



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Evaluación del proceso de Diafiltración para la concentración de la proteína en el suero dulce de quesería

Darío José Rincón García

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Antioquia, Medellín

2019

Evaluación del proceso de Diafiltración para la concentración de la proteína en el suero dulce de quesería

Darío José Rincón García, Ing. Agrícola.

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Director: José Uriel Sepúlveda Valencia, MSc

Director Laboratorio de Productos Lácteos, Profesor Universidad nacional sede Medellín

Codirector: Héctor José Ciro Velásquez, Ph.D,

Profesor Universidad nacional sede Medellín

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Antioquia, Medellín

2019

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, a los laboratorios de productos lácteos y de procesos agrícolas.

A los docentes: José Uriel Sepúlveda Valencia por su acompañamiento, asesoría y dirección del proyecto de tesis; Héctor José Ciro Velásquez por su colaboración y acompañamiento en el desarrollo del proyecto.

A la empresa Auralac y la entidad COLCIENCIAS que hicieron posible el desarrollo de esta investigación

Resumen

El lactosuero dulce es uno de los residuos más representativos de la industria láctea, es obtenido por medio de la transformación de la leche durante el proceso de elaboración de quesos, constituye aproximadamente el 85% - 90% del volumen de la leche y se clasifica como dulce o ácido. El lactosuero se compone principalmente por lactosa, proteínas y minerales. Dicha materia prima, se ha estudiado durante años debido a las altas propiedades nutricionales que posee y son utilizadas en la industria alimentaria actualmente.

Las tecnologías de filtración por membranas actualmente representan una alternativa en la industria láctea para el manejo de dicho subproducto, estos procesos constituyen una serie de técnicas de separación empleando un gradiente (presión o electrostático), para permitir el paso de componentes a través de una membrana porosa semipermeable, según el tamaño de partícula. En la industria alimentaria, este tipo de tecnologías es ampliamente utilizado como complemento en las etapas de producción. Una de las principales aplicaciones en la industria láctea es la concentración de sólidos de la leche para mejorar rendimientos en los procesos de elaboración de quesos; como control microbiológico de mezclas, entre muchas otras aplicaciones.

Una de las problemáticas generadas por el mal uso del lactosuero es la contaminación a causa de su vertimiento, dicho esto, la tecnología de membranas representa una alternativa para su control y aprovechamiento. El presente trabajo tuvo como finalidad estudiar el proceso de la Diafiltración para la obtención de un concentrado de proteína a base de lactosuero dulce.

El estudio fue desarrollado en el Laboratorio de productos lácteos de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, en donde se evaluó dos parámetros del proceso de Diafiltración: Relación volumétrica (RV) y número de ciclos (DF). Para su desarrollo se

utilizó una membrana de Ultrafiltración del tipo espiral polietersulfona con un tamaño de corte de 10 kDa y se determinaron los compuestos minerales específicamente el Calcio, Sodio, Potasio, Magnesio, Fosforo y Ceniza, además de la Lactosa y Proteína.

El efecto del proceso de Diafiltración fue evaluado por la variable % de remoción (minerales, lactosa) y concentración de proteína, mediante un diseño tipo factorial considerando un nivel de significancia del 5%. Dichas variables, mostraron un efecto significativo ($P < 0,05$) por el efecto individual de la variable número de ciclos (DF). Los resultados del % de remoción, evidenciaron un efecto de desmineralización sobre la materia prima, donde la lactosa fue la variable que más se diluyó, alcanzando niveles de 90% aproximadamente. El magnesio, fue el mineral que más se afectó por el proceso de Diafiltración, este alcanzó niveles de % de remoción del 50% y se encontró un efecto significativo ($P < 0,05$) para la interacción relación volumétrica (RV) y número de ciclos (DF). Con respecto a la proteína, hubo un incremento en su concentración, donde se evidenció un aumento a medida que las variables de la Diafiltración involucraban mayor cantidad de agua utilizada. Sin embargo, solo hubo significancia por el efecto individual de la variable número de ciclos.

Los resultados demostraron que el efecto del proceso de la Diafiltración sobre el lactosuero dulce, permitieron obtener un producto con características adecuadas para un potencial uso comercial como insumo, no solo en la industria láctea, sino también en la industria alimentaria como suplemento o materia prima sobre otros procesos de producción.

Palabras clave: Ultrafiltración, gradiente de presión, concentrado de lactosuero, minerales, lactosa.

Abstract

Sweet whey is one of the most representative residue of the dairy industry, is obtained through the transformation of milk during the cheese making process, it constitutes approximately 85% - 90% of the milk volume and it is classified as sweet or acid. The whey is mainly composed of lactose, proteins and minerals. This raw material been studied for years due to the high nutritional properties it possesses and it is currently used in the food industry.

The membrane filtration technologies currently represent an alternative in the dairy industry for the management of this sub-product, these processes constitute a series of separation techniques using a gradient (pressure or electrostatic), to allow the pass of the components through a porous semipermeable membrane, depending on the particle size. In the food industry, this type of technology is widely used as a complement in the production stages. One of the main applications in the dairy industry is the concentration of milk solids, to improve the yields in cheese making processes; as a microbiological control of mixtures, among many other applications.

One of the problems generated by the misuse of the whey is the contamination due to its shedding, having said that, the membrane technology represents an alternative for its control and use. The purpose of this work was to study the Diafiltration process to obtain a protein concentrate based on sweet whey.

The study developed in the Laboratory of dairy products of the Universidad Nacional of Colombia, Medellín, where two parameters of the Diafiltration process were evaluated: Volumetric ratio (RV) and the number of cycles (DF). For its development, an ultrafiltration membrane of the polyethersulfone spiral type with a cut size of 10 kDa used, and the

mineral compounds specifically Calcium, Sodium, Potassium, Magnesium, Phosphorus and Ash were determined, besides the Lactose and Protein.

The effect of the Diafiltration process was evaluated by the removal variable % (minerals, lactose) and protein concentration, using a factorial type design considering a 5% level of significance. These variables showed a significant effect ($P < 0.05$) due to the individual effect of the variable number of cycles (DF). The results of the removal % showed a demineralization effect on the raw material, where the lactose was the variable which diluted the most reaching levels of approximately 90%. Magnesium was the mineral most affected by the Diafiltration process, this reached removal % levels of 50% and a significant effect was found ($P < 0.05$) for the interaction of volumetric ratio (RV) and number of cycles (DF). Regarding to the protein, there was an increase on its concentration, where an increment displayed as the Diafiltration variables involved more water in the process. However, there was only significance due to the individual effect of the variable number of cycles.

The results showed that the effect of the Diafiltration process on sweet whey, allowed to obtain a product with proper features for a commercial use potential as a supply, not only in the dairy industry, but also in the food industry as a supplement or raw material on other production processes.

Keywords: Ultrafiltration, Pressure gradient, whey concentrate, minerals, lactose

Contenido

1. Marco teórico.....	3
1.1 Suero lácteo.....	3
1.1.1 Industria láctea.....	4
1.1.2 Composición del lactosuero.....	5
1.1.2.1 Proteínas del lactosuero.....	6
1.1.2.2 Lactosa.....	9
1.1.2.3 Minerales en el Suero.....	10
1.1.3 Aplicaciones del lactosuero.....	11
1.1.3.1 Concentrados de proteína.....	11
1.1.3.2 Hidrolizados de proteína.....	12
1.1.3.3 Aislados de proteína.....	12
1.1.3.4 Productos lácteos.....	13
1.2 Tecnología de membranas.....	14
1.2.1 Generalidades.....	14
1.2.2 Clasificación.....	14
1.2.2.1 Ultrafiltración (UF).....	15
1.2.2.2 Nanofiltración (NF).....	16
1.2.2.3 Osmosis inversa (OI).....	17
1.2.2.4 Microfiltración (MF).....	17
1.2.3 Diafiltración (DF).....	17
1.2.3.1 Diafiltración continua.....	18
1.2.3.2 Diafiltración discontinua.....	18
1.2.4 Aplicaciones.....	20
2. Objetivos.....	23
2.1 Objetivo general.....	23
2.1.1 Objetivos específicos.....	23
3. Metodología.....	24
3.1 Generalidades.....	24
3.2 Diseño Experimental.....	24
3.3 Proceso de filtración.....	26

➤	Diafiltración	26
3.4	Métodos analíticos	27
4.	Resultados	29
4.1	Porcentajes de Remoción de minerales durante el proceso de Diafiltración.	29
4.2	Concentración de proteína y remoción de lactosa durante el proceso de DF	36
5.	Conclusiones y recomendaciones	43
5.1	Conclusiones	43
5.2	Recomendaciones	44

Lista de figuras

Figura 1. Esquema de separación por membrana.....	14
Figura 2. Clasificación por tamaño de partícula de los procesos de	15
Figura 3. Diafiltración discontinua – dilución secuencial	19
Figura 4. Diafiltración discontinua – Reducción de volumen.....	20
Figura 5. Esquema básico del proceso de DF	25
Figura 6. Grafica de interacciones (%R Ca Vs Ciclos Vs RV).....	30
Figura 7. Grafica de interacciones (%R K Vs Ciclos Vs RV).....	32
Figura 8. Grafica de interacciones (%R Mg Vs Ciclos Vs RV)	33
Figura 9. Grafica de interacciones (%R Na Vs Ciclos Vs RV).....	34
Figura 10. Grafica de interacciones (%R Ceniza Vs Ciclos Vs RV)	36
Figura 11. Grafica de interacciones (%Proteína vs Ciclos vs RV).....	38
Figura 12. Grafica de interacciones (%R Lactosa vs Ciclos vs RV)	41

Lista de tablas

Tabla 1. Composición del lactosuero dulce y ácido. (Obtenido y modificado de Guerrero et al., 2010).....	6
Tabla 2. Parámetros Diafiltración	25
Tabla 3. Determinación de Calcio según parámetros de diseño y % R	29
Tabla 4. Determinación de potasio según parámetros de diseño y % R.....	31
Tabla 5. Determinación de magnesio según parámetros de diseño y % R.....	33
Tabla 6. Determinación de sodio según parámetros de diseño y % R.....	34
Tabla 7. Determinación de ceniza según parámetros de diseño y % R.....	35
Tabla 8. Determinación de proteína según parámetros de diseño.....	37
Tabla 9. Determinación de lactosa según parámetros de diseño y % R.....	40

Introducción

El lactosuero es uno de los residuos más representativos de la industria lechera y se define como el líquido remanente obtenido tras la precipitación y separación de la caseína de la leche durante la elaboración de quesos, corresponde aproximadamente al 85% del volumen de la leche y se clasifica según su pH (Guillermo et al., 2012). Se compone principalmente de lactosa (70-80%) y proteína (9%) y está relacionada según el tipo de leche, tipo de queso elaborado y el proceso el cual ha sido sometido. El suero cuenta con al menos el 20 % de las proteínas de la leche por lo que posee un valor biológico alto, además posee aminoácidos esenciales y no esenciales, lactosa, minerales y vitaminas solubles en agua formando así un producto altamente nutritivo. (Varghese, Kolpe, & Amarinder, 2013; Williams Mena, 2002)

El vertimiento de desechos agroindustriales representa un gran reto para las industrias del país debido a los altos costos que implican su manejo. En Colombia el lactosuero es utilizado principalmente como desecho, generando un impacto ambiental considerable, por esta razón se hace necesario encontrar alternativas para un correcto manejo. En la actualidad, una de las tecnologías aplicadas a nivel mundial para su aprovechamiento es la separación por membranas de filtración. Por este medio se pueden obtener compuestos de valores comerciales útiles en la industria láctea, de igual forma representa una disminución de la demanda biológica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO) hablando específicamente de la contaminación generada por el lactosuero, la cual pueden llegar alcanzar valores en torno a los 45,000 g/L o 80,000 g/L respectivamente (Guillermo et al., 2012; Williams Mena, 2002).

La ultrafiltración (UF) es una técnica de separación que por medio de una membrana permite el fraccionamiento de compuestos según su tamaño de partícula. En la industria láctea, es utilizada en diferentes líneas de trabajo, como en la concentración de sólidos

de la leche, obtención de concentrados de proteína a partir del lactosuero, elaboración de yogurt, elaboración de quesos, entre otras aplicaciones. Existen diferentes ventajas sobre el uso de la tecnología de UF en las que se encuentran la recuperación de casi la mayoría de las proteínas séricas manteniendo sus propiedades nativas y funcionales gracias a las temperaturas de trabajo, finalmente en comparación con otras técnicas, los requerimientos energéticos son mínimos para la eliminación del agua y residuos (Chacón, 2006; Sanmartín, 2010).

La Diafiltración (DF) es un caso específico de la filtración por membranas, donde el concentrado o retenido es diluido en agua y recirculado en el proceso de modo tal que se reduzca la concentración de los componentes solubles del permeado y se incremente la concentración en el retenido. Con respecto al proceso de Ultrafiltración (UF) y Diafiltración (DF) del lactosuero, el retenido al cual se diluye en agua se puede lograr una eliminación satisfactoria de minerales y lactosa, mejorando de esta manera la recuperación de solutos permeables durante los procesos, y por ende consiguiendo un producto de mayor contenido proteico (Chacón, 2006; Sanmartín, 2010). La Diafiltración (DF) es utilizada en la actualidad para la producción de proteínas de suero concentradas (WPC), con altos contenidos, los cuales pueden alcanzar niveles desde un 25% hasta un 80%, si se combinan con las distintas técnicas de filtración: Ultrafiltración, Nanofiltración, Microfiltración y Osmosis inversa (Baldasso, Barros, & Tessaro, 2011; Foegeding & Luck, 2011).

Este proyecto tuvo como objetivo principal el estudio del proceso de DF para la obtención de un concentrado de proteína a partir del lactosuero dulce. Por consiguiente, se evaluaron las variables relación volumétrica (RV), número de ciclos y su efecto sobre los principales compuestos correspondientes a proteína, lactosa y minerales. De manera que, buscamos mitigar una problemática ambiental, además de obtener una materia prima altamente nutritiva y con un valor comercial considerable.

1. Marco teórico

1.1 Suero lácteo

El lactosuero es el líquido que se obtiene por la coagulación de las proteínas presentes en la leche durante la elaboración de quesos (Guerrero, Gomez, Castro, González, & Santos, 2010). Se pueden clasificar en 2 grandes grupos: el suero dulce el cual se obtiene mediante la coagulación de la leche no acida por la acción enzimática producida por el cuajo, esta maneja el pH entre 5.8 – 6.6 y el suero ácido, se produce cuando la coagulación se lleva a cabo por medio de una acidificación, maneja un rango de pH entre 5.1 o menos (Alvarez, 2013; Lopez Barreto, Becerra Jimenez, & Borrás Sandoval, 2018).

Este residuo es uno de los contaminantes más severos que existen a nivel ambiental y está constituido por la mayor parte de la lactosa proveniente de la leche, las proteínas solubles (lactoalbúminas y lactoglobulinas), grasa y la mayor parte de las sales minerales de la leche (citratos, fosfatos, calcio, potasio, entre otros), así como las vitaminas hidrosolubles, pues las liposolubles debido a su alto contenido de grasa están prácticamente ausentes, destacándose como existentes: la riboflavina, el ácido pantoténico y la vitamina C (Guillermo et al., 2012).

Se estima que el lactosuero representa cerca del 85% - 95% del volumen de la leche en la elaboración de quesos, además contiene aproximadamente el 55% de sus nutrientes, el cual permiten un potencial uso como fuente para la obtención de productos de alto valor agregado (Pablo, Muset, & Castells, 2017). Por otra parte, contienen un poco más del 25% de las proteínas de la leche, 8% de materia grasa y finalmente alrededor del 95% de la lactosa. Si hablamos en detalle por cada 1000 litros de lactosuero, podemos obtener aproximadamente 9 Kg de proteína de alto valor biológico, 50 Kg de lactosa y 3

Kg de grasa de leche, el cual equivalen a los requerimientos diarios de proteína para cerca de 130 personas (Camacho, 2010).

El lactosuero posee unas características nutricionales que en Colombia no son aprovechadas, principalmente debido a que dicho producto se vierte como desecho y termina generando un impacto ambiental. Por esta razón se hace necesario encontrar alternativas para su manejo. El fraccionamiento de los principales constituyentes, puede representar una alternativa para la disminución de la DBO y DQO en las plantas de tratamiento y es una fuente de obtención de compuestos de mayor importancia comercial para la producción de derivados lácteos (Guillermo et al., 2012; Londoño, Sepulveda, Hernandez, & Parra, 2008).

Se estima que la producción de lactosuero en Colombia para el 2015, fue de 2,033 millones de litros de suero, el cual más del 70% se utilizó ya sea como alimentación animal o vertido como efluente (Pablo et al., 2017). Esto principalmente debido a la informalidad del sector, además que solo las empresas que generan mayores volúmenes de producción son las que poseen las tecnologías necesarias para procesar el lactosuero (Dane, 2015).

A pesar de que en Colombia el lactosuero no es correctamente utilizado, una de las principales practicas usadas para su aprovechamiento y la más comercial es en la elaboración de bebidas lácteas, ya sea como materia prima principal o a partir de una mezcla entre leche y lactosuero (Pablo et al., 2017). Por otra parte, desde la década de los 70, algunos pequeños productores lo utilizan como alimentación para animales, específicamente en el sector porcino, combinándolo con su alimentación o incluso adicionándoles vitaminas que ayuden a una mejorar su producción (“Utilización actual del lactosuero en Colombia,” 2013).

1.1.1 Industria láctea

La industria láctea al igual que la mayoría de los sectores de la industria agropecuaria, en Colombia se encuentra definida por la informalidad en los procesos tanto de elaboración como de comercialización de productos. Según el Ministerio de Agricultura, la producción

total de leche para el 2017 fue de 7.066 millones de litros, esto representa cerca del 0.83% del PIB nacional, 9.1% del PIB agropecuario y genera aproximadamente 736.873 empleos (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2018). Con respecto a nivel mundial, según la FAO, para el 2015 se estima que la producción de leche alcanzó los 783 mil millones de litros, siendo menos del 1% mundial con respecto a la producción de leche en Colombia.

Según Gomez & Sanchez (2018), la producción mundial de queso para el 2017 fue de 20 millones de toneladas aproximadamente, la cual este representa el 40 % de la leche destinada para la elaboración de quesos, por lo que seguirá siendo el producto más importante derivado de la leche. Esto trae consigo una mayor producción puesto que se prevé que la producción mundial de leche siga en aumento. Dicho esto, en Colombia solo una pequeña parte del gremio reutiliza el lactosuero, a pesar que la legislación colombiana hace énfasis en el cumplimiento de la normatividad de vertimientos de aguas residuales según decreto 3930 del 2010, con el fin de controlar los desechos agroindustriales.

La industria láctea es uno de los sectores más importantes de la economía de países industrializados y en desarrollo. Aproximadamente 90% del total de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero el cual retiene cerca de 55% del total de ingredientes de la leche como la lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales, aunque este subproducto es descartado como efluente el cual genera una contaminación ambiental dañina para los subsuelos del país (Alvarez, 2013; Parra, 2009).

1.1.2 Composición del lactosuero

La composición nutricional puede variar principalmente según las características de la leche utilizada para la elaboración del queso y del proceso por el cual esta materia prima es sometida. Existen varios tipos de lactosuero dependiendo principalmente de la eliminación de la caseína, estos varían su composición según el tipo de suero la cual se detalla en la siguiente **tabla 1** (Hernández & Velez, 2014; Parra, 2009).

Tabla 1. Composición del lactosuero dulce y ácido. (Obtenido y modificado de Guerrero et al., 2010)

Componente	Lactosuero dulce (%)	Lactosuero ácido (%)
Agua	93 – 95	93 – 95
Extracto seco	5 – 7	5 – 7
Lactosa	4.5 – 5.3	3.8 – 5.2
Proteínas	0.6 – 1.1	0.2 – 1.1
Grasa	0.1 – 0.4	0.1 – 0.5
Minerales	0.5 – 0.7	0.5 – 1.2
pH	6.5	<= 5.1

El lactosuero dulce se caracteriza principalmente por su pH, este se encuentra entre 5.8-6.6, se obtiene por acción de las enzimas coagulantes sobre la caseína de la leche, mientras que el suero ácido es el resultado del proceso de fermentación o adición de ácidos orgánicos o minerales para la coagulación de la caseína durante la elaboración de quesos, como por ejemplo en la elaboración del ricotta o el queso crema. Estos se diferencian en la cantidad de lactosa, proteína y minerales (Parra, 2009).

1.1.2.1 Proteínas del lactosuero

Las proteínas del lactosuero no representan la fracción más abundante, pero generalmente son objeto de estudio debido a sus características, dado que poseen un amplio rango de propiedades químicas, físicas y funcionales. Suponen alrededor del 20% de las proteínas de la leche de bovino, siendo su principal componente la β -lactoglobulina (β -LG) con cerca de 10% y α -lactoalbúmina con 4% de toda la proteína láctea, además, contiene otras proteínas como, lactoferrina, lactoperoxidasa, inmunoglobulinas, y glicomacropéptidos (Parra, 2009).

Estas proteínas, poseen una calidad similar a las presentes en el huevo, desempeñan un importante papel nutritivo como una fuente rica y balanceada de aminoácidos esenciales,

los aminoácidos que se encuentran en mayor cantidad en el lactosuero son la leucina (9,5%) y la lisina (9%); estos parecen ejercer determinados efectos positivos biológicos y fisiológicos *in vivo* (Gomez & Sanchez, 2018).

Por otra parte, poseen aminoácidos esenciales en las cantidades correctas, que permiten la síntesis de tejidos en el organismo. Estas se conocen como proteínas rápidas, el cual tienen una mayor velocidad de asimilación y utilización de la proteína consumida y absorbida por el organismo, en consecuencia la digestibilidad es mayor (Pablo et al., 2017).

- **β -lactoglobulina**

Es la principal proteína y la más abundante del lactosuero bovino, representa alrededor del 48%-58% de sus proteínas, está compuesta por aminoácidos de los cuales 84 son esenciales. Es capaz de interactuar con distintas moléculas hidrofóbicas, especialmente el retinol y los ácidos grasos. Esta característica en especial, permite que tenga buenas propiedades emulsionantes, el cual pueden ser aplicadas en la industria de alimentos (Gil, 2007).

Es una fuente rica en cisteína considerado como un aminoácido esencial para la síntesis de glutatión, el cual es muy importante para el sistema de defensa antioxidante e inmune del cuerpo. De igual manera une minerales, vitaminas y lípidos. Contiene una gran cantidad de aminoácidos ramificados incrementando la protección frente al cáncer del colon (Alvarez, 2013).

Esta proteína es insoluble en agua, soluble en solución salina diluida y precipita en presencia de sulfato de magnesio o de amonio en medio saturado. Se clasifica dentro de las albúminas debido a su gran solubilidad, relativo bajo peso molecular, movilidad electroforética y su naturaleza holoprotéica. El peso molecular de un monómero alcanza los 18.360 Da. Esta proteína se encuentra formada por una sola cadena peptídica de 162 restos de aminoácidos. La cadena se repliega sobre si misma por acción de dos puentes S-S, asegurando la estructura terciaria y quedando un grupo sulfhidrilo libre (Riquelme, 2010).

- **α -lactoalbúmina**

Comprenden aproximadamente del 20 al 25% del total de las proteínas del lactosuero. El α -lactoalbumina es adicionada a fórmulas infantiles para hacerlas similares al patrón aminoacídico de la leche humana. Por su alto contenido de aminoácidos de cadenas ramificadas es utilizado también en suplementos para deportistas. Asimismo, posee afinidad por minerales como el calcio, zinc, cobre, aluminio entre otro (Alvarez, 2013; Marshall, 2004).

También clasificada dentro de las albúminas, esta proteína parece estar presente en la leche de todos los mamíferos, lo que la hace característica del lactosuero. Es una proteína con un peso molecular alcanza los 14.200 Da aproximadamente (Riquelme, 2010).

- **Inmunoglobulinas (Igs)**

Las Igs también llamadas anticuerpos, son una familia de proteínas con una función biológica de proporcionar protección inmunológica. En la leche son las mayores moléculas encontradas y su peso molecular es de aproximadamente 180.000 Da. Por otra parte, son las más sensibles a la desnaturalización por temperatura (Riquelme, 2010). La fracción de lactosuero contiene una cantidad significativa de inmunoglobulinas, aproximadamente del 10 al 15% del total de las proteínas del suero de leche (Marshall, 2004).

- **Lactoferrina**

Es un agente antioxidante no enzimático, esta se encuentra en la fracción de lactosuero de leche, así como en el calostro con una concentración aproximada de 0.2 mg/mL y 1.5 mg/mL, respectivamente. La componen aproximadamente 700 residuos de aminoácidos y de una cadena de polipéptidos individuales. Sus fuentes principales son la leche, yogurt, quesos y otros derivados lácteos (Hernández & Velez, 2014; Marshall, 2004).

La lactoferrina posee propiedades antibacterianas y antioxidantes; secuestra y solubiliza el hierro del suero sanguíneo, lo que le hace disponible para su absorción a nivel

intestinal; y, por otro lado, disminuye la concentración de este mineral en el organismo, el cual es una fuente para el desarrollo bacteriano. Constituye, junto con la lisozima y el sistema lactoperoxidasa, las llamadas proteínas protectoras de la leche, ya que son proteínas que aumentan y complementan el sistema inmunológico (Camacho, 2010).

- **Lactoperoxidasa**

Es una importante enzima presente no solo en el lactosuero sino también en la leche, tiene la capacidad de catalizar algunas moléculas incluyendo la reducción del peróxido de hidrogeno, siendo una parte importante de la actividad antimicrobiana de la leche, por lo que se ha sugerido su uso como agente conservante (Marshall, 2004; Sanmartín, 2010).

1.1.2.2 Lactosa

Es el azúcar que se encuentra únicamente en la leche, es un disacárido compuesto por moléculas de galactosa y glucosa (monosacáridos) y son fuente principal de energía. También es utilizada en la industria farmacéutica, ciertos microorganismos, bacterias y levaduras son capaces de fermentar la lactosa (Alvarez, 2013).

La lactosa además de ser el principal hidrato de carbono de la leche, también es el principal componente del lactosuero aparte del agua, constituye aproximadamente el 4,4% - 4,9% y un 75% en extracto seco. Presenta un menor contenido de lactosa en el lactosuero ácido que en el dulce, consecuentemente, un alto contenido en ácido láctico a raíz de que durante la fermentación bacteriana parte de la lactosa se transforma en ácido láctico (Sanmartín, 2010).

Es un azúcar reductor, que dependiendo de las condiciones, puede reaccionar con los grupos amino de las proteínas. Es una adecuada fuente de energía que juega un papel importante en la absorción del calcio. La lactosa se caracteriza por poseer una solubilidad limitada y una baja dulzura, lo que limita en muchas ocasiones su uso en la industria, sin embargo, existen procesos para aumentar la concentración como por ejemplo la hidrólisis de lactosa (Sanmartín, 2010; Wit, 2001).

A nivel mundial, los estudios para el aprovechamiento de la lactosa se dirigen principalmente al estudio y mejoramiento del proceso de hidrólisis con el fin de ser utilizado a nivel de producción como un subproducto lácteo (Gomez & Sanchez, 2018). Sin embargo, para el aprovechamiento de la lactosa es necesario poseer una capacidad tecnológica que permita un desarrollo a nivel industrial, de acuerdo con lo anterior, existe un amplio campo de investigación del aprovechamiento de la lactosa que puede utilizarse en Colombia, para desarrollar la economía de los diferentes sectores industriales (Gomez & Sanchez, 2018; Souza et al., 2010).

1.1.2.3 Minerales en el Suero

Los minerales presentes en la leche bovina se encuentran en una solución, la cual existe un equilibrio entre los iones libres y los iones complejos con distintos componentes como las proteínas, carbohidratos y moléculas de bajo peso molecular unidas, como el citrato y los aminoácidos. El contenido mineral de la leche no es constante, pero varía según varios factores, como la etapa de lactancia, la alimentación, genética, entre otros. Una de las ventajas del uso de la leche de bovino, es que esta posee casi todos los veinte minerales que se consideran esenciales en la dieta humana (Vegarud, Langsrud, & Svenning, 2000).

El lactosuero, que representa cerca del 90% del volumen de la leche, contiene aproximadamente un 55% de sus nutrientes, entre estos se encuentran las sales minerales que están en un 8-10% de proporción en extracto seco (Vegarud et al., 2000). De estos minerales, sobresale el potasio, seguido del calcio, fósforo, sodio y magnesio. Se encuentra en forma altamente ionizada y proporcionan parte de la estabilidad de las proteínas del lactosuero (Pablo et al., 2017). Por otra parte, cuenta con vitaminas del grupo B (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, cobalamina) y ácido ascórbico (Parra, 2009).

Durante el proceso de filtración por membranas, se pueden alterar la concentración de los minerales, dependiendo del tipo de membrana utilizada ya sea por Ultrafiltración (UF), Nanofiltración (NF), electrodiálisis, o intercambio iónico. En la ultrafiltración (UF) los minerales unidos a las proteínas (calcio, fósforo, magnesio) se retienen en la membrana

y se concentran junto con ellas, mientras que los solubles (sodio, potasio, citrato) pasan al permeado (Sanmartín, 2010).

1.1.3 Aplicaciones del lactosuero

La utilización del lactosuero desde hace mucho tiempo se ha aprovechado en diferentes campos de trabajo, ya sea con propósitos medicinales, como el tratamiento de infecciones, cicatrización de heridas, enfermedades estomacales o como en la preparación de bebidas funcionales. Sin embargo, en Colombia es considerado básicamente como un desperdicio, por consiguiente, se generan contaminaciones a causa de un mal manejo del lactosuero. Actualmente existen múltiples investigaciones que permiten un desarrollo tecnológico con el fin de transformar este producto de bajo valor comercial en una valiosa materia prima aplicada en la industria alimentaria (Pablo et al., 2017).

1.1.3.1 Concentrados de proteína

Las proteínas del lactosuero, son ampliamente usadas en una variedad de alimentos gracias a sus propiedades, entre las que se encuentran su capacidad gelificante y emulsificantes, además de su textura, posee un sabor neutro, tiene alta digestibilidad y principalmente por su contenido altamente proteico (Alvarez, 2013).

Los concentrados de proteína de lactosuero (WPC) son obtenidos por medio de la técnica de ultrafiltración que consiste de una membrana semipermeable, la cual selectivamente permite pasar materiales de bajo peso molecular como agua, iones y lactosa, mientras retiene materiales de peso molecular alto como la proteína. Este concentrado obtenido posteriormente se somete a tratamientos térmicos y se obtiene un producto seco. El WPC se define como la sustancia obtenida por la eliminación de suficiente constituyente no proteico a partir de lactosuero para que el producto seco final contenga no menos del 25% de proteína. La mayoría de los WPC en el mercado contienen 34-35% (Hernández & Velez, 2014; Parra, 2009).

Los WPC son elaborados como sustitutos principalmente de leche descremada o en polvo, y son utilizados en la elaboración de yogurt, queso procesado, salsas, fideos, galletas, helados, pasteles, derivados lácteos, panadería, carne, bebidas, y productos de formulaciones infantiles debido a las propiedades funcionales excelentes de sus proteínas y sus beneficios nutricionales (Alvarez, 2013; Parra, 2009).

1.1.3.2 Hidrolizados de proteína

Son proteínas que pasan por un proceso de hidrólisis donde las cadenas más largas se descomponen por acción de las enzimas proteolíticas. Estos hidrolizados han sido usados principalmente como suplementación dietética o necesidades fisiológicas, para personas de la tercera edad, bebés prematuros, atletas que controlan el peso a través de dietas y niños con diarrea. Son muy utilizadas las proteínas debido a que los aminoácidos proporcionados por los hidrolizados de proteína son de rápida digestión y son completamente absorbidos en comparación con la proteína intacta (Alvarez, 2013; Parra, 2009).

El proceso de hidrólisis permite modificar la estructura de la proteína, realizando sus propiedades funcionales y biológicas, modifica la solubilidad, foaming y emulsificación de las proteínas de lactosuero. Para poder obtener estos hidrolizados, se pueden utilizar membranas que permitan separar la proteína de los componentes restantes del lactosuero por medio de la Ultrafiltración (UF) y Nanofiltración (NF) (Parra, 2009).

1.1.3.3 Aislados de proteína

Los aislados de proteína de lactosuero comúnmente conocidas como WPI, son obtenidas a partir del lactosuero en polvo parcialmente desmineralizado, estos poseen un contenido de proteína superior al 90% y su contenido de lactosa es menor en comparación con los WPC. Han sido aplicados como proteínas de alimentos funcionales debido a su alta

pureza además por sus propiedades de hidratación, gelificación, emulsificación, entre otras (Gomez & Sanchez, 2018).

Los WPI poseen un contenido menor de lactosa, entre 0.5% - 1.0%, con el fin de obtener el porcentaje de proteína deseado, para lograrlo, estos deben ser concentrados en varias ocasiones y parcialmente desmineralizados (Gomez & Sanchez, 2018). Debido a su alta pureza, los WPI son comúnmente utilizados como suplementos nutricionales, bebidas deportivas, como fuente de péptidos. Además de ser utilizado como aditivo en productos que requieren una fuente de sólidos lácteos con bajo nivel de minerales, como por ejemplo algunas fórmulas infantiles (Parra, 2009).

1.1.3.4 Productos lácteos

Existen múltiples derivados lácteos que son elaborados con diferentes ingredientes como la leche en polvo, lactosuero en polvo o concentrados de proteína de lactosuero (WPC), su uso depende de la versatilidad, conveniencia o reducción de costos. Estas modificaciones le confieren al producto, dependiendo de su elaboración, una mayor estabilidad como lo es en el caso de los helados donde mejora su textura, apariencia además del aumento en el contenido proteico y de calcio (Alvarez, 2013).

Diferentes autores concuerdan en el uso del lactosuero, para la elaboración de bebidas, entre las que se encuentran, bebidas isotónicas, bebidas refrescantes o fermentadas. Un estudio realizado por Londoño, et al, 2008, lograron obtener una bebida fermentada a base de lactosuero dulce con unas características similares, a las producidas en el mercado.

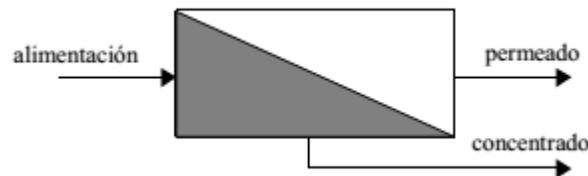
De igual manera Tamara (2015), señaló los productos obtenidos a base de lactosuero como alternativa, entre los que destacan: productos de panificación donde mejoran la textura, apariencia e incrementan su valor nutricional, jugos y refrescos de fruta la cual proveen energía y son ideales para deportistas y niños. Además de alimentos nutricionales, postres, helados, yogures y más variedad de productos donde es posible aplicar la materia prima.

1.2 Tecnología de membranas

1.2.1 Generalidades

Los procesos de separación por membranas constituyen un conjunto de tecnologías basadas en el transporte selectivo de uno o más componentes de una mezcla líquida, a través de una membrana semipermeable. Estos procesos se aplican tanto en la concentración como en el fraccionamiento de iones, moléculas y macro solutos. La membrana actúa como un filtro en donde dependiendo del tamaño de poro este permitirá el paso de moléculas presentes en la mezcla. Aquellos componentes que traspasan la membrana bajo la acción de la presión reciben el nombre de permeado mientras, aquellos que no pasan se denominan como retenidos (Camacho, 2010; Saavedra & Romero, 2006).

Figura 1. Esquema de separación por membrana.



Fuente: Saavedra & Romero, 2006.

Los procesos de separación por membranas resultan favorables debido a que presentan poco deterioro sobre los componentes que conforman el sistema y cuando los métodos tradicionales de separación no resultan económicamente factibles. Entre las desventajas se encuentran la posible descomposición microbiana de la membrana, descenso de la permeabilidad en el tiempo ya sea por uso excesivo y/o uso de agentes inadecuados en la limpieza (Riquelme, 2010).

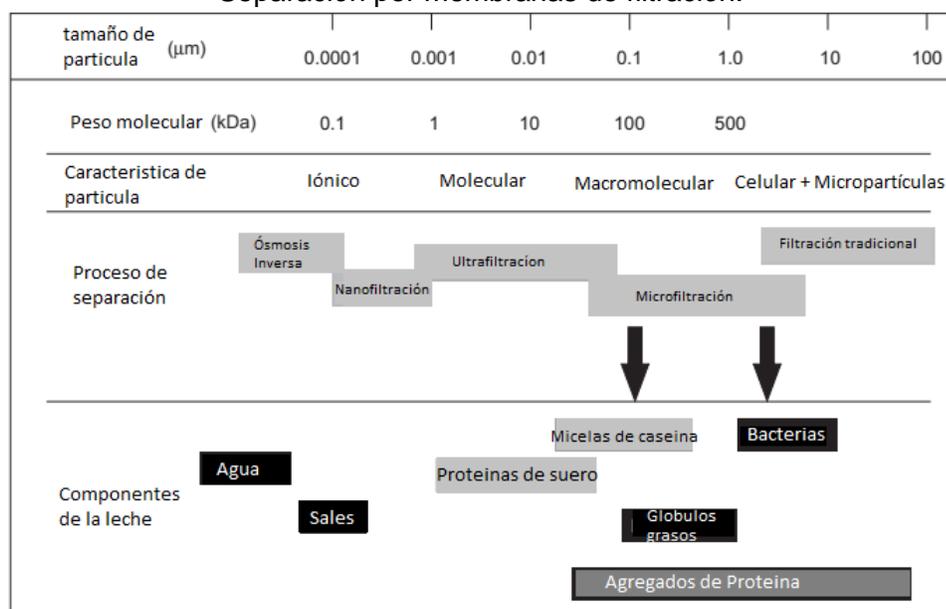
1.2.2 Clasificación

Las membranas se distinguen como biológicas y sintéticas, estas biológicas son a su vez divididas en vivas y no vivas, dicho esto sus principales usos en la actualidad son en los

campos médico y farmacéuticos. Las membranas sintéticas se clasifican en inorgánicas, poliméricas, líquidas y compuestas. Estas poseen la ventaja que son muy estables tanto química como térmicamente, además de poseer una alta resistencia a la presión (Sotto, 2008).

En la industria alimentaria, las membranas comúnmente utilizadas son las poliméricas. Estas se dividen principalmente según el tamaño de partículas que filtra como se muestra en la figura 2, los más comunes corresponden a la Microfiltración (MF), Nanofiltración (NF), Ultrafiltración (UF) y Osmosis inversa (OI). El transporte de componentes se realiza gracias a una fuerza impulsora, esta puede ser debida a gradientes de concentración, presión, temperatura o potencial eléctrico (Camacho, 2010).

Figura 2. Clasificación por tamaño de partícula de los procesos de Separación por membranas de filtración.



Obtenido y modificado de Kelly, 2003

1.2.2.1 Ultrafiltración (UF)

Este proceso permite tamaños de poro entre 5 a 100nm y emplean presiones de menos de 1000 kPa. Permite retener polisacáridos, proteínas, taninos entre otras. Selecciona macromoléculas con peso molecular entre 1000 y 200000 Da (Riquelme, 2010). Su

principal función en la industria láctea es de incrementar los sólidos de la leche para la producción de quesos (Perez, 2010). La leche se concentra por medio de ultrafiltración lo que permite la eliminación de cierta cantidad de agua, lactosa y sales minerales, hasta alcanzar la concentración que se requiera, luego se le adiciona grasa y se coagula obteniendo el queso sin necesidad de pasar por la etapa de desuerado. Estudios previos han garantizado el aumento en los rendimientos de hasta un 30% dado que durante la ultrafiltración se retienen las proteínas solubles que normalmente se pierden en la etapa del desuerado (Mistry, 2011).

Por otra parte, se obtienen concentrados proteicos que posteriormente son concentrados por tratamientos térmicos y de esta manera se obtienen productos en polvo que contienen hasta un 85% de proteína. Actualmente, esta tecnología es la más utilizada a nivel mundial en la industria láctea para la concentración o estandarización de la proteína, debido a la facilidad de adaptar la tecnología al proceso de producción. Por otra parte, a pesar de los altos costos que conlleva la instalación del proceso UF, esto sigue representando un beneficio económico en la industria (Mistry, 2011).

1.2.2.2 Nanofiltración (NF)

Utiliza tamaños de poros de 1 hasta 5 nm separando componentes de bajo peso molecular, entre 200 a 1000 Da y la presión de trabajo está entre 1 a 5 MPa (Camacho, 2010). Se retienen moléculas tales como azúcares, ácidos orgánicos, polifenoles, compuestos aromáticos, entre otros, esta aplicación puede utilizarse en aplicaciones como lo son el desmineralizado y desalinización (Mistry, 2011).

Entre sus múltiples aplicaciones se encuentran la extracción de la lactosa en conjunto con el proceso de ultrafiltración, el tratamiento de aguas residuales combinado con los procesos de ultrafiltración y osmosis inversa y finalmente la concentración de salmueras con el fin de mantener adecuada la concentración de sal y generar agua purificada (Marx, Sixt, Hofsommer, Wörthmann, & Kulozik, 2019).

1.2.2.3 Osmosis inversa (OI)

Este proceso separa moléculas con peso molecular de 150 Da o menos y el tamaño de poro se encuentra de 0.1 a 1.0 nm. En este proceso se da una separación únicamente del agua presente en la leche, gracias al tamaño de poro sumamente pequeño, concentrando los demás componentes de la leche como la grasa, proteínas, lactosa y minerales sin disociar. Es una técnica altamente eficaz y utilizada principalmente en tratamientos de deshidratación, concentración o separación de sustancias de bajo peso molecular o tratamiento de desechos. Es ideal para la desalinización del agua de mar (Camacho, 2010).

1.2.2.4 Microfiltración (MF)

Utiliza membranas porosas de 0.1 a 5 micras, selecciona partículas con peso molecular mayor de 200000 Da (Camacho, 2010). Entre las moléculas retenidas por esta tecnología encontramos las bacterias, hongos, almidones, gránulos, grasas, entre otros. Es por estas características que se puede utilizar la Microfiltración en las fermentaciones para la clarificación y recuperación de biomasa, además de ser un mecanismo útil y efectivo para el control microbiológico de una mezcla. Principalmente sus aplicaciones en la actualidad se encuentran enfocadas en la industria para la clarificación de jugos de frutas, recuperación de proteína de suero lácteo y como proceso alternativo a los métodos de conservación por tratamientos térmicos regularmente utilizados con temperaturas muy altas permitiendo conservar mejor las características iniciales del producto (Marx et al., 2019; Saavedra & Romero, 2006).

1.2.3 Diafiltración (DF)

La Diafiltración es un caso particular y específico de la ultrafiltración en donde el retenido es diluido en agua y recirculado en el proceso de modo que se reduzca la concentración

de los compuestos solubles y se incrementa la concentración de los componentes del retenido. Su principal uso en la industria láctea es para obtener un lavado tanto de lactosa como de las sales minerales a partir de suero de leche y poder obtener un concentrado con mayor contenido proteico (Sanmartín, 2010).

Esta técnica convencional puede ser utilizada para la dilución de sales en una mezcla, siendo práctica en comparación con la electrodiálisis debido a la poca manipulación y practicidad en comparación con dicha técnica. La Diafiltración se puede realizar por medio de dos métodos los cuales son la Diafiltración continua o la discontinua los cuales varían en tiempo y volúmenes principalmente (Schwartz, 2016):

1.2.3.1 Diafiltración continua

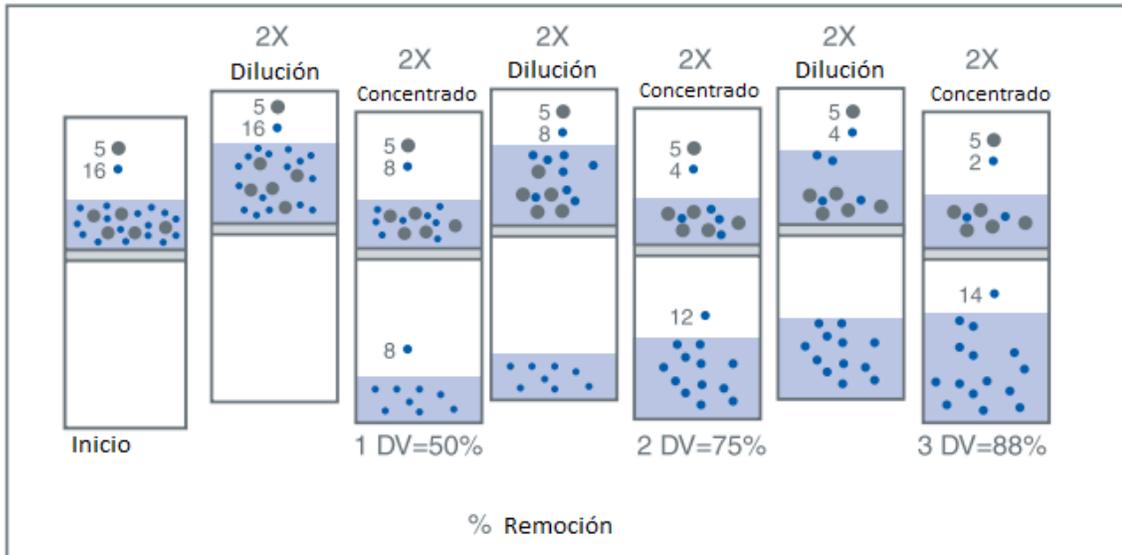
Esta técnica también conocida como volumen de Diafiltración constante, implica un lavado inicial de la muestra obtenida en el retenido durante la primera etapa de ultrafiltración, por medio de adición de agua, también es posible adicionar el agua con la misma velocidad en que empieza a filtrar. Si se está utilizando agua para diafiltrar, como resultado se obtiene que las sales se van diluyendo y la conductividad también decrece. La cantidad de sales removidas está directamente relacionada con el volumen de Diafiltración el cual se refiere a la relación entre el volumen filtrado (permeado) en comparación con el volumen del retenido. Cuando el volumen filtrado es igual que el volumen del retenido inicial se considera como un ciclo de Diafiltración. Cabe resaltar que para que el sistema sea continuo la adición del líquido tiene que ser a la misma tasa en que se está filtrando (Schwartz, 2016).

1.2.3.2 Diafiltración discontinua

- Secuencial: la Diafiltración discontinua por dilución secuencial involucra inicialmente una dilución de la mezcla con agua, luego la muestra es posteriormente concentrada por ultrafiltración a su volumen inicial. Este proceso se repite hasta que finalmente las moléculas como las sales o de bajo peso

molecular sean diluidas a conveniencia. Observamos en la figura 3 un esquema general de una muestra diluida con mismos volúmenes, cabe resaltar que es posible alternar los volúmenes entre agua y mezcla (Schwartz, 2016).

Figura 3. Diafiltración discontinua – dilución secuencial



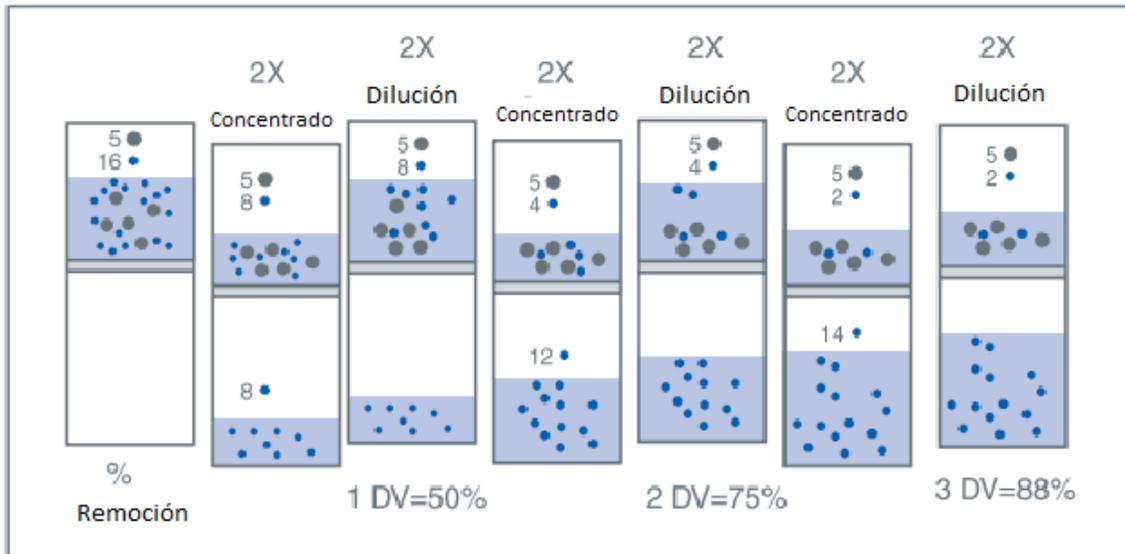
- Moléculas de alto peso molecular - Exceden el tamaño de poros de la membrana
- Moléculas de bajo peso molecular - Sales

DV: Volumen DF

Obtenido y modificado de Schwartz, 2016

- Reducción de volumen: a diferencia del secuencial, se inicia el proceso con una concentración inicial de la muestra y posteriormente será diluida a su concentración original por medio de adición de agua. Este proceso se repite hasta que finalmente las moléculas como las sales o de bajo peso molecular sean diluidas a beneficio.

Figura 4. Diafiltración discontinua – Reducción de volumen



- Moléculas de alto peso molecular - Exceden el tamaño de poros de la membrana
 - Moléculas de bajo peso molecular - Sales
- DV: Volumen DF

Obtenido y modificado de Schwartz, 2016

1.2.4 Aplicaciones

Actualmente en la industria de alimentos, las principales aplicaciones que se le dan a los sistemas de filtración por membranas, son en la purificación como sustituto de los tratamientos térmicos severos, tratamiento de desechos y concentración de sólidos.

Un ejemplo en concreto de la concentración es su uso en la leche por medio de la membrana de Ultrafiltración (UF), donde se permite eliminar una cantidad de agua y residuos de lactosa y sales minerales con el fin de mejorar rendimientos en la elaboración de quesos. Se han encontrado aumentos de hasta un 30%, debido a que se retienen proteínas solubles que normalmente se pierden en el suero de manera convencional (Perez, 2010).

Una de las aplicaciones más utilizadas a nivel mundial es para la producción de Proteínas de suero concentradas, las cuales pueden obtener niveles de

aproximadamente entre un 20-80% de contenido de proteína. Por otra parte, se pueden obtener unos grados de pureza mayores si se combina la Ultrafiltración con un paso adicional de Diafiltración, con el fin de remover partículas solubles como sales minerales y lactosa principalmente (Kelly, 2002).

Dicho lo anterior, la tecnología de membranas en Colombia todavía se encuentra muy limitada a nivel industrial, sin embargo, el rango de aplicación es muy alto, ya que se ha usado para diferentes líneas de alimentos, principalmente como aplicación en la clarificación de jugos de fruta, en la industria láctea o finalmente como proceso alternativo para los tratamientos térmicos severos. Por esta razón las técnicas que implican el uso de membranas, constituyen una alternativa para la innovación de la industria de alimentos además para el aprovechamiento de residuos que generalmente son material de descarte como lo es el caso de lactosuero.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Evaluar el proceso de Diafiltración para la concentración de la proteína por medio de ultrafiltración en el suero dulce de quesería.

2.1.1 Objetivos específicos

- Determinar el grado de desmineralización en el concentrado de proteína durante el proceso de Diafiltración, obtenido por medio de la técnica de ultrafiltración.
- Evaluar la variación en los niveles de proteína y lactosa durante el proceso de Diafiltración

3. Metodología

3.1 Generalidades

El desarrollo de la investigación, se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Productos Lácteos, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Por otra parte, con respecto a los análisis físico-químicos se llevaron a cabo en colaboración con la Universidad de Antioquia.

- Materiales

La materia prima principal utilizada es el lactosuero dulce, proporcionada por la empresa Auralac, el cual fue obtenido por medio de la elaboración de quesos frescos. Inicialmente se filtró con una malla de tela de tamaño de poro de 0.1mm de diámetro para la eliminación de impurezas, posteriormente se descremó en una centrifuga Westfalia a 8050 revoluciones por minuto (rpm) y finalmente con un proceso de pasteurización a 63°C por 30 minutos, con el fin de reducir la carga microbiana e inactivar la enzima coagulante residual procedente de la elaboración del queso.

3.2 Diseño Experimental

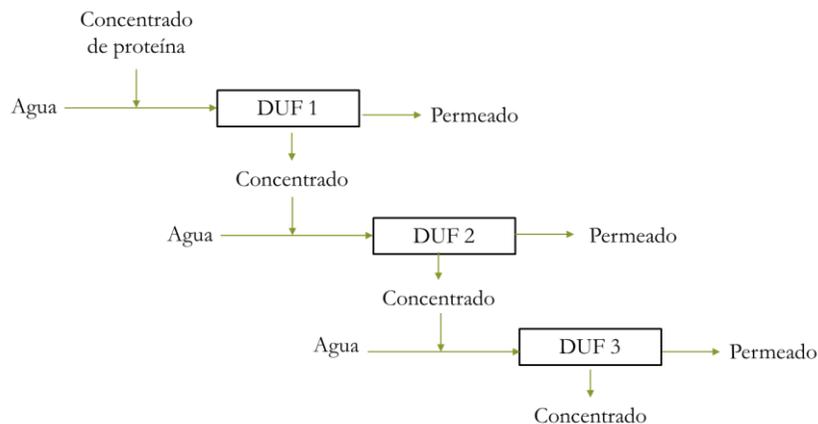
El diseño experimental utilizado para esta investigación, fue un diseño tipo factorial con tres replicas, en el cual se identificaron dos factores y cada uno con tres niveles a evaluar, según tabla 2. La metodología de análisis de datos utilizada fue mediante un ANAVA multifactorial considerando un nivel de significancia del 5%, por medio del programa estadístico Statgraphics XVII.

Tabla 2. Parámetros Diafiltración

Parámetro	Rangos de estudio
Relación volumétrica (RV)	2, 3, 4
Numero de ciclos (DF)	1, 2, 3

La relación volumétrica (RV) corresponde al volumen de agua desmineralizada adicionada en proporción del concentrado de suero obtenido por ultrafiltración (CUF). Adicionalmente, el número de ciclos, corresponde al número de veces que se repite el proceso de Diafiltración. En la figura 5 se observa el esquema básico del proceso de DF realizado.

Figura 5. Esquema básico del proceso de DF para un máximo de 3 ciclos



Las variables dependientes definidas para cuantificar la efectividad del proceso fueron las siguientes:

- Contenido de minerales
- Concentración de proteína
- Contenido de lactosa

Finalmente, el diseño experimental se dividió en un total de nueve experimentos con tres repeticiones para un total de 27, el cual se aleatorizó para definir el orden de las corridas.

3.3 Proceso de filtración

Para la obtención de los concentrados de suero, el proceso de membranas se llevó a cabo por medio de un equipo piloto de Ultrafiltración (UF) de la empresa PERINOX, con una membrana semipermeable en espiral de polietersulfona de tamaño de corte de 10 kDa. Este equipo está integrado con las tecnologías de Microfiltración, Nanofiltración y Osmosis inversa.

Dicho lo anterior, los procesos de filtración se dividieron de dos etapas: inicialmente la Ultrafiltración y posteriormente la Diafiltración:

➤ Ultrafiltración

Estudios previos, determinaron las condiciones óptimas del proceso de ultrafiltración para la concentración efectiva de la proteína a partir de suero dulce, con el fin de obtener el máximo contenido de proteína según los factores constantes asociados al manejo del equipo. Los resultados fueron los siguientes:

- presión transmembrana (TPM): 2.5 bar
- factor de concentración volumétrico (VCF): 18
- temperatura de entrada: 50 °C.

➤ Diafiltración

Una vez obtenido el CUF, este se diluyó debidamente según los parámetros estipulados por el diseño experimental, con agua previamente desmineralizada a través de la membrana de Osmosis inversa.

Para la cuantificación de las diversas variables de respuesta, se estimó el porcentaje de remoción utilizado como criterio de desempeño del proceso por diversos autores (Pan, Song, Wang, & Cao, 2011; Román, Wang, Csanádi, Hodúr, & Vatai, 2009). Este valor fue determinado de acuerdo a la siguiente expresión:

$$Removal(\%) = \left(\frac{c_i - c_f}{c_i} \right) * 100 \quad (1)$$

Donde c_i es la concentración del soluto inicial y c_f es la concentración del soluto al final del volumen de alimentación

3.4 Métodos analíticos

Se realizaron los siguientes parámetros fisicoquímicos tanto del retenido como del permeado:

- **Sólidos Solubles:** Fue determinado por el método de lectura refractométrica, método AOAC 932.05/90.
- **Acidez:** Se determinó por medio del método por titulación, (AOAC 947.05, 1997). Esta acidez fue expresada en porcentaje de ácido láctico. El lactosuero fue atemperado a 25°C, se tomó una muestra homogenizada de 9 mL y fue llevado a un crisol de porcelana. Posteriormente se adicionaron 2 gotas de fenolftaleína al 2% como indicador, luego se tituló con hidróxido de sodio (NaOH) al 0,1N, hasta alcanzar un color rosado persistente. En este punto se tomó la lectura directa del contenido de ácido láctico, expresado en porcentaje.
- **pH:** Se determinó por medio de un potenciómetro por inmersión de electrodo, bajo el método oficial AOAC 981.12/90. Un electrodo, previamente calibrado con soluciones de pH 4.00 y 7.00, fue insertado en el lactosuero, a 25°C, y se tomó el dato cuando se estabilizó.
- **Proteína:** Se determinó por el método estándar de Kjeldahl. La muestra fue digerida en ácido sulfúrico, se usó sulfato de cobre pentahidratado como catalizador y sulfato de potasio, el cual eleva el punto de ebullición,

liberando el nitrógeno de la proteína y reteniéndolo como una sal de amonio. Se añadió hidróxido de sodio concentrado para liberar el amoniaco, el cual es destilado y colectado en solución de ácido bórico y titulado (AOAC 920.123, 1997; NTC 4657, 1999). Con la titulación se estimó el nitrógeno total presente en la muestra y por medio del factor de conversión 6.38 se obtuvo el contenido de proteína.

- **Cenizas:** Se calculó por el método de incineración, bajo el método oficial AOAC 935.42. la muestra previamente pesada fue puesta en un crisol y llevado a una mufla a temperatura de 600 °C por 12 horas. Finalmente, la muestra fue cuidadosamente pesada y reportando el contenido de cenizas expresado como porcentaje (%).
- **Minerales** (calcio, potasio, sodio, magnesio y fosforo): Se cuantificaron por medio de la técnica de espectrometría de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) usando el equipo Shimadzu ICPE (EN 13805:2002).
- **Lactosa:** Para la determinación de lactosa, se realizó por medio de la técnica cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando una columna Aminex HPX-87H con fase móvil de H₂SO₄. La muestra se inyectó previamente diluida y filtrada, finalmente los datos se cuantificaron por el método de calibración interpolado aplicado por el mismo software del equipo (AOAC 984.22).

4. Resultados

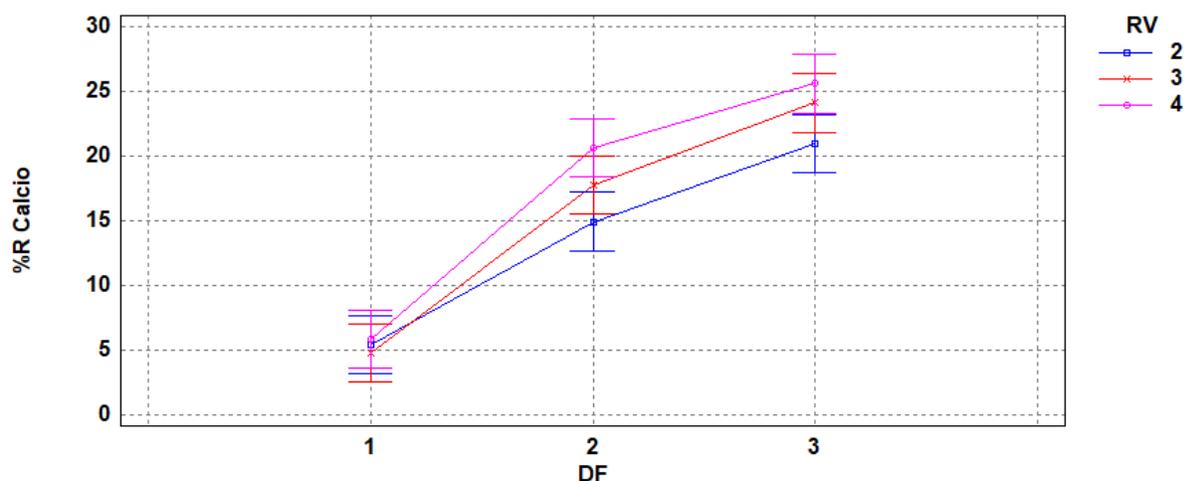
4.1 Porcentajes de Remoción de minerales durante el proceso de Diafiltración.

Los resultados con respecto al calcio, se describen en la tabla 3, en donde CUF corresponde al concentrado obtenido por UF, CDF corresponde al concentrado obtenido posterior a la dilución y concentración de la muestra por medio de la membrana de UF, PDF corresponde al permeado de la Diafiltración y RV corresponde a la relación volumétrica.

Tabla 3. Determinación de Calcio según parámetros de diseño y % R

DF	RV	CUF (ppm) Ca	CDF (ppm) Ca	PDF (ppm) Ca	%R Ca
1	2	1,394	1,319	0,152	5,400
2	2	1,348	1,147	0,227	14,931
3	2	1,320	1,043	0,236	20,951
1	3	1,419	1,351	0,174	4,778
2	3	1,370	1,127	0,221	17,779
3	3	1,375	1,043	0,225	24,131
1	4	1,362	1,282	0,180	5,841
2	4	1,463	1,163	0,212	20,634
3	4	1,227	0,912	0,240	25,636
Desviación (sd)		0,044	0,041	0,018	1,077

Figura 6. Interacción de %R calcio en función de RV y DF



De acuerdo a los resultados se puede evidenciar el grado de desmineralización obtenido, el cual fue mayor a medida que el volumen de agua aumenta, hasta poder alcanzar niveles superiores al 20% de remoción. Así mismo, los valores obtenidos evidenciaron un aumento considerable, cuando la variable DF fue mayor. El valor del ANAVA al 5% mostró que el % de remoción para este mineral no es estadísticamente significativo para la interacción número de ciclos y relación volumétrica. Sin embargo, existe efecto estadísticamente significativo ($P < 0,05$), para los efectos separados (Figura 6).

De acuerdo a la Figura 6, existe una tendencia a aumentar el % de remoción de calcio a medida que aumentan los niveles de cada factor. Con respecto a los ciclos tiende a crecer independientemente del nivel mientras que para la RV se estabiliza en las etapas finales de los ciclos, concluyendo de esta manera que la variable ciclos afecta en mayor parte el mineral calcio. Estos resultados, coinciden con Baldasso *et al.*, (2011), donde concluyó que es más efectivo realizar el proceso de Diafiltración un mayor número de repeticiones con pequeños volúmenes de dilución.

Alexander *et al.*, (2011), realizó un estudio del cambio sobre la distribución de los minerales por efecto de los procesos de UD y DF, para esto realizó 3 experimentos hasta alcanzar un máximo de 5 repeticiones de DF. Obtuvo unos valores similares con respecto al mineral calcio, alcanzó un %R que vario entre 10% - 30%. De igual forma, los resultados de esta investigación, demostraron un efecto de dilución sobre el mineral Ca.

Los resultados anteriormente nombrados, concuerdan con la literatura puesto que una de las razones por la cual el calcio es considerablemente menor en su %R, con respecto a los demás minerales, es porque se encuentra ligado con las proteínas y están directamente asociados con la estabilidad de la estructura, principalmente se encuentran asociadas con la β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina (Bonnaillie & Tomasula, 2009). Por otra parte, se habla del Ca soluble e insoluble, en donde es posible disminuir la cantidad de Ca en ambos, aunque la fracción insoluble se diluye en una menor proporción (Alexander et al., 2011).

Cabe destacar, que una de las formas utilizadas para estabilizar y poder disminuir la pérdida de proteínas es la adición de cloruro de calcio, dado que permite formar enlaces fuertes con las proteínas y evitar de esta manera una desnaturalización a causa de procesos externos como por ejemplo las altas temperaturas o cambios en el pH (Azán & Rodas, 2016).

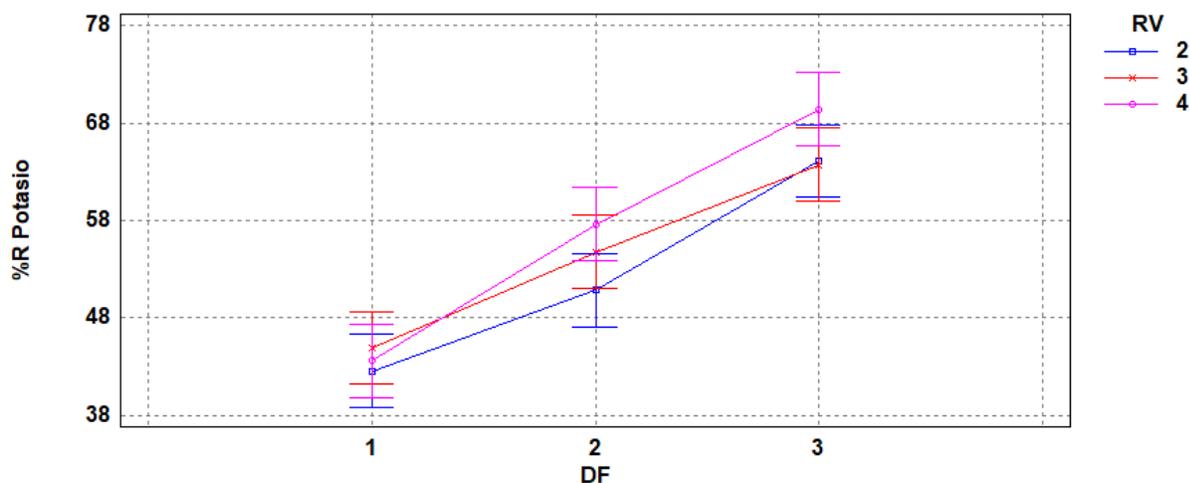
Tabla 4. Determinación de potasio según parámetros de diseño y % R

DF	RV	CUF (ppm) Potasio	CDF Potasio (ppm) Potasio	PDF Potasio (ppm) Potasio	%R Potasio
1	2	1,357	0,782	0,154	42,557
2	2	1,520	0,748	0,398	50,821
3	2	1,577	0,566	0,472	64,132
1	3	1,532	0,843	0,235	44,911
2	3	1,320	0,596	0,374	54,779
3	3	1,519	0,541	0,458	63,761
1	4	1,408	0,797	0,214	43,598
2	4	1,456	0,617	0,443	57,617
3	4	1,549	0,472	0,508	69,448
Desviación (sd)		0,093	0,046	0,032	1,782

En la tabla 4 se encuentran los porcentajes de remoción con respecto al mineral potasio. Si la comparamos con los valores obtenidos en relación al calcio, este mineral alcanzó un mayor % remoción y por consiguiente una mayor dilución, en este caso se obtuvieron valores superiores al 60%. Cabe destacar, que a medida que aumentamos los niveles

tanto de RV como de DF, el grado de dilución obtenido fue mayor hasta obtener valores cercanos a cero. Alexander *et al.*, (2011) obtuvo unos valores similares si comparamos la variable %R alcanzando valores entre 50% y un máximo del 80% aproximadamente. Debemos tener en cuenta que en este estudio la cantidad de repeticiones utilizada fue menor además el procedimiento correspondiente a la DF se realizó de manera continua a diferencia de esta investigación.

Figura 7. Interacción de %R potasio en función de RV y DF



El ANAVA mostró que no existe efecto de la interacción doble ($P > 0,05$) con respecto a las variables del proceso estudiada. Sin embargo, se mostró efecto de las variables separadas ($P < 0,05$), cuyo grafico de interacciones se muestra en la figura 7. Cabe destacar, que los mayores grados de dilución se obtienen en el DF 3, son los que implican un mayor grado de RV, de igual manera sucede en el nivel DF 2.

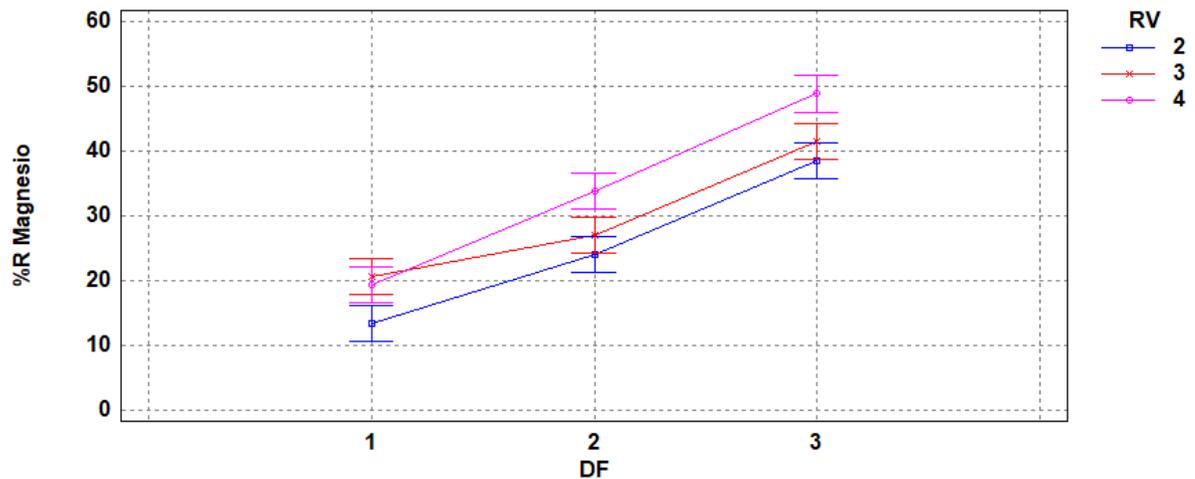
Estos valores reflejan un cambio en la distribución de los iones potasio, dicho por Alexander *et al.*, (2011) estos no interactúan específicamente con las caseínas a diferencia del calcio, además que todos los iones potasio en la leche son solubles. Por tanto, se espera que a medida que aumente el grado de dilución aplicado estos valores se encuentren cercanos a cero.

En la tabla 5, se muestran los resultados de magnesio según las variables DF y RV. Los valores indican que % de remoción del magnesio es mayor en comparación con los obtenidos al calcio.

Tabla 5. Determinación de magnesio según parámetros de diseño y % R

DF	RV	CUF (ppm) Mg	CDF (ppm) Mg	PDF (ppm) Mg	%R Mg
1	2	0,129	0,112	0,028	13,361
2	2	0,174	0,132	0,033	24,114
3	2	0,171	0,105	0,059	38,520
1	3	0,155	0,123	0,035	20,630
2	3	0,167	0,122	0,041	26,950
3	3	0,181	0,106	0,065	41,541
1	4	0,156	0,127	0,027	19,317
2	4	0,166	0,110	0,035	33,742
3	4	0,157	0,080	0,056	48,889
Desviación (sd)		0,010	0,009	0,005	1,323

Figura 8. Interacción de %R magnesio en función de RV y DF

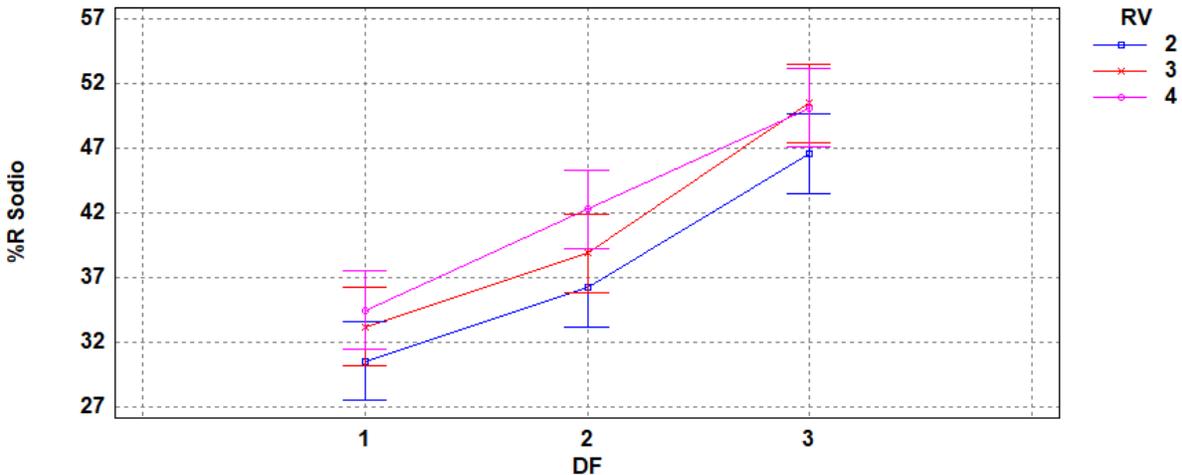


Los valores mostraron una % remoción que llego alcanzar un 48% aproximadamente, obteniendo valores máximos en el nivel DF 3 y RV 4. Cabe destacar que los valores finales se encuentran cercanos a cero. Con respecto al análisis estadístico observamos la figura 8, el efecto de la interacción doble en relación al mineral magnesio, se demostró que si existe efecto significativo ($P < 0,05$), con respecto a las variables del proceso estudiadas. A diferencia de los resultados obtenidos con el Calcio y Potasio, de esta manera el único mineral el cual independientemente de la variable a estudiar, se puede esperar una remoción significativa es del mineral magnesio.

Tabla 6. Determinación de sodio según parámetros de diseño y % R

DF	RV	CUF (ppm) Na	CDF (ppm) Na	PDF (ppm) Na	%R Na
1	2	0,687	0,478	0,263	30,510
2	2	0,667	0,425	0,296	36,223
3	2	0,708	0,378	0,209	46,582
1	3	0,714	0,476	0,264	33,155
2	3	0,762	0,465	0,219	38,866
3	3	0,619	0,306	0,253	50,523
1	4	0,669	0,440	0,209	34,467
2	4	0,780	0,448	0,277	42,271
3	4	0,616	0,307	0,262	50,140
Desviación (sd)		0,049	0,029	0,039	1,452

Figura 9. Interacción de %R sodio en función de RV y DF



Con respecto al sodio, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 6. Los valores %R obtenidos alcanzaron un máximo del 50% aproximadamente, similares a los resultados obtenidos con respecto al magnesio. Una de las diferencias encontradas con respecto a los demás minerales, es que los % remoción obtenidos inicialmente en las primeras etapas de DF's son considerablemente altos y similares al potasio, alcanzando unos valores cercanos al 30%.

Los análisis de resultado para el mineral Sodio indicaron que no existe efecto de la interacción doble ($P > 0,05$) pero si de los efectos individuales ($P < 0,05$). Adicionalmente,

los valores obtenidos en el nivel DF 3 y RV 3, 4 son los mejores obtenidos y los que alcanzan un %R mayor.

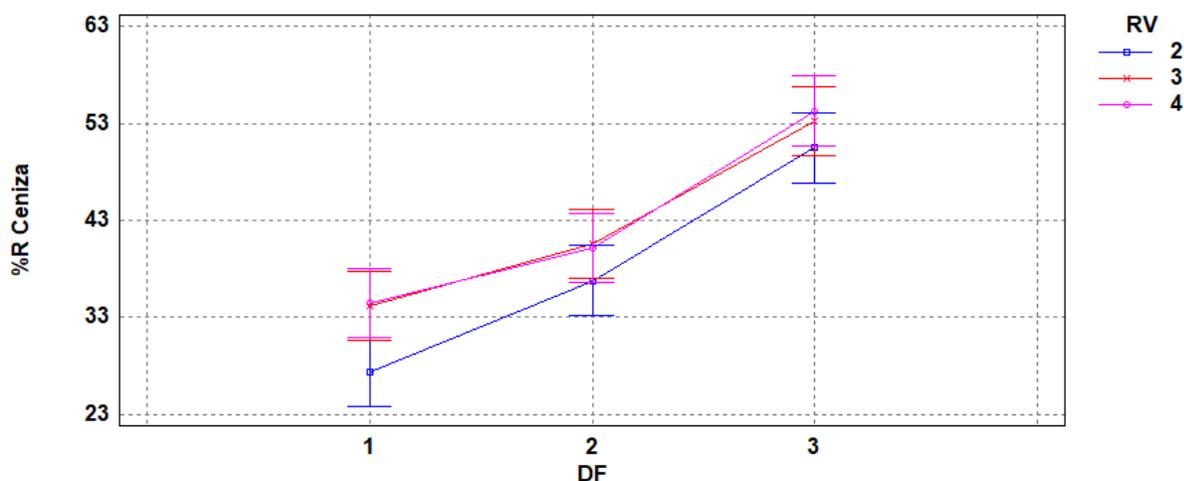
Finalmente, en la tabla 7 se encuentran los %R del mineral ceniza.

Tabla 7. Determinación de ceniza según parámetros de diseño y % R

DF	RV	CUF (%) Ceniza	CDF (%) Ceniza	PDF (%) Ceniza	%R Ceniza
1	2	0,911	0,663	0,095	27,301
2	2	1,023	0,646	0,178	36,793
3	2	1,199	0,600	0,197	50,474
1	3	0,966	0,636	0,132	34,132
2	3	0,962	0,572	0,145	40,538
3	3	1,027	0,481	0,213	53,225
1	4	1,025	0,672	0,047	34,461
2	4	0,921	0,550	0,165	40,201
3	4	0,892	0,405	0,215	54,299
Desviación (sd)		0,098	0,055	0,016	1,702

En comparación con los demás minerales se obtuvieron valores similares que con el sodio y magnesio alcanzando un porcentaje de rechazo superior al 50% en sus niveles máximos de dilución. Por otra parte, los valores iniciales mostraron %R que varían entre 30% aproximadamente, por lo que el proceso de DF se considera efectivo para este mineral a igual que el potasio y sodio, donde se diluyen de una manera considerable en las primeras etapas del proceso.

Figura 10. Interacción de %R ceniza en función de RV y DF



El valor del ANAVA al 5% mostró que el % de remoción para este mineral no es estadísticamente significativo para la interacción ($P > 0,05$). Sin embargo, existe efecto estadísticamente significativo ($P < 0,05$), para los efectos separados.

En un estudio realizado Barba *et al.*, (2001), concentró el lactosuero hasta obtener un WPC en polvo desmineralizado, para esto realizó la DF en dos baches. Con respecto a la ceniza, alcanzo valores del 5.8 g/L y diluyo hasta obtener 2.2 g/L equivalentes a una %R del 60% aproximadamente, similares a los resultados obtenidos en esta investigación.

En términos generales, observamos claramente el grado de desmineralización obtenido, el cual fue mayor entre los minerales Potasio, Cenizas, Sodio y Magnesio. A diferencia del calcio el cual, considerando el error estándar podríamos decir que es significativamente menor que los demás minerales.

4.2 Concentración de proteína y remoción de lactosa durante el proceso de DF

La tabla 8, muestra los resultados obtenidos con respecto a la concentración de proteína en función de las variables del diseño y el número de experimento, donde las muestras se midieron por triplicado.

Tabla 8. Determinación de proteína según parámetros de diseño

Experimento	DF	RV	CUF (%) Proteína	CDF (%) Proteína	PDF (%) Proteína
1	1	2	8,179	8,828	0,061
2	2	2	8,123	9,202	0,077
3	3	2	8,200	10,014	0,180
4	1	3	8,111	8,553	0,046
5	2	3	8,075	9,217	0,100
6	3	3	8,320	10,203	0,155
7	1	4	7,918	8,728	0,066
8	2	4	8,243	9,505	0,101
9	3	4	8,199	10,300	0,180
Desviación (sd)			0,128	0,130	0,014

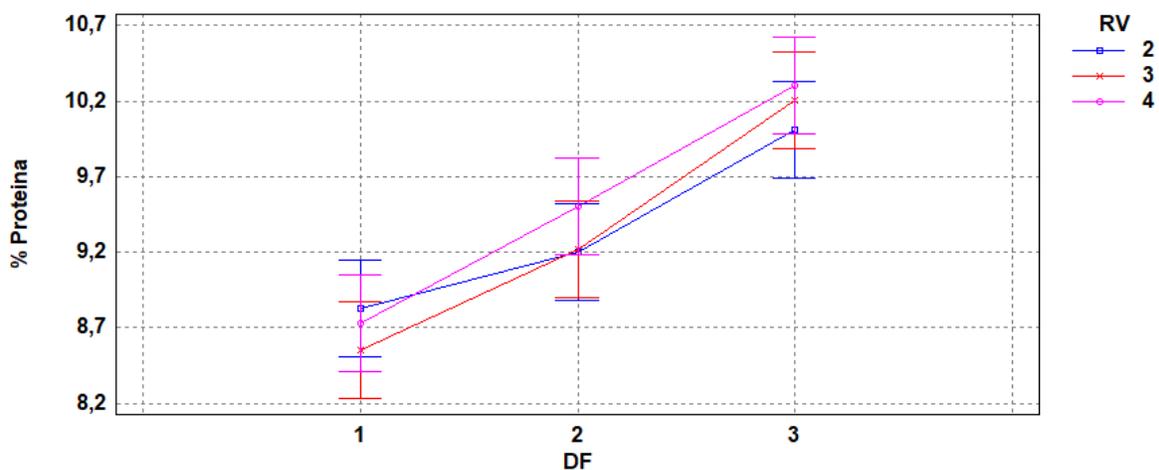
Inicialmente, las concentraciones obtenidas en el CUF son similares como se esperaba puesto que las muestras del concentrado se trataron de igual forma, la diferencia radica en la calidad del suero utilizado y esta depende tanto de la calidad de la leche como del proceso al cual se sometió la materia prima (Tamara, 2015). Así mismo, los valores obtenidos con respecto al CDF mayores, corresponden a las muestras que se asocian un mayor número de ciclos, específicamente los experimentos 3, 6 y 9. Estos datos coinciden con los encontrados en la literatura donde se pueden obtener mayores concentraciones por la acción del proceso de DF. Baldasso *et al.*, (2011) afirma que cuando el proceso de Diafiltración se combina con el de UF, se puede producir proteínas con alto grado de pureza, sin embargo el proceso se vuelve más improductivo si los ciclos de membranas se vuelven muy extensos, por causas de taponamientos de los poros, los cuales se vuelven problemas significativos cuando estas conllevan a largos tiempos de operación.

De acuerdo con Bonnaillie & Tomasula (2009), el proceso de DF es recomendable aplicarlo en conjunto con las tecnologías de membranas (UF, NF, MF, OI) para una concentración final del producto óptimo. De los resultados de la tabla 9 se puede evidenciar como la concentración de proteína va en aumento, donde la principal causa de dicho comportamiento es básicamente por la dilución de las sales minerales y Lactosa, el

cual permiten un aumento en la concentración final de la proteína (Jelemenský, Paulen, Fikar, & Kovács, 2015).

El valor del ANAVA al 5% mostró que la concentración de proteína no es estadísticamente significativa para la interacción de RV y DF ($P > 0,05$). Sin embargo, existe una diferencia significativa para el efecto individual del número de ciclos ($P < 0,05$) figura 11.

Figura 11. Interacción de % proteína en función de RV y DF



La figura 11 muestra como a medida que aumenta la cantidad de agua utilizada en el proceso de DF, aumenta la concentración de proteína. Sin embargo, la variable RV no afecta de manera directa la concentración, a diferencia de la variable ciclos el cual es estadísticamente significativa.

De acuerdo con Jelemenský *et al.*, (2015), especifica que hay un punto óptimo, en donde se determina el punto máximo de dilución, según la concentración de algún compuesto, este puede variar entre 6 y más número de ciclos de DF asociados al proceso. En este estudio se debe de tener en cuenta que la cantidad de ciclos utilizados es mayor debido a que la DF se realiza de manera continua a diferencia del proceso aplicado en particular por este proyecto, por lo que se puede controlar y realizar una cantidad considerable de repeticiones. Por otra parte, se debe considerar la relación costo beneficio, puesto que el consumo de agua asociada a cada repetición es muy alto y a medida que aumentan los

ciclos la concentración tiende a estabilizar en cierto punto y por ende no se hace rentable realizar un número de repeticiones muy alto.

Baldasso *et al.*, (2011), realizó un estudio de purificación de un concentrado de proteína de lactosuero por medio del proceso de UF, para esto realizó dos experimentos con 5 DF's cada uno, y varió los volúmenes de agua utilizados. La diferencia con respecto a esta investigación radica en los volúmenes de agua utilizados, puesto que realizó varios ciclos con volúmenes de agua pequeños. Los resultados obtenidos inicialmente durante la UF variaron entre los 25 g/L y 30 g/L, mientras que al final de la quinta DF alcanzó los 38 g/L.

De igual manera, un estudio realizado por Sluková *et al.*, (2016), realizó un proceso de UF de lactosuero y aplicó 3 ciclos de DF en donde obtuvo valores similares de la proteína, alcanzando los 40 g/L al final del proceso de DF, además de esto obtuvo una reducción considerable de lactosa. Como punto de comparación con respecto a Baldasso *et al.*, (2011) and Sluková *et al.*, (2016), con respecto a los sólidos obtenidos, estos autores lograron obtener valores cercanos a 65% de proteína en base seca, mientras que en los valores obtenidos durante esta investigación, teniendo en cuenta todos los ciclos de DF variaron entre 50% – 75%.

La estabilidad de las proteínas depende principalmente de la concentración de los minerales, como por ejemplo en la producción y elaboración de quesos, donde se adiciona Calcio para mejorar la textura y rendimiento del queso. Está comprobado que el calcio, permite estabilizar la α -lactoalbúmina cercano a su punto isoeléctrico, permitiendo ser más resistente a los tratamientos térmicos y de esta manera evitar una desnaturalización por agentes externos (Bonnaillie & Tomasula, 2009).

De acuerdo con Ferrer *et al.*, (2014), debido a las altas concentraciones de proteínas por causa de los procesos de DF's, este proceso altera el ambiente iónico que rodean las micelas de caseínas, a causa del efecto de dilución. Se concluye que, para poder modificar la composición, es necesario someter la materia prima a altos niveles de Diafiltración.

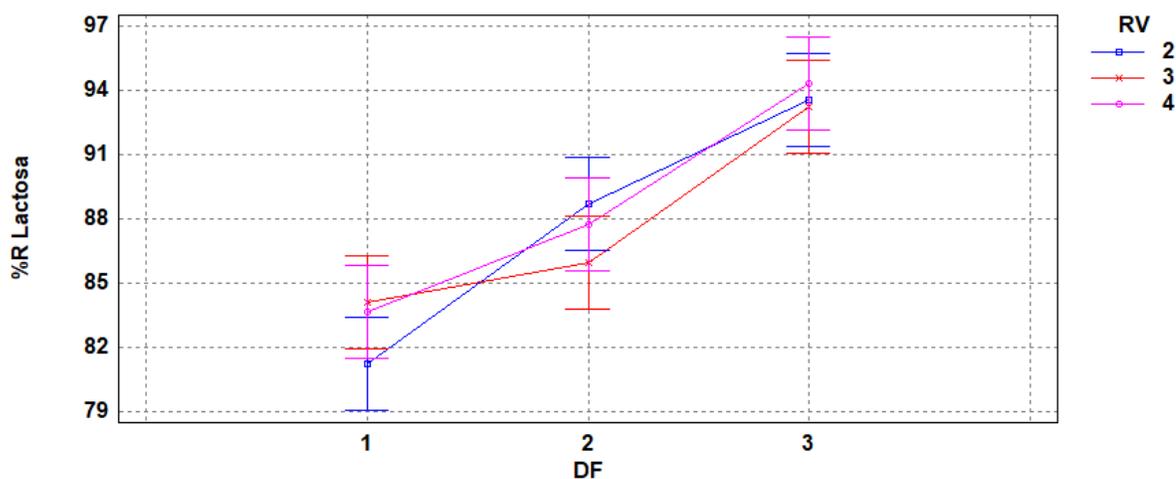
A partir de los resultados anteriores, se estudió las concentraciones de Lactosa en función del %R (tabla 10). Los resultados muestran que la lactosa corresponde al factor el cual contiene el mayor grado de dilución por efecto de la DF alcanzando valores de más del 90%, a diferencia de los minerales en donde obtuvimos un valor máximo del 69.0% correspondiente al potasio. Esto coincide con la literatura donde comúnmente se habla que la lactosa es el compuesto que más se afecta durante la concentración de proteínas por medio de la DF, en donde se pudieron alcanzar valores alrededor del 90.0% y se considera muy efectivo dicho proceso (Baldasso et al., 2011; Sluková et al., 2016)

Tabla 9. Determinación de lactosa según parámetros de diseño y % R

Ciclos	RV	CUF (g/L) Lactosa	CDF (g/L) Lactosa	PDF (g/L) Lactosa	%R Lactosa
1	2	45,597	8,571	9,519	81,241
2	2	47,776	5,390	12,737	88,691
3	2	48,877	3,153	16,736	93,558
1	3	46,652	7,440	9,507	84,072
2	3	45,486	6,372	12,238	85,933
3	3	47,171	3,147	16,757	93,276
1	4	49,587	8,085	9,224	83,625
2	4	48,429	5,876	13,424	87,731
3	4	50,675	2,872	16,239	94,314
Desviación (sd)		1,775	0,446	0,313	1,035

Los resultados del diseño experimental se pueden evidenciar por medio de la gráfica de interacciones (Figura 12).

Figura 12. Interacción de %R lactosa en función de RV y DF



El valor del ANAVA al 5% mostró que el %R para la lactosa no es estadísticamente significativo para la interacción de RV y DF ($P > 0,05$). Sin embargo, para el efecto individual de la variable DF, si existe diferencia estadística ($P < 0,05$) Figura 12.

De la figura 12, se puede apreciar que la variable ciclos aumenta gradualmente, mientras que la relación volumétrica fue aleatoria. Al igual que la proteína, los niveles de DF son significativos independiente a sus niveles, de manera que a medida que se aumente los número de ciclos, mayor es el grado de dilución. Aunque, con respecto a la RV, no resultó ser una variable significativa a la hora de evaluar la concentración de lactosa y su coeficiente %R.

Por lo anterior, se puede concluir que el factor ciclos como variable es más influyente a la hora de realizar las DF's, resultado que coincide con Baldasso *et al.*, (2011), donde observó que es más efectivo usar pequeños baches de DF y hacerlos repetidas veces que utilizar un gran volumen de agua una sola vez. Cabe resaltar que la lactosa es el compuesto más abundante presente en el lactosuero, con un bajo peso molecular el cual es separado en parte por la membrana de UF por su tamaño de corte el cual elimina en el permeado parte de la lactosa y los péptidos (Bonnaillie & Tomasula, 2009; Sluková *et al.*, 2016).

En un estudio realizado por Souza *et al.*, (2010), se analizó el proceso de UF complementado con la tecnología de DF para la evaluación del compuesto de lactosa.

Para esto aplico un ciclo de DF y logro obtener una dilución desde 34.90 g/L hasta 20.03 g/L de lactosa.

De igual manera, Barba *et al.*, (2001), concentró el lactosuero hasta obtener un WPC en polvo desmineralizado, para el primer ciclo, obtuvo una eliminación de 42.8 g/L hasta los 14.7 g/L de lactosa. Ya para el segundo ciclo, la lactosa disminuyó hasta 1.35 g/L. Finalmente, después de un proceso de secado por aspersión, el producto que se obtuvo fue un WPC con 83% de proteína. En comparación con esta investigación, estos resultados indican en función del %R unos valores entre 40% - 95% aproximadamente, la diferencia radica en la cantidad de repeticiones el cual aplicaron y el volumen de agua utilizada, siendo más efectivo una cantidad mayor de repeticiones (DF 3).

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

Con respecto a los minerales, se observó un grado de desmineralización eficiente, siendo principalmente efectiva con el potasio y ceniza. De igual manera hubo una eliminación del calcio, aunque en menor proporción dado que existe una porción de calcio insoluble ligado, además que hace parte fundamental de la estabilidad de algunas proteínas. Por otra parte, el resultado de significancia, se encontró como variable influyente la DF 3, mientras que la RV se encontraron mejores resultados en los niveles 3 y 4, los cuales son los equivalentes a mayores volúmenes de agua utilizados para realizar la dilución.

Para la proteína, la dilución de los demás compuestos presentes en la mezcla permitió como resultado obtener una mayor concentración, donde alcanzó un máximo del 75%. Como se demostró anteriormente a mayor volumen de agua o mayor número de ciclos aplicados, mayor fue la concentración de la proteína. Los mejores niveles de proteína obtenidos, se asocian a la variable DF 3, mientras que la RV no influyó en sus niveles de concentración de manera estadísticamente significativa.

El proceso de Diafiltración, fue efectivo con respecto a la eliminación de lactosa obteniendo valores de remoción de más del 90%, permitiendo así un lavado superior que los demás compuestos que componen el concentrado, bajo las mismas condiciones previamente determinadas. Es importante tener en cuenta que distintos autores llegaron a valores muy cercanos a cero, realizando un mayor número de repeticiones con respecto a la lactosa, potasio y cenizas. Finalmente, se puede concluir, que el mejor resultado obtenido fue con la variable DF 3, de igual manera que sucedió con la proteína.

Los resultados obtenidos, relacionan de manera indirecta la variable de número de ciclos, en donde, para todos los factores evaluados, dicha variable indicó que se considera estadísticamente significativa. Se puede concluir que el proceso de DF es efectivo, cuando se usan varias repeticiones, en vez de utilizar un volumen de agua muy grande.

5.2 Recomendaciones

Se debe considerar que, durante los procesos de filtración, los costos que implican una DF se incrementan a medida que los volúmenes de agua y el número de repeticiones aumenten. De esta manera, se recomienda una proyección económica para visualizar la viabilidad de aumentar las variables de dilución, con relación a un producto terminado.

Para el proceso de DF, con respecto al flujo de alimentación, es recomendable utilizar un sistema continuo para las repeticiones, el cual, la adición del agua se realiza al tanque alimentador de manera directa por medio de una tubería independiente y a la misma cantidad del flujo del permeado.

El concentrado de proteína a base de lactosuero dulce que se obtuvo, puede ser una excelente materia prima en la industria de alimentos, sin embargo, para lograr unas concentraciones mayores esta debe pasar por un proceso de eliminación de agua, como por ejemplo un proceso de secado por aspersion, para de esta manera, poder obtener WPC 90 o mayor, gracias a los tratamientos previos de desmineralización, y eliminación de lactosa en cantidades considerables.

Teniendo en cuenta los mayores porcentajes de minerales en lactosuero ácido, es recomendable realizar estudios con esta materia prima.

Bibliografía

- Alexander, M., Nieh, M., Ferrer, M. A., & Corredig, M. (2011). Changes in the calcium cluster distribution of ultrafiltered and diafiltered fresh skim milk as observed by Small Angle Neutron Scattering. <https://doi.org/10.1017/S0022029911000409>
- Alvarez, M. (2013). Caracterización físico-química de diferentes tipos de lactosueros producidos en Colanta, 1–42.
- Azán, I., & Rodas, C. (2016). *Evaluación del grado de desnaturalización de la proteína, calcio y fósforo de la leche durante el calentamiento utilizando un número de combinaciones de tiempo/temperatura y su influencia en la calidad y rendimiento del queso fresco elaborado*. <https://doi.org/scielo.org>
- Baldasso, C., Barros, T. C., & Tessaro, I. C. (2011). Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, 278(1–3), 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.05.055>
- Barba, D., Beolchini, F., Cifoni, D., & Veglió, F. (2001). Whey protein concentrate production in a pilot scale two-stage diafiltration process. *Separation Science and Technology*, 36(4), 587–603. <https://doi.org/10.1081/SS-100102948>
- Bonnaillie, L., & Tomasula, P. (2009). Whey Protein Fractionation. In *Whey Processing, Functionality and Health Benefits* (pp. 15–38). <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780813803845.ch2>
- Camacho, M. (2010). *Obtención de un concentrado proteico del suero de la leche de vaca utilizando tecnología de membranas*. <https://doi.org/http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/1657>
- Chacón, A. (2006). Tecnologías de membranas en la agroindustria láctea. *Mesoamerican Journal of Agronomy*, 17, 243–263. <https://doi.org/10.15517/am.v17i2.5164>
- Dane. (2015). *Elaboración de productos lácteos*.

- Ferrer, M., Alexander, M., & Corredig, M. (2014). Changes in the physico-chemical properties of casein micelles during ultrafiltration combined with diafiltration. *LWT - Food Science and Technology*, 59(1), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.037>
- Foegeding, E. A., & Luck, P. (2011). Whey Protein Products. In *The Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 873–878).
- Gil, M. (2007). *Industrialización de proteínas del lactosuero. Reciteia*.
- Gomez, J., & Sanchez, Ó. (2018). Producción de galactooligosacáridos: alternativa para el aprovechamiento del lactosuero, 3461.
- Guerrero, Gomez, Castro, González, & Santos. (2010). Caracterización físico-química del lactosuero en el valle de Tulancingo, 321–328.
- Guillermo, S., Miriam, G., Maritza, G., Francisco, G., Leonidas, M., & Maria, V. (2012). Aprovechamiento del suero lácteo de una empresa del norte antioqueño mediante microorganismos eficientes. *Produccion + Limpia*.
- Hernández, & Velez. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 8, 13–22.
- Jelemenský, M., Paulen, R., Fikar, M., & Kovács, Z. (2015). Time-optimal operation of multi-component batch diafiltration. *Computers and Chemical Engineering*, 83, 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2015.05.029>
- Kelly. (2003). Membrane Separation. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 1777–1786). <https://doi.org/10.1016/b0-12-227235-8/00290-x>
- Kelly, P. (2002). Membrane Separation. *Encyclopedia of Separation Science*, 189–210. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B0-12-226770-2/00101-0>
- Londoño, M., Sepulveda, J., Hernandez, A., & Parra, J. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 61(1), 4409–4421.
- Lopez Barreto, R. E., Becerra Jimenez, M. L., & Borrás Sandoval, L. M. (2018). Caracterización físico-química y microbiológica del lactosuero del queso Paipa. *Ciencia y Agricultura*, 15(2), 99–106.
- Marshall, K. (2004). Therapeutic applications of whey protein, 9(2), 136-156. <https://doi.org/10.1038/417505a>
- Marx, M., Sixt, A., Hofsommer, J., Wörthmann, M., & Kulozik, U. (2019). Manufacturing of demineralized whey concentrates with extended shelf life: Impact of the degree of demineralization on functional and microbial quality criteria. *Food and Bioprocess Processing*, 114, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.10.011>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2018). *Sector lácteo Colombiano*.
- Mistry. (2011). Cheese: Membrane Processing in Cheese Manufacture. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 618–624). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12->

374407-4.00075-3

- Pablo, J., Muset, G., & Castells, M. (2017). *Valorización del lactosuero*.
- Pan, K., Song, Q., Wang, L., & Cao, B. (2011). A study of demineralization of whey by nanofiltration membrane. *Desalination*, 267(2–3), 217–221. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.09.029>
- Parra, R. (2009). Lactosuero: Importancia En La Industria De Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 62(1), 4967–4982.
- Perez, A. (2010). *Interés de la aplicación de las tecnologías de membranas en la industria de alimentos*. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA).
- Riquelme, L. (2010). *Desarrollo por Ultrafiltración de un concentrado proteico a partir de lactosuero*.
- Román, A., Wang, J., Csanádi, J., Hodúr, C., & Vatai, G. (2009). Partial demineralization and concentration of acid whey by nanofiltration combined with diafiltration. *Desalination*, 241(1–3), 288–295. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.12.054>
- Saavedra, A., & Romero, J. (2006). *Aspectos generales sobre procesos y tecnologías de membranas*.
- Sanmartín, B. (2010). *Aprovechamiento del suero de quesería de origen caprino mediante la obtención de concentrados de proteínas séricas y subproductos de clarificación*. *Estudios de sus propiedades tecnológicas*.
- Schwartz, L. (2016). *Diafiltration: A Fast, Efficient Method for Desalting, or Buffer Exchange of Biological Samples*. *Pall Life Sciences*. Retrieved from http://www4.pall.com/pdf/02.0629_Buffer_Exchange_STR.pdf
- Sluková, M., Hinková, A., Henke, S., Smrž, F., Lukačíková, M., Pour, V., & Bubník, Z. (2016). Cheese whey treated by membrane separation as a valuable ingredient for barley sourdough preparation. *Journal of Food Engineering*, 172, 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.03.023>
- Sotto, A. (2008). *Aplicación de la tecnología de membranas de nanofiltración y ósmosis inversa para el tratamiento de disoluciones acuosas de compuestos fenólicos y ácidos carboxílicos*.
- Souza, R., Bergamasco, R., da Costa, S., Feng, X., Bernardo, S., & Gimenes, M. (2010). Recovery and purification of lactose from whey. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 49(11), 1137–1143. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2010.08.015>
- Tamara, C. (2015). *Aprovechamiento industrial del Lactosuero*.
- Utilización actual del lactosuero en Colombia. (2013).
- Varghese, S., Kolpe, R., & Amarinder, B. (2013). Development of whey-fruit-based energy drink mixes using D-optimal mixture design. *International Journal of Food Science*

and Technology, 48(4), 742–748. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12022>

Vegarud, G., Langsrud, & Svenning. (2000). Mineral-binding milk proteins and peptides; occurrence, biochemical and technological characteristics. *British Journal of Nutrition*, 84. <https://doi.org/10.1017/S0007114500002300>

Williams Mena, P. (2002). *Formulacion y elaboracion de dos bebidas refrescantes con base en suero dulce de queso Fresco y sabores de frutas*. Zamorano.

Wit. (2001). *Lecturer 's Handbook on whey and whey products*. European Whey Products Association.