57.50±0.05
80	40.00±0.05	61.00±0.05	62.50±0.05
100	40.00±0.05	66.00±0.05	77.50±0.05
<b>Rango</b>		<b>26.50±0.07</b>	<b>22.5±0.07</b>
0	70.00±0.05	69.50±0.05	71.50±0.05
20	70.00±0.05	74.00±0.05	76.00±0.05
40	75.00±0.05	79.00±0.05	80.00±0.05
60	75.00±0.05	83.00±0.05	87.00±0.05
80	75.00±0.05	87.50±0.05	91.00±0.05
100	75.00±0.05	90.50±0.05	94.00±0.05
<b>Rango</b>		<b>21.0±0.07</b>	<b>22.5.0±0.07</b>

**CUADRO 8. 2**  
**Nitrógeno Total y Porcentaje de Proteína en Leche Baja en Grasa Homogenizada a varias presiones**

Temperatura	40°C		75°C	
Presión (Mpa)	N total	% Proteína	N Total	% Proteína
0	0.53±0.03	3.38±0.20	0.53±0.02	3.38±0.13
20	0.53±0.02	3.38±0.13	0.53±0.02	3.38±0.13
40	0.53±0.02	3.38±0.13	0.53±0.02	3.38±0.13
60	0.53±0.02	3.38±0.13	0.53±0.02	3.38±0.13
80	0.52±0.02	3.32±0.13	0.53±0.03	3.38±0.20
100	0.52±0.02	3.32±0.13	0.53±0.03	3.38±0.20
<b>X</b>	<b>0.53±0.02</b>	<b>3.36±0.13</b>	<b>0.53±0.02</b>	<b>3.38±0.02</b>

**CUADRO 8 3.**  
**Nitrógeno Total y Porcentaje de Proteína en Leche Entera Homogenizada a varias presiones**

Temperatura	40°C		75°C	
Presión (Mpa)	N total	% Proteína	N Total	% Proteína
0	0.51±0.03	3.25±0.20	0.50±0.02	3.19±0.13
20	0.50±0.01	3.19±0.06	0.51±0.01	3.25±0.06
40	0.49±0.01	3.13±0.06	0.50±0.00	3.19±0.00
60	0.50±0.01	3.19±0.06	0.50±0.01	3.19±0.06
80	0.51±0.01	3.25±0.06	0.50±0.02	3.19±0.13
100	0.52±0.01	3.32±0.06	0.50±0.03	3.19±0.20
<b>X</b>	<b>0.51±0.01</b>	<b>3.25±0.06</b>	<b>0.50±0.02</b>	<b>3.19±0.13</b>

**CUADRO 8.4****Análisis de Varianza del Efecto de la Homogenización en el Contenido Total de Nitrógeno en Leche**

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>F</b>	<b>Significancia de F</b>
Leche	1	27.9	0.0003
T1	1	2.25	0.16
P2	5	0.4	0.84
T x P	5	0.35	0.87

1 Temperatura

2 Presión

CUADRO 8.5

Efecto de la Presión de Homogenización en el Contenido de Nitrógeno de la Caseína en Leche  
(gN/100 ml de leche)

Presión de Homogenización (Mpa)	Leche Baja en Grasa		Leche Entera	
	40°C	75°C	40°C	75°C
0	0.40±0.03	0.43±0.03	0.40±0.03	0.43±0.03
20	0.39±0.03	0.44±0.02	0.38±0.01	0.45±0.01
40	0.39±0.03	0.41±0.03	0.38±0.02	0.45±0.00
60	0.40±0.03	0.44±0.02	0.39±0.02	0.45±0.01
80	0.37±0.03	0.45±0.03	0.41±0.02	0.45±0.02
100	0.39±0.03	0.42±0.03	0.42±0.01	0.46±0.00
X	<b>0.39±0.03</b>	<b>0.43±0.03</b>	<b>0.40±0.02</b>	<b>0.45±0.01</b>

CUADRO 8.6

Análisis de Varianza del Efecto de la Homogenización en el Contenido de Nitrógeno en la Caseína en Leche

Fuente	GL	F	Significancia de F
Leche	1	1.46	0.2524
T1	1	61.55	0.0001
P2	5	0.56	0.7285
T x P	5	0.51	0.7616

1 Temperatura

2 Presión

CUADRO 8.7

Efecto de la Presión de Homogenización en el Contenido de Nitrógeno del Suero en Leche (gN/100 ml de leche)

Presión de Homogenización (Mpa)	Leche Baja en Grasa		Leche Entera	
	40°C	75°C	40°C	75°C
0	0.095±0.006	0.066±0.015	0.085±0.003	0.037±0.006
20	0.111±0.016	0.059±0.012	0.087±0.009	0.029±0.007
40	0.106±0.021	0.078±0.029	0.090±0.011	0.023±0.010
60	0.085±0.033	0.056±0.008	0.080±0.013	0.021±0.007
80	0.106±0.019	0.054±0.014	0.069±0.011	0.020±0.006
100	0.098±0.018	0.069±0.019	0.067±0.008	0.021±0.009
X	<b>0.100±0.020</b>	<b>0.064±0.017</b>	<b>0.080±0.001</b>	<b>0.025±0.007</b>

CUADRO 8.8

Análisis de Varianza del Efecto de la Homogenización en el Contenido de Nitrógeno del Suero en Leche

Fuente	GL	F	Significancia de F
Leche	1	34.86	0.0001
T1	1	83.66	0.0001
P2	5	1.39	0.2997
T x P	5	0.56	0.7313

1 Temperatura

2 Presión

CUADRO 8. 9

Efecto de la Presión de Homogenización en el Contenido de Nitrógeno No Proteico en Leche (gN/100 ml de leche)

Presión de Homogenización (Mpa)	Leche Baja en Grasa		Leche Entera	
	40°C	75°C	40°C	75°C
0	0.030±0.001	0.030±0.002	0.030±0.003	0.030±0.001
20	0.030±0.002	0.030±0.001	0.030±0.001	0.030±0.002
40	0.030±0.003	0.030±0.001	0.030±0.001	0.030±0.001
60	0.030±0.004	0.030±0.003	0.030±0.001	0.030±0.002
80	0.030±0.003	0.030±0.004	0.030±0.008	0.030±0.002
100	0.030±0.007	0.030±0.002	0.030±0.002	0.030±0.002
X	<b>0.030±0.003</b>	<b>0.030±0.002</b>	<b>0.030±0.003</b>	<b>0.030±0.002</b>

CUADRO 8. 10

Análisis de Varianza del Efecto de la Homogenización en el Contenido de Nitrógeno No Proteico en Leche

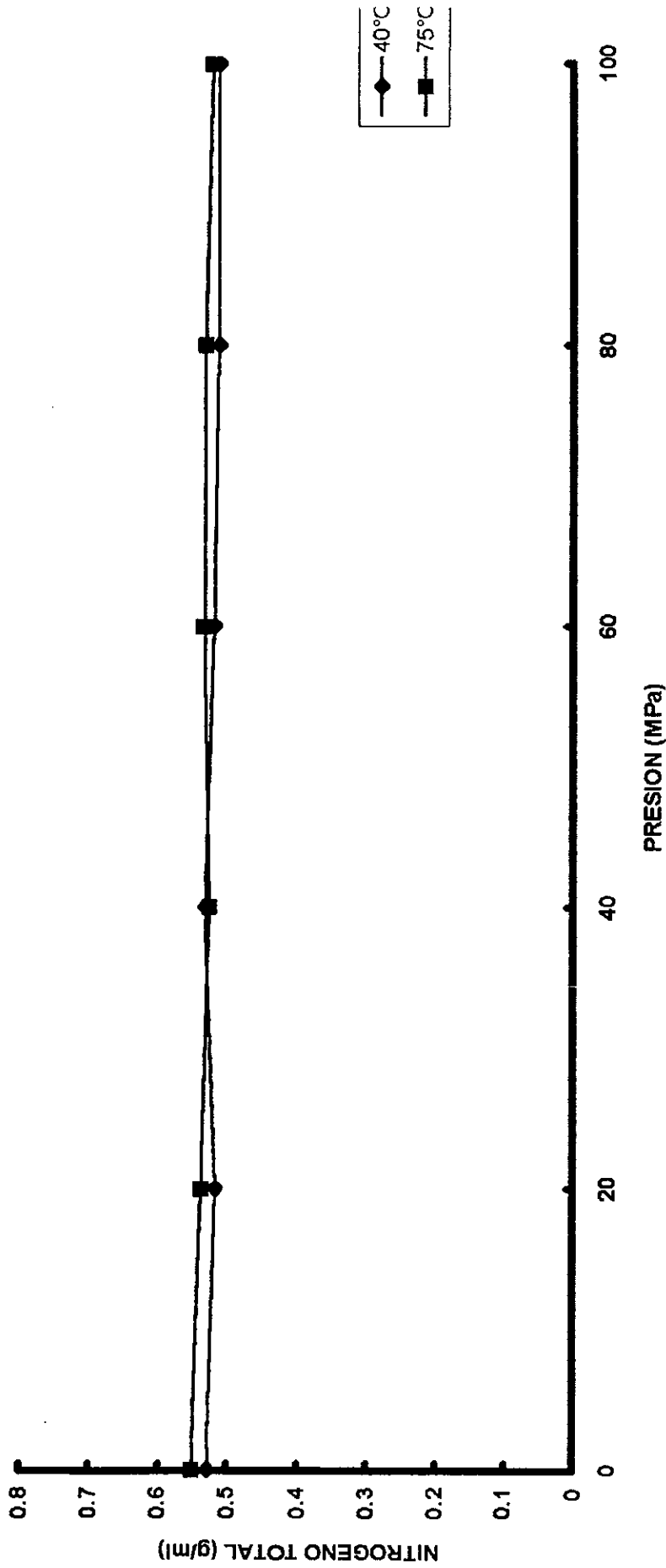
Fuente	GL	F	Significancia de F
Leche	1	9.46	0.0105
T1	1	0.26	0.6127
P2	5	2.68	0.0807
T x P	5	1.76	0.2016

1 Temperatura

2 Presión

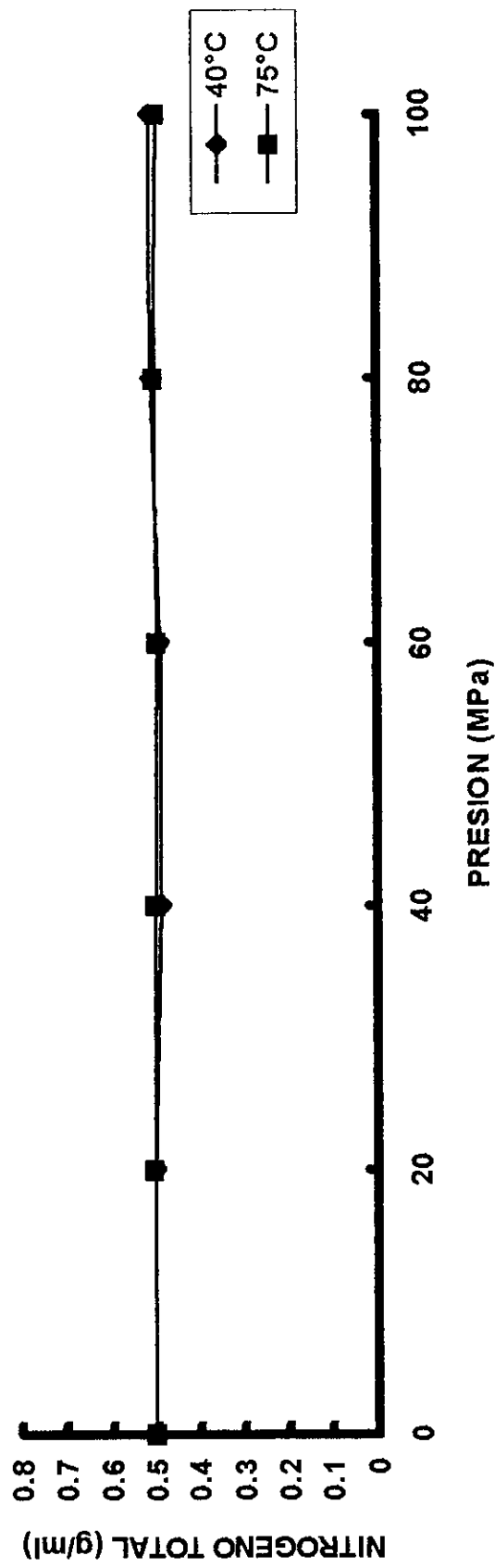
# GRAFICA No. 1

## NITROGENO TOTAL EN LECHE BAJE EN GRASA HOMOGENIZADA A ALTAS PRESIONES



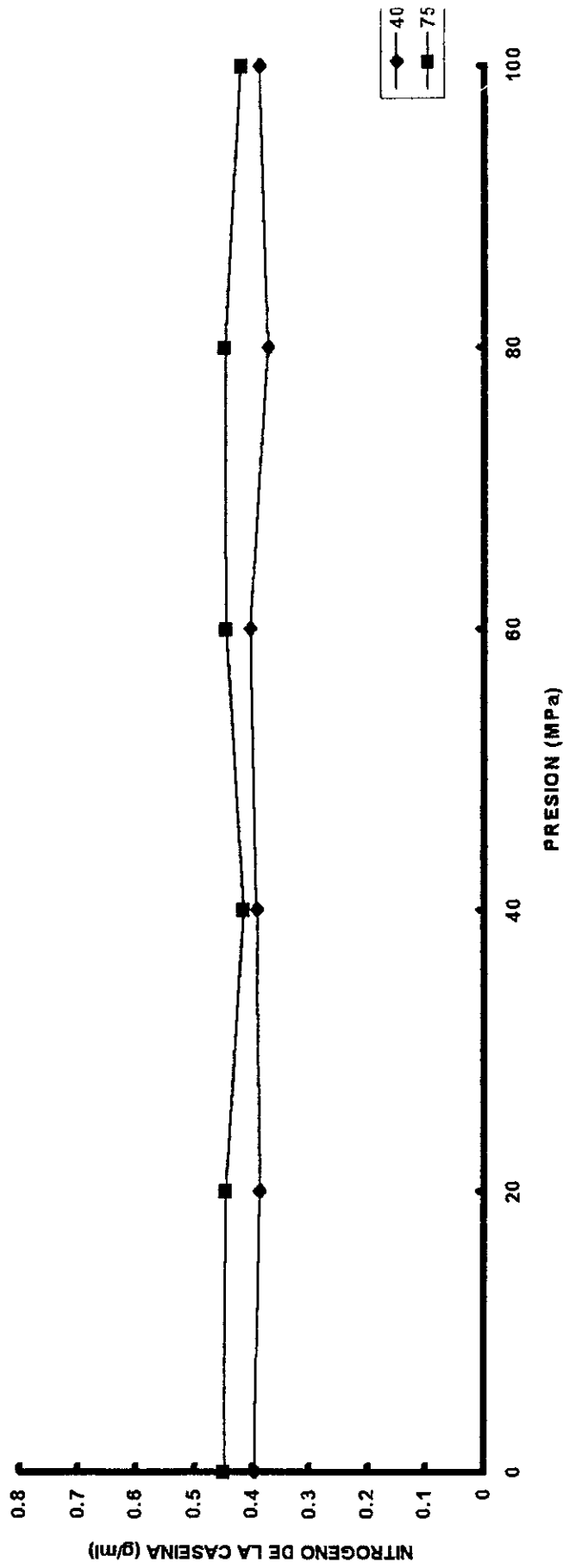
## GRAFICA No.2

# NITROGENO TOTAL EN LECHE ENTERA HOMOGENIZADA A ALTAS PRESIONES



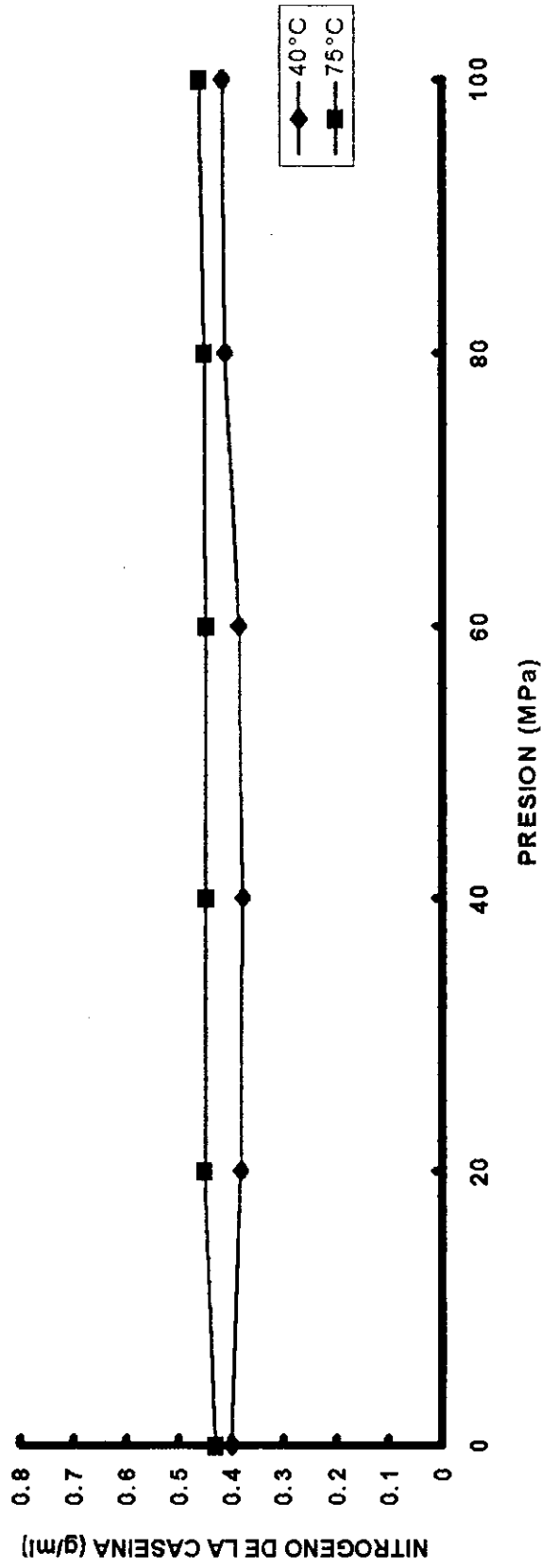
### GRAFICA No.3

# NITROGENO DE LA CASEINA EN LECHE BAJA EN GRASA HOMOGENIZADA A ALTAS PRESIONES



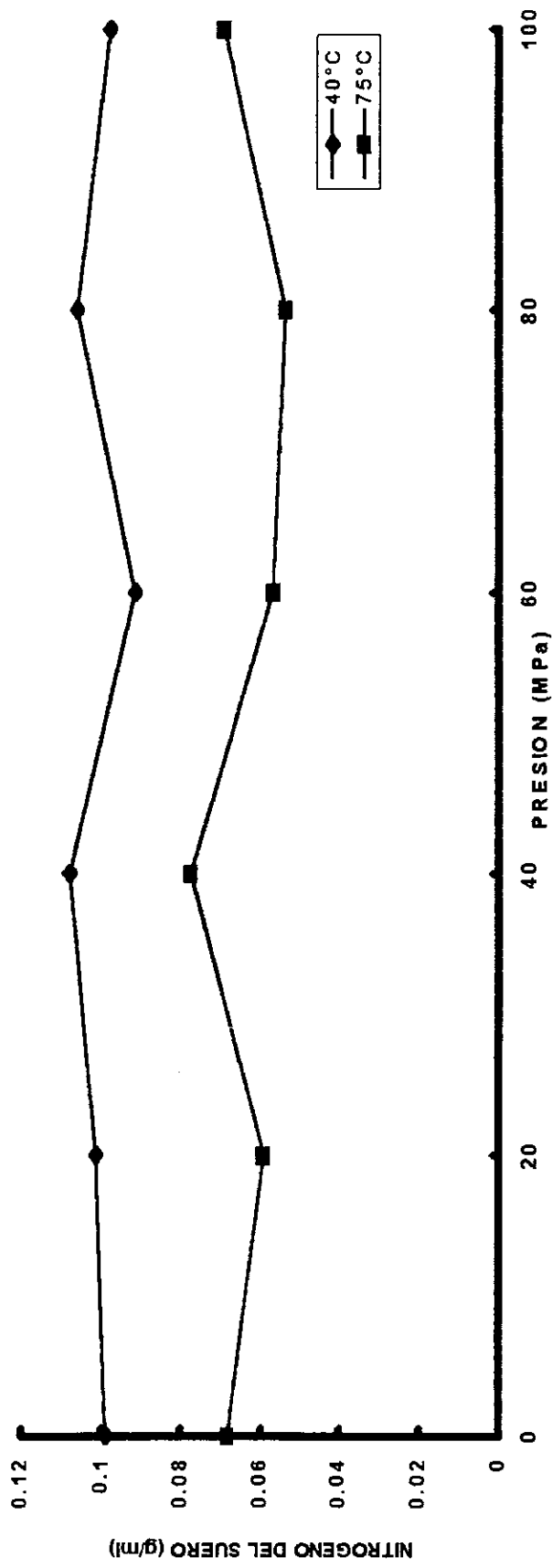
## GRAFICA No.4

# NITROGENO DE LA CASEINA EN LECHE ENTERA HOMOGENIZADA A ALTAS PRESIONES



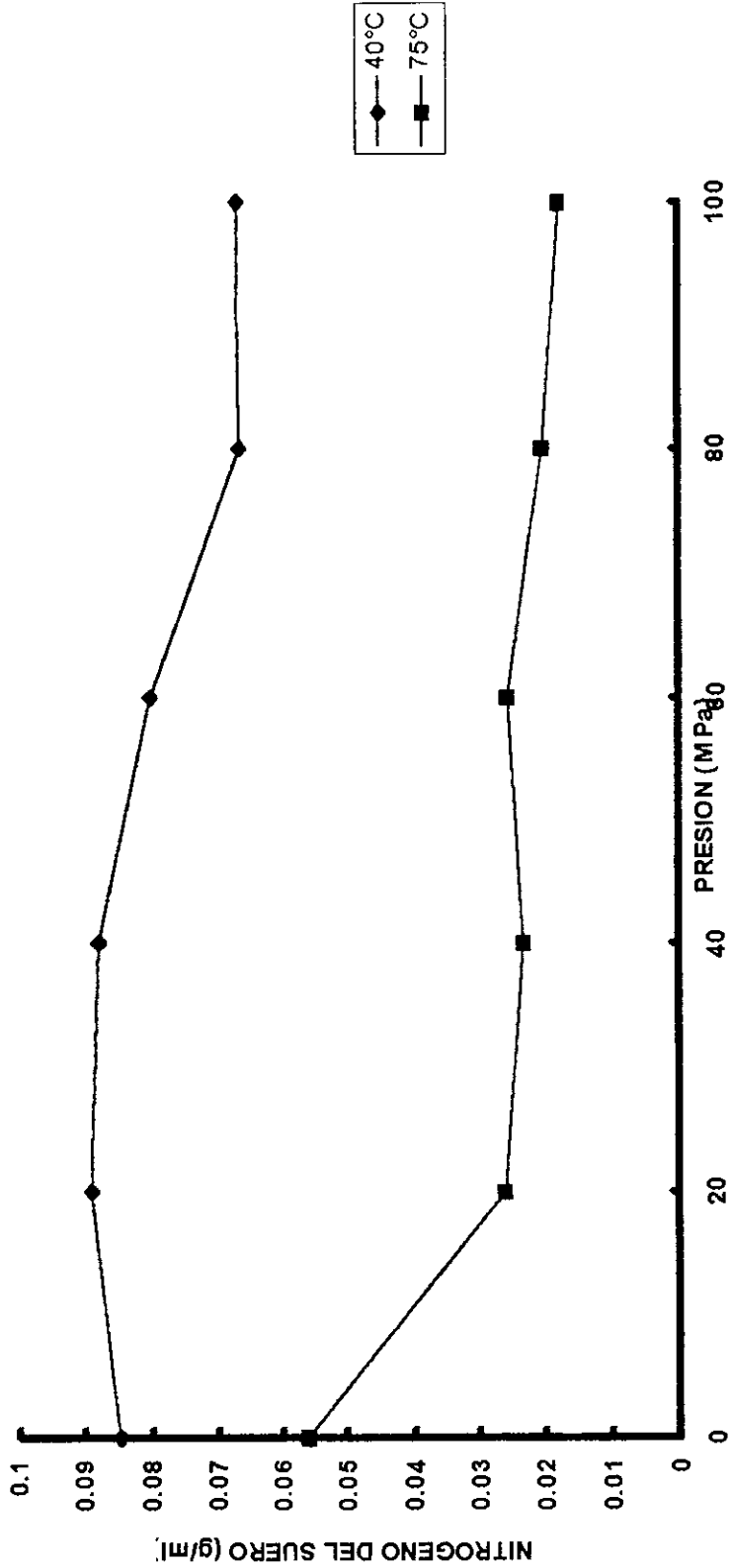
## GRAFICA No.5

# NITROGENO DEL SUERO EN LECHE BAJA EN GRASA HOMOGENIZADA A ALTAS PRESIONES



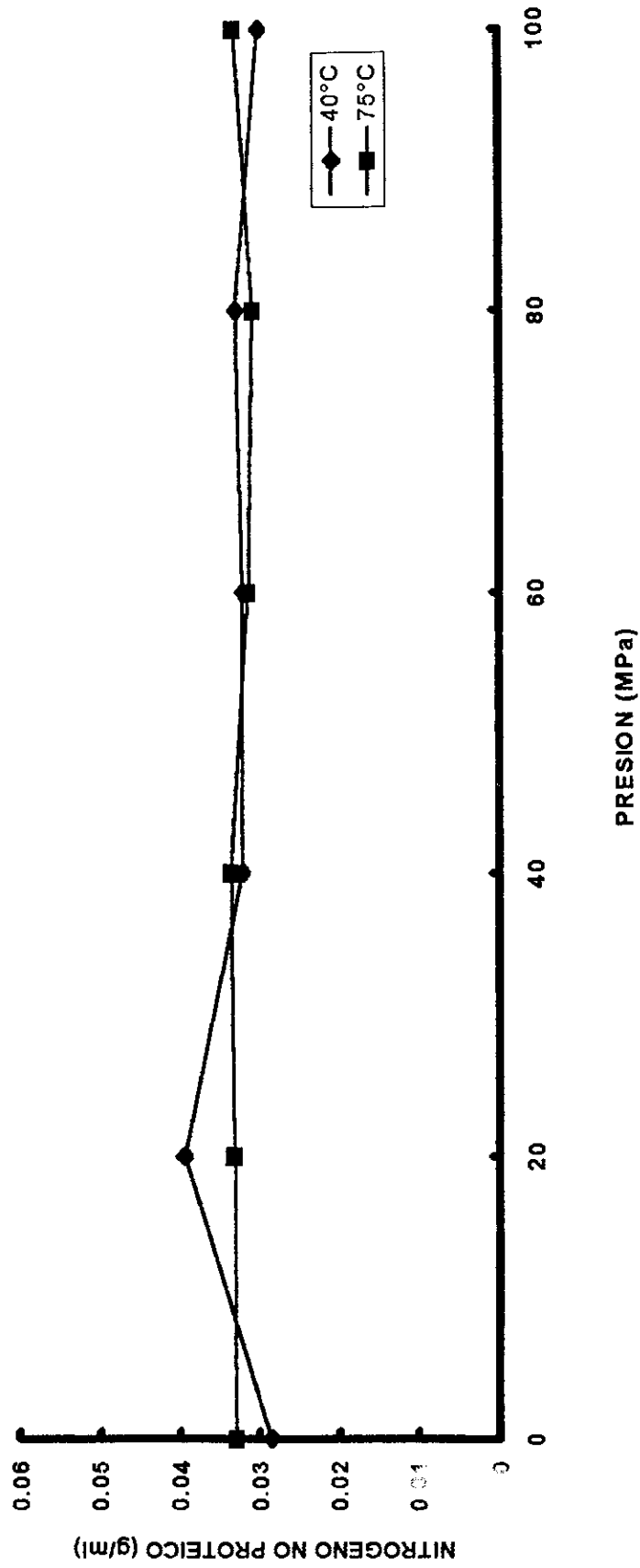
GRAFICA No. 6

# NITROGENO DEL SUERO EN LECHE ENTERA HOMOGENIZADA A ALTAS PRESIONES



## GRAFICA No. 7

# NITROGENO NO PROTEICO EN LECHE BAJA EN GRASA HOMOGENIZADA A ALTAS PRESIONES



# GRAFICA No. 8

## NITROGENO NO PROTEICO EN LECHE ENTERA HOMOGENIZADA A ALTAS PRESIONES

