

# Efecto del pre-tratamiento del lactosuero previo a la aplicación de la ultrafiltración tangencial con fines agroindustriales

**Mujica Dicson**  
Fundación CIEPE  
dmujica@ciepe.gob.ve  
Venezuela

**Sangronis Elba**  
Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos  
Universidad Simón Bolívar  
dmujica@ciepe.gob.ve  
Venezuela

**Fecha de recepción: 16-02-2014 Fecha de aceptación: 23-03-2014**

## Resumen

El lactosuero para ser utilizado como ingrediente requiere algún pre-tratamiento con la finalidad de mejorar su calidad microbiana, eliminar la grasa y evitar la colmatación de la membrana al aplicar ultrafiltración tangencial. El objeto de esta investigación fue evaluar la efectividad de la secuencia de centrifugación, precipitación cálcica y microfiltración como pretratamiento. Se utilizó una muestra de lactosuero proveniente de la elaboración de queso blanco pasteurizado en una industria láctea del estado Yaracuy. Éste fue filtrado

con tela de lino para retener partículas suspendidas y luego se aplicó un pretratamiento, utilizando el procedimiento siguiente: centrifugación a 15.000 rpm; precipitación cálcica (adición de 1,2 g/L CaCl<sub>2</sub>); ajuste del pH a 7,3; calentamiento a 55°C por 8 min; enfriamiento a 4°C y centrifugación a 4.500 rpm por 15 min y, finalmente, microfiltración con membrana de 0,1 m<sup>2</sup>, porosidad 0,22 µm a 1,0 a 1,5 bar y 25 °C. Con fines comparativos se evaluó la calidad microbiológica del lactosuero crudo y pretratado mediante la presencia de bacterias aerobias, coliformes totales y fecales, mohos y levaduras, *E. coli*,

*S. aureus* y Salmonella; además del pH, contenido de grasa, proteína y turbidez. El pretratamiento permitió obtener un lactosuero clarificado, microbiológicamente inocuo, sin partículas en suspensión aparente, con reducción del contenido de grasa, proteína y turbidez en 72,8%; 29,7% y 97,8%, respectivamente; el cual puede ser utilizado como materia prima para la obtención de concentrados proteicos como ingrediente para la industria de alimentos.

**Palabras clave:** Concentrado proteico; precipitación termocálcica; microfiltración

## Effect of pretreatment of lactosuero prior to the application of the ultrafiltracion so gencial for purposes agroindustriales

### Abstract

The whey to be used as an ingredient requires some pretreatment in order to improve its microbial quality, eliminate the fat and avoid the clogging of the membrane when applying tangential ultrafiltration. The purpose of this investigation was to evaluate the effectiveness of the centrifugation sequence, calcium precipitation and microfiltration as pretreatment. A sample of whey from the processing of pasteurized white cheese was used in a dairy industry in the state of Yaracuy. This was filtered with linen cloth to retain suspen-

ded particles and then a pretreatment was applied, using the following procedure: centrifugation at 15,000 rpm; calcium precipitation (addition of 1.2 g / L CaCl<sub>2</sub>); pH adjustment to 7.3; heating at 55 ° C for 8 min; cooling at 4 ° C and centrifugation at 4,500 rpm for 15 min and, finally, microfiltration with membrane of 0.1 m<sup>2</sup>, porosity 0.22 µm at 1.0 at 1.5 bar and 25 ° C. For comparative purposes, the microbiological quality of the crude and pretreated whey was evaluated through the presence of aerobic bacteria, total and fecal coliforms, molds and yeasts, E. coli, S. aureus and Salmonella; in addition

to pH, fat content, protein and turbidity. The pretreatment allowed obtaining a clarified, microbiologically innocuous whey, without particles in apparent suspension, with reduction of fat content, protein and turbidity in 72.8%; 29.7% and 97.8%, respectively; which can be used as raw material for obtaining protein concentrates as an ingredient for the food industry.

**Keywords:** Protein concentrate; thermocalcic precipitation; microfiltration

## Introducción

El lactosuero está compuesto por agua y sustancias solubles como: lactosa 4,5- 5% p/v, proteínas 0,6-0,8% p/v, lípidos 0,4-0,5% p/v y sales minerales 8-10% de extracto seco (Muñi *et al.*, 2005). En Venezuela para el año 2008 se utilizaron 768,67 millones de litros de leche para la producción de queso, generándose aproximadamente 700 millones de litros de lactosuero, de esta cantidad, el 25% se destina para la producción de ricota, requesón y consumo animal, y el resto se desecha. El aprovechamiento del lactosuero en el país, representaría unos 5,6 millones kg de proteína/año, los cuales pueden ser utilizados en formulación de alimentos de alto valor nutricional [Faría *et al.*, (2003); Cavilac, (2008)].

Comercialmente, las proteínas del lactosuero pueden ser aprovechadas si se aplican en procesos de ultrafiltración, siendo esta tecnología la más adecuada para su concentración por ofrecer altos rendimientos (Almécija, 2007).

Sin embargo, en los procesos de filtración tangencial puede presentarse disminución en el flujo del permeado debido a la acumulación de partículas en la superficie de la membrana por colmatación, atribuidos a factores como condiciones de operación, pretratamiento del producto, morfología de la membrana, entre otros [Ortiz Jerez *et al.*, (2008)].

La colmatación de las membranas en la ultrafiltración del lactosue-

ro, está influenciada por la presencia de calcio y grasa residual, afectando además la funcionalidad de los productos generados y elevando la frecuencia de la limpieza y los costos de operación. El proceso de ultrafiltración tangencial requiere de la alimentación de una muestra cuyas características físicas, químicas y microbiológicas sean adecuadas, para lo cual se aplican pretratamientos.

Ajustes de pH, modificación del contenido de mineral, precipitación termocálcica para remover lípidos residuales y microfiltración para eliminar bacterias, son algunos de los pretratamientos aplicados al lactosuero [Martínez- Hermosilla *et al.*, (2000)].

El objetivo esta investigación fue evaluar la efectividad de la secuencia de la centrifugación, precipitación cálcica y microfiltración como pretratamiento del lactosuero, con la finalidad de remover el contenido de grasa, mejorar su calidad microbiana y evitar la colmatación de la membrana al aplicar ultrafiltración tangencial en procesos de concentración de proteínas.

## Materiales y Métodos

### Obtención de la muestra

Se utilizó una muestra de lactosuero generado en el proceso de elaboración de queso blanco pasteurizado, proveniente de una empresa láctea del estado Yaracuy. Se recolectó un total de 90 L de lactosuero, el

cual fue trasladado al laboratorio de la División Control de Aguas, Evaluación y Tratamiento de Residuos Agroindustriales (CAETRA) de la Fundación CIEPE. El lactosuero fue filtrado con tela de lino para retener partículas suspendidas y almacenado en refrigeración hasta su posterior tratamiento.

### Pretratamiento del lactosuero

Para mejorar la calidad microbiana y eliminar grasa se aplicó una secuencia de tres etapas, las cuales se indican a continuación:

### Centrifugación

Lactosuero crudo refrigerado a 4°C fue centrifugado en una Super Centrifuga marca Sharples que opera a flujo continuo, con una velocidad de 15.000 rpm.

### Precipitación termocálcica del lactosuero

Para clarificar el lactosuero se utilizó el procedimiento propuesto por Almécija *et al.*, (2009), el cual consiste en: el enfriamiento del lactosuero a 4 °C, ajuste del contenido de calcio con la adición de 1,2 g/L de CaCl<sub>2</sub>; ajuste a pH 7,3 con adición de NaOH 5 N, calentamiento rápido del lactosuero a 55 °C por 8 minutos para formar los agregados lipídicos y las partículas de fosfato de calcio coloidal; enfriamiento a 4 °C y centrifugación a 4500 rpm por 15 minutos.

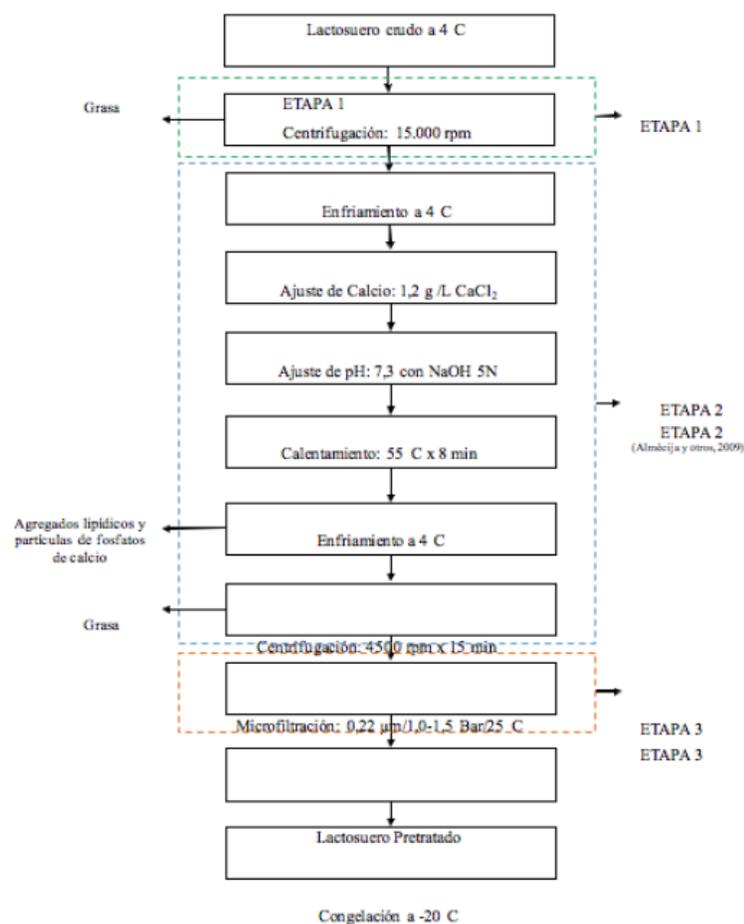
## Microfiltración

El lactosuero obtenido como sobrenadante en la etapa anterior, fue microfiltrado para disminuir la carga microbiana, eliminar la grasa residual y clarificarlo, utilizando un sistema de Filtración de Flujo Tangencial (FFT) modelo Cogent TM marca Millipore, con una membrana tipo Durapore® de fluoruro de polivinilideno (PVDF), con tamaño de poro 0,22  $\mu\text{m}$ , a presión de 1,0 a 1,5 bar y temperatura de 25 °C. Para evitar la colmatación irreversible de la

membrana y recuperar su operatividad, luego de cada ciclo de filtración de 1,5 L, se utilizó un procedimiento de limpieza descrito por Mourouzis-Mourouzis y Karabelas (2006) modificado, colocando la membrana de microfiltración por inmersión en un baño de ultrasonido, a una temperatura de 45°C, en presencia de una solución de  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ; 0,1 N por 30 min; luego, la membrana fue instalada en el sistema de FFT, recirculando agua bidestilada hasta lograr pH neutro. La solución de limpieza por inmersión fue la recomendada

por Millipore BioProcess Division (1998) en su manual de mantenimiento. Antes de cada ciclo de filtración, se midió el flujo de permeado con agua bidestilada y fue comparado con el flujo normalizado de agua de la membrana virgen, con la finalidad de determinar la efectividad de la limpieza. El lactosuero pretratado fue recolectado en envases de plástico y almacenados en congelación a -20°C. En la Figura 1 se presenta la secuencia por etapas del pretratamiento aplicado.

**Figura 1. Secuencia por etapas del pretratamiento del lactosuero: centrifugación, precipitación cálcica y microfiltración respectivamente**



## Análisis

Con fines comparativos se evaluaron parámetros de control del lactosuero crudo y pretratado mediante el contenido de grasa (AOAC 905.02), proteína (AOAC 991.20), pH (AOAC 981.12) y turbidez (SM 2130-B) (APHA, AWWA, WEF, 2005), para ésta última se utilizó un turbidímetro marca AF Scientific modelo Micro 100, rango 0-1000 UNT. Los resultados se expresan en promedio de dos determinaciones. Además el lactosuero crudo y el sometido a las diferentes etapas se

le evaluó la calidad microbiológica según las normas Covenin: presencia de bacterias aerobias (Covenin 902:1987); coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* (Covenin 1104:1996); recuento de mohos y levaduras (Covenin 1337:1990), *Staphylococcus aureus* (Covenin 1292:2004) y *Salmonella* (Covenin 1291:2004).

La reducción de la variable de control en términos porcentuales fue determinado por la diferencia de la variable medida del lactosuero crudo (Lc) y pretratado (Lp), entre el valor

de la variable del lactosuero crudo, según la expresión (1):

$$\% \text{ Reducción} = (Lc - Lp) \times 100 / Lc \quad (1).$$

## Resultados y Discusión

Una vez realizado las etapas de pretratamiento a nivel de laboratorio, en la Tabla 1 se presentan las variaciones de los parámetros de control del lactosuero crudo y pretratado, después de las etapas de pretratamiento.

**Tabla 1. Parámetros de control del lactosuero después de aplicada las etapas de pretratamiento y su reducción (%)**

Parámetro de control	Lactosuero crudo	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3	% Reducción
		Centrifugación	Precipitación cálcica	Microfiltración	
Grasa, g/100 mL	0,600	0,253	0,218	0,163	72,8
Proteína, g/100 mL	0,94	0,94	0,82	0,66	29,7
Turbidez, UNT	812	725	171	21,8	97,8
pH	5,20	5,20	5,53	5,80	

En los resultados se observa una disminución del contenido de grasa, proteína y turbidez. El contenido de grasa del lactosuero crudo fue removido en 72,8%, siendo el mayor contenido de grasa removida en la centrifugación con un 58%. Muñi *et al.*, (2005) redujeron en un 91,67% el contenido de grasa del lactosuero crudo luego de una centrifugación;

por su parte, Souza *et al.*, (2008), demostraron que la centrifugación fue una etapa necesaria toda vez que removió entre el 60% y 80% de la grasa del suero crudo.

A su vez, el contenido de proteína fue reducido en las etapas de precipitación cálcica y microfiltración en un 12,7% y 17%, respectivamente; con

lo cual la secuencia de ambas etapas reportan una reducción de 29,7%. En un pretratamiento similar, con precipitación cálcica, Kim *et al.*, (1989) reportaron una reducción del 11% de las proteínas del lactosuero, además de una efectiva remoción de glóbulos de grasa y lipoproteínas del lactosuero. Outinen *et al.*, (2010) estudiaron varios métodos de pretratamiento y

su efecto en la composición del lactosuero, señalando una reducción del 15% en las proteínas del lactosuero, utilizando la microfiltración como tratamiento. Jing y Kai-Xiong (2012) estudiaron el pretratamiento del lactosuero con precipitación cálcica antes de la concentración de proteína por ultrafiltración, determinando que en el pretratamiento hubo pérdida de proteínas del 13,6% y la tasa de reducción de grasa fue de 86%.

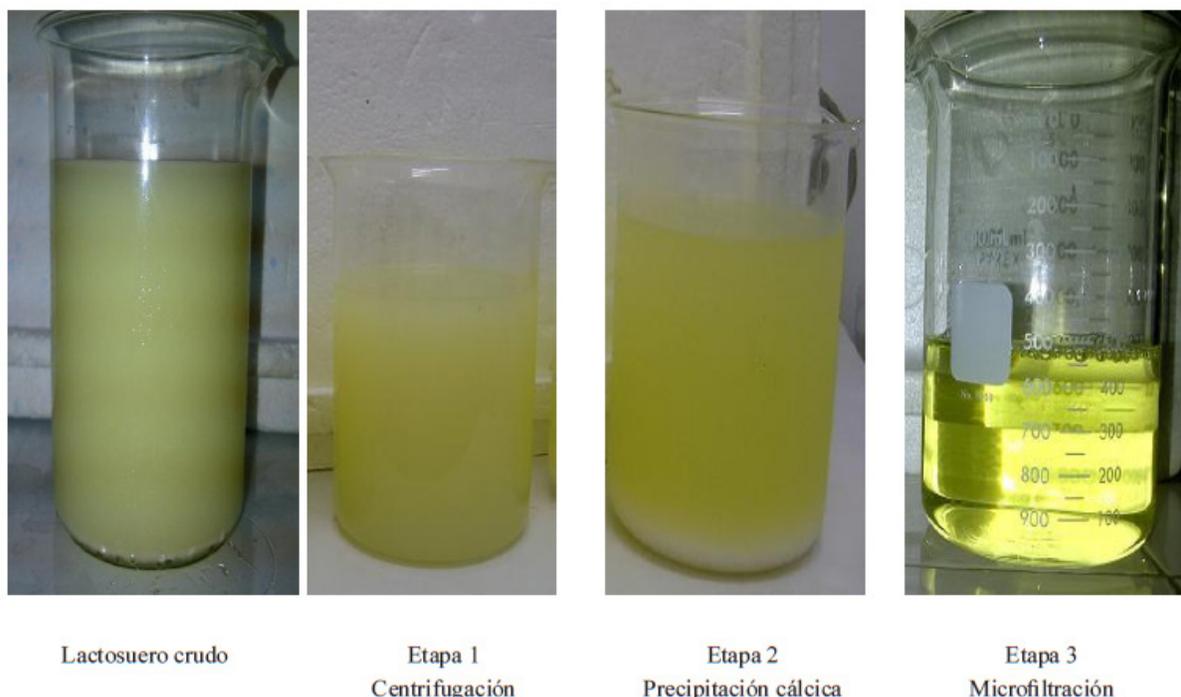
Por otra parte, Almecija (2007) aplicó un pretratamiento con precipitación cálcica con la finalidad de eliminar sales sobre el proceso de ultrafiltración, obteniendo un lactosuero clarificado posterior al pretratamiento, en nuestro caso, los re-

sultados demostraron un lactosuero con turbidez apreciable posterior a la precipitación cálcica que, luego fue clarificado por efecto de la microfiltración, esto fue evidenciado con una reducción de la turbidez del 97,8%, representando la etapa de precipitación cálcica y microfiltración del 68% y 18% del total, en ese mismo orden.

La etapa de microfiltración permitió clarificar el lactosuero pretratado, removiendo las fracciones de grasa residual y del precipitado insoluble formado. En la Figura 2 se observa el registro fotográfico del lactosuero crudo y pretratado, donde se puede ver la reducción de la turbidez en la secuencia de las etapas, la

formación de agregados lipídicos y fosfato cálcico que han precipitado en la etapa 2, y finalmente un lactosuero clarificado sin presencia de partículas de suspensión aparente. Los resultados microbiológicos del lactosuero crudo y pretratado se presentan en la Tabla 2; evidenciando la efectividad de la etapa de microfiltración en la eliminación de bacterias presentes en el lactosuero crudo. Ye *et al.*, (2011) investigaron como pretratamiento la microfiltración en procesos de concentración de proteína, encontrando que la aplicación de la microfiltración mejoró el flujo del lactosuero en la ultrafiltración y además, no se observó presencia de grasa y bacterias en el permeado de la microfiltración.

**Figura 2. Registro fotográfico de la muestra obtenida por cada etapa del pre-tratamiento**



**Tabla 2. Calidad microbiológica del lactosuero crudo y pretratado**

Análisis	Lactosuero crudo	Lactosuero pretratado
Aerobios mesófilos, UFC/ml	$2,7 \times 10^5$	<10
Mohos, UFC/ml	<10	<10
Levaduras, UFC/ml	$1,1 \times 10^3$	<10
Coliformes totales, NMP/ml	$4,3 \times 10^3$	<3
Coliformes fecales, NMP/ml	$4,3 \times 10^3$	<3
<i>Escherichia coli</i> , NMP/ml	$4,3 \times 10^3$	<3
<i>Staphylococcus aureus</i> , UFC/ml	<10	<10
Salmonella, 25 mL	Ausente	Ausente

UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

NMP: Número Más Probable.

<: Menor de (No hubo crecimiento de microorganismos)

## Conclusiones

La aplicación de la secuencia de la centrifugación, la precipitación cálcica y la microfiltración permitió obtener un lactosuero clarificado y microbiológicamente inocuo, sin partículas de suspensión aparente, con un contenido de grasa de 0,163 g/100mL y con características apreciables para ser utilizado como materia prima en la concentración de proteínas por ultrafiltración tangencial.

## Agradecimiento

Los autores de este trabajo agradecen al Centro de Investigaciones del Estado para la Producción Expe-

perimental Agroindustrial CIEPE, por el apoyo recibido para realizar esta investigación.

## Referencias Bibliográficas

- Almécija, MC. (2007). Obtención de lactoferrina bovina mediante ultrafiltración de lactosuero. España: Universidad de Granada. 315 pp.
- Almécija, MC.; Guadix, A.; Martínez-Ferez, A.; González-Tello, P.; Guadix, EM. (2009). A flux enhancing pretreatment for the ultrafiltration of acid whey. *Desalination*. 245: 737-742.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2006). *Official Methods of Analysis*. 18th ed. Maryland: AOAC International.
- APHA, AWWA, WEF. (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater* 21st ed. Washington: APHA.
- Cavilac. Cámara Venezolana de Industrias Lácteas. (2008). *La industria lechera en Venezuela. Su evolución*. Caracas, Venezuela. 58 pp.
- Covenin 1292. Comisión Venezolana de Normas Industriales.

- (1989). Alimentos. Aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*. Venezuela: Ministerio de Fomento. Fondonorma. 16 pp.
- Covenin 1337. Comisión Venezolana de Normas Industriales. (1990). Alimentos. Método para recuento de mohos y levaduras. Venezuela: Ministerio de Fomento. Fondonorma.
- Covenin 902. Comisión Venezolana de Normas Industriales. (1987). Alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de petri. Venezuela: Ministerio de Fomento. Fondonorma. . 8 pp.
- Covenin1104. Comisión Venezolana de Normas Industriales. (1996). Determinación del número más probable de coliformes, coliformes fecales y de *Escherichia coli*. Venezuela: Ministerio de Fomento. Fondonorma. 15 pp.
- Covenin1281. Comisión Venezolana de Normas Industriales. (2004). Determinación de *Salmonella Shigella*. Venezuela: Ministerio de Fomento. Fondonorma. 36 pp.
- Faría, JF.; García, AC.; García, AC. (2003). Eficiencia en la concentración de la proteína de lactosuero con una planta móvil de ultrafiltración y nanofiltración. *Revista Científica FCV-LUZ*. 8(5): 347-351.
- Jing, L.; Kai-Xiong, L. ( 2012). Pre-treatment of whey protein before ultrafiltration condensation. *Food Science*. 33(12): 58-62.
- Kim, S-H.; Morr, CV.; Seo, A.; Surak, JG. (1989). Effect of whey pretreatment on composition and functional properties of whey protein concentrate. *Journal of Food Science*. 54(1): 25-29.
- Martínez-Hermosilla, A.; Hulbert, GJ.; Liao, WC. ( 2000). Effect of cottage cheese whey pretreatment and 2-phase crossflow microfiltration/ultrafiltration on permeate flux and composition. *Journal Engineering and Physical Properties*. 65(2): 334-339.
- Millipore BioProcess Division. (1998). Maintenance Procedures, Pellicon<sup>TM</sup> and Pellicon<sup>TM</sup> 2 Cassette Filters. USA: Millipore Corporation. . 20 pp.
- Mourouzis-Mourouzis, SA.; Karabelas, AJ. (2006). Whey protein fouling of microfiltration ceramic membranes-Pressure effects. *Journal of Membrane Science*. 282: 124-132.
- Muñi, A.; Páez, G.; Faría, J.; Ferrer, J.; Ramones, E. (2005). Eficiencia de un sistema de ultrafiltración/ nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. *Revista Científica FCV-LUZ*. 15(4): 361-367.
- Ortiz Jerez, MJ.; Vélez Pasos, CA.; Franco Mejía, E. (2008). Modelos matemáticos de la colmatación de membranas en microfiltración tangencial. *Ingeniería e Investigación*. Universidad Nacional de Colombia. 28(001): 123-132.
- Outinen, M.; Heino, A.; Uusi-Rauva, J. (2010). Pre-treatment methods of Edam cheese milk. Effect on the whey composition. *Food Science and Technology*. 43(4): 647-654.
- Souza, RR.; Gimenes, ML.; Costa, SC.; Müller, CMO. (2008). Eliminación de grasas del suero de queso para obtener proteínas y lactosa. *Información Tecnológica*. 19(2): 41-50.
- Ye, H.; Lei, J.; Zhang, Y.; Li, H.; Li, G.; Cão, Z.; Xie, L. (2011). Investigation of microfiltration for pretreatment of whey concentration. *Desalination and Water Treatment*. 34: 173-178.