

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



DETERMINACIÓN DE CASEÍNA EN LECHE DE VACA PASTEURIZADA

TRABAJO DE GRADO MODALIDAD DIPLOMADO DE ESPECIALIZACIÓN

PRESENTADO POR

SERGIO ERNESTO RAMÍREZ APARICIO

DANIELA DE LOS ÁNGELES RAMOS ESCALANTE

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADO(A) EN QUÍMICA Y FARMACIA

AGOSTO 2025

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORAS

LICENCIADA AIDA ROSALES (ASESOR)

MAESTRA SANDRA PERAZA (ASESOR)

TUTORA

LICENCIADA MARLENE EMPERATRIZ ACOSTA MARTÍNEZ

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN	9
------------------	---

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS	11
---------------	----

CAPÍTULO III

3.0 Marco Teórico	13
3.1 Generalidades de la leche de vaca.	13
3.2 Procesamiento y control de calidad de la leche de vaca.	17
3.3 Leche de vaca pasteurizada.	21
3.4 Generalidades de la caseína	26

CAPÍTULO IV

4.0 PRODUCTO FINAL	32
4.1 Revisión de Métodos Analíticos para la Identificación de Caseína en Leche de Vaca Pasteurizada	32
4.2 Método de Sorensen y Walker	32
4.2.1 Materiales y Reactivos	32
4.3 Método de Biuret	34

CAPÍTULO V

5.0 CONCLUSIONES	38
------------------	----

CAPÍTULO VI

6.0 RECOMENDACIONES	41
---------------------	----

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 Niveles estructurales de las proteínas [adaptada de Herráez A.] ²³	28
---	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1. Composición Química de la leche de vaca. ³	14
Tabla N° 2. Tipos de Caseínas y su contenido en la leche bovina. ²⁴	29

ABREVIATURAS

BPO: Buenas Prácticas de Ordeño

CN: Caseína (cuando se refiere a la fracción proteica)

CuSO₄: Sulfato de Cobre

EDTA: Ácido Etilendiaminotetraacético

KI: Yoduro de Potasio

MAG: Ministerio de Agricultura y Ganadería

NaCl: Cloruro de Sodio

NaOH: Hidróxido de Sodio

NSO: Norma Salvadoreña Oficial

OIRSA: Organización Internacional Regional Agropecuaria

OMS: Organización Mundial de la Salud

pH: Potencial de Hidrógeno

ppm: Partes por millón

RTCA: Reglamento Técnico Centroamericano

TCA: Ácido Tricloroacético

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

UV: Ultravioleta

RESUMEN

En esta investigación se abordó el estudio de la caseína en la leche de vaca pasteurizada, una proteína muy importante tanto por su valor nutricional como por su papel en la funcionalidad de los productos lácteos. La idea principal fue diseñar una marcha de análisis que permitiera detectar y estimar la cantidad de caseína presente en muestras de leche ya procesada. Este trabajo surge del interés por conocer con mayor detalle la composición de un alimento tan común y fundamental como la leche.

Para esto, se propuso el uso de dos métodos clásicos en el laboratorio: el formol de Walker y el método del Biuret. Aunque no se aplicaron directamente en el laboratorio durante este trabajo, se plantearon de forma bibliográfica como base para futuras prácticas. Estos métodos se eligieron porque han demostrado ser eficaces y accesibles, además de brindar resultados bastante confiables para identificar proteínas, especialmente la caseína.

A través del análisis teórico de estas técnicas, se observó que el formol de Walker permite precipitar la caseína, lo que facilita su separación del resto de componentes, mientras que el método del Biuret es muy útil para detectar enlaces peptídicos, lo cual confirma la presencia de proteínas.

En conclusión, se considera que ambos métodos son muy útiles para investigaciones futuras. Sin embargo, se recomienda ajustar cuidadosamente las condiciones de cada prueba, como la temperatura, las concentraciones de reactivos y los tiempos de reacción. También se sugiere complementar estas técnicas con métodos espectrofotométricos para obtener datos más exactos en cuanto a la cantidad de caseína presente.

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

La caseína es una de las proteínas más importantes que se encuentran en la leche de vaca, ya que representa cerca del 80% de todas las proteínas presentes en este alimento. Por eso, identificarla y saber cuánto contiene la leche es clave tanto para controlar la calidad de los productos lácteos como para cumplir con las normas establecidas en el área alimentaria. Esta investigación, titulada Determinación de caseína en leche de vaca pasteurizada, nació justamente con la intención de proponer procedimientos teóricos que sirvan para detectar esta proteína usando métodos clásicos que sean accesibles y confiables.

El objetivo principal fue crear una propuesta de análisis que sirviera como guía para identificar la caseína en la leche pasteurizada. Para lograrlo, se plantearon tres pasos: primero, hacer una revisión bibliográfica sobre qué es la caseína y cómo se puede identificar; segundo, proponer marchas analíticas teóricas usando dos métodos conocidos, el formol de Walker y el reactivo de Biuret; y tercero, investigar qué normas existen para regular el contenido de caseína en la leche pasteurizada.

El trabajo se desarrolló entre septiembre de 2023 y junio de 2025 usando fuentes confiables como libros especializados, artículos científicos y documentos técnicos. Como resultado, se logró construir una propuesta teórica que puede servir de base para futuros análisis prácticos en laboratorio, funcionando como una guía útil para quienes necesiten identificar caseína en muestras de leche pasteurizada.

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1. Objetivo General:

Proponer una metodología analítica para la determinación de caseína en leche de vaca pasteurizada.

2.2. Objetivos específicos:

- Realizar una investigación bibliográfica sobre las generalidades de la caseína y su identificación en leche de vaca pasteurizada.
- Elaborar un procedimiento teórico para la determinación de caseína por el método de Formol de Walker y por el método de Biuret.
- Investigar los parámetros establecidos por la normativa y reglamentación nacional para el contenido de caseína proveniente de leche de vaca pasteurizada.

CAPÍTULO III

3.0 Marco Teórico

3.1 Generalidades de la leche de vaca.

La leche de vaca es un alimento esencial en la dieta diaria debido a su alto valor nutricional. Su consumo es ampliamente recomendado para diversos grupos de la población, como niños, adultos mayores y personas convalecientes, ya que aporta nutrientes fundamentales para el adecuado funcionamiento del organismo.

La leche es un líquido de olor característico y puro, de composición compleja, color blanco y opaco, de sabor ligeramente dulce y de pH cercano a la neutralidad, tiene consistencia homogénea y carece de grumos. Esta tiene gran importancia desde el punto de vista nutricional, ya que ha sido ampliamente recomendada como un alimento primordial para niños y ancianos. ¹

3.1.1 Composición Química de la leche de vaca.

La leche se sintetiza principalmente en la glándula mamaria, aunque muchos de sus componentes provienen del suero sanguíneo. Su composición química es compleja y equilibrada, lo que evidencia su relevancia biológica y nutricional, especialmente en la alimentación de las crías durante las primeras etapas del desarrollo, a continuación, se detallan.

- Agua: El valor nutricional de la leche como un todo es mayor que el valor individual de los nutrientes que la componen debido a su balance nutricional único. La cantidad de agua en la leche refleja ese balance. En todos los animales, el agua es el nutriente requerido en mayor cantidad y la leche suministra el 87% de la misma. La cantidad de agua en la leche es regulada por la lactosa que se sintetiza en las células secretoras de la glándula mamaria. El agua que va en la leche es transportada a la glándula mamaria por la corriente circulatoria. La producción de leche es afectada rápidamente por una disminución de agua y cae el mismo día que su suministro es limitado o no se encuentra disponible.
- Lactosa: La lactosa es un disacárido presente únicamente en leches, representando el principal y único glúcido. La lactosa se sintetiza en la glándula mamaria por un sistema enzimático en el que interviene la α -lactoalbúmina para después segregarse en la leche. Es un 15 % menos edulcorante que la sacarosa y contribuye, junto con las sales, al sabor global del alimento.

- **Lípidos:** Los glóbulos de grasa son las partículas más grandes de la leche y también las más ligeras, por lo que tienden a subir a la superficie cuando la leche se deja reposar en un envase. La materia grasa se altera más lentamente que la lactosa; en sus modificaciones no provoca grandes cambios en la estructura fisicoquímica de la leche, pero son importantes por ser causa de la aparición de sabores desagradables. La composición de la grasa de la leche varía poco según la raza, en contraste, varía mucho por la naturaleza de la alimentación.
- **Proteínas:** Las principales fracciones proteicas son la caseína y las proteínas del suero de la leche, además existen otras proteínas en forma de enzimas y componentes de la membrana de las gotículas de grasa.
- **Vitaminas de la leche:** Las vitaminas son sustancias orgánicas que están presentes en muy bajas concentraciones en animales y plantas, son esenciales para el normal desarrollo de la vida. La leche contiene muchas vitaminas (A, B, C, D), las vitaminas A y D son solubles en grasa o en disolventes de la grasa, mientras que el resto son solubles en agua.
- **Minerales y sales en la leche:** La leche contiene un cierto número de minerales, su concentración es menor a 1 %. Las sales minerales se encuentran disueltas en el suero de la leche o formando compuestos con la caseína. Al finalizar la lactación o, en caso de ubres enfermas, el contenido de cloruro sódico aumenta y causa un sabor salado a la leche. ²

- **Tabla N° 1.** Composición Química de la leche de vaca. ³

Componente	Rango (%)
Agua	85.09 – 87.74
Grasa	3.40 – 5.37
Proteínas	3.32 – 3.92
Lactosa	4.87 – 4.93
Minerales	0.60 – 0.80
Sólidos totales	11.3 – 12.0
Sólidos no grasos	8.3 – 8.7
Acidez (como ácido láctico)	0.14 – 0.19

3.1.2 Características Organolépticas.

- Color: La leche es un líquido de color blanco opalescente característico debido a la refracción de la luz cuando los rayos de luz inciden sobre las partículas coloidales de la leche en suspensión. Cuando es muy rica en grasa, presenta una coloración cremosa, debido al caroteno que contiene la grasa, la leche baja en grasa toma un color ligeramente azulado.
- Sabor: La leche fresca tiene un sabor ligeramente dulce, neutro debido a la lactosa que contiene. El sabor puede cambiar por acción de la alimentación, traumatismo de la ubre, alteraciones en el estado de salud de la vaca, sustancias extrañas del medio ambiente o de los recipientes en los que se deposita.
- Olor: El olor de la leche, como los de cualquier producto lácteo, es de la máxima importancia. Por muy valioso que sea, desde el punto de vista nutritivo, cualquier alimento no encontrará mercado apropiado a no ser que su sabor sea agradable. La leche es un alimento líquido muy inestable, sujeto a muchos cambios espontáneos, no solo a temperatura ambiente, sino también a temperaturas de refrigeración.

3.1.3 Propiedades físicas-químicas de la leche.

La leche es un líquido complejo que contiene muchos componentes en diferentes estados (solución, emulsión y coloidal); comprender sus propiedades y los cambios que le acontecen implica un profundo conocimiento de cada uno de sus compuestos y de las relaciones entre ellos.

- Apariencia: La apariencia o aspecto normal de la leche debe ser de color blanco aporcelanado, sin grumos o cuerpos extraños provenientes del ambiente (piedras, pelos, tierra, etc.) o que podrían ser perjudiciales para el consumidor (vidrio, plástico, papel). La leche debe ser de consistencia líquida y ligeramente viscosa, esto se debe al contenido de azúcares, sales disueltas en ella y caseína. El aspecto opaco de la leche se debe a su contenido de partículas en suspensión, grasa, proteínas y ciertas sales minerales.³
- Densidad: La densidad de la leche cruda varía de 1.030 a 1.033 g/cm³
- Punto de Congelación: El punto de congelación en la leche es el único parámetro fiable para detectar adulteración por agua, varía entre -0.54 y -0.590 °C
- Acidez: La acidez de una solución depende de la concentración de iones hidronio (H⁺) que posea. La acidez de la leche involucra la acidez actual y la potencial, la actual representa a

los grupos H^+ libres, mientras que la acidez potencial incluye todos aquellos componentes de la leche que, por medio de la titulación liberan grupos H^+ al medio.

- Viscosidad: La viscosidad de la leche indica la resistencia que se opone al fluido, es inversamente proporcional a la temperatura (aumenta cuando la temperatura disminuye) y depende de la composición del líquido, del estado físico de las sustancias coloidales dispersas y del contenido de materia grasa. La leche es más viscosa que el agua, se debe al contenido de grasa en emulsión y a las proteínas que contiene en su fase coloidal.³
- pH: La leche de vaca recién ordeñada y sana, es ligeramente ácida, con un pH comprendido entre 6.5 y 6.8 como consecuencia de la presencia de caseínas, aniones fosfórico y cítrico, principalmente. Estos valores se aplican solamente a temperaturas cercanas a 25 °C.³

3.1.4 Factores que afectan la composición de la leche de vaca

La composición de la leche de vaca es un factor clave en la industria láctea, ya que influye directamente en la calidad del producto final y en su valor nutricional. Esta composición no es constante, sino que está sujeta a una variedad de factores que pueden variar dependiendo del entorno, la alimentación, y las condiciones de manejo de las vacas. Entre los principales factores que afectan la composición de la leche, se destacan la raza de la vaca, su dieta, la etapa de lactancia, su estado de salud, las condiciones ambientales, la frecuencia de ordeño, el manejo y bienestar animal, así como la genética.

- La raza de la vaca juega un papel determinante en la composición de la leche, ya que algunas razas producen leche con un mayor contenido de grasa, proteína y minerales, mientras que otras se enfocan más en la cantidad de leche producida. Por ejemplo, las vacas Holstein, que son conocidas por producir grandes cantidades de leche, generalmente tienen un menor contenido de grasa y proteína, en comparación con razas como la Jersey, que tienen una leche más rica en estos componentes.⁴
- La alimentación de la vaca es otro factor crucial, ya que la dieta influye de manera directa en los componentes de la leche. El tipo de forraje, como el pasto, el heno o el silo, junto con los concentrados que consumen las vacas, impactan la cantidad de grasa, proteínas y otros nutrientes en la leche. Una dieta basada en pasto fresco puede aumentar el contenido de ácidos

grasos como el omega-3 en la leche, mientras que la cantidad de proteínas y energía en la dieta de la vaca puede afectar la concentración de proteínas y grasa en la leche que produzcan.⁴

- La etapa de lactancia también influye considerablemente; en las primeras semanas de lactancia, la leche suele tener un mayor contenido de sólidos totales, incluidos las grasas y las proteínas. Sin embargo, a medida que la lactancia progresa, la concentración de estos componentes puede disminuir. En vacas secas o al final de la lactancia, la producción de leche disminuye, lo que también altera su composición.
- El estado de salud de la vaca es otro factor importante que impacta la calidad de la leche. Enfermedades como la mastitis, que es una inflamación de la ubre, pueden reducir los niveles de grasa y proteína en la leche, además de aumentar el conteo de células somáticas.
- Las condiciones ambientales también juegan un papel fundamental. Factores como la temperatura, la humedad y la estación del año pueden influir en la ingesta de alimentos por parte de las vacas. Durante periodos de calor, las vacas pueden reducir su consumo de alimentos, lo que puede disminuir la cantidad de nutrientes disponibles para la producción de leche y, por ende, afectar su composición.
- La frecuencia de ordeño también tiene un impacto importante. Las vacas ordeñadas más de una vez al día suelen producir mayores volúmenes de leche, pero esto puede resultar en una mayor dilución de algunos componentes, como la grasa. En contraste, las vacas ordeñadas con menor frecuencia pueden tener una mayor concentración de estos componentes en su leche.
- El manejo y bienestar animal son cruciales para mantener una producción de leche de alta calidad. Las vacas que experimentan estrés debido a factores como el hacinamiento, el transporte o las malas condiciones de vida pueden producir leche de menor calidad. El estrés puede alterar la producción de leche y afectar la cantidad de grasa y proteína presentes en ella.⁴
- Finalmente, la genética de la vaca influye, a través de la selección genética, es posible obtener vacas que produzcan leche con mayor concentración de ciertos componentes, como la grasa o la proteína. Además, la genética determina la cantidad total de leche producida, lo que impacta indirectamente en la composición de la leche.⁴

3.2 Procesamiento y control de calidad de la leche de vaca.

El procesamiento de la leche de vaca es un aspecto importante, ya que asegura que el producto final sea seguro, nutritivo y de alta calidad. Este proceso abarca desde la recolección de la leche

hasta su distribución para el consumo, siendo crucial para garantizar que se mantengan los estándares de seguridad alimentaria, calidad nutricional y sabor.

3.2.1 Buenas prácticas de ordeño.

La aplicación de las Buenas Prácticas de Ordeño (BPO) en la finca productora de leche, involucra la planificación y realización de una serie de actividades, que contribuyen con el cumplimiento de los requisitos mínimos para producir leche apta para el consumo humano y su adecuado procesamiento.⁵

Las mayores fuentes de contaminación de la leche en el ordeño son:

- El medio ambiente (corral, potreros)
- El cuerpo de la vaca, especialmente la ubre
- El personal que ordeña y el equipo usado para ordeñar.

Para realizar un ordeño adecuado, se deben considerar varios aspectos:

- Arreo adecuado de las vacas hacia el corral: Realizar esta actividad de la manera más tranquila posible, no gritarles o pegarles ya que si las vacas que llegan tranquilas al corral bajan muy bien la leche. En caso contrario, retienen leche en la ubre y esto aumenta el riesgo de mastitis.⁵
- Higiene personal: Las personas que participan en el ordeño son el ordeñador y el enrejador, y cada uno debe de tener claro su trabajo:
 - El enrejador: Debe hacer pasar el ternero al corral, dejar que se pegue a la vaca y enrejarla
 - El ordeñador: Debe lavarse bien las manos con agua y jabón, este a su vez, debe realizar el lavado y el secado de la ubre y por último, debe enjuagarse las manos con agua clorada antes de iniciar el ordeño y después de ordeñar cada vaca.⁵
- Instalaciones: Los corrales casi siempre se ensucian por la presencia de estiércol, desperdicios de alimentos, polvo, lodo, orina, agua, etc. Por lo que se recomienda:
 - Evítela acumulación de estiércol y mantenga el corral lo más limpio posible.
 - Utilice desagües amplios conectados a piletas y manténgalos destapados.
 - Mantenga los accesos lo más firmes y continuos posibles.

- Las vacas, antes del ordeño, deben estar en un corral de espera, que debe estar limpio y seco, sin desperdicios que les molesten o provoquen la subida de la leche.⁵
- Rutina de ordeño: Para garantizar las condiciones sanitarias óptimas se debe seguir el siguiente orden en el ordeño: primero las novillas nuevas; después las vacas sanas; a continuación, las vacas viejas y vacas sospechosas a la prueba de mastitis; por último, las vacas positivas a la prueba de mastitis. Al iniciar el ordeño, se deben tener dos baldes de desinfectante a base de yodo o cloro.
- Equipo de ordeño: Todos los equipos que se usan en el ordeño, como los coladores, pichingas y baldes, son posibles fuentes de contaminación, ya que sirven para la extracción y el traslado de la leche. Por eso, debemos tener bastante cuidado en la limpieza de todos los equipos para eliminar todos los microbios que pueden afectar la calidad de la leche. Para ello se recomienda lo siguiente:
 - Limpieza de recipientes con abundante agua y jabón
 - Darle un segundo enjuague con agua hervida
 - Realizar otro enjuague con agua clorada a 100 partes por millón (ppm), dejándola reposar por lo menos 5 minutos antes de usarla

3.2.2 Transporte de la leche.

La mayor parte de la leche que se obtiene en las fincas no es trasladada inmediatamente después del ordeño a la planta de procesamiento, porque es recolectada por rutas de leche, lo cual con lleva a la disminución de la calidad de la leche, ya que es expuesta a distintas condiciones que la deterioran, tales como altas temperaturas.⁵

Por lo que es indispensable monitorear los siguientes aspectos que forman parte del transporte de la leche, los cuales se detallan a continuación:

- El transportista: El transportista es uno de los principales agentes de contaminación. Cada vez que toca la leche con sus manos sucias, puede introducir hasta 500,000 bacterias por mano, por lo tanto, se recomienda que el transportista se bañe antes de empezar sus operaciones, que se quite la joyería o cualquier otro objeto que pueda caer en la leche. También es obligatorio que use uniforme limpio todos los días (botas, redecilla, chaleco y

overol), que lave y desinfecte sus manos cada vez que tenga que tocar la leche y los utensilios que tocan la leche. ⁵

- Utensilios sucios: Los utensilios sucios son otro agente de contaminación importante. Generalmente, se lavan en los ríos, los cuales en un 100% están contaminados con bacterias fecales, que pueden ser peligrosas para el ser humano, si se les dan las condiciones para crecer en la leche. Los utensilios y recipientes donde se transporta la leche deben ser lavados con agua potable y detergente y finalmente desinfectados para eliminar cualquier bacteria peligrosa que haya quedado. ⁵
- Tierra y lodo: En la tierra, el lodo y el polvo se transportan una serie de esporas de microorganismos y huevos de parásitos prohibidos en la industria alimenticia. Por lo tanto, se debe evitar al máximo el contacto de la leche con estos agentes.
- El sol: Las bacterias en la leche crecen más rápido cuando hay más calor. Se recomienda que la leche se almacene inmediatamente después del ordeño a temperaturas inferiores a 15 °C siendo lo ideal a 4 °C. Sin embargo, debido a la situación económica de los productores, a la falta de electricidad en las fincas, al costo de los combustibles usados en plantas eléctricas, a las malas carreteras en la zona no se puede enfriar la leche hasta esas temperaturas.
- Vehículo colector: La mayoría de los carros que actualmente se destinan a la recolección de la leche no reúnen los requisitos para el transporte de alimentos como la leche. Convirtiéndose entonces en una fuente más para la contaminación de la materia prima que se lleva a las plantas procesadoras.

3.2.3 Análisis de calidad de la leche.

El control de calidad físico-químico es otro aspecto esencial en la evaluación de la leche. Además de la verificación microbiológica, se deben medir parámetros como pruebas organolépticas, determinación de acidez, densidad, entre otras, ya que este conjunto de pruebas permite determinar si la leche es pura, limpia y apta para el consumo. ⁵

- Determinación de densidad: La determinación de la densidad es una prueba completamente simple que nos permite conocer en primera instancia algún posible fraude, como la adulteración de la leche con agua.

- Prueba de alcohol: En los centros de acopio de leche y en las industrias, esta prueba es clave, y tiene la finalidad de detectar la estabilidad térmica de la leche cruda; es decir, si la leche tiene la capacidad de resistir altas temperaturas de procesamiento sin presentar coagulación visible.
- Determinación de la acidez: La acidez de la leche, es un dato que nos indica la carga microbiana de la leche, el cuidado en cuanto a higiene y conservación. Una leche con alta acidez total se interpreta como un producto de mala calidad debido a que esta acidez es producto de la presencia de microorganismos.
- Pruebas sensoriales: La calidad sensorial u organoléptica está basada en la percepción de características de la leche a través de los sentidos. Apenas llegada la leche, debemos evaluarla con nuestros sentidos: vista, olfato, gusto e inclusive tacto. ⁵

3.3 Leche de vaca pasteurizada.

La leche de vaca pasteurizada es aquella que ha sido sometida a un tratamiento térmico controlado con el objetivo de destruir microorganismos patógenos sin alterar significativamente sus propiedades organolépticas y nutricionales. Este proceso, denominado pasteurización, fue desarrollado por el científico francés Louis Pasteur en el siglo XIX y se ha convertido en un estándar en la industria láctea para garantizar la seguridad alimentaria y prolongar la vida útil del producto. ⁶

La pasteurización no esteriliza la leche, sino que reduce significativamente la carga microbiana, eliminando patógenos como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y *Mycobacterium tuberculosis*, entre otros. Además, se busca minimizar la pérdida de nutrientes esenciales, como proteínas, calcio y vitaminas del complejo B. ⁷

3.3.1 Tipos de pasteurización

- Pasteurización lenta: La leche se calienta en un recipiente cerrado y se mantiene a temperatura constante durante el tiempo especificado. Este método es menos eficiente en términos de tiempo y energía, pero es utilizado en pequeñas producciones o en situaciones donde se requiere un control manual más preciso.
 - Temperatura 63 °C

- Tiempo 30 minutos
- Pasteurización rápida: La leche se calienta rápidamente a la temperatura deseada y se mantiene durante el tiempo mínimo necesario para destruir patógenos. Este método es ampliamente utilizado en la industria láctea debido a su eficiencia energética y capacidad para procesar grandes volúmenes de leche.
 - Temperatura 72 °C
 - Tiempo 15 minutos
- Ultra pasteurización: La leche se somete a temperaturas muy altas durante un tiempo extremadamente corto, lo que permite destruir prácticamente todos los microorganismos presentes. Este proceso resulta en una leche con una vida útil prolongada, incluso sin necesidad de refrigeración inmediata.
 - Temperatura 135 – 150 °C
 - Tiempo de 2 – 5 segundos

3.3.2 Ventajas de la pasteurización de la leche de vaca

La pasteurización es un proceso esencial, ya que tiene como objetivo garantizar la seguridad microbiológica de la leche, preservar su calidad nutricional y extender su vida útil. A continuación, se describen las principales ventajas de la pasteurización de la leche de vaca, abordando aspectos de seguridad alimentaria, nutrición, vida útil, y beneficios para los consumidores.

- Mejora la seguridad alimentaria, ya que mediante el proceso se eliminan microorganismos patógenos que se encuentran presentes en la leche cruda como bacterias, virus y parásitos. Estos microorganismos pueden ser responsables de enfermedades graves transmitidas por los alimentos. ⁸
- Extensión de la vida útil, al reducir la carga microbiana y destruir los microorganismos patógenos, la leche pasteurizada puede ser almacenada durante un tiempo más largo sin que se deteriore ni se vuelva peligrosa para el consumo. La vida útil de la leche pasteurizada depende del tipo de pasteurización utilizada, pero generalmente, se puede conservar en condiciones adecuadas de refrigeración (2-4 °C) por un período de 7 a 10 días, dependiendo de su envase y las condiciones de almacenamiento. ⁹
- Preservación de propiedades nutricionales, aunque algunos nutrientes, como la vitamina C y las enzimas, pueden verse ligeramente afectados por el calor, la leche pasteurizada

conserva la mayoría de sus componentes clave, como: proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales.¹⁰

- Reducción de riesgos para la salud en grupos vulnerables, como niños, personas mayores, mujeres embarazadas y aquellos con un sistema inmunológico comprometido (por ejemplo, personas con enfermedades crónicas o inmunodeficiencias). Estos grupos son más susceptibles a las infecciones alimentarias y pueden sufrir complicaciones graves.
- Mejora del sabor y atributos organolépticos, a pesar de que el proceso de pasteurización involucra el calentamiento de la leche, no altera significativamente su sabor, aroma y textura, incluso mejorar ciertas características sensoriales de la leche, como su sabor fresco y cremoso, al reducir el crecimiento bacteriano que puede afectar su perfil sensorial.¹¹
- Cumplimiento de normativas de seguridad alimentaria, la pasteurización es un proceso regulado por diversas normativas internacionales, como las establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Codex Alimentarius. Estas normas aseguran que la leche pasteurizada cumpla con estrictos estándares de seguridad alimentaria, lo que fomenta la confianza del consumidor y facilita el comercio de la leche a nivel global.¹⁰
- Reducción de desperdicio de alimentos, la pasteurización permite que la leche se conserve por más tiempo sin deteriorarse, lo que ayuda a reducir el desperdicio de alimentos. Al tener una vida útil extendida, se reduce la cantidad de leche que debe ser descartada debido a la descomposición, lo que es beneficioso tanto para los productores como para los consumidores y el medio ambiente.¹¹

3.3.3 Clasificación de la leche de vaca pasteurizada

La leche de vaca pasteurizada puede clasificarse de diversas maneras según su contenido de grasa, el tipo de pasteurización, los tratamientos adicionales que recibe, su origen y la presentación comercial.

3.3.3.1 Clasificación Según el Contenido de Grasa

El contenido de grasa es uno de los factores más relevantes para clasificar la leche de vaca pasteurizada, ya que influye tanto en su sabor y textura como en sus propiedades nutricionales. La leche puede encontrarse en diferentes categorías dependiendo de la cantidad de grasa que contenga.

- La leche entera pasteurizada es aquella que contiene aproximadamente 3.5% de grasa. Este tipo de leche se considera la forma más natural, ya que mantiene su contenido graso original, lo que la convierte en una opción popular para quienes prefieren un producto lácteo con un sabor más cremoso. Además, es rica en nutrientes liposolubles como las vitaminas A, D, E y K, que son importantes para diversas funciones corporales. ¹²
- Por otro lado, la leche semidesnatada pasteurizada contiene entre 1.5% y 2.5% de grasa. Esta variedad es una opción intermedia entre la leche entera y la desnatada, y está destinada a consumidores que desean reducir su consumo de grasa sin eliminarlo completamente. A pesar de su menor contenido graso, conserva un buen perfil nutricional y es adecuada para quienes siguen una dieta equilibrada. ¹³
- La leche desnatada pasteurizada, que contiene menos de 0.5% de grasa, es recomendada para quienes siguen dietas bajas en grasa o calorías. Aunque tiene un contenido significativamente reducido de grasa, sigue siendo una buena fuente de proteínas y calcio, lo que la hace adecuada para personas que buscan controlar su ingesta calórica. ¹⁴
- Finalmente, la leche fortificada es una categoría que, aunque no se refiere exclusivamente al contenido de grasa, destaca por la adición de nutrientes como vitamina D, calcio o ácidos grasos omega-3. Estos nutrientes adicionales mejoran el valor nutricional de la leche, especialmente en regiones donde los déficits de estos componentes son más comunes. ¹⁵

3.3.3.2 Clasificación Según el Tratamiento Adicional de la Leche

Aparte del proceso de pasteurización, la leche pasteurizada puede someterse a tratamientos adicionales que mejoran sus características o se adaptan a las necesidades específicas de los consumidores. Uno de estos tratamientos es la homogeneización, que consiste en reducir el tamaño de las partículas de grasa para asegurar una distribución uniforme en la leche, evitando la separación de la crema. Este tratamiento mejora la textura y el sabor de la leche, y es muy común en la leche pasteurizada que se comercializa en el mercado. ¹⁶

Además, la leche enriquecida o fortificada es aquella a la que se le añaden nutrientes adicionales, como ácidos grasos omega-3, vitamina A, hierro, o probióticos. Esta leche es especialmente útil para grupos de población con necesidades dietéticas específicas, como los niños, las personas mayores o aquellas con deficiencias nutricionales.

La leche sin lactosa es otro tipo de leche pasteurizada sometida a un tratamiento enzimático que descompone la lactosa en glucosa y galactosa, lo que facilita su digestión para personas con intolerancia a la lactosa.¹⁶

3.3.4 Reglamentos sobre los valores nutricionales de la leche de vaca pasteurizada

En El Salvador, los valores nutricionales de la leche de vaca pasteurizada están regulados por una serie de normativas técnicas que garantizan que este producto cumpla con las especificaciones necesarias en cuanto a características físicas, químicas y microbiológicas. Estas normativas son fundamentales para asegurar la calidad y seguridad de la leche pasteurizada que se comercializa en el país.

Uno de los reglamentos clave es el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.66:12. Este establece las especificaciones para la leche pasteurizada en la región centroamericana, incluidas las normas aplicables a El Salvador. Define la leche pasteurizada como aquella que ha sido sometida a un tratamiento térmico específico diseñado para destruir organismos patógenos sin alterar significativamente su composición, sabor ni valor nutricional. En este reglamento, también se clasifica la leche según su contenido de grasa: leche entera (con un 3% o más de grasa), leche semidescremada (con entre un 0.5% y un 3% de grasa) y leche descremada (con menos del 0.5% de grasa). Estas clasificaciones son esenciales para determinar los valores nutricionales de cada tipo de leche pasteurizada. (OIRSA).¹⁷

Otro reglamento relevante es la Norma Salvadoreña Oficial NSO 67.01.02:06, que establece las especificaciones para la leche de vaca pasteurizada y ultra pasteurizada en El Salvador. En esta norma se define la leche pasteurizada como la leche que ha sido sometida a un proceso térmico a temperaturas entre 72 y 75 °C durante 15 a 20 segundos, lo que asegura la destrucción del microbiota patógena y casi todo el microbiota no patógeno. Este proceso térmico es crucial para garantizar la seguridad microbiológica del producto.¹⁸

También es relevante la Norma Salvadoreña Oficial NSO 67.01.01:06, que establece las características físicas, químicas y microbiológicas para la leche cruda de vaca, tanto refrigerada como no refrigerada. Aunque se refiere a la leche cruda, esta norma es importante porque establece

los parámetros iniciales que deben cumplirse antes de que la leche pase por el proceso de pasteurización, lo que asegura que el producto final cumpla con los estándares de calidad.¹⁹

La Resolución N°337-2014 (COMIECO-EX) ratifica el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.66:12, reafirmando las especificaciones para la leche pasteurizada en El Salvador. Esta resolución proporciona un marco normativo que establece las bases para la producción y comercialización de leche pasteurizada. (OSARTEC).¹⁷

Además, la Ley de Fomento de la Producción Higiénica de la Leche y Productos Lácteos y de Regulación de su Expendio en El Salvador establece las bases para la producción higiénica de la leche y otros productos lácteos, regulando su comercialización y garantizando la seguridad y calidad de estos productos en el mercado. Esta ley juega un papel importante en la regulación de los productos lácteos en el país y contribuye a la protección de la salud pública. (OIRSA).

El Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador también tiene un conjunto de normativas y reglamentos que abordan la producción y comercialización de productos lácteos. Estos incluyen directrices sobre buenas prácticas de higiene, requisitos zoonosológicos para la importación de leche y derivados, así como criterios microbiológicos para garantizar la inocuidad de los alimentos.¹⁹

Por último, la Organización Internacional Regional Agropecuaria (OIRSA) proporciona documentos y normativas relacionados con la inocuidad y calidad de los productos lácteos en la región, incluyendo El Salvador. La OIRSA establece especificaciones y directrices para la leche pasteurizada y ultra pasteurizada, asegurando que los productos cumplan con los estándares adecuados de calidad. (OIRSA).²⁰

En resumen, todas estas normativas y reglamentos son fundamentales para garantizar que la leche de vaca pasteurizada en El Salvador cumpla con los estándares de calidad y seguridad establecidos, lo que protege la salud pública y asegura la satisfacción del consumidor.

3.4 Generalidades de la caseína

La caseína es una proteína compleja que se encuentra en la leche de mamíferos, representando aproximadamente el 80% de las proteínas totales en la leche de vaca. Esta proteína tiene un alto valor biológico, lo que significa que es rica en aminoácidos esenciales, los cuales son

fundamentales para diversas funciones biológicas, como la reparación y el crecimiento celular. Además, la caseína posee características únicas, como su capacidad para formar geles en condiciones ácidas, lo que es clave en la fabricación de productos lácteos como el queso y el yogur. Su versatilidad en diferentes industrias, incluida la farmacéutica, alimentaria y cosmética, resalta su importancia.²¹

Desde el punto de vista químico, la caseína es una proteína fosforilada y heterogénea compuesta por una mezcla de varias fracciones proteicas, entre las cuales las más destacadas son α -caseína, β -caseína, γ -caseína y κ -caseína. Estas fracciones presentan diferentes propiedades en términos de solubilidad, estructura y función, lo que influye directamente en su comportamiento durante el proceso de coagulación de la leche. En condiciones de pH neutro, la caseína es insoluble en agua, pero forma una suspensión coloidal conocida como micelas de caseína. Estas estructuras son fundamentales para la digestión y absorción de la proteína en el sistema digestivo.²¹

En cuanto a sus propiedades funcionales, la caseína destaca por varias características que la hacen adecuada para una amplia gama de aplicaciones. Una de las propiedades más notables es su capacidad para coagularse a pH ácido o por la acción de la renina, lo que es esencial en la producción de queso, donde la caseína se separa del suero y forma una masa sólida. Además, la caseína tiene la capacidad de formar emulsiones estables, lo que la convierte en un componente útil en productos lácteos como cremas, helados y yogures.²¹

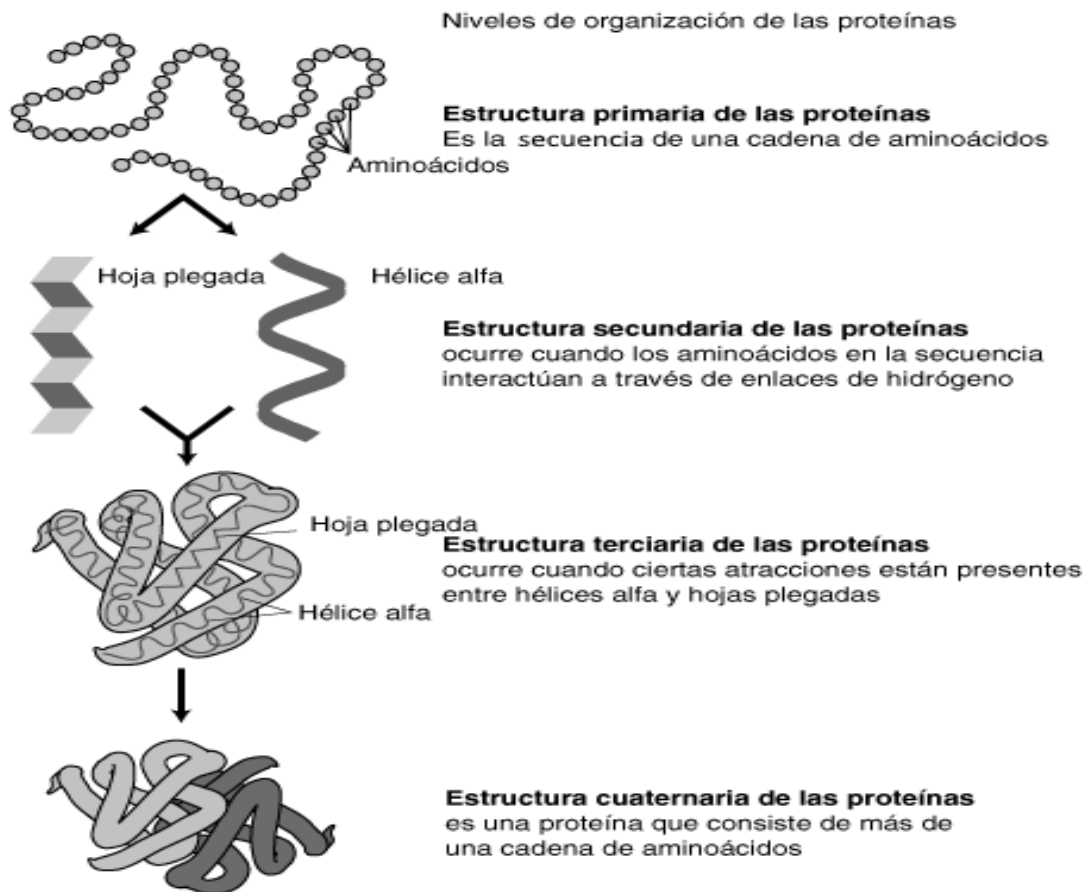
3.4.1 Estructura de la caseína

La caseína no tiene una estructura primaria única, sino que se agrupa en varias formas estructurales:

- Estructura primaria: Es la secuencia de aminoácidos que forman las cadenas polipeptídicas de las proteínas de la caseína. Cada tipo de caseína (α -caseína, β -caseína, κ -caseína) tiene una secuencia de aminoácidos distinta. (ver Figura N° 1)
- Estructura secundaria: A diferencia de otras proteínas, la caseína tiene una escasa estructura secundaria, es decir, poca hélice alfa o lámina beta, lo que la hace flexible y capaz de adoptar una forma amorfa. (ver Figura N° 1)

- Estructura terciaria: La estructura terciaria de las proteínas de la caseína se caracteriza por interacciones hidrofóbicas, puentes disulfuro y enlaces iónicos, que permiten la formación de las micelas. (ver Figura N° 1)
- Estructura cuaternaria: La caseína se organiza en grandes estructuras llamadas micelas, que son conglomerados de moléculas de caseína unidas por interacciones electrostáticas y de puentes de hidrógeno. ²²(ver Figura N° 1)

Figura N° 1 Niveles estructurales de las proteínas [adaptada de Herráez A.] ²³



3.4.2 Tipos de caseína

- α -caseína: Es la forma más abundante de caseína en la leche, con un contenido de aproximadamente el 40% al 45%. Tiene propiedades funcionales que la hacen útil en la fabricación de queso. ²⁴
- β -caseína: Constituye aproximadamente el 30% al 35% de las proteínas de la leche. Es una proteína más estable en solución y tiene un importante papel en la digestión de la leche.
- κ -caseína: Representa alrededor del 10% al 15% de las proteínas de la leche. Su principal función es estabilizar las micelas y evitar la precipitación de otras proteínas como la α -caseína.
- Caseína γ y δ : Son menos comunes y están presentes en cantidades menores, pero también contribuyen a las propiedades funcionales de la caseína. ²⁴

En la siguiente tabla se presentan los tipos de caseínas y las proporciones de su contenido de gramos por litros de leche.

Tabla N° 2. Tipos de Caseínas y su contenido en la leche bovina. ²⁴

Tipo de caseína	Abreviatura	Proporción relativa (%)	Contenido en leche (g/L)
α s1-Caseína	α s1-CN	40 - 45	12 - 15
α s2-Caseína	α s2-CN	8 - 11	3 - 4
β -Caseína	β -CN	30 - 35	9 - 11
k-Caseína	k-CN	10 - 15	3 - 4
γ -Caseína	γ -CN	4	1.4

Fuente: adaptada de Padilla J, Zambrano J.2021

3.4.3 Propiedades fisicoquímicas de la caseína

- Solubilidad: A pH neutro, la caseína es insoluble en agua debido a su naturaleza hidrofóbica. Sin embargo, a pH ácido (por debajo de 4.6), la caseína se vuelve soluble y forma una red sólida. Este comportamiento es crucial en la fabricación de productos lácteos como el queso, donde el pH bajo causa la precipitación de la caseína. Además, la solubilidad de la caseína se

ve influenciada por la presencia de sales, lo que permite manipular sus propiedades en la industria alimentaria.²⁵

- Interacciones Hidrofóbicas y Formación de Micelas: La estructura de la caseína está diseñada para formar micelas estables. Estas micelas son agregados de moléculas de caseína que se mantienen unidas por interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas y puentes de disulfuro. Las micelas de caseína están estabilizadas por la κ -caseína, que forma una capa en la superficie de las micelas y evita que las proteínas se precipiten. La formación de estas estructuras es fundamental para la función de la caseína en la leche.²⁶
- Interacciones Electroestáticas: Las moléculas de caseína se mantienen unidas por enlaces electrostáticos y puentes de hidrógeno, que permiten la formación de micelas estables en la leche.²⁷
- Emulsificación: La caseína tiene la capacidad de formar emulsiones debido a su naturaleza anfipática (regiones hidrofóbicas e hidrofílicas).²⁸
- Propiedades de Coagulación: La κ -caseína es responsable de la estabilización de las micelas, permitiendo la coagulación en presencia de ácidos o cuajo.
- Digestibilidad: La caseína es más difícil de digerir que otras proteínas como el suero, lo que permite una liberación más lenta de aminoácidos.²⁹

CAPÍTULO IV

4.0 PRODUCTO FINAL

4.1 Revisión de Métodos Analíticos para la Identificación de Caseína en Leche de Vaca Pasteurizada

El método de Sorensen y Walker es una técnica reconocida en el ámbito de laboratorio para identificar y cuantificar la caseína en productos lácteos, como la leche de vaca pasteurizada. Aunque no se aplicó experimentalmente en el laboratorio, se estudió desde un enfoque teórico a través de la revisión de fuentes bibliográficas. Este método se basa en una propiedad particular de la caseína: su capacidad para reaccionar con ciertos ácidos bajo condiciones controladas, lo que permite separarla y medirla con precisión. Su uso en leche pasteurizada resulta especialmente útil, ya que, a pesar de que la pasteurización puede modificar algunas proteínas, la caseína conserva sus propiedades, facilitando así su análisis. Comprender este proceso, aunque de forma teórica, permite valorar su importancia en la industria alimentaria, donde se utiliza para asegurar la calidad de los productos, verificar su autenticidad y prevenir engaños en el etiquetado nutricional.

4.2 Método de Sorensen y Walker

El método de Sorensen y Walker permite determinar el contenido de proteínas en la leche a través de una valoración ácido-base. Según la información recopilada, el procedimiento consiste en utilizar un ácido fuerte para precipitar las proteínas presentes en la leche, y luego se titula la solución con una base para cuantificar el total de proteínas. La caseína, al ser la proteína mayoritaria en la leche, tiene un papel fundamental en este análisis, ya que representa la mayor parte del valor obtenido.

4.2.1 Materiales y Reactivos

- Balanza analítica de alta precisión
- Matraz Erlenmeyer
- Embudo y filtros de papel
- Vortex o agitador
- Estufa o secador de muestras
- Pipetas volumétricas y medidor de pH
- Balón volumétrico de 100 mL
- de almacenamiento y tubos de ensayo

- Leche pasteurizada de vaca
- Ácido tricloroacético (TCA) 5% (v/v)
- Solución salina (NaCl 0.9% (m/v))
- Agua destilada

4.2.2.1 Preparación de la muestra.

- Pesar 10 mL de leche pasteurizada en un matraz Erlenmeyer limpio.
- Medir y registrar el volumen exacto de la leche para asegurar que el cálculo de caseína se base en una cantidad conocida.

4.2.2.2 Adición de Ácido Tricloroacético (TCA).

- Añadir 10 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% a la muestra de leche en el matraz Erlenmeyer. El TCA desnaturaliza las proteínas, precipitando la caseína.
- Agitar bien la mezcla utilizando un vortex o agitador para asegurar una distribución uniforme del ácido y favorecer la precipitación de la caseína.

4.2.2.3 Filtración.

- Filtrar la mezcla obtenida usando un filtro de papel colocado en un embudo. La caseína precipitada quedará retenida en el filtro, mientras que las proteínas solubles y otros compuestos permanecerán en el filtrado.

4.2.2.4 Lavado de la precipitación.

- Lavar la precipitación con 20 mL de solución salina 0.9% para eliminar impurezas como el TCA residual y otras proteínas solubles que no se hayan precipitado.
- El filtrado debe ser transparente después del lavado, indicando que la caseína está suficientemente limpia.

4.2.2.5 Secado de la Caseína.

- Transferir la caseína filtrada a un vaso de secado y colóquelo en una estufa a 60-70 °C hasta que la muestra esté completamente seca. El proceso de secado eliminará la humedad contenida en la precipitación de caseína.

4.2.2.6 Pesado de la Caseína.

- Una vez seca, transferir la caseína a un frasco o recipiente de pesaje y pesar en una balanza analítica de alta precisión.
- Registrar el peso de la caseína, que será utilizado para calcular el contenido de esta proteína en la muestra original de leche.

4.2.2.7 Cálculo del Contenido de Caseína.

- Utilizando el peso de la caseína obtenida y el volumen de la muestra de leche inicial, calcular el contenido de caseína con la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad de caseína} \left(\frac{g}{mL} \right) = \frac{\text{Peso de caseína obtenido (g)}}{\text{Volumen de leche (mL)}} \times 100$$

4.3 Método de Biuret

El método de Biuret se basa en la reacción de los enlaces peptídicos de las proteínas con el reactivo de Biuret, el cual es una solución de sulfato cúprico (CuSO_4) en presencia de un medio alcalino (por lo general, NaOH). Cuando las proteínas están presentes, se forma un complejo de color violeta entre los iones de cobre (Cu^{2+}) y los enlaces peptídicos, que es medido espectrofotométricamente a una longitud de onda específica.

4.3.1 Materiales y reactivos:

- Sulfato de cobre Penta hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- Ácido etilendiaminotetraacético disódico dihidratado ($\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Yoduro de Potasio (KI)
- Leche de Vaca pasteurizada
- Pipetas volumétricas
- Tubos de ensayo
- Balanza analítica
- Espectrofotómetro de UV-visible

- Balón volumétrico de 100 ml
- Pipetas volumétricas

4.3.2 Preparación del reactivo de Biuret.

- Disolver 3.0 g de Sulfato de cobre Penta hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 5.0 g de Yoduro de potasio (KI) y 1.0 g de Ácido etilendiaminotetraacético disódico dihidratado ($\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en 500 ml de NaOH 6N, con agitación constante llevar a volumen de 1 litro, proteger de la luz y almacenar a temperatura ambiente.
- Preparación de NaOH 6N: Pesar 24 g de NaOH en perlas, disolver con agua y llevar a volumen de 500 ml.

4.3.3 Preparación de la Solución Patrón.

- Pesar 0.125 g de Estándar de Caseína y diluir en 50 ml de agua y agregar 2 gotas de Hidróxido de sodio 6N, homogeneizar completamente y llevar a volumen de 100 ml.

4.3.4 Determinación de la Curva de Calibración.

Preparar 5 puntos de la siguiente forma:

- Punto 1 (Blanco): adicionar 10 ml de agua + 10 ml del reactivo de Biuret
- Punto 2 (concentración 0.03125%): Adicionar 2.5 ml de la solución patrón + 7.5 de agua + 10 ml del reactivo de Biuret
- Punto 3 (concentración 0.0625%): Adicionar 5 ml de la solución patrón + 5 de agua + 10 ml del reactivo de Biuret
- Punto 4 (concentración 0.09375%): Adicionar 7.5 ml de la solución patrón + 2.5 de agua + 10 ml del reactivo de Biuret
- Punto 5 (concentración 0.125%): Adicionar 10 ml de la solución patrón + 10 ml del reactivo de Biuret

Formula para determinar la concentración:

$$\% \text{ de concentración} = \left(\frac{\text{Concentración estándar} \times \text{Volumen de la muestra}}{10} \right)$$

Realizar las lecturas de las absorbancias a 545 nm y graficar Absorbancia VS concentración de caseína (%) y ajustar la curva por regresión lineal.

4.3.5 Preparación de la muestra.

Diluir 0.5 ml de leche de vaca pasteurizada en 100 ml de agua y centrifugar a 2500 rpm por un tiempo de 5 min, al terminar el centrifugado, se observará en la parte superficial de la muestra una capa de grasa, filtrar y tratar el filtrado de la siguiente manera:

- Muestra #1: Adicionar 2.5 ml del filtrado de leche + 7.5 ml de agua + 10 ml del reactivo de Biuret
- Muestra #2: Adicionar 5 ml del filtrado de leche + 5 ml de agua + 10 ml del reactivo de Biuret
- Muestra #3: Adicionar 7.5 ml del filtrado de leche + 2.5 ml de agua + 10 ml del reactivo de Biuret
- Muestra #4: Adicionar 10 ml del filtrado de leche + 10 ml del reactivo de Biuret

Realizar las lecturas de las absorbancias a 545 nm y obtener el promedio de las absorbancias; con dicho promedio y por medio de la ley de Beer obtener la concentración de caseína en la muestra.

$$C = \left(\frac{A \text{ promedio} - b}{m} \right)$$

CAPÍTULO V

5.0 CONCLUSIONES

1. La composición de la leche de vaca es un factor clave para su calidad nutricional, y esta puede verse influenciada por una serie de factores como la raza de la vaca, su dieta, la etapa de lactancia, el estado de salud y las condiciones ambientales. Estos elementos afectan tanto la cantidad como la calidad de los componentes nutritivos de la leche, como la grasa, las proteínas y los minerales. Además, la variabilidad en su composición hace que el proceso de control de calidad y procesamiento, como la pasteurización y la homogeneización, sea esencial para garantizar un producto final seguro, estable y nutritivo. La estandarización de estos factores es crucial para mantener la consistencia y calidad de la leche a lo largo de su producción y distribución.
2. El procesamiento adecuado de la leche de vaca, particularmente a través de la pasteurización, no solo garantiza la seguridad microbiológica del producto, sino que también extiende su vida útil sin comprometer significativamente su valor nutricional. Estos procesos contribuyen a la mejora de la seguridad alimentaria, la conservación de nutrientes esenciales y la reducción del desperdicio de alimentos, destacándose como fundamentales en la producción de leche de calidad que cumpla con los estándares internacionales.
3. El marco normativo de El Salvador, compuesto por regulaciones como el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.66:12, la Norma Salvadoreña Oficial NSO 67.01.02:06, y la Ley de Fomento de la Producción Higiénica de la Leche, garantiza que la leche pasteurizada comercializada en el país cumpla con estrictos requisitos de seguridad microbiológica, calidad nutricional y especificaciones técnicas. Estas regulaciones son esenciales para la protección de la salud pública, ya que aseguran que el producto cumpla con los estándares adecuados para consumo seguro y saludable.
4. El método de Sorensen-Walker es ampliamente reconocido en la literatura científica por su efectividad en la identificación y cuantificación de la caseína en leche pasteurizada. Según diversas fuentes bibliográficas, este procedimiento se basa en la capacidad del ácido tricloroacético (TCA) para precipitar las proteínas, lo que facilita la separación y medición de la caseína. La aplicabilidad del método en la industria láctea es considerable, ya que permite asegurar la calidad y autenticidad de los productos lácteos mediante la obtención de resultados precisos sobre la concentración de caseína. Además, el método es crucial para el control de la composición nutricional de la leche pasteurizada, un aspecto fundamental para garantizar

productos alimenticios consistentes. La precisión del método, según la bibliografía consultada, depende de una correcta preparación de la muestra, así como de procesos de filtración, lavado y secado de la caseína, lo que asegura que los resultados obtenidos sean fiables en cuanto a la determinación del contenido proteico de la leche.

5. El método de Biuret, según la literatura científica, se basa en la reacción específica de los enlaces peptídicos con el reactivo de Biuret, lo que lo convierte en una técnica sensible y confiable para la medición de proteínas en leche. Diversos estudios documentan que este método permite cuantificar la caseína en la leche pasteurizada mediante mediciones espectrofotométricas a 545 nm, lo cual ofrece un análisis preciso del contenido proteico de la leche. La construcción de una curva de calibración utilizando soluciones estándar de caseína, junto con la medición de la absorbancia, permite determinar con alta precisión la concentración de caseína en las muestras. Este enfoque es fundamental en la evaluación de la calidad del producto lácteo, ya que asegura un control adecuado sobre la composición de la leche, contribuyendo a la verificación de su calidad nutricional y autenticidad, tal como se documenta en diversas fuentes bibliográfica.

CAPÍTULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

- 1- A los organismos normativos, establecer y hacer cumplir el marco regulatorio salvadoreño aplicable a la calidad de la leche pasteurizada, asegurando que toda investigación práctica futura se alinee con normativas como el RTCA, la NSO y la Ley de Fomento de la Producción Higiénica de la Leche, para garantizar respaldo técnico y aplicabilidad en la industria.
- 2- A los investigadores, definir rigurosamente todos los parámetros experimentales; como temperatura, tiempo de reacción y cantidad de reactivos, al momento de trasladar la investigación teórica al campo práctico, con el fin de obtener resultados precisos, comparables y reproducibles.
- 3- A los equipos de investigación futuros, combinar métodos clásicos como Biuret y Formol de Walker con técnicas modernas como la espectrofotometría, para aprovechar tanto la confiabilidad de los procedimientos tradicionales como la exactitud tecnológica, elevando así la calidad y confiabilidad del análisis de proteínas en leche pasteurizada.
- 4- A las instituciones educativas y centros de investigación, aplicar en entornos de laboratorio los conocimientos obtenidos en esta investigación teórica, evaluando la funcionalidad de los métodos de análisis en condiciones reales para enriquecer el estudio con experiencia práctica y generar resultados útiles y verificables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Agudelo D. Beyoda O. Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. Revista lasallista de investigación. Corporación universitaria de Colombia.
- 2- Vásquez K. Caracterización físico-química y organoléptica de leche entera. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias e Ingeniería Departamento de Química. 2018.
- 3- Obando M. Composición Química de la leche de vaca. Universidad del Tolima. 2016, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Composición de la leche. (tabla #1)
- 4- Corzo H. Mónica J. Caballero P. Luz A. Rivera M. Factores que influyen en la composición y calidad microbiológica de la leche cruda en un centro de acopio. Facultad de Ingeniería y Arquitectura Universidad de Pamplona. Colombia. 2018.
- 5- Zamorán D. Manual de procesamiento lácteo. Instituto Nicaragüense de apoyo a la pequeña y mediana empresa y Agencia Internacional del Japón. Departamentos de Boaco, Chontales y Matagalpa. Nicaragua.
- 6- Tamime AY. *Procesamiento de la leche y gestión de la calidad*. Oxford. Blackwell Publishing.
- 7- Walstra P. Wouters JTM. Geurts TJ. *Ciencia y tecnología de los productos lácteos*. 2ª ed. Boca Ratón: CRC Press.
- 8- Quintero M. Evaluación microbiológica en leche pasteurizada y ultra pasteurizada en la empresa Lácteos La Sierra. Santa Marta Colombia. Tesis de pregrado. Pontificia Universidad Javeriana.
- 9- García J. Villota J. Rojas N. Evaluación del efecto de temperatura, tiempo, pH y UFC sobre la vida útil de leche pasteurizada en marcas comercializadoras en Pasto Revista Biumar. 2016.
- 10- Guaraca P. Guaraca S. Implementación de una guía técnica para la pasteurización de leche y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en la planta de lácteos VIGLAC ubicada en el cantón Tambo. Tesis de pregrado. Universidad de Cuenca; 2019.
- 11- Barcia U. Proceso de pasteurización de leche entera en función de tres opciones de procesamiento y elaboración de una curva de expansión económica. Tesis de licenciatura. Universidad San Francisco de Quito; 2015

- 12- Flores J. Hernández A. Velásquez A. Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas de leche entera y pasteurizada comercializada en diferentes lugares de la Ciudad de San Miguel. Tesis de pregrado. Universidad de El Salvador.
- 13- Cárcamo F. Evaluación de la calidad de las leches pasteurizadas en El Salvador. Tesis de pregrado. Universidad de El Salvador.
- 14- Iménez C. Control analítico de leche entera pasteurizada en la planta de lácteos San Antonio sucursal Cuenca. Tesis de pregrado. Universidad de Cuenca.
- 15- Gómez K. Terres J. Efecto de la fortificación de la leche pasteurizada y queso andino con pirofosfato férrico liposomal, ácido ascórbico y retinol en los niveles de hemoglobina y aceptabilidad en niños entre 5 a 10 años. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2023.
- 16- Begaño D. Tratamientos para la conservación de la leche: cloruro de sodio y estandarización de sales – separación por sedimentación. Tesis de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2014.
- 17- Consejo de Ministros de Integración Económica (COMIECO). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.66:12. Leche pasteurizada. San Salvador: Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica (OSARTEC); 2014.
- 18- Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica (OSARTEC). Norma Salvadoreña Oficial NSO 67.01.02:06. Productos lácteos. Leche de vaca pasteurizada y ultra pasteurizada. San Salvador.
- 19- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). Normativas y Reglamentos. [Internet]. San Salvador: MAG; [citado 2025 May 1].
- 20- Organización Internacional Regional Agropecuaria (OIRSA). El Salvador - Documentos. [Internet]. San Salvador: OIRSA; [citado 2025 May 1].
- 21- Zambrano J. Padilla J. Estructura, propiedades y genética de las caseínas de la leche. 2021.
- 22- Pires M. Estudio fisicoquímico de la desestabilización de micelas de caseína bovina en suspensión durante la coagulación enzimática de la leche [tesis doctoral]. Rosario: Universidad Nacional de Rosario.
- 23- Herráez A. Niveles estructurales de las proteínas [imagen internet]. Universidad de Alcalá. [citado en 2025 mayo 1].

- 24- Padilla J, Zambrano J. Estructura, propiedades y genética de las caseínas de la leche. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 2021.
- 25- Swaisgood H. Review and update of casein chemistry. *J Dairy Sci*.
- 26- Horne D. Structure of the casein micelle: models and their implication
- 27- Farrell H. Jiménez R. Bleck T. Brown E. Butler J. Caballero B, et al. Nomenclature of the proteins of cows' milk—sixth revision. *J Dairy Sci*.
- 28- Dickinson E. Casein and whey proteins: From the cow to the consumer. In: McSweeney PLH, O'Mahony JA, editors. *Advanced Dairy Chemistry*. Springer
- 29- Boirie Y. Dangin M. Gachon P. Vasson M. Maubois J. Beaufrère B. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc Natl Acad Sci*.