

ESTUDIO REOLÓGICO Y FÍSICO-QUÍMICO DE LOS SUEROS OBTENIDOS POR COAGULACION ENZIMÁTICA DE LECHE CON DISTINTO CONTENIDO DE UREA

B. D. Riquelme*, A. B. Fontana, A. Alessi, M. Pires, C. Gatti

Dep. de Química Física, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario
Suipacha 531 - (2000) - Rosario - Santa Fe - Argentina
e-mail: riquelme@ifir.ifir.edu.ar

Se realizan determinaciones reológicas y fisico-químicas para analizar el efecto del agregado de urea en las propiedades del suero lácteo extraído durante la coagulación enzimática de la leche, proceso base de la fabricación del queso. Se empleó leche desnatada reconstituida con CaCl_2 5mM con distintas cantidades de urea (0, 5, 8, 10 y 13 mM). Los sueros fueron obtenidos por centrifugación de los geles formados por coagulación enzimática en condiciones estándares. Las determinaciones reológicas fueron realizadas en un viscosímetro cono/plato. Se midió la viscosidad de los distintos sueros a diferentes velocidades de deformación. El comportamiento reológico del suero lácteo es no newtoniano. Las curvas obtenidas indican la presencia de partículas en suspensión de diferentes características. Los resultados son compatibles con las mediciones de proteínas totales y caseínas presentes en los distintos sueros.

Rheological and physicochemical determinations were performed in order to characterise the effect of urea addition on the properties of whey obtained from enzymatic milk coagulation, the basic process of cheese making. Commercial non-fat dried milk was reconstituted in 5mM CaCl_2 with additions of different concentrations of urea (0, 5, 8, 10 y 13 mM). Whey samples were obtained from the enzymatic coagulation curds by centrifugation in standard conditions. Rheological determinations were made both on a cone/plate and capillary viscometer, showing a non-Newtonian behavior for the whey. Results obtained for viscosity different shear rates suggested the presence of different kinds of protein particles in suspension, in accordance with total protein and casein contents in the whey.

I. INTRODUCCIÓN

La urea es el mayor componente del nitrógeno no proteico de la leche. Hay aproximadamente 250 mg/L en leche cruda. Se comprobó que el aumento en los niveles de urea en leche cruda depende de la alimentación del ganado en cierta época del año, pudiendo llegar a aumentar hasta un 25%, es decir llegando a 350 mg/L. Esto se manifiesta solamente en la primer semana de pastoreo, volviendo luego a sus valores iniciales 3 semanas después.

Para aumentar la concentración de proteínas lácteas, los ganaderos han suplementado la dieta de sus vacas lecheras con N ureico. En los últimos años se ha comprobado que no hay una relación directa entre el N ureico de la ingesta y las proteínas lácteas. Se ha encontrado que para altas concentraciones de urea (200 mg/L), en los animales ocurren problemas patológicos, tales como la disminución en el rendimiento reproductivo y alteraciones renales¹.

Un estudio comparativo de las propiedades fisico-químicas, tecnológicas y microbiológicas de leche cruda y de leche cruda adicionada con 1 g/L (16 mM) de urea fue realizado por Guinod-Thomas². Sus resultados mostraron que la adición de 1 g/L de urea no afectó el pH, la composición de la fracción de caseína, el tamaño de las partículas (micelas) de caseína, la firmeza de los geles de caseína obtenidos por calentamiento, el recuento microbiológico ni la producción de queso. Sólo notaron un aumento en el tiempo de coagulación.

Metwalli *et al.*³ realizaron experiencias con adición de urea de 5 a 10 mM produciendo la coagulación por calentamiento a 140°. Las proteínas del suero no son afectadas por la adición de urea. La turbidez y las medidas de viscosidad indican que la adición de urea seguida de calentamiento causa un incremento en la voluminosidad de las micelas de caseína pero un incremento menor en el grado de agregación comparado a las leches sin urea. En otras palabras las micelas de caseína en leches tratadas con urea son más estables.

A diferencia de las experiencias anteriores, en este trabajo se obtuvieron geles por coagulación enzimática empleando leche desnatada reconstituida y adicionada con concentraciones de urea de 5 a 13 mM, estudiándose las características fisicoquímicas y reológicas de los sueros exudados por dichos geles.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las muestras

Se empleó leche desnatada (MOLICO) reconstituida con CaCl_2 5mM adicionada con distintas cantidades de urea (0, 5, 8, 10 y 13 mM). Las leches así preparadas fueron almacenadas a 4°C durante 24 horas. Se realizó la coagulación enzimática en tubos de centrifuga graduados, mantenidos en baño de agua a 38 °C durante 15 minutos (condiciones estándares). Pasado este tiempo se centrifugó a 3000 r.p.m. durante 10 minutos para obtener los sueros sobre los cuales se realizaron las determinaciones fisicoquímicas^{4,5}.

* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia.

Determinaciones físico químicas

Determinación de la concentración de urea: Se realizó por método enzimático empleando ureasa.

Turbidimetría: El estado de las partículas proteicas en suspensión, en cuanto a forma y tamaño, fue evaluado mediante mediciones de turbidez (τ) y del parámetro $\alpha = -(\partial \log \tau / \partial \log \lambda)$, donde λ es la longitud de onda. La turbidez de los sueros fue medida como absorbancia para λ de 400 a 600 nm en una cubeta de 1 mm en un espectrofotómetro JASCO V-550. El parámetro α fue determinado calculando la pendiente de la recta del $\log(\tau)$ en función del $\log(\lambda)$ ⁶.

Cuantificación de proteínas y caseínas: Se realizó por el método espectrofotométrico de Kuaye⁷.

Mediciones de Viscosidad: Se realizaron estudios reológicos en un viscosímetro cono/plato (Brookfield D-V) determinando la viscosidad de los distintos sueros a velocidades de deformación de 1.15 a 384 s⁻¹ a (22±3)°C de temperatura. Además se midió la viscosidad del suero relativa al diluyente de la leche (CaCl₂ 5mM) con un viscosímetro capilar a una temperatura de (38 ± 1) °C.

III. RESULTADOS

TABLA I: CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES Y CASEÍNAS EN LOS SUEROS OBTENIDOS POR COAGULACIÓN DE LECHE CON DISTINTOS AGREGADOS DE UREA

Urea mM	Proteínas g/l	Caseínas g/l
0	4,0 ± 0,1	1,2 ± 0,2
5	3,4 ± 0,1	0,8 ± 0,2
8	2,9 ± 0,1	0,35 ± 0,2
10	3,1 ± 0,1	0,8 ± 0,2
13	2,9 ± 0,1	0,5 ± 0,2

TABLA II: VALORES TURBIDIMÉTRICOS DE LOS SUEROS OBTENIDOS POR COAGULACIÓN DE LECHE CON DISTINTOS AGREGADOS DE UREA

Urea mM	α	τ_{400nm}
0	3,93 ± 0,26	0,35 ± 0,01
5	3,85 ± 0,25	0,34 ± 0,01
8	3,90 ± 0,26	0,34 ± 0,01
10	3,80 ± 0,25	0,34 ± 0,01
13	3,73 ± 0,24	0,35 ± 0,01

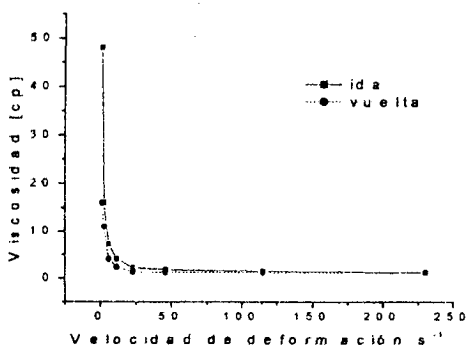


Figura 1 Reograma del suero obtenido para un agregado de urea de 8 mM. (Temperatura = 20 ± 1°C).

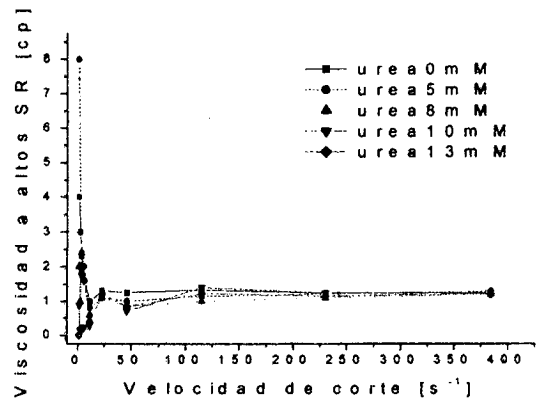


Figura 2: Viscosidad a altas velocidades de corte de los sueros obtenidos de las leches con distintos agregados de urea. (Temperatura = 20 ± 1°C).

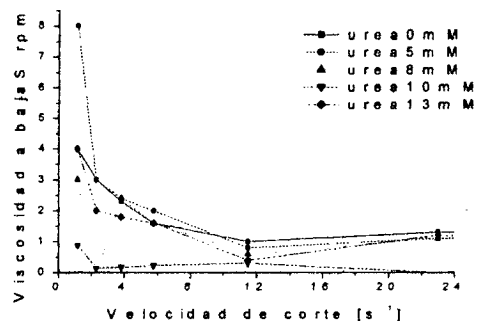


Figura 3: Viscosidades a bajas velocidades de deformación correspondientes a los sueros obtenidos de las leches con agregado de distintas concentraciones de urea. (Temperatura = 20 ± 1°C).

En las figuras 1, 2, 3, 4, y 5 se encuentran las gráficas correspondientes a las mediciones reológicas realizadas. En la Tabla I y II, y en la figura 6 se muestran los parámetros físicoquímicos obtenidos para los distintos sueros en función de la concentración de urea adicionada.

IV. DISCUSION

La diferencia observada en la figura 1 entre la viscosidad (η) de ida y vuelta del suero para un agregado de urea de 8 mM, a bajas velocidades de deformación (SR), se debe a la presencia de elementos formes no orientados en la dirección de la tensión de corte. Estos elementos pueden ser agregados macromoleculares proteicos, como restos de caseína no integrados en los coágulos ("finos"), así como también partículas no globulares asimétricas, atribuibles en este caso a proteínas del lactosuero (especialmente β lactoglobulina). La creciente tensión de corte aplicada podría ser responsable de la progresiva disociación de los agregados caseínicos o de transformaciones conformacionales, además de orientación, de macromoléculas asimétricas, cambios no recuperables en forma inmediata en las determinaciones de vuelta. En la gráfica de la η a altas SR de los sueros con distintos agregados de urea (figura 2) se observa que las diferencias son menos notorias a partir de 230,4 s⁻¹,

llegando a coincidir prácticamente en el valor $(1,22 \pm 0,04)$ cp para 384 s^{-1} , datos que apoyan la interpretación precedente.

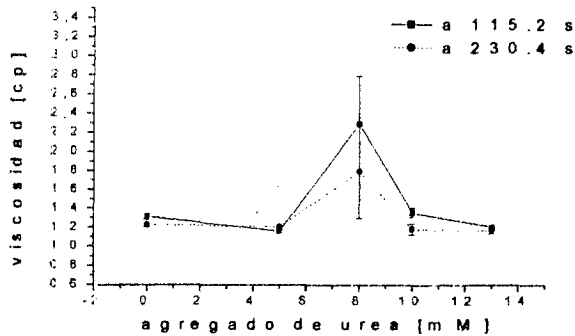


Figura 4: Valores promedio de las viscosidades medidas con el viscosímetro cono/plato a 115,2 y 230,4 s^{-1} . (Temperatura = $20 \pm 1^\circ\text{C}$).

En la gráfica correspondiente a la η a bajas SR (figura 3) se observa una marcada diferencia entre los valores correspondientes a los sueros obtenidos de las leches con agregado de distintas concentraciones de urea. El alto valor observado para un agregado de urea 5mM puede estar relacionado también con la presencia de agregados macromoleculares y o partículas de gran tamaño, que al desagregarse u orientarse en la dirección del corte (con posibilidad de cambios en su conformación) produzcan una disminución de la η a mayores SR. Los bajos valores de la η a bajos SR para urea 10 y 13mM podrían explicarse por una disminución en la presencia de dichas partículas. En la gráfica de los valores promedio de las η medidas con el viscosímetro cono/plato a 115,2 y 230,4 s^{-1} (figura 4), se observa un aumento para un agregado de urea de 8 mM, siendo también mucho mayor la dispersión entre los valores medidos.

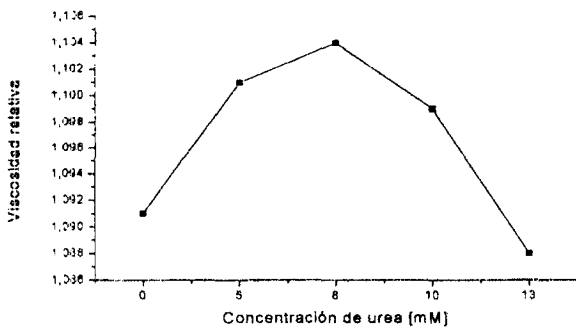


Figura 5: Viscosidad de los sueros medida con un viscosímetro de capilar

La η de los sueros medida con un viscosímetro de capilar muestra un significativo aumento para un agregado de urea 8 mM (figura 5).

Los parámetros fisicoquímicos de los sueros obtenidos de las leches con distintas cantidades de urea muestran que la cantidad de proteínas totales, tiene un significativo descenso para un agregado de urea de 8

mM (Tabla I y figura 6), atribuible en casi su totalidad a una disminución de la fracción caseínica presente. El incremento de viscosidad observado podría relacionarse con el hecho de que en la muestra en cuestión predominan las relativamente más asimétricas proteínas del lactosuero.

El parámetro α varía inversamente con el radio de la partícula en suspensión y, acompañado con datos de τ a una determinada λ , permite obtener información sobre el tamaño de dichas partículas. Nuestros resultados muestran que el parámetro α de los sueros disminuye con el agregado de urea en la leche, mostrando un pico para el agregado de 8 mM, siendo la variación en $\tau_{400\text{nm}}$ poco significativa. Puede observarse, además, que los valores de α son cercanos a 4, valor que corresponde a una dispersión tipo Rayleigh, es decir, característica de macromoléculas aisladas o pequeños agregados, lo que permite suponer que la contribución mayoritaria a la viscosidad de las muestras analizadas corresponde a las proteínas del lactosuero.

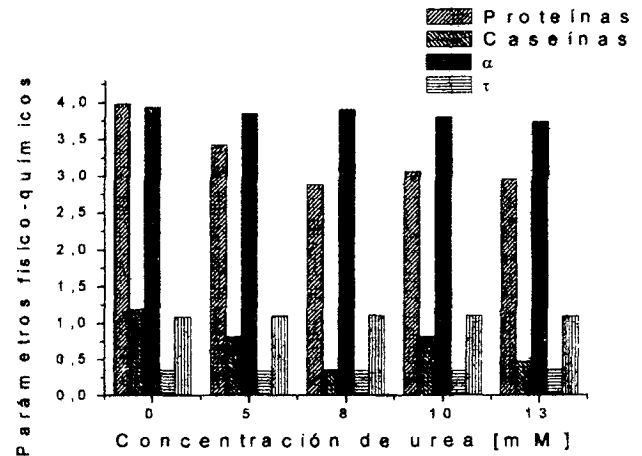


Figura 6: Parámetros fisico-químicos de los sueros obtenidos de las leches con distintas cantidades de urea.

Referencias

- Jenkins D, Delwiche M, Depeters E and Bondurant R. "Chemical assay of urea for automated sensing in milk". *Journal of dairy science*, Vol. 82, No. 9, 1999-2004, (1999).
- Guinod-Thomas P. "Technological and microbiological consequences related to urea addition to milk". *The Australian Journal of Dairy Technology*, Vol. 47, 58-59, (1992).
- Metwalli A., Metwalli N. and van Boekel M. "Effect of urea on heat-induced changes in milk." *Netherlands Milk & Dairy Journal* 50, 427-456, (1996).
- Walstra P. and Jenness R.. *Dairy Chemistry and Physics*, John Wiley & Sons, New York, (1984).
- Walstra P.. *Jornal Dairy Sci.*, Vol 73, (1965), (1990).
- Horne D., *Journal Colloid Interface Sci.*, Vol. 111, 250, (1986).
- Kuaye, A. *Food Chemistry*, 49, 207-211, (1994)