

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

ESCUELA DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Proyecto Final de Graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos para optar por el grado de Licenciada en Ingeniería de Alimentos.

Evaluación de la incorporación del retenido de la operación de ultrafiltración de leche en la elaboración de un prototipo de producto lácteo estable a temperatura ambiente

Estudiante:
Michelle Xirinachs Robert
B37691

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
Febrero 2019

TRIBUNAL EXAMINADOR

Proyecto de graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos.

Elaborado por:

Michelle Xirinachs Robert

Aprobado por:



M. Sc. Ana Isabel Incer González
Directora del Proyecto



Lic. Diana Víquez Barrantes
Asesora del Proyecto



Lic. Ana Cristina Azofeifa Sánchez
Asesora del Proyecto



Ph. D. Eric Wong González
Presidente del Tribunal Examinador



Ph. D. Marianela Cortés Muñoz
Profesora designada

DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

El presente proyecto final de graduación posee confidencialidad parcial según los requerimientos de la empresa que financió el proyecto. La confidencialidad parcial representa una protección para la empresa interesada frente a posibles competidores, además de proteger sus productos. Según lo anterior, el presente se publica codificando y restringiendo la información que presente un riesgo.

DEDICATORIA

“A Dios, a mis papas y hermanos”

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios, por tantas bendiciones a lo largo de mi vida y por darme la mejor familia. A mis papas y hermanos, gracias por estar ahí, por ser el mejor soporte en todas las etapas, por apoyarme en todo momento y por siempre impulsarme a ser mejor persona.

Agradezco a la empresa solicitante del presente, por toda la ayuda en la realización de este proyecto, en especial al señor Marco Chaverri, por su dedicación durante todo el proceso.

A todo el personal del CITA y la Escuela de Tecnología de Alimentos, por brindar de su ayuda a lo largo del proyecto; en especial a Camacho y Alonso por su atención especializada en la Planta Piloto, a Sandra, Elba y Abel por su ayuda en los paneles sensoriales y a Giova y Luis por su indispensable colaboración en el laboratorio.

Gracias especiales a Ana Incer, por ser más que una directora de proyecto. Gracias por guiarme de la mejor manera durante este proceso, por atender mis dudas, por su disponibilidad, su entrega y por siempre estar presente en los altos y bajos.

A mis dos asesoras de proyecto, Diana Viquez y Ana Cristina Azofeifa, gracias por su dedicación, apoyo, disponibilidad y aporte tan valioso al proyecto.

A todos mis amigos y amigas que estuvieron presentes, en especial a Majo, Mel, Xime, Rody, Jessi, Meme y Rebe porque fueron mi compañía a lo largo de toda mi carrera. Gracias a mis amigas del alma y a Felipe, por ser parte de este logro.

A todas las personas que han estado presentes.
¡Muchas gracias!

ÍNDICE GENERAL

TRIBUNAL EXAMINADOR.....	ii
DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE CUADROS	xi
ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMEN	xiv
1. JUSTIFICACIÓN	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo General	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
3. MARCO TEÓRICO	4
3.1 Leche	4
3.1.1 Definición.....	4
3.1.2 Normativa	4
3.1.3 Composición química	6
3.1.4 Aporte nutricional.....	10
3.2 Procesamiento de la leche	11
3.2.1 Tratamientos térmicos	11
3.2.2 Cambios fisicoquímicos y sensoriales inducidos por el tratamiento térmico.....	14

3.2.3	Otras técnicas de procesamiento: filtración por membranas	17
3.3	Vida útil de los alimentos.....	21
3.3.1	Mecanismos de deterioro de los alimentos.....	24
3.3.2	Determinación de vida útil de los alimentos.....	26
3.3.3	Vida útil de la leche.....	32
3.4	Oferta en el mercado: productos alimenticios altos en proteína.....	37
4.	MATERIALES Y MÉTODOS	40
4.1	Localización del proyecto	40
4.2	Materia prima	40
4.3	Definición del prototipo de producto a elaborar	40
4.3.1	Caracterización fisicoquímica	40
4.3.2	Requisitos de la empresa	42
4.4	Evaluación del efecto del tratamiento térmico UHT sobre las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado.....	42
4.4.1	Descripción del proceso	42
4.4.2	Medición de variables respuesta	44
4.4.3	Análisis de datos.....	46
4.5	Evaluación de la estabilidad de las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado en la producción industrial durante el almacenamiento	47
4.5.1	Medición de variables respuesta	49
4.5.2	Análisis de datos.....	52
4.6	Métodos de análisis.....	53
4.6.1	Análisis proximal.....	53
4.6.2	Análisis de acidez.....	53
4.6.3	Color	53

4.6.4	pH.....	54
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
5.1	Definición del prototipo de producto a elaborar.....	55
5.1.1	Caracterización fisicoquímica.....	55
5.1.2	Reglamentación.....	58
5.1.3	Definición del prototipo a elaborar.....	60
5.2	Evaluación del efecto del tratamiento térmico por UHT sobre las variables fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado.....	61
5.2.1	Variables fisicoquímicas.....	61
5.2.2	Variables sensoriales.....	64
5.3	Evaluación de la estabilidad de las variables fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado en la producción industrial durante el almacenamiento.....	71
5.3.1	Variables fisicoquímicas.....	71
5.3.2	Variables sensoriales.....	76
5.3.3	Estimación de vida útil.....	85
6.	CONCLUSIONES.....	89
7.	RECOMENDACIONES.....	91
8.	REFERENCIAS.....	92
9.	ANEXOS.....	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Selectividad de los diferentes procesos de membranas aplicados a la leche.....	21
Figura 2. Pseudo ploteo del modelo de Arrhenius.....	30
Figura 3. Porcentaje de rechazo en función del tiempo de almacenamiento utilizando análisis estadístico de supervivencia.	31
Figura 4. Gráfico para la determinación del punto de corte.....	32
Figura 5. Esquema de la metodología descrita para la caracterización fisicoquímica de la materia prima.....	41
Figura 6. Esquema de la metodología descrita para la evaluación del efecto del tratamiento térmico sobre las propiedades sensoriales y fisicoquímicas del prototipo	43
Figura 7. Esquema de la metodología descrita para la evaluación de la estabilidad de las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo.....	49
Figura 8. Escala CIELab: parámetros L^* , a^* y b^*	63
Figura 9. Dendograma generado a partir de los resultados del panel sensorial de agrado general.	69
Figura 10. Agrado promedio de las muestras de leche comercial y prototipo pasteurizado y UHT de acuerdo al análisis de clusters.....	70
Figura 11. Cambio de la variable pH en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C del prototipo.....	73
Figura 12. Cambio de la variable L^* (a), a^* (b), b^* (c) y ΔE^* (d) en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C del prototipo.	74
Figura 13. Cambio de la variable arenosidad (a), recubrimiento bucal (b), sabor a cocido (c), olor a cocido (d) y color pardo (e) en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C del prototipo.	78
Figura 14. Dendograma generado a partir de los resultados del panel sensorial de agrado general del prototipo durante el almacenamiento.	81
Figura 15. Promedio de agrado general del prototipo con diferente grado de almacenamiento y de su leche homóloga comercial de acuerdo al cluster.	82

Figura 16. Conformación de los clusters según frecuencia de consumo de leche.	82
Figura 17. Conformación de los clusters según el tipo de leche que consume con mayor frecuencia.....	83
Figura 18. Agrado general del prototipo durante el almacenamiento a 37 °C.	84
Figura 19. Imagen (vista superior) del prototipo durante el almacenamiento a 37 °C.	86
Figura 20. Imagen (vista lateral) del prototipo durante el almacenamiento a 37 °C.	86
Figura 21. Promedio de agrado en función de la intensidad del color pardo para la determinación del punto de corte.	87
Figura 22. Intensidad de color pardo en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C.	88

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro I. Características físicas y químicas de la leche fluida de vaca.	5
Cuadro II. Composición química de la leche de vaca.	6
Cuadro III. Temperaturas de almacenamiento recomendadas para estudios de vida útil acelerados, según el producto.	28
Cuadro IV. Vida útil (meses) de diferentes leches comerciales UHT a temperatura ambiente.	33
Cuadro V. Descripción de bebidas altas en proteína del mercado.	38
Cuadro VI. Condiciones del tratamiento térmico UHT aplicado.	43
Cuadro VII. Atributos sensoriales evaluados en el prototipo elaborado mediante pruebas de discriminación 2-AFC.	44
Cuadro VIII. Frecuencia de muestreo, temperatura y tiempo total de almacenamiento para la evaluación de las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo.	48
Cuadro IX. Descriptores generados por el panel entrenado para la evaluación sensorial del prototipo durante el almacenamiento.	50
Cuadro X. Análisis proximal, pH, acidez y color de la materia prima en estudio y de leche descremada y pasteurizada.	55
Cuadro XI. Promedios de las variables fisicoquímicas evaluadas en el prototipo para determinar el efecto del tratamiento térmico por UHT sobre las mismas.	61
Cuadro XII. Determinación del efecto del tratamiento térmico por UHT sobre las características sensoriales del prototipo elaborado utilizando pruebas sensoriales de discriminación 2 AFC con n=40.	65
Cuadro XIII. Promedio de agrado general de leches comerciales y muestras de prototipo pasteurizado y prototipo UHT.	68
Cuadro XIV. Promedio de agrado de las muestras de leche comercial y prototipo pasteurizado y UHT para cada grupo obtenido del análisis de <i>clusters</i>	70
Cuadro XV. Probabilidad asociada obtenida del análisis de regresión lineal para cada una de las variables fisicoquímicas analizadas al prototipo durante el tiempo de almacenamiento.	72

Cuadro XVI. Parámetros estimados para la regresión lineal de las variables L^* , a^* , b^* y ΔE^* en función del tiempo de almacenamiento.....	75
Cuadro XVII. Probabilidad asociada obtenida del análisis de regresión lineal para cada una de los descriptores sensoriales analizados al prototipo durante el tiempo de almacenamiento.	77
Cuadro XVIII. Parámetros estimados para la regresión lineal de los descriptores sensoriales en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C del prototipo.	79
Cuadro XIX. Promedio de agrado general del prototipo con diferente tiempo de almacenamiento y de su leche homóloga comercial.	80
Cuadro XX. Parámetros estimados de la regresión lineal del agrado del prototipo durante el almacenamiento a 37 °C.	85

ABREVIATURAS

AFC: *Alternative Forced Choice*

ANDEVA: Análisis de varianza

AOAC: *Association of Official Analytical Chemists*

Aw: Actividad de agua

CITA: Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

ETA: Escuela de Tecnología de Alimentos

FRV: Factor de reducción volumétrica

GMP: Glicomacropéptido

HTST: *High Temperature – Short Time*

IFT: *Institute of Food Technology*

LTLT: *Low Temperature - Long Time*

MF: Microfiltración

MPC: *Milk Protein Concentrate*

NF: Nanofiltración

OI: Ósmosis Inversa

RTCA: Reglamento Técnico Centroamericano

RTCR: Reglamento Técnico de Costa Rica

UAT: Ultra Alta Temperatura

UF: Ultrafiltración

UHT: *Ultra High Temperature*

WPC: *Whey Protein Concentrate*

RESUMEN

El presente proyecto buscó darle valor agregado al retenido de la operación de ultrafiltración de leche, mediante la evaluación de la incorporación de dicha materia prima en el desarrollo de un prototipo de producto lácteo estable a temperatura ambiente.

Se realizó la caracterización fisicoquímica de la materia prima en estudio, donde se evidenció que el retenido de ultrafiltrado de leche presenta una composición fisicoquímica similar a la de una leche comercial descremada, con mayor contenido de proteína y calcio, producto de la concentración de la operación de ultrafiltración. El retenido caracterizado cumplió con las especificaciones que debe reunir la leche según el Reglamento Técnico de Costa Rica (RTCR), de manera que se procedió a definir la formulación del prototipo haciendo uso de un X% de retenido que cumple con la especificación.

Se evaluó el efecto del tratamiento térmico por Ultra Alta Temperatura (UHT) sobre las variables fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado, donde el pH, la acidez y el parámetro de color L^* no presentaron diferencia significativa, con un 95 % de confianza. Los parámetros de color a^* y b^* presentaron un aumento significativo ($p < 0,001$; $\alpha = 0,05$) indicando la presencia de coloraciones pardeadas, producto de la reacción de Maillard, luego de aplicar el tratamiento. Los resultados son esperados para el tipo de producto evaluado, según los cambios que experimenta la leche al exponerse a tratamientos térmicos.

El perfil sensorial se vio alterado de manera significativa al aplicar el tratamiento UHT, ocasionando la aparición de coloraciones pardeadas y de *off-flavours*, los cuales fueron detectados por los consumidores. Sin embargo, su agrado no presentó diferencia significativa respecto al agrado de una leche comercial descremada, indicando una aceptabilidad comparable con este tipo de leche, la cual es la de mayor consumo en la población costarricense.

Por último, se realizó un estudio de almacenamiento exploratorio, donde se observó un aumento significativo en el color pardo del prototipo, siendo ésta la variable crítica de deterioro. Además, se observó un cambio significativo en el perfil sensorial del prototipo, así como una disminución significativa en el pH. Se estimó una vida útil preliminar a una temperatura de 37 °C de 72,72 días (2,4 meses) y de 218,16 días (7,3 meses) a 25 °C, tomando un valor referencia de Q_{10} de 2,5.

1. JUSTIFICACIÓN

El sector lácteo costarricense representa una parte importante de la economía de Costa Rica, así mismo tiene un fuerte impacto en el sector social del país. Según información recopilada por la Cámara Nacional de Productores de Leche (2017), la producción de leche durante el período de 1980 a 2016 estimada en millones de kilogramos, creció desde los 308 en el año 1980 a los 1135 en el año 2016. Lo anterior representa un crecimiento del 268,5% o bien un crecimiento anual promedio del 7,5%.

Se estima que, de la producción total anual de leche, un 60% se destina al sector formal de Costa Rica, mientras que el 40% restante es destinado al sector informal. Con respecto al sector formal, la Cámara Nacional de Productores de Leche (2013), indica que el 62% se industrializa formalmente en el país como leche fluida.

Además, el consumo per cápita de leche en Costa Rica en promedio es de 188,51 kg/año, siendo uno de los más altos de América Latina, nivel que se alcanza gracias a la autosuficiencia del país en la producción de leche (Barrientos & Villegas, 2010). Es por las razones anteriores, además de la tendencia actual de consumo de alimentos para bienestar y prevención de enfermedades según Zegler (2018), que el desarrollo de productos a partir de leche y/o derivados toma importancia en el mercado costarricense.

Actualmente, la empresa solicitante del proyecto, dispone de un equipo de ultrafiltración tangencial para leche, con el cual se obtiene un permeado que es utilizado para la estandarización de la leche destinada al proceso de elaboración de leche en polvo. Según lo anterior, el retenido obtenido representa entonces un subproducto para la empresa, por lo que el presente proyecto pretende evaluar la posibilidad de atribuirle un valor agregado o aplicación a nivel industrial.

La fracción de interés en este caso, el retenido, se compone de altas concentraciones de proteína de leche (Chacón, 2006), por lo que representa una buena opción para el desarrollo de productos gracias a su alto valor nutricional, principalmente debido a la concentración de la caseína de la leche. Sin embargo,

factores de procesamiento y almacenamiento deben ser evaluados previo al desarrollo de un producto de dicha naturaleza.

Estudios han demostrado que la exposición de la leche o sus derivados al calor puede afectar los componentes termolábiles y el equilibrio fisicoquímico, así como afectar sus propiedades sensoriales y nutritivas. Como consecuencia, ocurre la precipitación de las proteínas solubles sobre las caseínas, cambios estructurales en las membranas de los glóbulos de grasa, desmineralización, cambios oxidativos, degradación de la lactosa, entre otros. Así mismo, se señala que los cambios ocurridos dependerán de la intensidad del tratamiento térmico aplicado (Barrera, 2012).

Además, Datta & Deeth (2003) señalan que los principales cambios durante el almacenamiento de leche UHT se debe a reacciones proteolíticas, oxidativas y de Maillard, dando como resultado el desarrollo de sabores indeseables (*off-flavours*), precipitaciones y cambios de acidez, los cuales afectan la vida útil del producto.

Según lo anterior, las condiciones de procesamiento y almacenamiento constituyen un factor crítico a considerar a la hora de desarrollar un producto a partir del retenido de la operación de ultrafiltración de leche.

El desarrollo de un producto de dicha naturaleza aumentaría la competitividad, la diversificación y el valor agregado del mercado nacional. Además, al utilizar nuevas tecnologías, como la tecnología de filtración tangencial por membranas, abre las puertas a la tecnificación de procesos y a la versatilidad de producción en la industria de alimentos de Costa Rica.

Por lo tanto, el objetivo de la investigación consistió en evaluar la incorporación del retenido de la operación de ultrafiltración de leche en la elaboración de un prototipo de producto lácteo estable a temperatura ambiente, mediante pruebas fisicoquímicas y sensoriales a lo largo de sus etapas de procesamiento y almacenamiento. Los resultados servirán como base para un posible desarrollo de producto por parte de la empresa solicitante del proyecto.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Evaluar la incorporación del retenido de la operación de ultrafiltración de leche en la elaboración de un prototipo de producto lácteo estable a temperatura ambiente, mediante caracterización fisicoquímica del retenido y evaluación del efecto del tratamiento térmico y el tiempo de almacenamiento sobre las características sensoriales y fisicoquímicas del prototipo.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1 Definir el prototipo de producto lácteo a elaborar que incorpora el retenido de la operación de ultrafiltración de leche, a partir de la caracterización fisicoquímica del retenido, revisión bibliográfica y requisitos de la empresa.
- 2.2.2 Evaluar el efecto del tratamiento térmico por ultra alta temperatura sobre las características sensoriales y fisicoquímicas del prototipo elaborado mediante pruebas a nivel piloto, para la realización de una producción a escala en la empresa.
- 2.2.3 Evaluar la estabilidad de las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado en la producción industrial, en el tiempo, mediante un estudio de almacenamiento exploratorio, para el posible desarrollo de producto por parte de la empresa.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Leche

3.1.1 Definición

La leche, en su aceptación general, hace referencia a un líquido fisiológico secretado por las glándulas mamarias de los mamíferos, con la finalidad de satisfacer los requerimientos específicos de las crías en su primera fase de vida (Zavala, 2005). Así mismo, el Reglamento Técnico de Costa Rica define “leche” como “la secreción mamaria de animales bovinos sanos, obtenida mediante el ordeño, sin ningún tipo de extracción y/o adición, destinada al consumo en forma de leche fluida o a elaboración ulterior, debiéndose establecer su origen si se trata de otra especie animal” (RTCR, 2006).

La denominación de “leche”, sin indicación de la especie animal de que procede, se reserva a la leche de vaca. Toda leche que proceda de una hembra lechera, que no sea la vaca debe designarse por la denominación “leche” seguida de la especie animal de la que procede; por ejemplo “leche de cabra” (Gómez & Mejía, 2005).

Desde el punto de vista físico, la leche es una suspensión coloidal de partículas en un medio acuoso dispersante, de color blanco opalescente característico. En general, las partículas pueden presentar forma globular y estar constituidas por lípidos; o ser más pequeñas y corresponder a micelas proteicas que llevan unidas sales minerales (Quirós, 2016).

3.1.2 Normativa

Según la normativa que aplique en el lugar de procesamiento y comercialización de la leche, así son las características que ésta debe reunir. En el Cuadro I se resumen las especificaciones, según el Reglamento Técnico de Costa Rica para los diferentes tipos de leche fluida.

Cuadro I. Características físicas y químicas de la leche fluida de vaca.

Característica	Leche descremada¹	Leche semidescremada¹	Leche entera¹
Grasa (%)	Menor a 1	Mayor o igual a 1 y menor de 3	Mayor o igual a 3
Sólidos totales mínimos (%)	8,0	10,0	11,0
Sólidos no grasos mínimos (%)	8,0	8,0	8,0
Acidez (expresada como ácido láctico)	0,13-0,17	0,13-0,17	0,13-0,17
Cenizas máximo (%)	0,8	0,8	0,8
Proteína mínimo (N*6,38 %)	3,0	3,0	3,0
Densidad (Valores mínimos a T=15°C)	1,029	1,030	1,032
Punto de congelación (°C)	Min: -0,513 Max: -0,541	Min: -0,513 Max: -0,541	Min: -0,513 Max: -0,541

¹Reglamento Técnico CR N°33812-401 (RTCR, 2006).

Además de las características fisicoquímicas, se establecen especificaciones sensoriales, donde se indica que la leche debe estar limpia y libre de calostro, así como presentar un color blanco o marfil. Debe contener un aspecto uniforme, salvo en la leche no homogenizada, en donde la grasa forma una capa de color amarillo tenue, cuando se deja en reposo. La viscosidad debe ser normal sin desfase del estado coloidal y debe presentar olor y sabor propios, considerándose anormal cualquier otro sabor u olor ajeno que dé lugar a duda (RTCR, 2006).

3.1.3 Composición química

La leche de las distintas especies, directamente o en forma de producto derivado, puede considerarse fuente de macronutrientes y micronutrientes que juegan un papel nutritivo importante. La leche de vaca es una de las matrices más complejas de la naturaleza y está constituida principalmente por agua, proteínas, lactosa, grasa, vitaminas, minerales y enzimas (Gómez & Mejía, 2005). Las moléculas de menor tamaño, representadas por las sales, vitaminas y lactosa se presentan en un estado de disolución verdadera; mientras que las moléculas mayores como los lípidos, proteínas y enzimas aparecen en estado coloidal (Zavala, 2005).

Estos constituyentes varían entre sí por su naturaleza, tamaño molecular y solubilidad, entre otros parámetros propios del animal como la edad, especie, tipo de alimentación, medio ambiente y estado sanitario (Quirós, 2016). En el Cuadro II se presenta la composición química de la leche de vaca.

Cuadro II. Composición química de la leche de vaca.

Componente	Rango¹	Valor promedio²
Agua (%)	85,3-88,7	87,50
Proteína (%)	2,3-4,4	3,2
Grasa (%)	2,5-5,5	3,7
Lactosa (%)	3,8-5,3	4,8
Cenizas (%)	0,7-0,9	0,8

¹(WingChing & Mora, 2013)

²(Bidot, 2017)

3.1.3.1 Proteína

La composición de la proteína de la leche es un factor de suma importancia dentro de la industria láctea, ya que influye directamente sobre el rendimiento y la aptitud tecnológica de la leche (García *et al.* 2014). Las proteínas de la leche están compuestas por una mezcla de numerosas fracciones proteicas, de pesos moleculares diferentes. Estas se pueden clasificar en dos grandes grupos, que

corresponden a las caseínas, en un 80%, y a las proteínas séricas, en un 20% (Gómez & Mejía, 2005).

Las caseínas, son proteínas que se encuentran unidas principalmente a fosfato de calcio en una estructura sólida y esponjosa, llamada micela, que precipita cuando se acidifica la leche a un pH de 4,6 (punto isoeléctrico). Se han propuesto varios modelos de micelas de caseínas a lo largo de los años, indicando la presencia de una matriz compleja de proteínas con grupos de fosfatos de calcio dispersos en las micelas, con diámetros promedio de 150 a 200 nm y canales de agua en el interior de su estructura (Dalglish, 2011).

Las caseínas se clasifican en función de su movilidad electroforética como α -caseína, β -caseína y κ -caseína (García *et al.* 2014). El valor tecnológico de las caseínas obedece a su alto contenido de aminoácidos esenciales que se separan de la fase acuosa por acción de enzimas como la renina y la quimosina, que son responsables de la precipitación de la caseína en la elaboración de quesos (Gómez & Mejía, 2005).

Por otra parte, las proteínas séricas o también conocidas como proteínas del suero, contienen sulfuro en lugar de fósforo en su estructura y permanecen en disolución aun cuando la leche se acidifica. El nitrógeno proteico del lactosuero incluye a la β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, inmunoglobulinas, albúmina de suero, y otros compuestos nitrogenados minoritarios como la lactoferrina (García *et al.* 2014).

Las proteínas del lactosuero tienen una estructura típica de proteínas globulares compactas, con una secuencia en la que los grupos no polares, polares y cargados tienen una distribución relativamente uniforme. Las proteínas sufren un plegamiento intramolecular como resultado de la formación de puentes bisulfuro entre los grupos sulfhidrilo de las cisteínas, quedando la mayor parte de los grupos hidrofóbicos encerrados en el interior de la molécula. Es por esta razón que las proteínas del lactosuero no se agregan fuertemente, ni interactúan con otras proteínas, en estado nativo (Díaz, 2010).

3.1.3.2 Grasa

El contenido de grasa en la leche representa un costo energético importante para la producción de leche y desempeña un papel central en la determinación de la calidad de los productos lácteos, así como en el desarrollo de las propiedades físicas y sensoriales. Se presenta principalmente en forma de glóbulos rodeados por una membrana de naturaleza lipoproteica, compuesta por fosfolípidos y glicoproteínas y cuyo núcleo está constituido mayoritariamente por triglicéridos (Calvo *et al.* 2014).

La composición lipídica de la leche de vaca, se encuentra constituida por aproximadamente 78% de triglicéridos, mientras que el 12% restante está compuesto por colesterol, carotenoides, vitaminas liposolubles y lípidos estructurales. Dentro de los ácidos grasos, se han logrado identificar más de 416 ácidos diferentes, sin embargo, solo 10 de ellos están presentes por encima del 1,0%, los cuales son el butírico, caproico, caprílico, cáprico, laúrico, mirístico, palmítico, esteárico, oleico y linoleico. En términos generales, se compone de 70% ácidos grasos saturados; de los cuales un 11% corresponden a ácidos grasos saturados de cadena corta, 26% ácidos monoinsaturados y 4% ácidos poliinsaturados (García *et al.* 2014).

3.1.3.3 Lactosa

El hidrato de carbono de la leche es la lactosa, un disacárido constituido por glucosa y galactosa. Es el principal azúcar de la leche y único glúcido libre en cantidad importante. Para su absorción, la lactosa debe ser hidrolizada en el intestino delgado por la enzima lactasa, la cual está localizada en el borde de los enterocitos apicales de las vellosidades del intestino. Sin embargo, algunas personas presentan intolerancia basadas en alteraciones del metabolismo que impiden su digestión (Blanco, 2016).

3.1.3.4 Minerales, cenizas y sales

De los minerales presentes en la leche, el calcio es el más significativo desde el punto de vista nutricional, ya que está presente en forma abundante y fácilmente asimilable por el organismo. El fósforo también es considerable en la leche, pero de menor importancia nutritiva que el calcio ya que puede ser proveído por otras fuentes alimentarias comunes, además de bajas concentraciones de hierro y cobre (Zavala, 2005).

Las cenizas de la leche hacen referencia al residuo blanco que permanece después de la incineración de la leche a 600 °C y están compuestas principalmente por óxidos de sodio, potasio, calcio, hierro, fósforo y azufre. El azufre y fracciones de fósforo y hierro, proceden de las proteínas. Por otro lado, las sales de la leche son fosfatos, cloruros y citratos de potasio, sodio, calcio y magnesio. Los cloruros de sodio y los de potasio están totalmente ionizados, mientras que los fosfatos de calcio, magnesio y citrato están, una parte en forma soluble y otra en forma de complejos coloidales en equilibrio, muy débil, con el complejo caseína (Zavala, 2005).

3.1.3.5 Vitaminas

La mayor parte de la leche para consumo humano es tratada con calor para prevenir riesgos de salud pública causados por microorganismos patógenos presentes en la leche cruda. Estos procesos industriales destruyen algunos nutrientes, especialmente las vitaminas que están presentes naturalmente en la leche, y la magnitud de las pérdidas depende del nutriente y el método de procesamiento usado. Además de las altas temperaturas, el almacenamiento de la leche, así como las radiaciones lumínicas, producen pérdidas vitamínicas. Sin embargo, estos nutrientes destruidos durante el procesamiento se pueden reemplazar mediante la fortificación de la leche (Gómez & Mejía, 2006).

La leche contiene vitaminas liposolubles como la A, D, E y K, además de otras hidrosolubles como la B1, B2, B6, B12, C y ácido fólico (Zavala, 2005). Por lo general, la concentración de las vitaminas hidrosolubles se conserva

constantemente, sin embargo, en la vitamina C se observan fluctuaciones dependiendo de la alimentación del animal (Gómez & Mejía, 2006).

3.1.3.6 Enzimas

Las enzimas contenidas en la leche se aprovechan para efectos de inspección y control, ya que muchas de ellas influyen en la calidad de la leche y en el origen de distintas alteraciones (Gómez & Mejía, 2006). Éstas se encuentran distribuidas en toda la matriz alimentaria, sobre la superficie de los glóbulos grasos, asociadas a las micelas de caseínas y en forma simple en suspensión coloidal (Zavala, 2005).

En la leche de vaca se han detectado alrededor de 60 enzimas, donde su origen es difícil de determinar. Sin embargo, el estudio de dichas enzimas ha permitido controlar tratamientos térmicos debido a la sensibilidad al calor de algunas de ellas, mientras que otras funcionan como indicadoras de contaminación y actividad microbiana. Dentro de las enzimas de mayor importancia de la leche se encuentran las fosfatasas alcalinas, las lipasas, proteasas, xantinaoxidasas, peroxidasas y catalasas. De las anteriores, las fosfatasas alcalinas son utilizadas en la industria como indicadores de pasteurización deficiente (Arias, 2009).

3.1.4 Aporte nutricional

La leche tradicionalmente se ha considerado como un alimento completo y equilibrado, proporcionando un elevado contenido de nutrientes en relación al contenido calórico que presenta. Aporta proteínas de alto valor biológico, hidratos de carbono (fundamentalmente en forma de lactosa), grasas, vitaminas liposolubles, vitaminas del complejo B y minerales, especialmente calcio y fósforo (Fernández *et al.* 2015).

Las proteínas presentes en la leche son fácilmente digeribles y de alto valor biológico, ya que aportan los aminoácidos, incluidos los esenciales, para cubrir los requerimientos humanos, contribuyendo al desarrollo, recuperación y mantenimiento de los músculos (Gómez & Mejía, 2005).

Por otra parte, la lactosa participa en la síntesis de glucolípidos cerebrósidos, esenciales en el desarrollo neurológico temprano, y de glicoproteínas. Además, actúa facilitando la absorción de calcio (Fernández *et al.* 2015). Tanto la leche, como los derivados, se consideran la mejor fuente dietética de calcio, gracias al contenido y biodisponibilidad que presenta, de manera que contribuye al desarrollo óptimo de masa ósea, así como favorece procesos de señalización celular, transmisión neuromuscular y secreción glandular (Rovira, 2015).

Además de su valor nutricional, la leche se ha demostrado como un factor de primer orden en la prevención de patologías afluentes como la enfermedad cardiovascular, el cáncer y la osteoporosis. Puede contribuir también en la lucha frente al sobre peso y a la obesidad infantil (Fernández *et al.* 2015).

3.2 Procesamiento de la leche

3.2.1 Tratamientos térmicos

La leche, como fuente importante de macro y micro nutrientes, es uno de los alimentos más vulnerables a las alteraciones fisicoquímicas y de deterioración por microorganismos, limitando la durabilidad de la leche y sus derivados, además de causar problemas económicos y de salud pública (Barrera, 2012). Debido a esto, existen múltiples tecnologías para el procesamiento de la leche que permiten asegurar su inocuidad y aumentar su durabilidad.

El procesamiento térmico es una de las técnicas empleadas, cuyo objetivo radica en la destrucción total o parcial de la flora microbiana presente, según el tratamiento térmico que se aplique. Existen cuatro tipos de tratamientos térmicos más comunes aplicados a la leche; la pasteurización tradicional por largo tiempo (LTLT; “Low Temperature – Long Time”), la pasteurización rápida a alta temperatura (HTST; “High Temperature – Short Time”), la ultra pasteurización y la esterilización por ultra alta temperatura (UHT; Ultra High Temperatura) (Watts, 2016).

3.2.1.1 *Pasteurización LTLT y HTST*

El proceso de pasteurización fue desarrollado por Louis Pasteur y consiste en un método de calentamiento, donde los alimentos son sometidos a la aplicación de calor a una temperatura específica por un tiempo definido, con el objetivo de la destrucción de los microorganismos patógenos presentes, reduciendo el número a un nivel aceptable. Este principio comenzó a utilizarse en leche, sometida a una temperatura de 63 °C durante 30 minutos, sin embargo, investigaciones posteriores han determinado que se pueden utilizar diferentes combinaciones de tiempo y temperatura (González, 2007).

Las condiciones de la pasteurización están diseñadas para destruir efectivamente los microorganismos *Mycobacterium tuberculosis* y *Coxiella burnetti*. Este proceso puede realizarse como una operación discontinua, donde la leche es pasteurizada por lotes o por “pasteurización lenta a baja temperatura (LTLT)”, en la que el producto se calienta y se retiene en una cisterna cerrada, o bien como una operación continua “pasteurización rápida a alta temperatura (HTST), en la que el producto se calienta en un intercambiador de calor, donde cumple las condiciones específicas de tiempo y temperatura en un tubo de retención (Barrera, 2012).

En la pasteurización LTLT, las condiciones de tiempo y temperatura se conservan según el método tradicional implementado por Pasteur, 63 °C por 30 minutos, mientras que en la pasteurización HTST, se utilizan temperaturas que rondan los 72-75 °C por 15-20 segundos (Zavala, 2015).

3.2.1.2 *Ultra pasteurización y Esterilización UHT*

La ultra pasteurización propiamente dicha, es un proceso térmico que provoca la destrucción total de todo tipo de microorganismo aerobio y anaerobio presente en la leche, sin alterar de forma considerable su composición, olor, sabor y contenido nutricional. La fase de tratamiento térmico por ultra alta temperatura y ultra corta duración ocurre cuando el producto es sometido a 135-150 °C durante 3-5 segundos, dentro de un ultra pasteurizador de flujo indirecto o directo y posteriormente sometido a una fase de enfriamiento gradual (Rebolledo *et al.* 2001).

Es un proceso de flujo continuo, donde las condiciones de tiempo y temperatura de calentamiento son optimizadas de manera que radica en menores cambios fisicoquímicos en el producto, en comparación con otros métodos de pasteurización. El proceso debe ser diseñado de manera tal que la combinación de tiempo y temperatura garantice la esterilidad comercial del producto, por lo que factores como el tipo de producto, el perfil microbiológico que presenta, el equipo y empaque a utilizar deben ser considerados. Además, se busca lograr obtener un producto con características sensoriales aceptables durante la vida en anaquel (Scott, 2008).

La diferencia entre la ultra pasteurización y la esterilización UHT radica en las temperaturas utilizadas, así como en el tipo de envase y vida útil que presenta el producto. La temperatura utilizada generalmente en la ultra pasteurización es de 138 °C por 2 segundos, la cual es menor a la temperatura usada en el proceso UHT, la cual es de 145 °C por 3-5 segundos. La leche ultra pasteurizada posee una vida útil de hasta 90 días a temperaturas de refrigeración, mientras que la esterilización por UHT viene acompañada de un envasado aséptico, lo cual garantiza la esterilidad comercial del producto, con una vida útil alrededor de 6 meses a temperatura ambiente (Barrera, 2012).

En el tratamiento térmico por UHT, se puede utilizar vapor, agua caliente o electricidad como medios de calentamiento, donde el vapor y el agua caliente son los más utilizados. Estos sistemas pueden clasificarse en tratamientos térmicos directos e indirectos, donde en el sistema indirecto, el producto y el medio de calentamiento no tienen contacto, mientras que, en los sistemas de calentamiento directo, vapor culinario presurizado se mezcla directamente con el producto. Los medios de calentamiento directo incluyen inyección de vapor, infusión de vapor y superficie raspada, mientras que los de calentamiento indirecto incluyen tubos en espiral, tubos indirectos, placas indirectas, superficie raspada y electricidad (Scott, 2008).

3.2.2 Cambios fisicoquímicos y sensoriales inducidos por el tratamiento térmico

El procesamiento térmico de la leche es aplicado con la finalidad de asegurar la inocuidad, así como ampliar su vida útil desde el punto de vista microbiano y enzimático, sin embargo, puede ocasionar cambios indeseables en la leche a nivel estructural y sensorial. Walstra (1999) señala que el calor produce cambios fisicoquímicos en la leche que dependerán de la intensidad del tratamiento térmico aplicado, como: pardeamiento, desarrollo de sabores indeseables y ajenos a la leche (“*off-flavours*”), pérdida de calidad nutricional, inactivación de inhibidores bacterianos, entre otros.

3.2.2.1 Cambios nutricionales

De los constituyentes de la leche, las proteínas y las vitaminas son los que experimentan los mayores cambios fisicoquímicos durante y después del procesamiento térmico. Las proteínas pueden sufrir modificaciones en su estructura primaria, o bien en su estructura terciaria y cuaternaria, proceso denominado desnaturalización proteica. Al ocurrir una modificación en la estructura terciaria o cuaternaria, puede mejorar el valor biológico de las proteínas, ya que sus enlaces se encuentran más susceptibles a la acción enzimática. Por otro lado, la alteración en su estructura primaria puede reducir la digestibilidad y dar origen a residuos proteicos no biodisponibles (Zavala, 2015).

La desnaturalización proteica, inducida por la aplicación de calor, da origen a interacciones proteína-proteína, formando aglomerados, los cuales causan problemas de insolubilización y separación por formación de un gel que no se suspende en la fase acuosa. Estas interacciones ocurren principalmente en las proteínas del suero, las cuales son termolábiles. El proceso de desnaturalización de las seroproteínas inicia con la β -lactoglobulina, la cual expone sus grupos sulfhidrilo que posteriormente van a formar interacciones con otras proteínas séricas, así como con la κ -caseína, formando agregados proteicos (Raikos, 2010).

Por otro lado, las caseínas de la leche, son las proteínas que presentan mayor estabilidad térmica, sin embargo, en los tratamientos térmicos severos pueden sufrir

cambios sustanciales, por ejemplo, desfosforilación y agregación por interacciones moleculares (Raikos, 2010). Dichos cambios estructurales a nivel proteico se han asociado a la presencia de grumos en la leche o bien a un aumento de viscosidad de ésta durante su almacenamiento (Vuholm, 2016)

La mayoría de las vitaminas presentes en la leche son termolábiles. Estudios muestran que el contenido de folato, vitamina B12, vitamina B6 y vitamina C disminuye igual o menor al 10% después de la pasteurización. De las anteriores, la vitamina C es el compuesto más afectado, cuyas pérdidas llegan a un 20% del contenido original en el producto (Roginski, 2005). Por otra parte, la vitamina B2 y las vitaminas liposolubles A, D, E y K son muy estables al calor y por tanto no son afectadas considerablemente por el tratamiento térmico (Cep, 2016).

Respecto a la grasa, la membrana de glóbulos de grasa láctea se altera durante el procesamiento térmico, especialmente cuando conlleva agitación o flujos turbulentos. La agitación puede causar cambios en el tamaño del glóbulo debido a la alteración o coalescencia de la membrana, principalmente en el tratamiento por UHT. Esta ruptura, en conjunto con la desnaturalización de las proteínas y la exposición de la cisteína, provoca reacciones que dan lugar a la formación de una capa de proteínas de suero desnaturalizadas en las membranas de los glóbulos de grasa. Esta capa puede participar además en reacciones de Maillard, junto con la lactosa, dando lugar a coloraciones pardeadas y sabores indeseables (Fox *et al.* 2015).

Las reacciones de Maillard que ocurren en la leche durante su procesamiento térmico, así como durante el almacenamiento, comienzan con la unión del grupo aldehído de lactosa con el grupo amino de los residuos lisil (residuos del aminoácido lisina) de diferentes proteínas lácteas. Estas reacciones se favorecen en condiciones alcalinas y durante la exposición de la leche a altas temperaturas. Consiste en una serie de cambios cuya consecuencia es la formación de pigmentos de color marrón, como melanoidinas principalmente, polímeros como lactulosa-lisina o fructosa-lisina, así como ácidos de bajo peso molecular (Popov *et al.* 2008).

La lactosa, además de participar en la reacción de Maillard, sufre otros dos cambios estructurales, inducidos por el tratamiento térmico y el almacenamiento: la

formación de lactulosa y la formación de ácidos orgánicos. Al calentar a bajas temperaturas la leche bajo su condición ligeramente alcalina, la glucosa de la lactosa se epimeriza a fructosa, dando origen a la formación de lactulosa, compuesto que no ocurre en la naturaleza. En procesos de HTST, la cantidad de lactulosa formada no es considerable, sin embargo, ésta incrementa durante la esterilización UHT. Por lo tanto, la concentración de lactulosa en la leche es un indicador útil de la severidad del tratamiento térmico al que se ha sometido (Fox *et al.* 2015).

Por otro lado, la formación de ácidos ocurre por la degradación térmica de la lactosa. El ácido fórmico es el principal ácido formado, seguido por el ácido láctico el cual representa el 5% de los ácidos formados. Este proceso se potencia a condiciones superiores a los 130 °C, donde el pH puede disminuir hasta 5,8. Alrededor de la mitad del descenso de pH se debe a la formación de ácidos orgánicos a partir de la lactosa, mientras que el resto se debe a la precipitación del fosfato de calcio y a la desfosforilación de la caseína (Fox *et al.* 2015).

3.2.2.2 Cambios enzimáticos

Según Roginski (2005), varias enzimas endógenas de la leche son destruidas por la pasteurización. La desnaturalización de las lipasas y algunas proteasas limitan la formación de mal sabor en la leche pasteurizada, lo que contribuye a extender su vida útil. En contraste, muchas lipasas y proteasas de origen bacteriano son muy resistentes al calor y no pueden ser inactivadas por pasteurización (Barrera, 2012). Las cantidades de estas enzimas que sobreviven procesos de UHT pueden ser suficientes para causar sabores desagradables, tales como amargor, sabores rancios, y en algunos casos gelificación (Fox *et al.* 2015).

3.2.2.3 Cambios sensoriales

Los mayores cambios sensoriales en la leche se ven reflejados en el color de la misma, ya que durante su procesamiento y almacenamiento se potencian reacciones de Maillard y caramelización, dando lugar a coloraciones pardeadas. La

intensidad del color pardeado de la leche UHT es afectado por su composición, temperatura de homogenización, tratamiento térmico aplicado y condiciones de almacenamiento. Generalmente, los productos con mayor contenido de azúcares reductores y mayores temperaturas de procesamiento y almacenamiento, presentan mayor pardeamiento, afectando su percepción sensorial (Scott, 2008).

Por otra parte, los defectos en sabor asociados a la grasa de la leche, hacen referencia a sabores rancios y oxidados. Estos sabores resultan de la acción del oxígeno en ciertos componentes de la grasa, produciendo “*off flavours*” que se han descrito diversamente como oxidado, aceitoso y a pescado. Así mismo, la desnaturalización de las proteínas a causa del tratamiento térmico puede desarrollar sabores amargos en la leche (Gursoy & Kinik, 2002). Sin embargo, dichos cambios de sabor y color se ven potenciados principalmente durante el almacenamiento de la leche.

3.2.3 Otras técnicas de procesamiento: filtración por membranas

Otra opción para el procesamiento de leche fluida es la tecnología de filtración por membranas. Dicha tecnología se ha aplicado en la industria láctea desde principios de los años 60’s y sirve como alternativa viable para el procesamiento de los productos lácteos más tradicionales (Kumar *et al.* 2013).

Las técnicas de separación o filtración por membrana consisten en el uso de una membrana semipermeable como filtro, a una presión determinada, para concentrar o fraccionar un líquido. En dicho proceso, la corriente líquida circula tangencial o frontal a la superficie de la barrera permeable (membrana con poros de diferente tamaño), obteniéndose el fluido filtrado (permeado) del lado opuesto al de la barrera y quedando los sólidos en la porción de la corriente líquida que no atraviesa la membrana (retenido) (Gutiérrez, 2013).

Este proceso se utiliza principalmente para concentrar, purificar o fraccionar un líquido a través de un proceso de separación que se fundamenta en la permeabilidad a través de la membrana (Suarez *et al.* 1992). Además, son sistemas de bajo consumo energético, en comparación con las técnicas para concentrar que requieren de un cambio de fase, como es el caso de la evaporación, y es una

tecnología más amigable con el ambiente que permite minimizar los efectos negativos del uso de altas temperaturas, como cambios de fase, desnaturalización de proteínas y cambios en las propiedades sensoriales del producto (Kumar *et al.* 2013).

Las membranas utilizadas son de gran diversidad, tanto en forma como en materiales. En términos del material de fabricación, las membranas pueden estar constituidas por acetato de celulosa, de polímeros orgánicos (polisulfonas, propilenos, poliamidas, polisulfuros) o compuestas de sales inorgánicas (Al_2O_3 , TiO_2). De las anteriores, las membranas celulósicas tienden a ser más sensibles a la temperatura y al deterioro químico; por otro lado, las poliméricas resisten mejor a los factores anteriores, sin embargo, no soportan muy bien la compactación y los agentes clorados, a diferencia de las inorgánicas que se muestran como las más resistentes. En cuanto a la forma, pueden ser aplanadas o en forma de cartucho tubular de material permeable (Chacón, 2006)

La permeabilidad de la membrana está determinada por el tamaño de poro, la afinidad química con el material y el movimiento difusivo de los componentes. De las características anteriores, el tamaño de poro de la membrana, así como la presión aplicada, determinan el tipo de proceso. La filtración tangencial por membranas se clasifica entonces en microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y ósmosis inversa (OI) (Murillo, 2013), siendo el mayor tamaño de poro y la menor presión en microfiltración y las mayores presiones y menor tamaño de poro en osmosis inversa (Smith, 2013).

3.2.3.1 Microfiltración

La microfiltración es la técnica que utiliza las menores presiones y presenta un tamaño de poro capaz de permear partículas en un rango de 0,1 a 10 μm . Este tamaño de poro permite retener la mayoría de esporas, bacterias, hongos y levaduras, por lo que puede utilizarse como una técnica de pasteurización que no implica tratamiento térmico (Chacón, 2006). En la industria láctea, la microfiltración es comúnmente utilizada para la reducción de la carga bacteriana y para la estandarización de la proteína, principalmente la caseína (GEA, 2012).

3.2.3.2 Ultrafiltración

Los procesos de ultrafiltración consisten en la separación de partículas con peso molecular desde 1000 hasta 50000 Da. En estos casos, no solo el tamaño de los poros de la membrana afecta la separación, sino también la configuración espacial de las moléculas a separar y las interacciones entre su carga eléctrica y la carga del material de la membrana (Murillo, 2013). Las presiones son mayores que en la MF, oscilando entre 1,4 y 14 bar y el tamaño de poro oscila entre 1 y 100 nm (Kumar *et al.* 2013).

En la industria láctea, la ultrafiltración presenta un rango amplio de aplicaciones, entre ellas: estandarizar la proteína de la leche destinada a la elaboración de quesos y yogures, concentrar la proteína en leche fluida, decalcificar permeados, así como reducir el contenido de lactosa en leche (GEA, 2012).

El permeado del proceso de ultrafiltración de leche se compone de lactosa y sales minerales principalmente. El mismo se puede utilizar para estandarizar la leche, ya que es un producto que proviene de la misma. Por otra parte, este permeado se puede hacer pasar por el proceso de ósmosis inversa para la obtención de un concentrado en lactosa que puede ser utilizado para la producción de lactosa en polvo (con aplicaciones en la industria farmacéutica, la alimenticia o la alimentación animal). Así mismo, el permeado derivado del proceso de ósmosis puede ser utilizado como agua de reuso para la limpieza de los equipos (Gutiérrez, 2013).

Por otra parte, el retenido del proceso de UF, se caracteriza por la presencia de micelas de caseína, proteínas del suero, glóbulos de grasa, bacterias y células somáticas (Kumar *et al.* 2013). Debido a su composición, anteriormente se le ha buscado diferentes aplicaciones en la industria láctea, entre ellas se ha utilizado principalmente en la elaboración de quesos y yogures para la obtención de mayores rendimientos de producción. Además, se ha utilizado en la elaboración de leches enriquecidas, en la clarificación, estandarización y concentración de la leche y para la obtención de concentrados de proteína de leche en presentaciones líquidas y en polvo (Murillo, 2013).

3.2.3.3 Nanofiltración

La nanofiltración puede considerarse como un proceso dual, donde generalmente se aplica en conjunto con la ósmosis inversa. Suele involucrar una separación en base al tamaño molecular y otra basada en la carga eléctrica, lo que en teoría permite apartar los iones monovalentes de los polivalentes. Presenta punto de corte de moléculas que rondan los 200 a 1000 Da, con tamaños de poro inferiores a 2 nm (Chacón, 2006).

Con la nanofiltración es posible separar sales, azúcares simples, colorantes y aminoácidos. También permite la separación de iones monovalentes como sodio y cloruros, logrando una desmineralización parcial del suero, así como para generar leches deslactosadas (Bylund, 2003).

3.2.3.4 Ósmosis Inversa

En las membranas de ósmosis inversa, la presión aplicada es suficiente para sobrepasar la presión osmótica y, por difusión, pasar de una solución menos concentrada a una más concentrada. El proceso permite un punto de corte molecular de 100 Da y utiliza presiones muy elevadas, entre 13 y 80 bar (Smith, 2013). Consiste en un proceso en el cual se da la separación únicamente del agua presente en la leche (Chacón, 2006).

En la Figura 1 se muestra una comparación de las diferentes tecnologías de filtración por membranas aplicadas a la leche, según el tamaño de poro y los compuestos que retiene.

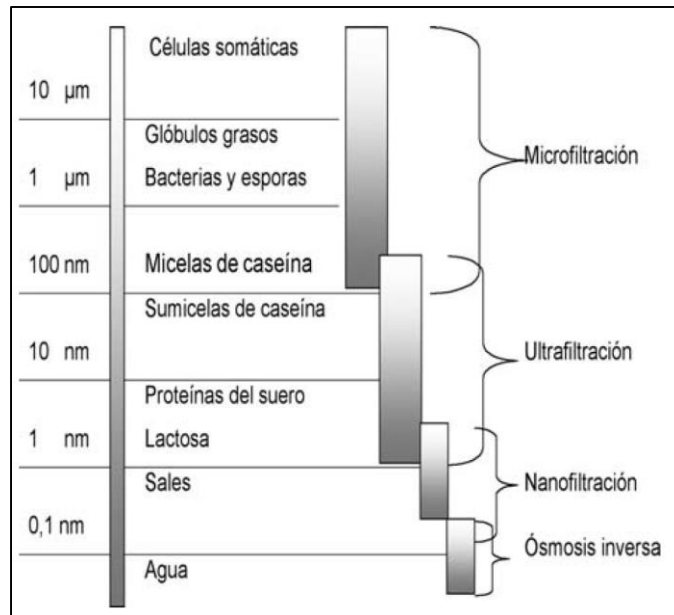


Figura 1. Selectividad de los diferentes procesos de membranas aplicados a la leche (adaptado de Chacón, 2006).

3.3 Vida útil de los alimentos

La vida útil de un alimento se define como “el período de tiempo durante el cual el alimento se conserva apto para el consumo desde el punto de vista sanitario, manteniendo las características sensoriales, funcionales y nutricionales por encima de los límites de calidad previamente establecidos como aceptables” (Hough & Fiszman, 2005). La misma debe ser establecida por el fabricante para cada alimento o producto en particular (Carrillo & Mondragón, 2011).

Una vida útil establecida inadecuadamente tanto a nivel sensorial como fisicoquímico y sanitario, puede llevar a la obtención de consumidores insatisfechos, que presenten quejas sobre el producto, lo que eventualmente puede afectar la aceptabilidad y las ventas, tanto del producto en cuestión como de productos relacionados con la marca que representa (Robertson, 2010).

La vida útil de un alimento varía según factores como: la materia prima utilizada, la formulación del producto, el proceso aplicado, las condiciones sanitarias durante el proceso, el envasado, almacenamiento y distribución del producto y las prácticas de los consumidores (Carrillo & Mondragón, 2011). Así mismo, Valencia y colaboradores (2008) señalan que es importante identificar los factores específicos

que afectan la vida útil del producto y evaluar sus efectos individualmente y en combinación. Éstos se pueden dividir en factores intrínsecos: materia prima (composición, estructura, naturaleza), actividad de agua, pH y acidez, así como factores extrínsecos: procesamiento, higiene y manipulación, materiales y sistemas de empaque, almacenamiento, distribución y lugares de venta. Por otra parte, a nivel sensorial, la vida útil de los alimentos en estantería depende de la aceptación, al interactuar el consumidor con el alimento.

Además de los factores mencionados, la velocidad de las reacciones de deterioro de los alimentos, así como la temperatura a la que el producto es expuesto, juegan papeles determinantes en su vida útil. La mayoría de las reacciones de deterioro que ocurren en los alimentos pueden clasificarse como de orden cero o de primer orden a nivel cinético y pueden emplearse para predecir el grado de deterioro de los alimentos en función de la temperatura y/o el tiempo (Robertson, 1999; Azofeifa, 2016).

Las reacciones de orden cero pueden explicarse mediante la Ecuación 1 y las de primer orden mediante la Ecuación 2. Ambas ecuaciones son una función de la calidad ($Q(A)$) del alimento a un tiempo determinado (t) (Valentas, 1997).

$$Q(A)_t = A_0 - kA_t \text{ (Ecuación 1)}$$

$$Q(A)_t = \ln\left(\frac{A_0}{kA_t}\right) \text{ (Ecuación 2)}$$

Donde, k = constante de la velocidad de la reacción de deterioro, A_0 = calidad del alimento en el tiempo inicial y A_t = calidad del alimento a un tiempo determinado t .

Valentas (1997) señala la calidad general de productos congelados y el pardeamiento no enzimático como reacciones de orden cero, mientras que dentro de las reacciones de primer orden señala la pérdida vitamínica, el crecimiento microbiano y la pérdida de textura durante el tratamiento térmico. Además de estas reacciones, Hough y Fiszman (2005) ubican la degradación enzimática de frutas frescas y vegetales y la oxidación de lípidos en alimentos congelados como reacciones de orden cero, y la rancidez en aceites o en alimentos deshidratados como reacciones de primer orden.

Por otra parte, varios autores han desarrollado ecuaciones que permiten relacionar la vida útil de los alimentos y la temperatura. El modelo de Arrhenius es uno de los modelos que mejor representa la relación entre la velocidad de reacción de deterioro de los alimentos y la temperatura; su modelo lineal se expresa en la Ecuación 3 (Hough & Fiszman, 2005).

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{RT} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde, k = constante de la velocidad de la reacción de deterioro, k_0 = constante de Arrhenius, E_a = energía de activación (Jmol⁻¹), R = constante de gases ideales (8,314J K⁻¹mol⁻¹) y T = temperatura (K).

Otra alternativa a la ecuación de Arrhenius es la representación de la variación de la vida útil de un alimento a dos temperaturas diferentes. Si la diferencia entre ambas temperaturas es 10°C, se cumple lo que expresa la Ecuación 4 y en la Ecuación 5, cuando la diferencia de temperaturas es diferente de 10 °C (Robertson, 1999; Azofeifa, 2016). Ambas ecuaciones utilizan el valor de Q_{10} , el cual expresa la razón obtenida por el aumento de la velocidad de las reacciones de deterioro cuando la temperatura del sistema aumenta en 10 °C. Por ejemplo, para reacciones enzimáticas, un $Q_{10}= 2$ es frecuentemente encontrado. Esto indica que la velocidad enzimática se duplica por cada 10 °C de aumento en la temperatura, hasta que ocurra la desnaturalización o inactividad de la enzima por la energía calorífica (Valentas, 1997).

$$Q_{10} = \frac{\theta_s(T)}{\theta_s(T+10^\circ\text{C})} \quad (\text{Ecuación 4})$$

$$Q_{10}^{\frac{\Delta}{10}} = \frac{\theta_s(T1)}{\theta_s(T2)} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde $\theta_s(T1)$ = vida útil a una temperatura $T1$, $\theta_s(T2)$ = vida útil a una temperatura $T2$ y Δ es la diferencia entre las temperaturas $T1$ y $T2$, donde $T2 > T1$.

3.3.1 Mecanismos de deterioro de los alimentos

El deterioro de los alimentos ocurre generalmente por efecto de la combinación de los factores intrínsecos y extrínsecos mencionados anteriormente. Existen tres mecanismos básicos de deterioro de los alimentos; deterioro químico, físico y microbiológico (Kopper, 1994).

3.3.1.1 Deterioro químico

El deterioro químico de los alimentos se debe a modificaciones en sus componentes principales como resultado de una serie de reacciones enzimáticas y no enzimáticas. Dentro de las reacciones catalizadas por enzimas se tiene: la aparición de sabores rancios en el alimento por la hidrólisis de las grasas, la modificación de sabor y valor nutricional a raíz de la proteólisis, cambios de color debido al pardeamiento enzimático, así como disminución del valor nutritivo por degradación de pigmentos (Carrillo & Reyes, 2013).

Por otra parte, las grasas sufren reacciones químicas de origen no enzimático, conocidas como rancidez oxidativa, donde se da la formación y liberación de peróxidos por exposición de las grasas al oxígeno, la luz y los metales (Carrillo & Reyes, 2013). Estas reacciones potencian sabores rancios en los alimentos, característicos del deterioro, así como pérdidas vitamínicas y de color (Robertson, 2010). Así mismo, las reacciones de pardeamiento no enzimático (reacción de Maillard y caramelización de los carbohidratos) generan pigmentos pardos y modifican el olor y sabor del alimento (Kopper, 1994).

3.3.1.2 Deterioro físico

Los cambios físicos en el alimento generalmente ocurren durante el almacenamiento y distribución. Algunos de los cambios físicos de deterioro en los alimentos son:

- **Modificación en textura:** ocurre por golpes o vibraciones durante el almacenamiento y distribución, así como por técnicas de conservación como lo es la congelación o la aplicación de altas temperaturas. La congelación

provoca daños irreversibles en la estructura celular que dan lugar a texturas suaves y blandas. Así mismo, la aplicación de altas temperaturas, como en el caso de la deshidratación, puede causar encogimiento del tejido, suavizamiento y pérdida de crujencia (Valentas, 1997).

- Ganancia o pérdida de humedad: debido a las condiciones de almacenamiento, un alimento puede ganar o perder humedad, lo cual en ambos casos puede ser adverso para la pérdida de la calidad. Por ejemplo, en polvos para elaborar bebidas, leches en polvo o recubrimiento de dulces, una ganancia de humedad genera problemas de solubilización y aglutamiento (Carrillo & Reyes, 2013).
- Marchitamiento: es provocado por la pérdida de humedad que se da en el proceso de transpiración de los vegetales (hojas, frutas y verduras), lo que se refleja en una pérdida de turgencia y brillo (Kopper, 1994).

3.3.1.3 *Deterioro microbiológico*

Diversos factores contribuyen a la presencia de microorganismos en los alimentos siendo la presencia endógena y las contaminaciones cruzadas las fuentes más comunes. Algunos microorganismos son los responsables del deterioro de gran parte de los alimentos, mientras que otros, los patógenos, tienen un papel muy importante en las enfermedades de origen alimentario al ser los principales causantes de las mismas. Por las razones anteriores, el control del deterioro microbiológico es estricto y siempre debe ser considerado al determinar la vida útil de un alimento (Valentas, 1997).

Entre los grupos de microorganismos que pueden desarrollarse en un alimento se encuentran: bacterias y hongos, los cuales son capaces de multiplicarse en los alimentos y deteriorar el producto; parásitos y virus, que, aunque no se desarrollan en los alimentos, utilizan éstos como vehículo. Estos microorganismos generalmente ocasionan cambios en el sabor, textura, apariencia visual y olor de los alimentos (Carrillo & Reyes, 2013).

El valor A_w puede limitar el crecimiento de los microorganismos, y por lo general cuando éste se reduce, la velocidad de crecimiento de los microorganismos

se ve disminuida igualmente. Otros factores que afectan el crecimiento de los microorganismos son: el potencial nutritivo del alimento, el pH y la presencia de compuestos antimicrobianos (Robertson, 2010; Azofeifa, 2016).

3.3.2 Determinación de vida útil de los alimentos

Los métodos utilizados para determinar la vida útil de un alimento generalmente se basan en una combinación de análisis subjetivos y objetivos. Las medidas subjetivas determinan el momento en que un consumidor en particular detecta algún cambio en el alimento, mientras que las mediciones objetivas identifican el tiempo en el cual la medición de un parámetro alcanza un valor determinado. Frecuentemente, las mediciones subjetivas y objetivas se correlacionan para evaluar la vida útil de cada alimento en específico (Reid *et al.* 2003; Ledezma, 2013).

En algunas ocasiones se tiende a confundir los estudios de vida útil y los estudios de estabilidad. En un estudio de vida útil, el principal interés es definir la vida útil del producto, mientras que, en los estudios de estabilidad, lo principal es la evolución de una o varias características del producto a lo largo del tiempo (Robertson, 2010; Azofeifa, 2016). En ambos casos, se debe tener conocimiento previo y total del producto a evaluar, incluyendo aspectos de componentes, procesamiento y almacenamiento, así como conocer y determinar parámetros relacionados al estudio, incluyendo tiempos de muestreo, temperaturas de almacenamiento, características a evaluar, cantidad de muestra y técnica del estudio (Giraldo, 1999).

De las características anteriores, es importante la determinación del número de muestras, ya que el estudio se realiza hasta lograr un deterioro apreciable en las muestras, por lo que las mismas deben ser suficientes. Así mismo, el diseño y preparación de dichas muestras es un factor crítico. Existen dos tipos de diseño aplicables a los estudios, ya sea de vida útil o de estabilidad (Araya, 2012):

- **Diseño básico:** consiste en almacenar un único lote de muestras en las condiciones seleccionadas e ir haciendo muestreos en los tiempos prefijados.

Este método presenta la ventaja de preparar todas las muestras una única vez, sin embargo, puede ser un factor limitante ya que cada tiempo de muestreo requiere de análisis individuales.

- **Diseño escalonado:** consiste en almacenar diferentes lotes de producción en las condiciones seleccionadas a diferentes tiempos, de forma que se logre obtener en un mismo día todas las muestras con los diferentes grados de deterioro y en ese día analizarlas. Este método repercute en una ventaja al reunir todas las muestras el mismo día, sin embargo, puede presentar la limitación de que se requieren varias producciones.

Tanto los estudios de vida útil como los estudios de estabilidad corresponden a estudios de almacenamiento, donde el tipo de alimento a evaluar determina la técnica empleada. Para alimentos frescos, o cuya vida útil es menor a los 6 meses, generalmente se realizan estudios bajo condiciones normales de almacenamiento, mientras que, para productos estables como los térmicamente procesados, se realizan estudios de almacenamiento acelerados (Mercado *et al.* 2016).

3.3.2.1 Estudios de almacenamiento acelerados

Los estudios de almacenamiento acelerados permiten obtener información en tiempos relativamente cortos; y consisten en incubar el alimento bajo condiciones controladas y a diferentes temperaturas. Estas temperaturas, en general, deben ser mayores a las de almacenamiento y comercialización para permitir que las reacciones de deterioro se aceleren y se obtenga una respuesta en períodos más cortos (Rodríguez, 2004).

En estos casos, la temperatura, además de ser uno de los factores más críticos que afecta las reacciones cinéticas en los alimentos, es el factor que presenta más bases teóricas disponibles para el desarrollo matemático sobre su efecto en la tasa de pérdida de calidad de los alimentos. Por esta razón, los estudios acelerados se basan en el modelo de Arrhenius descrito anteriormente en la Ecuación 3 (Ledezma, 2013)

El diseño de un estudio de almacenamiento acelerado, requiere de conocimientos de todas las disciplinas relacionadas con los alimentos. De manera general, pueden seguirse los siguientes pasos (Valentas, 1997):

1. Evaluar los factores de seguridad microbiológica del producto en estudio, de manera que el mismo no presente un riesgo para la salud en caso de utilizar técnicas sensoriales de evaluación.
2. Realizar pruebas preliminares y revisión bibliográfica que fundamente las condiciones de almacenamiento a utilizar y su durabilidad, así como las variables que serán cuantificadas u observadas y su límite de aceptabilidad.
3. Seleccionar el empaque del producto. Productos procesados térmicamente, congelados y acidificados pueden ser almacenados en el empaque actual del producto, mientras que productos secos deben ser almacenados en envases sellados bajo condiciones específicas de humedad y A_w .
4. Definir las temperaturas de almacenamiento, donde se deben tomar en consideración las condiciones del Cuadro III.

Cuadro III. Temperaturas de almacenamiento recomendadas para estudios de vida útil acelerados, según el producto (adaptado de Kopper, 1994; Valentas, 1997; Robertson, 2010).

Productos	Temperatura de almacenamiento (°C)	Temperatura control (°C)
Deshidratados	25, 30, 35, 40, 45	-18
Enlatados o procesados térmicamente	25, 30, 35, 40	5
Refrigerados	-2, 0, 4, 8, 10, 15	-20
Congelados	-5, -10, -15	-40

5. Para cada temperatura de almacenamiento, calcular la durabilidad del estudio según valores de Q_{10} reportados y/o pruebas preliminares. Para

productos donde los valores de Q_{10} se desconocen, se recomiendan mínimo tres temperaturas de almacenamiento.

6. Definir la frecuencia de muestreo para cada temperatura, la cual va a depender de la temperatura de almacenamiento y viene dada por la Ecuación 6.

$$f_2 = f_1 * Q_{10}^{\frac{\Delta T}{10}} \text{ (Ecuación 6)}$$

Donde, f_1 = frecuencia a la temperatura alta T_1 , f_2 = frecuencia a la temperatura baja T_2 y $\Delta T = T_1 - T_2$.

Al calcular la frecuencia, se debe tomar en cuenta que se requieren mínimo 6 puntos de muestreo para disminuir errores estadísticos; en cuyo caso de tener menos de 6 puntos, el nivel de confianza estadística se ve reducido significativamente.

7. Realizar el análisis de los datos, mediante la construcción del gráfico del Pseudo ploteo de Arrhenius. Éste consiste en graficar el logaritmo de la vida útil determinada a cada temperatura de almacenamiento con respecto a la temperatura y el valor Q_{10} se obtiene de la pendiente, como se observa en la Figura 2. Así mismo, se pueden realizar regresiones lineales para cada variable en estudio en función del tiempo, de manera que se evalúe su estabilidad. A partir de estas regresiones, suele determinarse la variable crítica del deterioro, siendo ésta la que presente cambios significativos en el tiempo y por ende arroje el menor tiempo de vida útil.

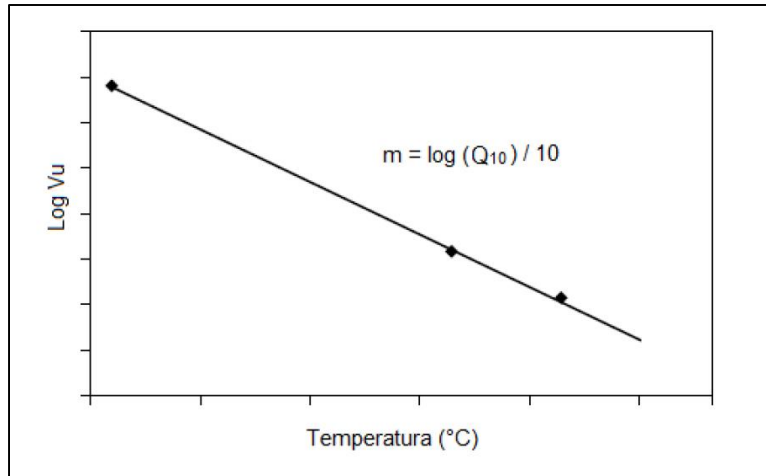


Figura 2. Pseudo ploteo del modelo de Arrhenius.

8. Extrapolar los tiempos de vida útil a la temperatura de interés para el producto, haciendo uso del gráfico del Pseudo ploteo de Arrhenius.

Durante el estudio, la medición o cuantificación de variables de interés puede realizarse mediante métodos instrumentales o sensoriales. Comúnmente se realiza mediante evaluación sensorial, ya que las características sensoriales del producto son las variables que determinan la aceptabilidad por parte del consumidor y permiten observar la preferencia, aceptación y el grado de satisfacción de los consumidores. Estos resultados se vuelven aún más útiles cuando se acompañan de mediciones instrumentales y cuando se logra encontrar una correlación de los datos (Sánchez & Pérez, 2016).

Las técnicas de evaluación sensorial, para la determinación de la vida útil de un producto, incluyen panelistas entrenados o con experiencia, análisis descriptivos, además de pruebas de aceptación con consumidores regulares del producto en evaluación empleando escalas hedónicas. Para estas últimas se recomienda reclutar al menos 100 consumidores (Hough & Fiszman, 2005; Azofeifa, 2016).

En dichas técnicas suele utilizarse el método de análisis estadístico de supervivencia. El uso de este método para estudiar la vida útil consiste en enfocar la estimación de la vida útil en el rechazo del producto por los consumidores. Se utiliza la función de rechazo $F(t)$, definida como la probabilidad de que un

consumidor rechace un producto almacenado antes del tiempo t . El riesgo no se enfoca sobre el deterioro del producto, sino sobre el rechazo del consumidor hacia el producto. Se debe tener en cuenta que el momento en que un consumidor rechaza el producto depende de los tiempos de almacenamiento en que éste prueba el producto, sin embargo, el tiempo t hasta que se produce el rechazo no se observa con exactitud, dando lugar a los llamados tiempos censurados (Sánchez & Pérez, 2016). En la Figura 3, se observa un ejemplo del método de análisis de supervivencia (Hough & Fiszman, 2005; Azofeifa, 2016).

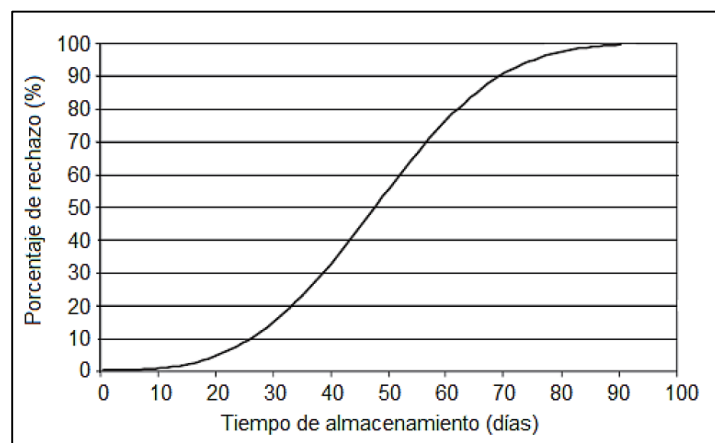


Figura 3. Porcentaje de rechazo en función del tiempo de almacenamiento utilizando análisis estadístico de supervivencia.

Así mismo, puede utilizarse la metodología de punto de corte, la cual consiste en la correlación de dos variables que van a limitar la vida útil de un producto. Para ello, generalmente se utilizan jueces entrenados, los cuales se encargan de evaluar de forma analítica las variables de deterioro de interés, mientras que, un panel de consumidores evalúa la aceptabilidad del producto y permite entonces conocer cuál es el valor de dichas características que limita la vida útil (Hough & Fiszman, 2005).

Además, se debe fijar un límite de aceptabilidad, el cual de acuerdo con Hough (2010), es elegido por el investigador de forma arbitraria de acuerdo con la escala empleada, o bien corresponde a calificaciones por debajo del punto medio de la escala (Valentas, 1997). Dicho límite de aceptabilidad se utiliza entonces para interceptar la recta de correlación y con ello determinar el punto de corte de las

variables de interés. En la Figura 4, se observa un ejemplo de la metodología descrita (Hough, 2010; Azofeifa, 2016).

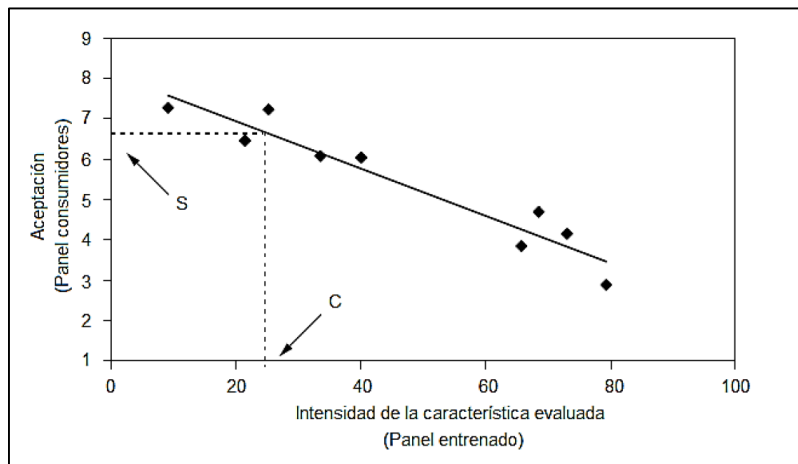


Figura 4. Gráfico para la determinación del punto de corte.

3.3.3 Vida útil de la leche

La vida útil de la leche pasteurizada se encuentra estrechamente relacionada con la calidad de la leche cruda utilizada, así como es dependiente de las condiciones de procesamiento, las cuales deben ser óptimas desde el punto de vista higiénico y técnico. La leche pasteurizada por métodos tradicionales presenta una vida útil de 5 a 7 días bajo condiciones de refrigeración o bien de 7-28 días cuando se aplica pasteurización HTST. Por otra parte, la vida útil de la leche UHT se extiende, al ser un producto con esterilidad comercial (Barrera, 2012). En el Cuadro IV, se presenta la vida útil de diferentes leches UHT a temperatura ambiente.

Cuadro IV. Vida útil (meses) de diferentes leches comerciales UHT a temperatura ambiente.

Leche UHT comercial	Vida útil (meses)¹
Entera 3,5 % grasa (1 L)	8
Entera 3,5 % grasa (450 y 750 mL)	3
Descremada 0 % grasa (250 mL y 1 L)	8
Semidescremada 1 % grasa (1 L)	8
Semidescremada 2 % grasa (1 L)	8
Deslactosada 3% grasa (1 L)	6

¹SOP, 2018.

3.3.3.1 Factores que afectan la vida útil de la leche UHT

- Calidad de la leche cruda inicial

La calidad de la leche cruda inicial se considera uno de los factores más determinantes de la vida útil de la misma. Esta se expresa como la cantidad de bacterias por mililitro de leche y va a determinar las condiciones necesarias de procesamiento. Los tratamientos térmicos se encuentran diseñados para reducir la carga microbiana a un nivel aceptable en términos de inocuidad. Sin embargo, si la calidad de la materia prima es mala, repercute en la eficiencia del tratamiento térmico y por ende en la vida útil de la leche (Barrera, 2012).

Además, el recuento de células somáticas también es tomado en cuenta por las industrias lecheras como un indicador de calidad higiénica ya refleja el estado de salud de la ubre del animal. La influencia del recuento de células somáticas en la leche cruda sobre la calidad de la leche fluida pasteurizada es causada por el aumento de niveles de proteasas y lipasas termoestables originarias de la vaca con altos recuentos de células somáticas (Barrera, 2012).

- Actividad enzimática residual y termorresistencia

La actividad enzimática residual se debe a la presencia de proteasas y lipasas de origen tanto endógeno como exógeno. Algunos autores han descrito la

termorresistencia de las proteasas nativas de la leche; por ejemplo, la termorresistencia de la plasmina y especialmente su precursor que es el plasminógeno. Por otra parte, el componente exógeno lo conforman enzimas tales como proteasas y lipasas, secretadas por bacterias psicotrópicas. Estas bacterias se ven favorecidas en su desarrollo por las condiciones de almacenamiento refrigerado previo a los tratamientos térmicos de alta temperatura en la industria. Las proteasas y lipasas de origen bacteriano presentan una marcada termorresistencia frente a tratamientos térmicos a temperaturas elevadas y pueden deteriorar finalmente el producto, manifestándose en olores y sabores desagradables, producto de la hidrólisis de la materia grasa, y pérdida de textura (apariencia mucilaginosa) producto de la acción proteolítica (Simpson *et al.* 2000).

- pH

Los valores normales de pH de la leche son 6,5 – 6,7; dentro de dicho rango la leche es bastante estable en los procesos de elaboración. Sin embargo, la disminución del pH a raíz del deterioro microbiológico o debido a la formación de ácidos orgánicos por degradación de la lactosa, así como por desfosforilación de la caseína, facilitan la agrupación de los glóbulos de grasa y de las micelas de caseína, perjudicando su vida útil, al ocasionar cambios sensoriales que pueden ser detectados por los consumidores (Huamani, 2012).

- La temperatura de almacenamiento y distribución

La temperatura de almacenamiento y distribución de la leche juegan un papel determinante en su vida útil. Ha sido demostrado que un aumento de 5 °C podría disminuir hasta la mitad la vida útil de un producto. La relación de la temperatura y la vida útil fue detallada en la sección 3, mediante el valor de Q_{10} y el modelo matemático propuesto por Arrhenius. A pesar de que los alimentos obtenidos por sistemas asépticos, como es el caso de la leche UHT, son estables a temperatura ambiente, su almacenamiento en ambientes frescos o refrigerados, fuera de la exposición solar, se consideran una buena opción para alargar la vida útil de estos

productos. Autores sugieren, por tanto, que 18 °C sea considerado como la temperatura máxima de almacenamiento de la leche UHT, sin embargo, en países tropicales, el producto comercializado llega a temperaturas superiores al valor mencionado (Huamani, 2012).

- Barrera del envase al oxígeno y la luz

El tamaño y formato del envase del producto interfieren en su vida útil y estabilidad. A medida que el tamaño del envase aumenta, la relación área/volumen disminuye y por ende más protector se torna el envase. Así mismo, envases con barreras fuertes frente a la luz y a la permeabilidad del oxígeno, protegen al producto frente a cambios oxidativos (Huamani, 2012).

3.3.3.2 Modificaciones fisicoquímicas y sensoriales de la leche UHT durante el almacenamiento

Problemas tales como separación de la grasa, la desnaturalización de proteínas junto a la gelificación, pérdida de nutrientes, pardeamiento y aparición de sabores desagradables son los principales defectos de la leche UHT causados por almacenamiento por un tiempo prolongado. La mayoría de estos efectos surgen a raíz del tratamiento térmico y se potencian durante la vida en anaquel de la leche (Becerra, 2014).

De los defectos mencionados, los relacionados a la aceptación sensorial se consideran como los factores limitantes de la vida útil de la leche. Dentro de éstos se encuentra la aparición de sabores ajenos, donde el sabor a cocido es el más característico de leches tratadas térmicamente. En los primeros meses de vida en anaquel este sabor se percibe, sin embargo, durante el almacenamiento prolongado la intensidad de este sabor se ve reducida y otros sabores se tornan evidentes.

Después del almacenamiento prolongado, el sabor “rancio” producto de reacciones de oxidación de la grasa aparece y limita la aceptación del producto, así mismo se percibe el sabor “amargo” relacionado con la desnaturalización de las

proteínas. Ambos sabores se encuentran también asociados a la presencia de proteasas y lipasas termorresistentes (Huamani, 2012).

En leches descremadas, el sabor rancio no es un factor limitante, ya que, al disminuir el contenido de materia grasa, las reacciones oxidativas se ven opacadas. Por otra parte, en leches deslactosadas se han descrito sabores dulces/ caramelizados que se potencian durante el almacenamiento. En estas leches, a raíz de la hidrólisis de la lactosa y de su participación en la reacción de Maillard, se han descrito tonalidades oscuras, producto del pardeamiento, que limitan la vida en anaquel (Becerra, 2014).

Varios autores han estudiado las características sensoriales de la leche UHT durante su vida útil. Chapman y colaboradores (2001) desarrollaron términos descriptivos sensoriales para leche UHT durante almacenamiento y se describieron principalmente como “aroma a cocido” y “sabor a cocido”. Así mismo, Clare y colaboradores (2005) utilizaron “sabor a cocido / caramelizado”, “dulce aromático”, “graso / rancio”, “sabor dulce”, “sabor amargo” e “intensidad de color” para diferenciar leches UHT por tratamiento indirecto y microondas.

Por otra parte, la desnaturalización de las proteínas se ha asociado al desarrollo de “*off-flavours*”, gelatinización, aumento de viscosidad, formación de sedimento, pérdida de valor nutricional y oscurecimiento durante el almacenamiento de leches UHT. Dichos cambios asociados a la proteólisis pueden ser monitoreadas en las etapas de almacenamiento por la liberación de glicomacropéptido (GMP), como indicador de índice proteolítico, así como por la evaluación de la viscosidad y la sedimentación de la leche. Las características de viscosidad y consistencia son críticas, al determinar la aceptación o no por parte del consumidor, mientras que la sedimentación o agregación de las proteínas se va a ver favorecida por la disminución leve del pH, aumentando considerablemente cuando el pH disminuye de 6,6 (Huamani, 2012).

Estos cambios generan modificaciones en la apariencia de la leche, en su sabor y de textura. La textura es caracterizada por cambios de viscosidad en la leche, conduciendo en algunos casos a la formación de gel y/o a la precipitación o agregación. Además, las proteínas participan en la reacción de Maillard durante el

almacenamiento, ocasionando el subsecuente oscurecimiento de la leche, afectando la aceptación general del producto (Huamani, 2012).

3.4 Oferta en el mercado: bebidas altas en proteína

En la actualidad, la salud es una de las principales razones que determinan la elección de los alimentos por parte de los consumidores conscientes de los efectos potenciales de la dieta sobre la prevención de enfermedades y bienestar (Bogue & Ritson, 2000). Según Zegler (2018), las tendencias de consumo de alimentos y bebidas en el 2018, reforzarán la necesidad de contar con una variedad de alimentos que aporten a los consumidores soluciones positivas y flexibles de salud y bienestar.

Esto crea oportunidades de mercado para una variedad de formulaciones, formatos y tamaños de alimentos y bebidas que brinden a los consumidores beneficios emocionales, físicos y nutricionales. Además, existe un interés creciente por parte de los consumidores por los alimentos ricos en proteínas, por lo que el desarrollo de productos con proteína de alto valor biológico toma mayor importancia en el mercado (Zegler, 2018).

El IFT (*Institute of Food Technology*) resalta que especialmente los consumidores entre los 18 y 35 años y por encima de los 65 años, son los consumidores más conscientes en la búsqueda de alimentos con altas fuentes de proteína (Martínez, 2016). Adicionalmente, las tendencias de alimentación y bebidas del 2017 (Mintel, 2017), establecen que los consumidores actuales buscan alimentos que ofrezcan salud y bienestar, de manera que se emplean en la búsqueda de alimentos con alto contenido de proteína y bajo contenido calórico.

Lo anterior se ve reflejado en los datos consultados de *Innova Market Insights*, donde se establece que el 3% de los nuevos lanzamientos de alimentos y bebidas a nivel mundial (el 6% en Estados Unidos) en el 2017, se comercializaron bajo el *claim* "alto contenido de proteínas" o posicionándose como "fuente de proteínas" (Martínez, 2016).

La leche de vaca proporciona una gran cantidad de proteínas fácilmente digeribles y de alto valor biológico, ya que aportan los aminoácidos, incluidos los

esenciales, para cubrir los requerimientos humanos. Por la razón anterior, los concentrados de proteína de leche (Milk Protein Concentrate; MPC por sus siglas en inglés) y los concentrados de proteína de suero de leche (Whey Protein Concentrate; WPC por sus siglas en inglés) han sido ampliamente utilizados para el desarrollo de productos altos en proteína (Fernández *et al.* 2015). En el Cuadro V se detallan algunas bebidas altas en proteína que se ofrecen en el mercado latinoamericano.

Cuadro V. Descripción de bebidas altas en proteína del mercado.

Producto	Imagen del producto	Descripción
Ensure High Protein		Bebida láctea con sabores fresa, vainilla y chocolate a base de concentrado de proteína de leche y otros ingredientes. Se declara como producto alto en proteína al contener 16 gramos de proteína por porción de 235 mL.
Leche LALA 100		Aporta 70% más de proteínas naturales de la leche, así como 30% más de calcio. Tres versiones del producto, incluyendo versiones descremadas y sin lactosa.
Muscle Milk		Bebida alta en proteína, aportando 40 gramos por porción de 414 mL. Sabores vainilla, cookies and cream, chocolate y banano. Contiene proteínas de suero lácteo y otros ingredientes.

<p>GNC Lean Shake</p>		<p>Bebida a base de concentrado de proteínas de leche y de suero de leche. Aporta 25 gramos de proteínas por porción de 414 mL, además de 8 gramos de fibra. Presentación en diferentes sabores.</p>
<p>Nesquik Protein Plus</p>		<p>Bebida láctea a base de leche, concentrado de proteínas de leche y otros ingredientes. Aporta 23 gramos de proteína por porción de 414 mL, con sabores a vainilla y chocolate.</p>
<p>Arla Milk Drink</p>		<p>Bebida láctea a base de leche y concentrado de proteínas de suero de leche. Aporta 5,5 gramos de proteína por porción de 100 mL. Presentación en diferentes sabores.</p>
<p>UFit</p>		<p>Producto elaborado a base de concentrado de proteína de leche y otros ingredientes. Aporta 22 gramos de proteína por porción de 310 mL.</p>
<p>Fa!rlife Milk</p>		<p>Leche ultrafiltrada alta en proteína, aportando 13 gramos de proteína por porción de 250 mL. Diferentes sabores y presentación, incluyendo descremada y libre de lactosa.</p>

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localización del proyecto

El proyecto se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA) y la Escuela de Tecnología de Alimentos (ETA), Campus Rodrigo Facio de la Universidad de Costa Rica, ubicadas en San Pedro de Montes de Oca. Los análisis fisicoquímicos y sensoriales se realizaron en los Laboratorios de Química y Análisis Sensorial de la ETA y del CITA.

Además, se hizo uso de las instalaciones de la empresa solicitante en donde se realizó la caracterización fisicoquímica, las pruebas a nivel piloto y la producción industrial. Los análisis fisicoquímicos (humedad, proteína, grasa, lactosa, calcio y acidez) se realizaron en el Laboratorio de Química de la empresa.

4.2 Materia prima

La materia prima para la realización del proyecto fue financiada y suministrada por la empresa que financió el proyecto. La materia prima suministrada consistió en el retenido de la operación de ultrafiltración de leche descremada y pasteurizada, ajustado a un 50% más de proteína respecto al contenido promedio de proteína en leche. A la materia prima se le realizó, como análisis microbiológico de rutina, un recuento total por medio de la técnica de campo visual y un conteo de células somáticas.

4.3 Definición del prototipo de producto a elaborar

La definición del prototipo a elaborar dependió de la caracterización fisicoquímica del retenido, los requisitos de la empresa y la revisión bibliográfica en relación a productos del mercado y normativa vigente.

4.3.1 Caracterización fisicoquímica

Para la definición del prototipo a elaborar, se realizó una caracterización fisicoquímica del retenido de la operación de ultrafiltración de leche, descremada y pasteurizada, ajustado a 50 % más de proteína en comparación con el valor

promedio de proteína en leche. Se trabajaron tres lotes de materia prima, a los cuales se les realizó un análisis proximal en el cual se determinaron los siguientes parámetros:

- Contenido de humedad (%)
- Contenido de proteína (%)
- Contenido de grasa (%)
- Contenido de lactosa (%)
- Contenido de minerales (calcio; mg)

Además del análisis proximal, se determinaron las siguientes propiedades fisicoquímicas:

- Acidez
- Color (parámetros L*, a* y b*)
- pH

La metodología utilizada para cada análisis se muestra en el apartado 4.6 Métodos de Análisis. Para cada parámetro en estudio, se tomaron tres muestras por lote y se procedió a realizar la determinación. Posteriormente, se calculó la media de la determinación con su respectivo intervalo de confianza.

A continuación, se presenta un esquema de la metodología descrita.

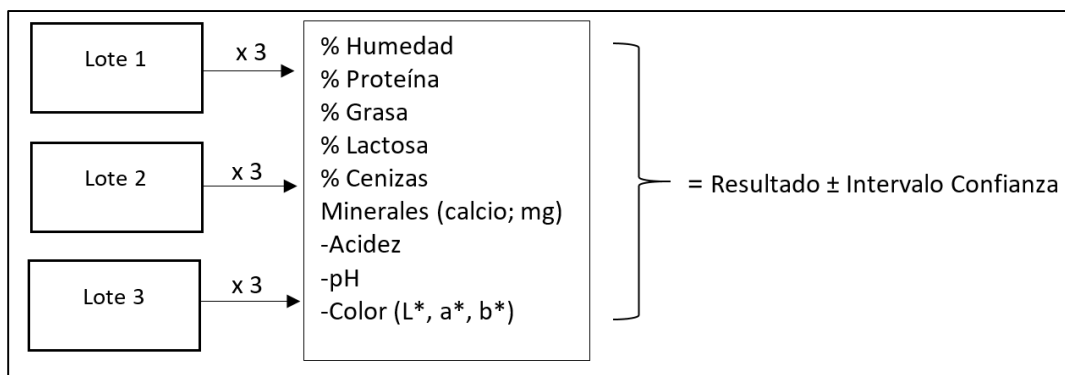


Figura 5. Esquema de la metodología descrita para la caracterización fisicoquímica de la materia prima.

4.3.2 Requisitos de la empresa

Los requisitos definidos por parte de la empresa para la definición del prototipo a desarrollar fueron los siguientes:

- Tipo de producto: Bebida láctea
- Características del producto: Estable a temperatura ambiente (UHT)
- Valor nutricional del producto:
 - o 50% más de proteína con respecto al contenido promedio de proteína en leche
 - o Descremado
 - o Deslactosado

Con los resultados anteriores, se procedió a definir la formulación del prototipo de producto a elaborar. Además, a partir de la revisión bibliográfica sobre productos similares en el mercado y la consulta a la normativa vigente respecto a productos lácteos, se procedió a especificar el prototipo elaborado: la composición teórica nutricional, características físicas y sensoriales esperadas, clasificación o definición según la normativa y a la verificación y aprobación por parte de la empresa.

Por limitaciones de insumos por parte de la empresa que financió el proyecto, el prototipo elaborado para las pruebas piloto no fue deslactosado, sin embargo, este requisito sí se cumplió para el prototipo elaborado en la producción industrial.

4.4 Evaluación del efecto del tratamiento térmico UHT sobre las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado

4.4.1 Descripción del proceso

Una vez definido el prototipo, se procedió a elaborar el mismo y realizar la evaluación del efecto del tratamiento térmico UHT sobre sus características fisicoquímicas y sensoriales. Para ello, se realizaron pruebas a nivel piloto, para tres lotes de prototipo (retenido descremado y pasteurizado, ajustado a 4,8 % proteína), de manera que se obtuvieron muestras control (sin tratamiento UHT; únicamente fueron sometidas a pasteurización tradicional por lote a 63 °C por 30 minutos) y

muestras procesadas (muestras UHT), a las cuales se les realizó la determinación de color, acidez, pH y variables sensoriales, por triplicado.

Para las pruebas piloto, se hizo uso del equipo UHT/HTST de la planta piloto de la empresa solicitante. Las condiciones de temperatura y tiempo de retención del tratamiento térmico aplicado se muestran en el Cuadro VI.

Cuadro VI. Condiciones del tratamiento térmico UHT aplicado*.

Tiempo (s)	Temperatura (°C)			
Tubo de Retención	Pre calentador	Calentador	Retención	Enfriamiento
3	90	140	140	28

*Seleccionadas tomando como referencia el procedimiento de manufactura (SOP) para leche descremada de la empresa (SOP, 2018).

A modo de resumen, se presenta un esquema de la metodología descrita anteriormente.

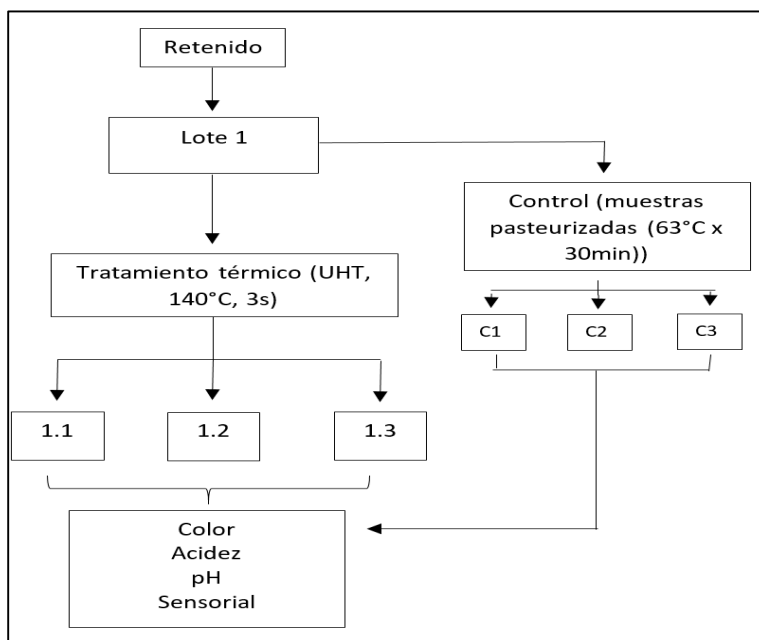


Figura 6. Esquema de la metodología descrita para la evaluación del efecto del tratamiento térmico sobre las propiedades sensoriales y fisicoquímicas del prototipo* (*se aplicó la misma metodología para los tres lotes).

4.4.2 Medición de variables respuesta

Las variables respuesta color, acidez y pH fueron determinadas según la metodología descrita en el apartado 4.6 Métodos de Análisis, para las muestras control y las muestras tratadas por UHT, por triplicado para cada lote de producción.

Para la evaluación sensorial, inicialmente se realizó un panel informal preliminar conformado por el comité asesor del proyecto, donde se evaluaron una serie de atributos sensoriales desarrollados por Richards y colaboradores (2014) en un análisis descriptivo de leche UHT. El panel informal seleccionó los atributos presentados a continuación en el Cuadro VII, los cuales caracterizaban al producto y se encontraban relacionados a las modificaciones que experimenta la leche al someterse a tratamientos térmicos, tal y como se amplió en la sección 3.2.2. Los descriptores seleccionados eran difíciles de diferenciar entre las muestras obtenidas, por lo que se decidió realizar la evaluación sensorial a través de una prueba de discriminación 2-AFC.

Cuadro VII. Atributos sensoriales evaluados en el prototipo elaborado mediante pruebas de discriminación 2-AFC (adaptados de Richards et al. 2014).

Atributo	Descripción
Aroma a cocido	Intensidad de aroma a leche hervida, asociados con la exposición de la leche al calor
Sabor dulce	Sabor asociado a sustancias dulces, como por ejemplo el azúcar
Sabor a cocido	Intensidad de sabor a leche hervida, asociados con la exposición de la leche al calor
Sabor residual dulce	Sabor asociado a sustancias dulces, como por ejemplo el azúcar, que permanece en la boca después de tragar
Color pardo	Coloraciones asociadas al pardeamiento, coloraciones marrones y/o oscuras

El panel de discriminación estuvo conformado por 40 panelistas no entrenados consumidores de leche; tomando en cuenta una potencia de 95 %, un $d'=1$ y un $\alpha=0,05$ (Ennis & Jesionka, 1993). El valor de d' hace referencia a la distancia entre las medias de dos distribuciones en términos de desviaciones estándar, donde a mayor diferencia percibida entre dos muestras, mayor el valor de d' . Según lo anterior, se recomiendan valores cercanos a la unidad para aplicar pruebas sensoriales de discriminación, de manera que la diferencia entre las muestras sea confundible (Olivas *et al.* 2009).

Las muestras se colocaron en bandejas, en parejas (una correspondiente a la muestra pasteurizada sin UHT y otra correspondiente a la muestra tratada por UHT), además de un *primer*, el cual presentaba gran intensidad del atributo descrito. Las mismas fueron rotuladas empleando un código numeral de tres dígitos, aleatorizando la numeración y el orden de presentación.

Se le solicitó al panelista firmar el “acuerdo de participación de pruebas sensoriales con consumidores” (Anexo 1), probar las muestras de izquierda a derecha en el orden presentado e indicar en la pantalla, la muestra que presentaba mayor intensidad del atributo descrito (Anexo 2).

Debido a que los resultados arrojaron diferencias significativas, posteriormente se realizó un panel de agrado general con consumidores. El panel se conformó por 100 panelistas no entrenados, consumidores de leche. Los mismos evaluaron ambas muestras presentadas en el panel de discriminación, así como dos muestras comerciales: leche UHT 0% grasa y leche UHT entera 3% grasa.

De igual manera se solicitó al panelista firmar el “acuerdo de participación de pruebas sensoriales con consumidores” (Anexo 1) y proceder con la evaluación. Para la evaluación se utilizó una escala lineal híbrida de 10 puntos, donde el extremo 0 se encontraba rotulado con la afirmación “me disgusta extremadamente”, el valor medio con “ni me disgusta ni me gusta” y el extremo 10 con “me gusta extremadamente”. Los panelistas marcaron su agrado general, seleccionando en la pantalla la sección de la escala que consideraban apropiada (Anexo 3).

4.4.3 Análisis de datos

Para analizar los resultados obtenidos de las variables fisicoquímicas (color, acidez y pH), se aplicó un análisis de varianza (ANDEVA), utilizando un diseño experimental de bloques completos unifactorial, para determinar si existió cambio significativo en las variables respuestas al aplicar un tratamiento térmico, con un nivel de confianza del 95 %. El factor correspondió al tratamiento térmico, donde se tienen dos niveles: con tratamiento térmico por UHT y sin tratamiento térmico UHT (únicamente pasteurizado por pasteurización tradicional a 63°C por 30 minutos), mientras que el factor bloque correspondió al lote de materia prima.

Los datos recopilados en la prueba sensorial de discriminación se analizaron con un análisis binomial de una cola, con $\alpha=0,05$, utilizando las tablas desarrolladas por Ennis y colaboradores (2014), de manera que, si el número de aciertos obtenidos en la prueba aplicada supera al número mínimo de aciertos establecido en las tablas, existe diferencia significativa entre los atributos sensoriales evaluados para las muestras.

Para los resultados de la prueba sensorial de agrado general, se determinó si existe diferencia significativa entre el nivel de agrado de las muestras presentadas mediante un ANDEVA, con un 95 % de confianza y una comparación de medias Fisher LSD.

Además, se realizó un análisis de conglomerados (*clusters*) para dividir en segmentos a los consumidores de acuerdo con el nivel de agrado. Para la validación de los *clusters* se realizó un ANDEVA, con un 95 % de confianza, con los grupos obtenidos, así como una comparación de medias por el método no jerárquico Means LSD.

Para todos los análisis estadísticos mencionados se utilizó el paquete estadístico XLSTAT 2018.

4.5 Evaluación de la estabilidad de las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado en la producción industrial durante el almacenamiento

Se realizó una producción industrial con el fin de obtener el prototipo final envasado asépticamente para evaluar la estabilidad de sus características fisicoquímicas y sensoriales durante el almacenamiento, mediante un estudio exploratorio. Previo a la prueba industrial, se desarrolló una ficha técnica del prototipo elaborado (Anexo 4), indicando los parámetros fisicoquímicos y sensoriales del mismo, de manera que la misma funcionara como una hoja de evaluación para verificar que se obtuvo un producto adecuado en la prueba industrial.

En la prueba industrial se procesó un único lote de producto de 20 000 litros, por limitaciones de la empresa en relación a programar tres producciones dentro de su cronograma y por los elevados costos de producción. El prototipo obtenido en la producción industrial contó con todos los requisitos establecidos por la empresa, es decir, presentó esterilidad comercial al ser tratado térmicamente por UHT, acompañado de envasado aséptico, y además fue deslactosado. El deslactosado se realizó mediante la adición de la enzima lactasa y posteriormente las muestras se incubaron por un período de 24 horas para la hidrólisis de la lactosa, según las condiciones con las cuales opera la empresa.

Posteriormente a la prueba industrial, el prototipo final obtenido fue almacenado a una temperatura de 37°C, por ser una temperatura intermedia comúnmente utilizada en estudios de almacenamiento acelerados y recomendada para alimentos tratados térmicamente, y a 5 °C como temperatura control (Robertson, 2010).

A lo largo del período de almacenamiento, se realizaron 7 muestreos, ya que siempre se debe seleccionar un mínimo de seis tiempos de muestreo o de lo contrario la confianza en la determinación de la vida útil disminuye (Hough & Fiszman, 2005). En cada muestreo se determinó el color y pH del prototipo y se

realizó una evaluación sensorial mediante un panel entrenado y al final del almacenamiento, mediante un panel con consumidores. El tiempo de almacenamiento, así como la frecuencia de muestreo del estudio se presentan a continuación en el Cuadro VIII.

Cuadro VIII. Frecuencia de muestreo, temperatura y tiempo total de almacenamiento para la evaluación de las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Frecuencia de muestreo (días)	Tiempo total de almacenamiento (días)
37	0, 26, 33, 47, 61, 70, 81	81

El tiempo de almacenamiento fue calculado utilizando la Ecuación 5, con un valor de Q_{10} de 2,5, el cual representa un promedio de los valores reportados en la literatura para leche UHT descremada (Richards et al. 2014). Se utilizó como referencia la vida útil de la leche UHT descremada y deslactosada que se ofrece en el mercado nacional, la cual corresponde a 6 meses, a una temperatura de 25°C. Además, se aplicó un factor de seguridad de 20 días para el estudio, según la experiencia del comité asesor en temas relacionados con estudios de almacenamiento.

A continuación, se presenta un esquema de la metodología descrita para la evaluación de la estabilidad de las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo durante el almacenamiento.

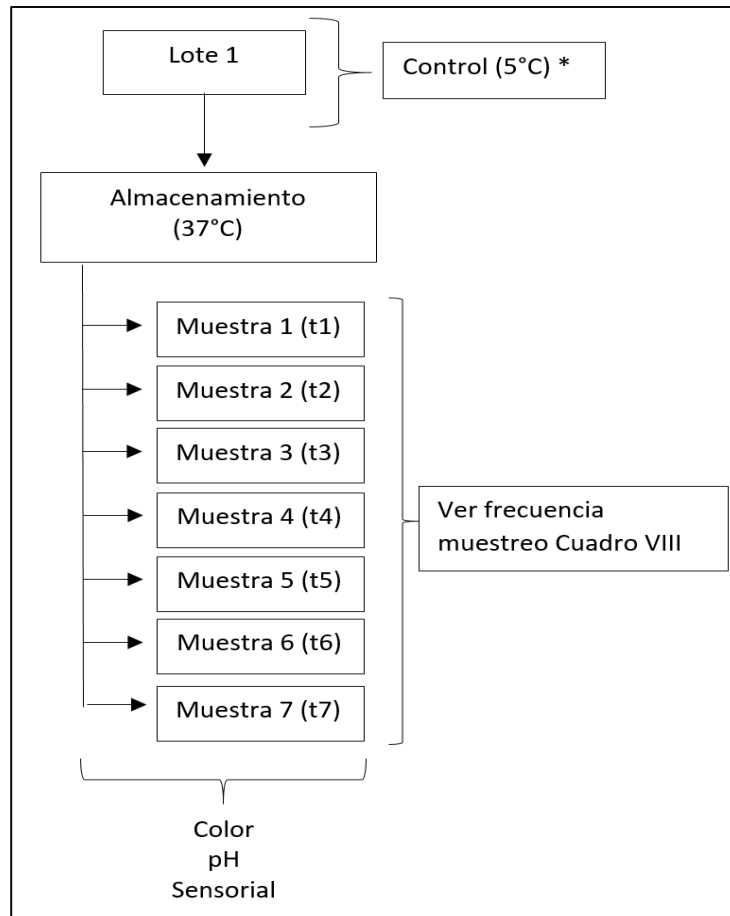


Figura 7. Esquema de la metodología descrita para la evaluación de la estabilidad de las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo (*se tomó una muestra del control en cada muestreo).

4.5.1 Medición de variables respuesta

4.5.1.1 Variables fisicoquímicas

La medición de las variables fisicoquímicas de pH y color se realizó según la metodología que se describe en el apartado 4.6 Métodos de Análisis.

4.5.1.2 Evaluación sensorial: panel entrenado

Para la evaluación sensorial, se utilizó el panel entrenado del CITA, el cual fue conformado por 15 panelistas, cumpliendo con el número de panelistas recomendados para paneles sensoriales empleando jueces entrenados según

Sancho y colaboradores (1999; citado por Pabón 2015), quien indica un mínimo de 8 y un máximo de 15.

Previo a los muestreos, se realizaron dos sesiones grupales con el panel entrenado, con el objetivo de realizar un refrescamiento, definir los descriptores a evaluar, así como familiarizarse con la escala a utilizar y con el producto. En estas sesiones, se evaluaron muestras almacenadas por 22 días a 37 °C y 45 °C, de manera que se pudiera observar algún grado de deterioro y con ello definir los descriptores. Se utilizó como base de análisis los descriptores generados por Richards y colaboradores (2014), dándole énfasis a los descriptores asociados a cambios que experimenta la leche durante su almacenamiento, según se detalló en la sección 3.3.3.

En el Cuadro IX se presentan los descriptores generados en las sesiones preliminares por el panel entrenado con su respectiva definición.

Cuadro IX. Descriptores generados por el panel entrenado para la evaluación sensorial del prototipo durante el almacenamiento.

Descriptor	Definición
Color pardo	Intensidad de la tonalidad de la leche asociada al color “caramelo claro”; levemente café
Aroma a cocido	Intensidad del olor a leche hervida, con notas dulcetes como de caramelo, asociadas a la cocción
Sabor a cocido	Intensidad del sabor que recuerda al de la leche hervida, con notas dulcetes como de suave caramelo, asociadas a la cocción
Recubrimiento bucal	Sensación bucal relacionada al espesor/ consistencia de la leche en la boca al ser ligeramente movida y al tragar; relacionada con la persistencia de la leche en la boca
Arenosidad	Sensación seca/polvorienta en la boca, como presencia de grumos y/o partículas en la leche percibidas en la cavidad bucal

Para la evaluación sensorial, se presentó una muestra correspondiente a la muestra almacenada a 37 °C, además de dos muestras frescas (control almacenado

a 5 °C). Una de las muestras control fue rotulada como “referencia” de manera que el panelista pudiera recordar las características originales que presenta el prototipo, mientras que las dos muestras restantes fueron rotuladas empleando un código numeral de tres dígitos, aleatorizando la numeración y el orden de presentación.

La evaluación sensorial de ambas muestras rotuladas con códigos se realizó utilizando una escala lineal no estructurada de 10 cm (Anexo 5), donde los panelistas indicaron en la escala la intensidad percibida según la descripción del atributo, desde poco intenso hasta muy intenso. Los panelistas se ubicaron en cubículos individuales, los cuales contaban con la altura apropiada y asientos aptos para realizar el análisis. Además, el laboratorio de análisis contó con adecuada ventilación y evacuación de olores, superficies lisas y limpias, así como con luz apropiada.

4.5.1.3 Evaluación sensorial: panel con consumidores

Además de la evaluación sensorial con panel entrenado, se realizó un panel de agrado general, el cual fue conformado por 100 consumidores de leche no entrenados, con el objetivo de evaluar si el agrado varía significativamente durante el almacenamiento del prototipo.

Para ello, en los tiempos 0, 47, 61 y 81, dos litros de prototipo fueron retirados del almacenamiento a 37 °C y colocados a la temperatura control de 5 °C. De esta manera, al final del almacenamiento, se logró obtener muestras con diferentes tiempos de almacenamiento, las cuales fueron evaluadas por los consumidores. Además de estas muestras, se incluyó en el panel una muestra comercial de leche descremada y deslactosada UHT.

Se le solicitó al panelista firmar el “acuerdo de participación de pruebas sensoriales con consumidores” (Anexo 1) y proceder con la evaluación. Para la evaluación se utilizó una escala lineal híbrida de 10 puntos, donde el extremo 0 se encontraba rotulado con la afirmación “me disgusta extremadamente”, el valor medio con “ni me disgusta ni me gusta” y el extremo 10 con “me gusta

extremadamente”. Los panelistas marcaron su agrado general, seleccionando en la pantalla la sección de la escala que consideraban apropiada (Anexo 3).

4.5.2 Análisis de datos

Finalizado el almacenamiento, se estimó un modelo de regresión lineal para cada variable respuesta (físicoquímica y sensorial), con 95% de confianza, con el fin de determinar las variables que presentan cambios significativos y así evaluar la estabilidad del prototipo durante el almacenamiento.

Para los resultados de la prueba sensorial de agrado general, se determinó si existe diferencia significativa entre el nivel de agrado de las muestras presentadas mediante un ANDEVA, con un 95 % de confianza y una comparación de medias Fisher LSD.

Además, se realizó un análisis de conglomerados (*clusters*) para dividir en segmentos a los consumidores de acuerdo con el nivel de agrado. Para la validación de los *clusters* se realizó un ANDEVA, con un 95 % de confianza, con los grupos obtenidos, así como una comparación de medias por el método no jerárquico Means LSD.

Se determinó la variable crítica de deterioro mediante criterio del comité asesor y tomando en consideración la retroalimentación recibida por parte de los panelistas entrenados, para la construcción del gráfico de punto de corte. Se utilizó como límite de aceptabilidad el primer promedio de agrado general del panel con consumidores que presentó diferencia significativa con respecto a los anteriores; con ello se determinó entonces el punto de corte.

Empleando el punto de corte se estimó el tiempo de vida útil a 37 °C. Haciendo uso de la Ecuación 5 y de un valor de Q_{10} de 2,5 (Richards *et al.* 2014), se estimó la vida útil preliminar del prototipo a una temperatura de referencia de 25 °C.

Para todos los análisis estadísticos mencionados se utilizó el paquete estadístico XLSTAT 2018.

4.6 Métodos de análisis

4.6.1 Análisis proximal

- Humedad, proteína, grasa, lactosa, cenizas: la determinación se realizó utilizando el Milko Scan Foss, según el método descrito en el documento 3-06-05-05-041 de la empresa solicitante del proyecto, basado en el método AOAC 972.16 (AOAC, 2005).
- Calcio: se realizó la determinación por valoración con EDTA tetrasódico utilizando el método rápido de Metrohm H-103 de la empresa solicitante del proyecto.

4.6.2 Análisis de acidez

- Acidez total: se determinó según el método Titrimétrico para acidez en leche utilizado por la empresa solicitante del proyecto, basado en el método AOAC 947.05 (AOAC, 2016).

4.6.3 Color

- Se determinaron los parámetros L^* , a^* y b^* con escala CIELab, mediante el colorímetro Hunter Lab Color Flex, empleando una lámpara de Xenón, con un ángulo de observación de 10° y un ángulo de incidencia de 45° , haciendo uso del Laboratorio de Química de la Escuela de Tecnología de Alimentos. Para las determinaciones de color del objetivo 2 y 3, se calculó además la diferencia total de color (o cambio de color, ΔE) empleando la Ecuación 7.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{(Ecuación 7)}$$

4.6.4 pH

- Se determinó el pH de las muestras mediante un pHmetro marca Metrohm Lab, modelo 827. Se calibró introduciendo el electrodo en una solución buffer de pH 4 y pH 7. La medición de la muestra se realizó a temperatura ambiente, aproximadamente 25 °C (AOAC, 2005). Se hizo uso del Laboratorio de Química de la Escuela de Tecnología de Alimentos.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Definición del prototipo de producto a elaborar

5.1.1 Caracterización fisicoquímica

Se realizó la caracterización fisicoquímica del retenido de la operación de ultrafiltración de leche, pasteurizada y descremada (Anexo 6), cuyos resultados se muestran a continuación en el Cuadro X. Además, se presenta una comparación de los parámetros evaluados entre la materia prima en estudio y leche pasteurizada y descremada.

Cuadro X. Análisis proximal, pH, acidez y color de la materia prima en estudio y de leche descremada y pasteurizada.

Parámetro fisicoquímico	Retenido de ultrafiltración de leche descremada y pasteurizada ¹	Leche descremada y pasteurizada ²	Valor establecido en RTCR ³
Humedad (%)	89,4 ± 0,2	88-90	NA*
Grasa (%)	0,14 ± 0,04	0,20	Menor a 1
Proteína (%)	4,99 ± 0,05	3,20	Mayor a 3
Lactosa (%)	4,5 ± 0,1	4,80	NA*
Cenizas (%)	0,80 ± 0,02	0,7	0,8
Calcio (mg en 250 mL)	400 ± 12	292	NA*
Color L*	90,8 ± 0,6	91,0	NA*
Color a*	-3,6 ± 0,2	-4,0	NA*
Color b*	11,0 ± 0,2	9,0	NA*
Acidez	0,16 ± 0,01	0,16	0,13-0,17
pH	6,62 ± 0,02	6,60	NA*

¹Valores promedio con su respectivo intervalo de confianza al realizar la determinación a tres lotes de materia prima; por triplicado para cada lote. ²SOP, 2018. ³Reglamento Técnico CR N°33812-401 (RTCR, 2006). *NA: No aplica regulación.

Al hacer una comparación entre ambas, se observan mayores valores de proteína y calcio en el retenido. Lo anterior es un resultado esperado, ya que la operación de ultrafiltración por membranas es una operación de concentración. Además, el resultado obtenido concuerda con un estudio realizado por Chacón (2006), donde las concentraciones de Ca, P, Fe, Cu y Zn en el retenido se incrementaron significativamente debido a que dichos minerales se asocian con la fase coloidal, mientras que las de K y Na se incrementaron en el permeado.

Por otro lado, las proteínas, al tener un diámetro promedio de partícula mayor a 100 nm, quedan retenidas en la superficie de la membrana, de manera que la ultrafiltración sirve entonces para aumentar el porcentaje de proteínas en el retenido (Chacón, 2006). Gutiérrez (2013) establece que el factor de concentración o factor de retención volumétrica (FRV) en leche puede llegar hasta 5, mientras que en suero de leche puede llegar a 7. Dicho factor se define como la relación entre el volumen total alimentado al sistema y el volumen total de retenido, por lo que se encuentra directamente relacionado con el rendimiento de la operación. Un FRV bajo implica mayor volumen de retenido, lo que es deseado en este caso. Al utilizar un factor de concentración de 4, se han logrado obtener concentraciones de proteína que varían entre 5-13 % en leche fluida (Chacón, 2006), concordando con el resultado obtenido en el presente proyecto.

Se observa una leve disminución en el contenido de grasa y lactosa, respecto a la leche comercial. La grasa suele ser considerada una problemática en la ultrafiltración, especialmente cuando la leche tiene un contenido alto de la misma. Este problema suele controlarse con la operación descremado y en forma parcial con el homogenizado; razón por la cual la materia prima en estudio fue descremada. La grasa puede quedar atrapada en el colmatado de proteína que se forma en la membrana, así como en los poros de la misma y a su vez está asociada con una retención de lactosa en dicha capa (Chacón, 2006). Los factores anteriores pueden estar asociados a la disminución del contenido de estos compuestos en el retenido.

Respecto al color de la leche, se observan variaciones mayores en el parámetro b^* , el cual indica el ángulo *hue* (tono) en una escala de azul (-b) a amarillo (+b) (Álvarez, 2012). Al obtenerse valores más positivos en este parámetro para el

retenido, implica coloraciones más amarillas en esta materia prima. Además, respecto al parámetro a^* , el cual indica el ángulo *hue* (tono) en una escala de verde (-a) a rojo (+a) (Álvarez, 2012), no se observan cambios considerables entre las materias primas evaluadas, sin embargo, el valor más positivo en el retenido indica coloraciones menos verdosas.

Juaréz y colaboradores (2015) determinaron el color de diferentes leches comerciales, donde las mayores variaciones se presentaron en la tonalidad amarilla, resultado que concuerda con el obtenido. Así mismo definen que el color de la leche está asociado a características propias del animal de la que procede, sin embargo, su mayor alteración se debe a cambios en las propiedades fisicoquímicas que experimenta durante su procesamiento.

En este caso en particular, operaciones de procesamiento como la pasteurización, estarían afectando la coloración de la materia prima propiamente debido al inicio de la reacción de Maillard, producto de la exposición al calor. Así mismo, la eliminación del permeado, el cual es rico en riboflavina, durante la operación de ultrafiltración, ocasiona valores más positivos en el parámetro a^* por ausencia del color amarillo verdoso en la leche (Popov *et al.* 2008).

Se establece que la blancura de la leche es la característica más importante para el consumidor y está relacionada con la luminosidad (L^*) (Juaréz *et al.* 2015). Como se observa en el Cuadro X, tanto el retenido como la leche descremada presentaron valores típicos para leche, concordando con los reportados por Grigioni y colaboradores (2007), quienes indican un intervalo de 77,15 a 92,37 para el parámetro L^* para leche descremada.

Por otra parte, la acidez y el pH de la leche son parámetros importantes al estar relacionados con el deterioro. Para la acidez porcentual expresada como ácido láctico se reportan valores entre 0,15 y 0,16 para leche fresca, tolerándose un máximo de 0,18, mientras que, para el pH, se han reportado valores de 6,5 a 6,7 (Chacón, 2006). Según lo anterior, los valores obtenidos de acidez y pH para las materias primas en estudio se encuentran acorde a los parámetros reportados en la literatura y no difieren entre sí.

Además, en el Cuadro X se observa que la materia prima en estudio cumple con los parámetros fisicoquímicos mínimos y máximos establecidos en el RTCR (2006) que debe reunir la leche, al igual que ocurre para la leche comercial. Según lo anterior, y tomando en consideración los requisitos de la empresa mencionados en el apartado 4.3.2 Requisitos de la empresa, se procede a definir la formulación preliminar del prototipo, la cual se constituye entonces de un X% de retenido de la operación de ultrafiltración de leche pasteurizada y descremada, ajustado a un 50 % más de proteína en comparación con el contenido promedio de proteína en leche (4,8 % de proteína final en el retenido).

Se procedió a realizar la verificación de la formulación preliminar propuesta, tomando en consideración la normativa vigente respecto a leche y productos lácteos.

5.1.2 Reglamentación

El Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA, 2013): Uso de Términos Lecheros establece que “la leche cuya composición se haya modificado mediante la adición y/o extracción de constituyentes podrá denominarse con un nombre que incluya el término “leche”, siempre que muy cerca figure una descripción clara de la modificación a que se la sometido”.

La disposición indicada se refiere entonces a que a la “leche” se le pueden hacer ajustes en las proteínas y en la grasa o en algún otro constituyente, siempre y cuando se declare el ajuste realizado. Según lo anterior, las operaciones realizadas al prototipo que modifican sus constituyentes son las siguientes:

- Ultrafiltración
- Descremado
- Deslactosado

Por ende, el nombre del producto debe incluir la leyenda “leche ultrafiltrada, descremada y deslactosada”.

Así mismo, el RTCA: Leche Pasteurizada (2014) y el RTCR: Leche cruda y Leche Higienizada (2006), establecen que debe indicarse el tratamiento térmico al cual fue sometido el producto. En este caso en particular y tomando en consideración los requisitos de la empresa, el prototipo final debe ser estable a temperatura ambiente, por lo que será procesado mediante un tratamiento térmico por Ultra Alta Temperatura (UAT o UHT), lo cual debe indicarse en el envase.

En cuanto al envase, el RTCR (2006) establece que “el envase utilizado para tratamiento UHT debe ser de material y forma tal que dé al producto una adecuada protección durante el almacenamiento y transporte, y con cierre hermético que impida la contaminación y mantenga la esterilidad comercial del producto. Los envases estarán limpios, asépticos, exentos de desperfectos y se ajustarán a las disposiciones sanitarias para el producto”.

Tomando en consideración la inocuidad del producto, el RTCR (2006) establece criterios microbiológicos que deben ser cumplidos para productos UHT, donde se establece que el recuento de microorganismos mesófilos aerobios (con previa incubación del producto envasado a 32 °C por 10 días) debe ser menor a 1 UFC/mL.

Por último, en relación al etiquetado nutricional, el prototipo propuesto presenta declaraciones comparativas respecto a su leche comercial homóloga. Según el RTCA: Etiquetado Nutricional (2011), las declaraciones comparativas que pueden realizarse al producto incluyen las siguientes leyendas:

- 50 % más de proteína
- 35 % más de calcio

Así mismo, pueden hacerse las declaraciones de propiedades relativas al contenido de nutrientes “buena fuente de calcio”, “buena fuente de proteína”, alto en calcio” y “alto en proteína”.

5.1.3 Definición del prototipo a elaborar

Tomando en consideración la caracterización fisicoquímica de la materia prima en estudio, la revisión a la normativa vigente, los productos similares del mercado y los requisitos de la empresa, se definió la formulación y las características fisicoquímicas y sensoriales del prototipo final a elaborar (ver ficha técnica en el Anexo 4).

- Formulación

El prototipo definido consistió en un X% de retenido de la operación de ultrafiltración de leche pasteurizada y descremada, ajustado a un 50 % más de proteína en comparación con el contenido promedio de proteína en leche, que cumple con los parámetros establecidos en el RTCR (2006) y es deslactosado.

Además, según la normativa consultada, el prototipo se denominará como “leche ultrafiltrada, descremada y deslactosada” procesada por tratamiento térmico de UAT.

- Características fisicoquímicas

El prototipo definido contiene 50 % más de proteína en comparación con el contenido promedio de proteína en leche, es decir 4,8 % de proteína, menos de un 1 % de grasa, menos de 0,1 % de lactosa (aplica para el prototipo de la producción industrial), menos de 0,8 % de cenizas y su acidez expresada como ácido láctico oscila entre 0,13 y 0,17.

- Características sensoriales

El prototipo definido presenta un color blanco o marfil. Su aroma y sabor son propios de la leche, considerándose anormal cualquier sabor y olor ajeno que dé lugar a duda. Su consistencia y textura hacen referencia a un líquido opaco coloidal, con aspecto uniforme, donde no presenta variaciones en su viscosidad ni separación de fases.

5.2 Evaluación del efecto del tratamiento térmico por UHT sobre las variables fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado

5.2.1 Variables fisicoquímicas

Se evaluó el efecto del tratamiento térmico por ultra alta temperatura sobre variables fisicoquímicas del prototipo elaborado a nivel piloto, específicamente sobre el pH, la acidez y el color (parámetros L*, a* y b*). Para ello, se realizó la determinación de las variables fisicoquímicas a las muestras de retenido control y al retenido obtenido después de aplicar el tratamiento térmico por UHT (Anexo 7). En el Cuadro XI se presenta el valor promedio obtenido para cada variable en estudio con una confianza del 95 %.

Cuadro XI. Promedios de las variables fisicoquímicas evaluadas en el prototipo para determinar el efecto del tratamiento térmico por UHT sobre las mismas.

Producto	pH ¹	Acidez ¹	Color L* ¹	Color a* ¹	Color b* ¹	ΔE*
Prototipo UHT	6,62 ± 0,02 a	0,163 ± 0,002 a	90,48 ± 0,07 a	-0,59 ± 0,07 a	11,73 ± 0,05 a	4,393
Prototipo pasteurizado	6,60 ± 0,03 a	0,170 ± 0,002 a	90,7 ± 0,3 a	-3,73 ± 0,06 b	8,7 ± 0,4 b	

¹Promedios con letra diferente indican diferencia significativa (prueba de medias LSD, $p < 0,05$).

Con respecto a las variables fisicoquímicas pH y acidez, no se observó diferencia significativa, lo que implica que la aplicación del tratamiento térmico por ultra alta temperatura no causó modificaciones significativas en estos parámetros. El resultado obtenido no es esperado, ya que la literatura establece que el equilibrio ácido-base en la leche es influenciado por las operaciones de procesamiento. Sin embargo, ambos parámetros varían en un rango muy reducido y son altamente influenciados por la temperatura, el tipo de leche, su composición y la intensidad del tratamiento térmico aplicado (Negri, 2005).

La pasteurización puede causar algunos cambios en el pH debido a la pérdida de CO₂ y a la precipitación de fosfato de calcio. Así mismo, tratamientos térmicos severos (superiores a 100°C) pueden resultar en una disminución del pH debido a la degradación de la lactosa a varios ácidos orgánicos, especialmente a ácido fórmico (Negri, 2005).

Por otro lado, un estudio realizado por Pestana y colaboradores (2015), quienes compararon la composición fisicoquímica de leche cruda y leche UHT, evidenciaron un aumento significativo en el pH de la leche UHT y, por consecuencia, una disminución en la acidez, lo cual lo asociaron a una menor cantidad de proteína de suero asociada a las micelas de caseína. Según Anema y Li (2003), a pH 6,7, solo alrededor del 30% de las proteínas de suero desnaturalizadas están asociadas con la superficie de la micela de caseína.

Respecto al color, no se observó diferencia significativa en el parámetro L*, por lo que ambas muestras presentan luminosidades comparables y evidencia que el tratamiento térmico no tiene influencia sobre este parámetro. El parámetro L* indica variaciones en la luminosidad o claridad de la leche (variando desde 0: negro a 100: blanco); donde mayores valores indican que más blanco es el color obtenido (Álvarez, 2012), por lo que valores cercanos a 90, como los obtenidos, reflejan el color característico de la leche.

El color blanco está determinado por la dispersión y absorción de la luz, por parte de los glóbulos de grasa en la superficie coloidal, por la riboflavina, los carotenos presentes y por las micelas de proteínas (Guerrero & Rodríguez, 2010). Según lo anterior, aún cuando las muestras son descremadas, presentan el color blanco opalescente característico, atribuido en este caso a la concentración de las proteínas. Además, Le y colaboradores (2011) establecen que de los parámetros de color evaluados (L*, a*, b*, ΔE^*), el valor b* y ΔE^* son los indicadores más sensibles al efecto de la temperatura en el progreso de la reacción de Maillard, mientras que la luminosidad y el color rojo no se ven tan afectados.

Respecto a los parámetros a* y b*, se observan diferencias significativas, donde el prototipo tratado térmicamente por UHT presenta valores mayores en ambos parámetros. Este resultado se verifica además con el cálculo de la diferencia

total de cambio de color ΔE^* . Dicho parámetro engloba el cambio de color de los alimentos sin enfocarse en la dirección del cambio, mediante una cuantificación. Por ende, mayores valores de ΔE^* indican un cambio de color más pronunciado (Francis, 2005). Ansari & Sahoo (2018) realizaron la determinación del ΔE^* para leche cruda y leche UHT, encontrando valores máximos de 7,6, por lo que los resultados obtenidos en el presente proyecto (4,393) son esperados y concuerdan con lo reportado en la literatura.

En la Figura 8 se muestra una representación gráfica de la escala CIELab (adaptado de HunterLab), donde se observa con claridad que los valores más positivos en ambos parámetros se asocian a coloraciones rojas-cafés.

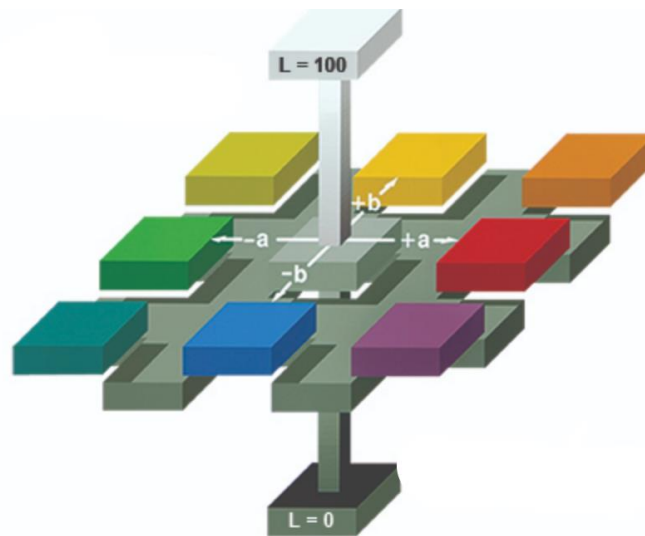


Figura 8. Escala CIELab: parámetros L^* , a^* y b^* .

Revilla (2000) afirma que el color de la leche es una de las propiedades fisicoquímicas más cambiantes, tanto en el procesamiento como en el almacenamiento, afectando directamente la aceptación del consumidor. Indica que el color de la misma varía según el proceso o tratamiento al cual se haya sometido; por ejemplo, el descremado deja en la leche un color blanco azulado, la pasteurización a alta temperatura y corto tiempo intensifica su blancura y la esterilización, cambia su color a café claro o caramelo, concordando con los resultados obtenidos.

El aumento en los parámetros a^* y b^* en el prototipo UHT se debe al desarrollo de compuestos marrón, principalmente las melanoidinas. Estos compuestos son producto de la reacción de Maillard y de la exposición de la leche a altas temperaturas. Su aparición, particularmente en la fabricación de leche, y por ende el avance de la reacción de Maillard, son efectos no deseados, al reducir drásticamente el valor comercial del producto (Shimamura & Ukeda, 2012).

Aun cuando existe un aumento significativo en los parámetros de color a^* y b^* en el prototipo al aplicar un tratamiento térmico UHT, los valores obtenidos se encuentran dentro de los rangos normales establecidos en la literatura para diferentes tipos de leche. Nouri & Ezattpanah (2017) reportan valores de a^* que van desde -4 a 0 y valores de b^* que van desde 8 a 12, para leche UHT descremada.

Por otro lado, Le y colaboradores (2011) evaluaron los cambios fisicoquímicos en un concentrado de proteína de leche (MPC) durante el almacenamiento, indicando valores cercanos a 92, para el parámetro L^* , y cercanos a -2 y 10, para los parámetros a^* y b^* , respectivamente, para el MPC esterilizado del tiempo cero. Los valores obtenidos para el prototipo UHT se acercan a los mencionados en el estudio y son comparables debido a la naturaleza del producto evaluado, evidenciando que aun cuando ocurre un pardeamiento en el prototipo al realizar el tratamiento térmico, las características fisicoquímicas obtenidas son esperadas y se ajustan a lo que reporta la literatura.

5.2.2 Variables sensoriales

5.2.2.1 Panel de discriminación

En el Cuadro XII se resumen los resultados obtenidos, al realizar una prueba sensorial de discriminación 2-AFC a 40 consumidores de leche no entrenados. En el panel se evaluaron muestras de prototipo pasteurizado y de prototipo tratado térmicamente por UHT a través de los atributos sensoriales descritos en el Cuadro VI, con el objetivo de identificar si el consumidor percibe una diferencia en las muestras y con ello determinar si el tratamiento térmico por UHT tiene efecto en las propiedades sensoriales del prototipo elaborado.

Cuadro XII. Determinación del efecto del tratamiento térmico por UHT sobre las características sensoriales del prototipo elaborado utilizando pruebas sensoriales de discriminación 2 AFC con n=40.

Atributo	Mínimo de aciertos¹ ($\alpha=0,05$)	Aciertos obtenidos	Proporción de aciertos	d' Ennis¹	Resultado obtenido
Color	26	34	0,85	1,47	Hay diferencia significativa
Olor a cocido	26	39	0,98	2,91	Hay diferencia significativa
Sabor a cocido	26	35	0,88	1,67	Hay diferencia significativa
Sabor dulce	26	36	0,90	1,82	Hay diferencia significativa
Sabor residual dulce	26	37	0,92	2,09	Hay diferencia significativa

¹Ennis et al. 2014

En el Cuadro XII, se observa que hay diferencia significativa en los cinco atributos sensoriales evaluados con un $\alpha=0,05$, donde la muestra UHT presenta mayor intensidad del atributo descrito, indicando que la aplicación del tratamiento UHT ocasiona modificación en el perfil sensorial del prototipo.

Respecto al valor de d' , se observan valores superiores a la unidad para todos los atributos sensoriales evaluados. Este parámetro estima la capacidad que tienen los jueces de discriminar entre dos estímulos comparados en términos de la variabilidad (Ángulo & O'Mahony, 2009). Worch y Delcher (2013) establecen que el valor de d' recomendado para aplicar pruebas de discriminación debe ser cercano a la unidad, ya que de esa manera se justifica que la diferencia entre los estímulos es confundible. En este caso, los resultados obtenidos son mayores a la unidad, por lo que no era recomendado aplicar pruebas de diferencia y se debía proceder directamente con pruebas de agrado general, ya que la diferencia entre las muestras presentadas no era confundible.

El resultado obtenido difiere de los resultados preliminares obtenidos en la realización del panel informal, ya que, en dicho momento, la diferencia sensorial entre las muestras era difícil de detectar. Debido a lo anterior, se presumen entonces variaciones en el proceso aplicado al prototipo y/o en las características fisicoquímicas de la materia prima en estudio, de manera que dichas variaciones inciden en el prototipo obtenido y en sus características.

En el Cuadro XI se observa la caracterización fisicoquímica del prototipo utilizado en el panel de discriminación; al comparar los valores obtenidos para el color, especialmente el parámetro $b^*=8,680$, contra la caracterización fisicoquímica presentada en el Cuadro X ($b^*=11,0$), se observan variaciones. Lo anterior indica que el prototipo en estudio presenta variación en sus características, principalmente en el color, al utilizarse diferentes lotes para el panel preliminar y para el panel formal de discriminación.

Las variaciones de color justifican entonces las diferencias detectadas con facilidad en los atributos descritos. Dicha diferencia en el prototipo es esperada, ya que desde un punto de vista cualitativo la leche es medianamente constante en composición y propiedades, pero existe una considerable variación cuantitativa. La composición química, tamaño y estabilidad de elementos estructurales y propiedades fisicoquímicas como su color, acidez y densidad pueden diferir entre lotes de leche, lo cual puede ser el resultado de una variación natural (causas genéticas, fisiológicas y ambientales) o cambios que ocurren durante el

procesamiento (Vargas, 2004). Según lo anterior, la revisión de los parámetros de calidad de la materia prima utilizada, así como la verificación del producto obtenido contra ficha técnica, aseguran la obtención de un producto constante y/o con menor variabilidad.

Además, en las pruebas discriminativas direccionadas, los panelistas tienden a tener mejores rendimientos para encontrar diferencias, es decir, detectan diferencias más pequeñas. Este rendimiento aumenta, además, cuando el panelista está influenciado por prejuicios o diferentes criterios, como por ejemplo sesgos respecto a la muestra en relación a composición, color, tamaño y presentación. El sesgo de color suele controlarse con utilización de luz roja en el panel sensorial, la cual enmascara sombras y diferencias de color entre las muestras presentadas (Ramírez, 2016). Según lo anterior, la variación de color en las muestras presentadas pudo tener influencia sobre la respuesta de los consumidores en el panel elaborado, ocasionando rendimientos de acierto elevados como los que se presentan en el Cuadro XII y por ende valores de d' superiores a la unidad.

Las pruebas de discriminación se aplican generalmente en el desarrollo de productos; al reformular los ingredientes de un alimento, se aplican procurando que el consumidor no detecte diferencia alguna, sin embargo, en algunos casos donde se busca crear un producto nuevo o mejorado, así como cuando se busca evaluar el efecto de un ingrediente o proceso, es deseable la diferencia entre los productos y el resultado de interés repercute en la percepción del consumidor en las pruebas de agrado que le proceden (Olivas *et al.* 2009).

Según lo anterior, en este caso en particular, la diferencia sensorial percibida en los atributos descritos implica que la aplicación de un tratamiento térmico por UHT tiene efecto significativo sobre las características sensoriales del prototipo, más no es un resultado negativo o indeseable. Se procede entonces a evaluar el agrado general del prototipo, para con ello evaluar la percepción del consumidor frente a un nuevo producto.

5.2.2.2 Panel de agrado general

Al observar diferencia en todos los atributos sensoriales evaluados, se procedió a realizar un panel sensorial de agrado general. Ambas muestras presentadas en el panel de discriminación, además de dos muestras comerciales de leche fueron evaluadas mediante un panel con 100 consumidores, donde se obtuvo el promedio de agrado que se muestra en el Cuadro XIII, en el que las diferencias significativas se obtuvieron con un nivel de confianza del 95 %.

Cuadro XIII. Promedio de agrado general de leches comerciales y muestras de prototipo pasteurizado y prototipo UHT.

Producto	Agrado ¹
Leche comercial UHT 3% grasa	8 ± 3 a
Prototipo UHT	7 ± 2 b
Leche comercial UHT 0% grasa	7 ± 3 b
Prototipo pasteurizado	5 ± 2 c

¹Promedios con letra diferente indican diferencia significativa (prueba de medias LSD, $p < 0,05$).

Se observa que la leche comercial con 3 % grasa presentó el mayor agrado, seguido de las muestras de prototipo UHT y leche comercial con 0 % grasa, las cuales no presentaron diferencia significativa entre sus promedios de agrado ($p < 0,05$), y, por último, las muestras de prototipo pasteurizado. El resultado obtenido concuerda con un estudio realizado por Juárez y colaboradores (2015), donde un 64,8% de los consumidores prefirieron leche entera, un 19,7% leche semidescremada o descremada y un 4,9% leche deslactosada, al preguntar cuál tipo de leche prefieren los consumidores respecto a su sabor.

Además, se realizó un análisis de *clusters* con los resultados obtenidos, mediante el método de clasificación ascendente jerárquica de Ward. Lo anterior debido a que el análisis de *clusters* logra segmentar de mejor manera los datos, lo que permite encontrar la máxima diferencia en el agrado, ya que en pruebas de

aceptación existe la posibilidad de que no a todos los consumidores les agrade la muestra presentada, ocasionando distorsión en los datos (Gan, 2011).

A partir del truncamiento automático se obtuvo una distancia de vinculación de 282, siendo ésta la elegida para la conformación de los grupos en el dendograma. En la Figura 9 se observa la formación de 3 grupos o *clusters*.

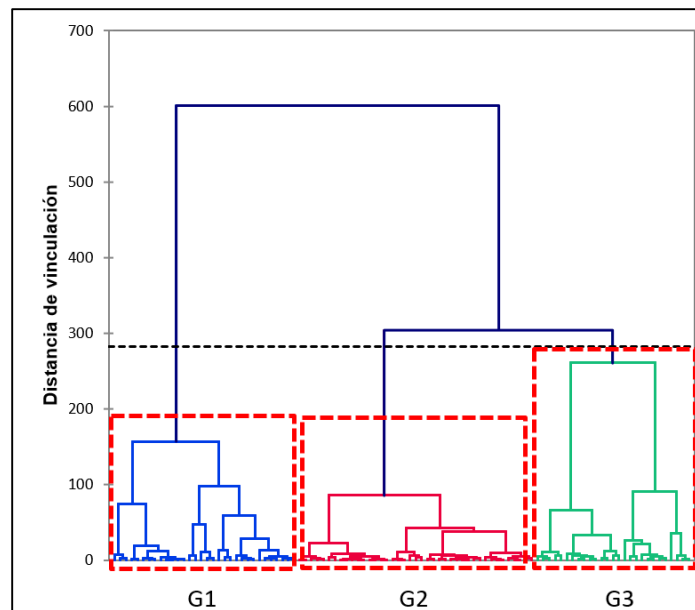


Figura 9. Dendograma generado a partir de los resultados del panel sensorial de agrado general.

Una vez conformados los grupos, se procedió a realizar su respectivo análisis. Los valores promedios del agrado general de las muestras, según el grupo, se observan en la Figura 10, donde el grupo 3 otorga las mayores calificaciones.

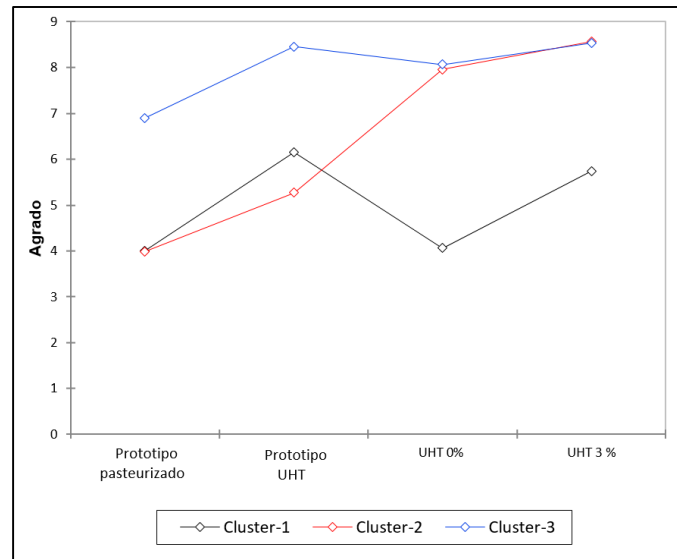


Figura 10. Agrado promedio de las muestras de leche comercial y prototipo pasteurizado y UHT de acuerdo al análisis de *clusters*.

Los valores promedio de agrado de las diferentes muestras evaluadas, según el grupo o *cluster* se muestran a continuación en el Cuadro XIV.

Cuadro XIV. Promedio de agrado de las muestras de leche comercial y prototipo pasteurizado y UHT para cada grupo obtenido del análisis de *clusters*.

Cluster	Número de integrantes	Prototipo pasteurizado¹	Prototipo UHT¹	Leche UHT 0 % grasa¹	Leche UHT 3% grasa¹
1	32	4 ± 2 b	6 ± 2 b	4 ± 2 b	6 ± 2 b
2	27	4 ± 3 b	5 ± 3 b	8 ± 2 a	8 ± 2 a
3	41	7 ± 1 a	8 ± 1 a	8 ± 1 a	8 ± 1 a

¹Promedios con letra diferente dentro de una misma columna indican diferencia significativa (Prueba de medias LSD, $p < 0,05$).

Se observa que el grupo 3 presenta las mayores calificaciones para los productos evaluados, de manera que representa un nicho de potenciales consumidores o compradores. Al hacer la separación por *clusters*, se observa que el grupo 1 otorga calificaciones por debajo del punto medio de la escala para el

prototipo pasteurizado y para la leche UHT 0% grasa, lo que indica el desagrado del producto. Dicha afirmación puede hacerse gracias al tipo de escala utilizada, el cual contiene en su punto medio la declaración “ni me gusta ni me disgusta”, por lo que valores inferiores se categorizan dentro del disgusto del producto. Así mismo ocurre para el prototipo pasteurizado, según las calificaciones del grupo 2.

A excepción de lo anterior, tanto en el Cuadro XIII como en el Cuadro XIV, se observa que las muestras de prototipo UHT obtienen calificaciones de agrado similares o comparables a las leches comerciales evaluadas. Lo anterior es un resultado ventajoso en relación al prototipo UHT desarrollado ya que en general, las leches comerciales descremadas y enteras presentan altos niveles de agrado en varias poblaciones, y por ende potenciales consumidores.

Por ejemplo, respecto a la población costarricense, un 41 % frecuenta consumir leche semi-descremada, un 18 % leche descremada, un 12 % leche entera, un 9 % semidescremada y deslactosada, un 8 % descremada y deslactosada, y el resto una combinación de las anteriores (Álvarez, 2012). Así mismo, Lagos y Hernández (2002) indican que, de una población mexicana en estudio, 47% consume leche semidescremada, 23% leche entera, 21% leche descremada y 8% leche deslactosada.

5.3 Evaluación de la estabilidad de las variables fisicoquímicas y sensoriales del prototipo elaborado en la producción industrial durante el almacenamiento

5.3.1 Variables fisicoquímicas

Se realizó la determinación del pH y el color del prototipo elaborado en la producción industrial durante su almacenamiento a 37 °C (Anexo 8), con el fin de evaluar la estabilidad de las variables fisicoquímicas en el tiempo. Las probabilidades asociadas para cada variable obtenidas del análisis de regresión lineal se observan a continuación en el Cuadro XV, donde todas las variables analizadas presentaron un cambio significativo en el tiempo.

Cuadro XV. Probabilidad asociada obtenida del análisis de regresión lineal para cada una de las variables fisicoquímicas analizadas al prototipo durante el tiempo de almacenamiento.

Variable	Probabilidad¹
pH	0,0283
Color L*	0,0004
Color a*	0,0003
Color b*	0,0027
ΔE^*	0,0004

¹Regresión significativa con $\alpha=0,05$ (resaltado en negrita)

A pesar de la significancia observada para la variable pH, las determinaciones realizadas no arrojaron valores por fuera del rango de pH normal reportado en la literatura para leche el cual varía entre 6,5 y 6,7 (Chacón, 2006). El pH suele utilizarse con frecuencia en la industria lechera como un parámetro de control de calidad de la leche, al estar relacionado con el desarrollo de acidez producto de la proliferación bacteriana (Negri, 2005). Según lo anterior, el prototipo no presentó acidificación que pudiera relacionarse con algún grado de deterioro a nivel microbiológico durante el almacenamiento del prototipo.

Como se muestra a continuación en la Figura 11, el pH tendió a disminuir durante el almacenamiento. Dicha disminución leve pudo deberse a cambios estructurales en la lactosa, previamente mencionados, así como a la desfosforilación de la caseína.

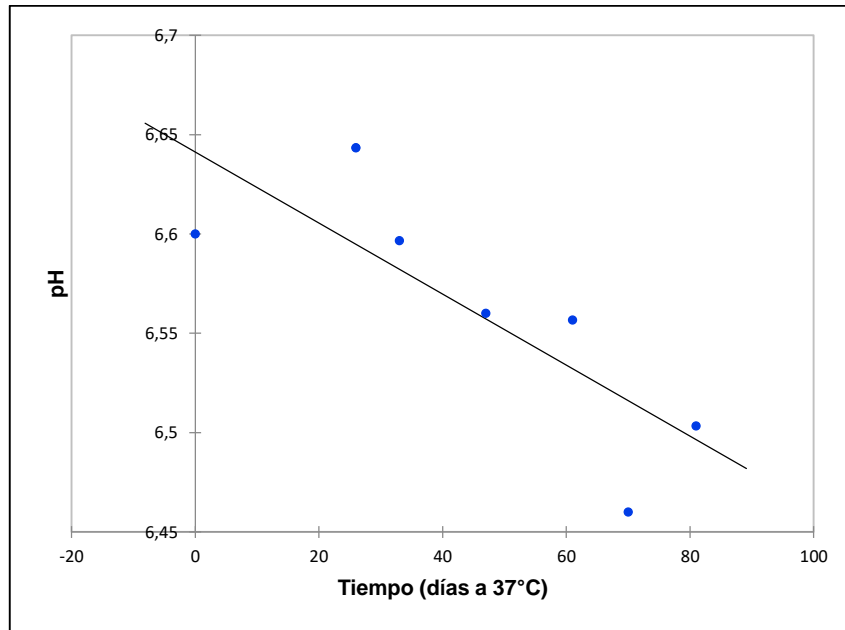


Figura 11. Cambio de la variable pH en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C del prototipo

Además, Negri (2005) establece que el pH es altamente dependiente de la temperatura, donde las variaciones en ésta causan muchos cambios en el sistema buffer de la leche, principalmente afectando la solubilidad del fosfato de calcio. Fundamentalmente a causa de la insolubilización del fosfato de calcio, el pH disminuye en promedio 0,01 unidades por cada grado centígrado que aumenta la temperatura.

Respecto al color, todos los parámetros evaluados presentaron una regresión significativa tal y como se presenta en el Cuadro XV. En la Figura 12 a continuación, se observa el cambio en el tiempo de las variables analizadas, donde el parámetro L^* disminuyó de forma significativa en el tiempo, mientras que los demás parámetros presentaron un aumento significativo.

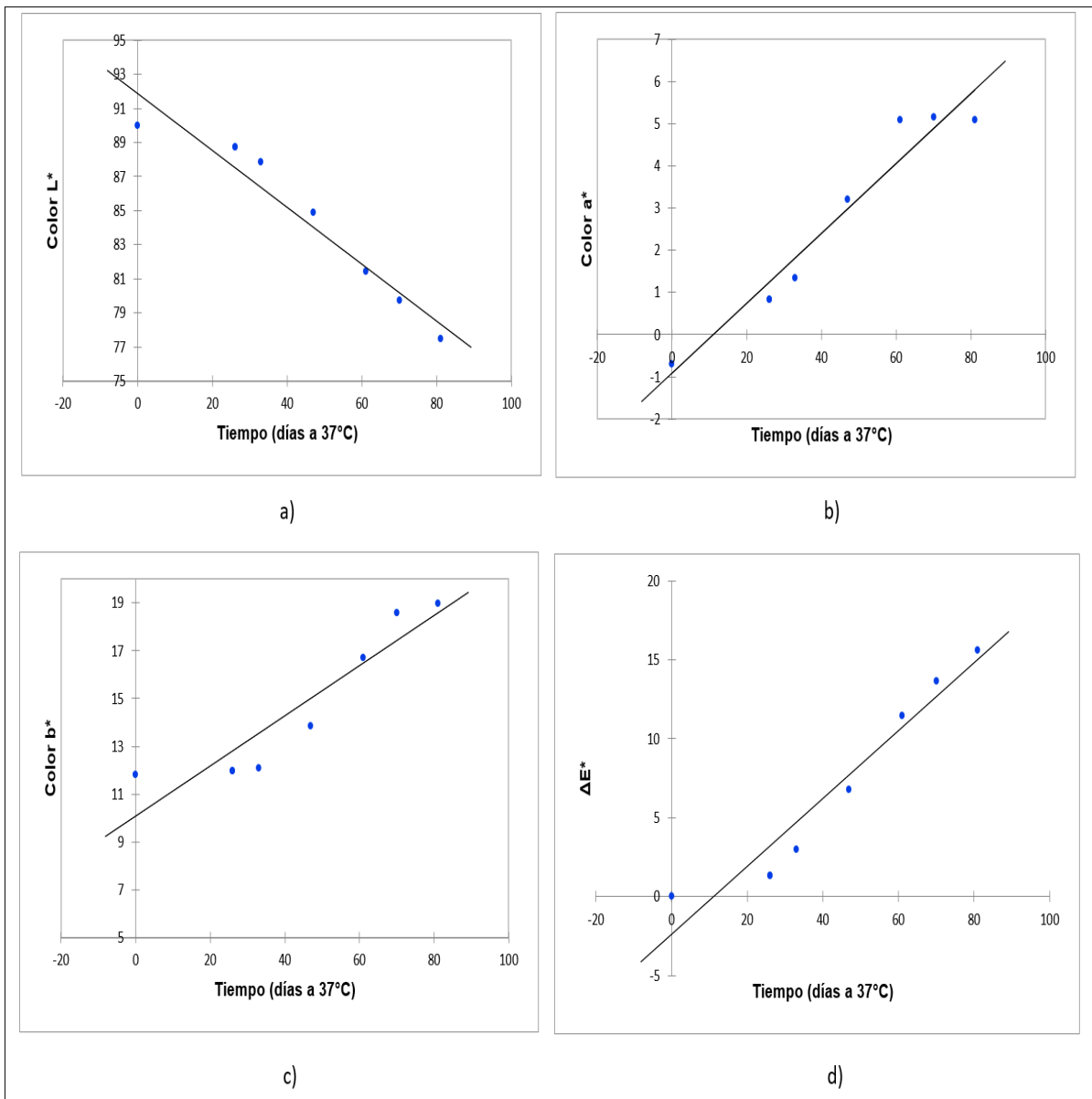


Figura 12. Cambio de la variable L* (a), a* (b), b* (c) y ΔE^* (d) en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C del prototipo.

Como se observa a continuación en el Cuadro XVI, el parámetro L* presenta una pendiente negativa, indicando una disminución en la luminosidad, mientras que las variables a*, b* y ΔE^* presentaron pendientes positivas (Cuadro XVI), indicando un aumento en cada tonalidad durante el tiempo de almacenamiento, así como un aumento en la diferencia total de cambio de color con respecto al prototipo del tiempo cero de almacenamiento (prototipo control). Dichos cambios se vieron

reflejados como un oscurecimiento y/o pardeamiento en el prototipo durante el almacenamiento, lo cual concuerda con el ΔE^* obtenido, el cual indica un cambio de color pronunciado a lo largo del almacenamiento.

Cuadro XVI. Parámetros estimados para la regresión lineal de las variables L^* , a^* , b^* y ΔE^* en función del tiempo de almacenamiento.

Variable	Pendiente de la regresión	Intercepto de la regresión	R ² Coeficiente de determinación
Color L^*	-0,168	91,902	0,936
Color a^*	0,083	-0,913	0,942
Color b^*	0,105	10,086	0,858
ΔE^*	0,216	-2,408	0,936

En el Cuadro XVI se observa un coeficiente de determinación elevado (mayor a 0,85) para todas las variables analizadas, indicando una correlación importante entre el tiempo de almacenamiento y la aparición de coloraciones oscuras producto del avance en la reacción de Maillard. Este resultado concuerda con el obtenido por Vuholm (2016), donde al evaluar leche UHT descremada durante el almacenamiento a diferentes temperaturas, obtuvo correlaciones superiores a 0,9 para los parámetros de color L^* , a^* y b^* .

El coeficiente de determinación hace referencia a la proporción o el porcentaje de variación total que ocurre en la variable Y, en este caso el color, que es explicada por el modelo de regresión. Es usual usar esta medida en porcentaje, al ser una medida adimensional, de fácil cálculo e interpretación (Martínez, 2005). Según lo anterior y lo observado en el Cuadro XVI, el tiempo de almacenamiento del prototipo a 37 °C explica el 94% de la variabilidad que se observa en el cambio de color del prototipo.

En este caso, los valores de L^* , a^* y b^* determinados al final del almacenamiento son ligeramente mayores a los reportados por Vuholm (2016), quien, a una temperatura de 40 °C, obtuvo valores de $L^* = 75$, $a^* = 2$ y $b^* = 6$, para 12 semanas de almacenamiento. Lo anterior se debe a que en el presente proyecto

el prototipo estudiado es un producto deslactosado, donde la cantidad de azúcares reductores es mayor en comparación con leche sin deslactosar. La presencia de azúcares de tipo monosacárido, como la glucosa y la galactosa en el caso de la leche deslactosada, aumenta la velocidad de reacción de Maillard, de manera que se obtienen coloraciones pardeadas de mayor intensidad en un menor tiempo de almacenamiento, limitando su vida útil (Jáuregui, 2015). Así mismo, la presencia de altos contenidos de proteína, como es el caso del prototipo en estudio, favorece la velocidad de la reacción de Maillard al contar con mayor concentración de sustrato (grupos amino de los residuos lisil y arginina) (Zavala, 2015).

Además, los resultados obtenidos concuerdan con los obtenidos por Popov y colaboradores (2008), donde la luminosidad de dos leches con diferente contenido de grasa disminuyó significativamente durante el almacenamiento, así como ocurrió un aumento en la saturación de los parámetros a^* y b^* . Dichos autores atribuyen estos cambios principalmente a la aparición de compuestos pardos como las melanoidinas producto de la reacción de Maillard, así como a la degradación del triptófano y tirosina, los cuales causan aparición de coloraciones rojizas.

Así mismo, Ansari & Sahoo (2018) reportaron una tendencia decreciente del valor L^* y una tendencia creciente de los valores a^* y b^* de leche esterilizada UHT durante el almacenamiento a temperatura ambiente por 90 días, concluyendo que los valores de a^* y b^* en leche pueden servir como indicadores de reacciones de pardeamiento. Además, reportan un ΔE^* cercano a 10, para 60 días de almacenamiento, concordando con los resultados obtenidos en este proyecto, presentados en la gráfica d) de la Figura 12.

5.3.2 Variables sensoriales

5.3.2.1 Panel entrenado

Durante el análisis con el panel entrenado, se evaluaron 5 atributos sensoriales en el prototipo, que corresponden a los atributos generados por el panel y presentados en el apartado 4.5.1, Cuadro IX. Las probabilidades asociadas para cada variable, obtenidas del análisis de regresión lineal se observan a continuación

en el Cuadro XVII, donde todas las variables analizadas presentaron un cambio significativo en el tiempo.

Cuadro XVII. Probabilidad asociada obtenida del análisis de regresión lineal para cada una de los descriptores sensoriales analizados al prototipo durante el tiempo de almacenamiento.

Variable	Probabilidad asociada¹
Color pardo	0,0002
Olor a cocido	< 0,0001
Sabor a cocido	0,0001
Recubrimiento bucal	0,0011
Arenosidad	0,0172

¹Regresión significativa con $\alpha=0,05$ (resaltado en negrita)

El modelo de regresión lineal de cada variable se muestra en la Figura 13, donde se observa un aumento en la intensidad percibida para cada atributo al aumentar el tiempo de almacenamiento; resultado que se verifica con los valores elevados del coeficiente de determinación de cada variable y con el valor positivo de la pendiente (Cuadro XVIII). La variable color pardo presentó la mayor pendiente (Cuadro XVIII), es decir el mayor aumento en su intensidad respecto al tiempo concordando con los resultados instrumentales presentados en la sección 5.3.1, seguido del sabor y olor a cocido, y con valores inferiores el recubrimiento bucal y la arenosidad.

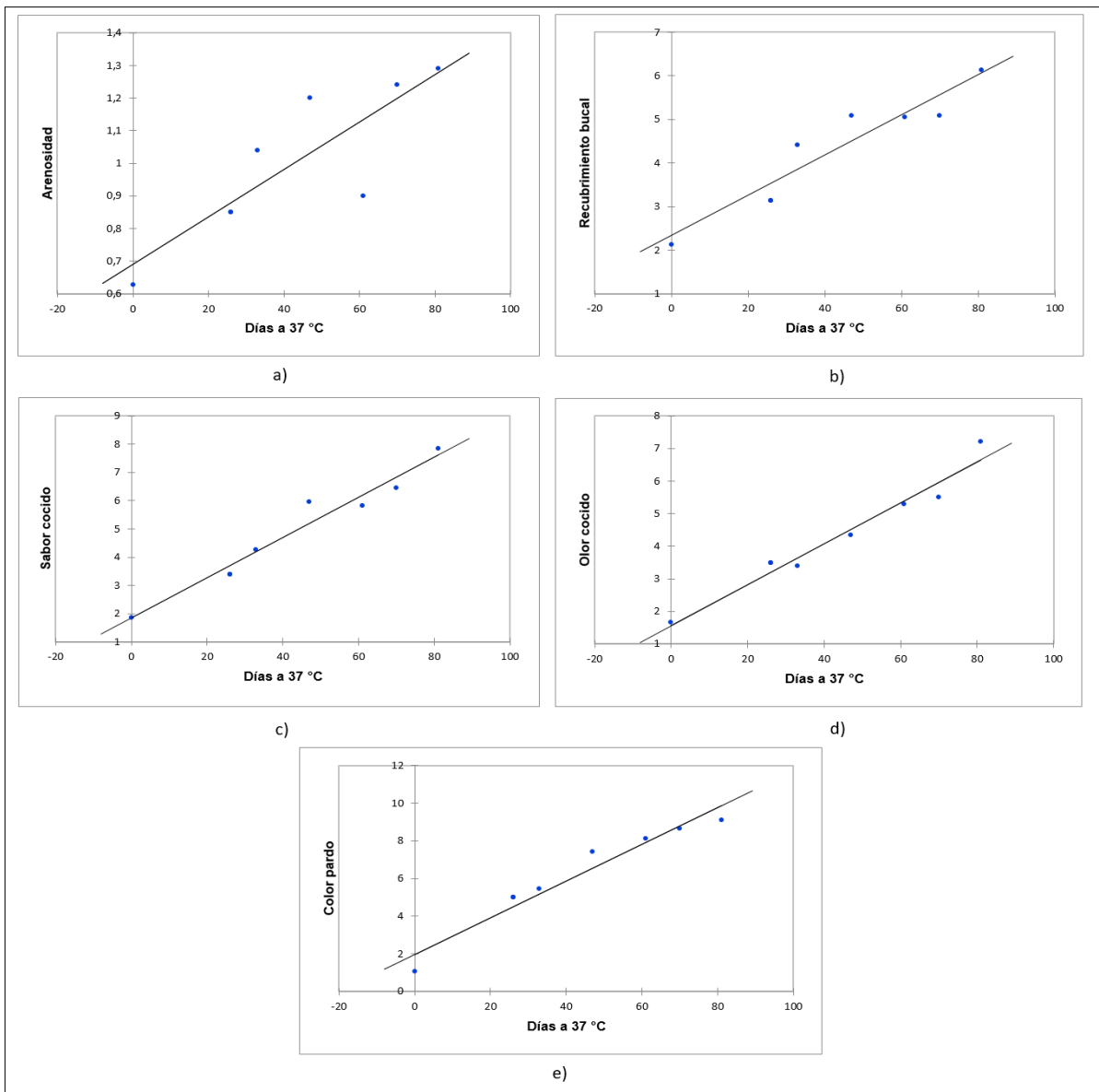


Figura 13. Cambio de la variable arenosidad (a), recubrimiento bucal (b), sabor a cocido (c), olor a cocido (d) y color pardo (e) en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C del prototipo.

Cuadro XVIII. Parámetros estimados para la regresión lineal de los descriptores sensoriales en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C del prototipo.

Variable	Pendiente de la regresión	Intercepto de la regresión	R2 Coeficiente de determinación
Color pardo	0,0978	1,958	0,946
Olor a cocido	0,0628	1,563	0,964
Sabor a cocido	0,0712	1,851	0,959
Recubrimiento bucal	0,0463	2,332	0,901
Arenosidad	0,0073	0,691	0,711

Los resultados obtenidos concuerdan con los cambios mencionados por Becerra (2014), quien establece que problemas tales como el pardeamiento no enzimático, la desnaturalización de las proteínas junto con la gelificación, insolubilización y aumento de viscosidad, la aparición de sabores desagradables como el sabor a cocido y la pérdida de nutrientes, son los principales defectos de la leche UHT causados inicialmente por el tratamiento térmico y potenciados durante un almacenamiento por tiempo prolongado.

Vuholm (2016) establece que el perfil sensorial de la leche UHT durante el almacenamiento se relaciona con el avance de la reacción de Maillard, al generarse compuestos que afectan la percepción sensorial. Además de la aparición de coloraciones pardeadas, la reacción de Maillard da lugar a la formación de compuestos volátiles y no volátiles que pueden inducir la aparición de *off-flavours* en la leche, así como aromas desagradables; tales como cocido, rancio, viejo y oxidado, los cuales se potenciarán con el avance de la reacción.

Adicionalmente, los resultados obtenidos para las variables fisicoquímicas se relacionan con los parámetros sensoriales evaluados. Al observar un avance pronunciado en la reacción de Maillard por la formación evidente de color caramelo,

se presume entonces un cambio en el perfil sensorial, tal y como se evidencia en la Figura 13, donde los panelistas percibieron mayor intensidad de los descriptores sensoriales del prototipo durante su almacenamiento.

En relación al atributo de arenosidad, el mismo fue seleccionado como descriptor debido a que al ser un producto alto en proteína, la insolubilización de la proteína a causa de la desfosforilación de la caseína, así como del aumento de la temperatura de almacenamiento y la exposición a un tratamiento térmico, podía causar precipitación o coagulación en el producto, según lo expresado por Huamani (2012). En este caso en particular, no se observó precipitación durante el almacenamiento, por lo que el aumento de arenosidad percibido por los panelistas puede deberse a confusión sensorial al percibirse un aumento en la viscosidad como tal.

5.3.2.2 Panel de agrado general

Además del panel entrenado, se realizó un panel de agrado general con consumidores, donde muestras de diferentes tiempos de almacenamiento a 37 °C, así como una leche comercial homóloga al prototipo (descremada y deslactosada), fueron evaluadas para determinar el nivel de agrado por el producto respecto al tiempo de almacenamiento. El promedio de agrado se muestra en el Cuadro XIX, en el que las diferencias significativas se obtuvieron con un nivel de confianza del 95 %.

Cuadro XIX. Promedio de agrado general del prototipo con diferente tiempo de almacenamiento y de su leche homóloga comercial.

Producto	Promedio de agrado ¹
Comercial	6 ± 2 a
0 días	6 ± 2 a
47 días	6 ± 2 a
61 días	4 ± 2 b
81 días	3 ± 1 b

¹Promedios con letra diferente indican diferencia significativa (prueba de medias LSD, $p < 0,05$).

En el Cuadro XIX se observa que el prototipo hasta 47 días de almacenamiento, no presenta diferencia significativa en el nivel de agrado general con respecto a la leche comercial descremada y deslactosada, mientras que, para 61 y 81 días de almacenamiento, el agrado es significativamente inferior ($\alpha=0,05$).

Además, se realizó un análisis de *clusters* con los resultados obtenidos de agrado general, mediante el método de clasificación ascendente jerárquica de Ward. A partir del truncamiento automático se obtuvo una distancia de vinculación de 297, siendo ésta la elegida para la conformación de los grupos en el dendograma. En la Figura 14 se observa la formación de 3 grupos o *clusters*.

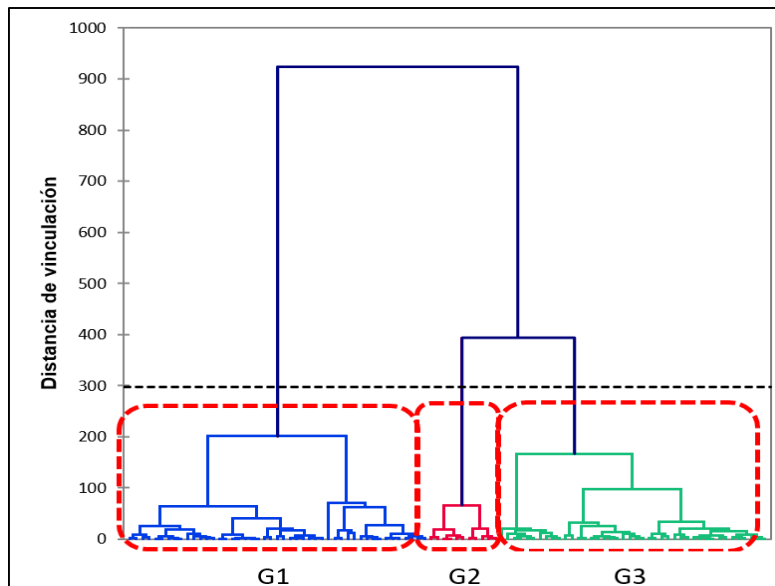


Figura 14. Dendograma generado a partir de los resultados del panel sensorial de agrado general del prototipo durante el almacenamiento.

Una vez conformados los grupos, se procedió a realizar su respectivo análisis. Los valores promedios del agrado general de las muestras, según el grupo, se observan en la Figura 15, donde el grupo 1 (conformado por 47 panelistas) otorga las mayores calificaciones, mientras que los grupos 2 (42 panelistas) y 3 (11 panelistas) presentan una tendencia de calificación similar, otorgando calificaciones por debajo del punto medio de la escala para el prototipo con 61 y 81 días de almacenamiento, indicando el desagrado del producto.

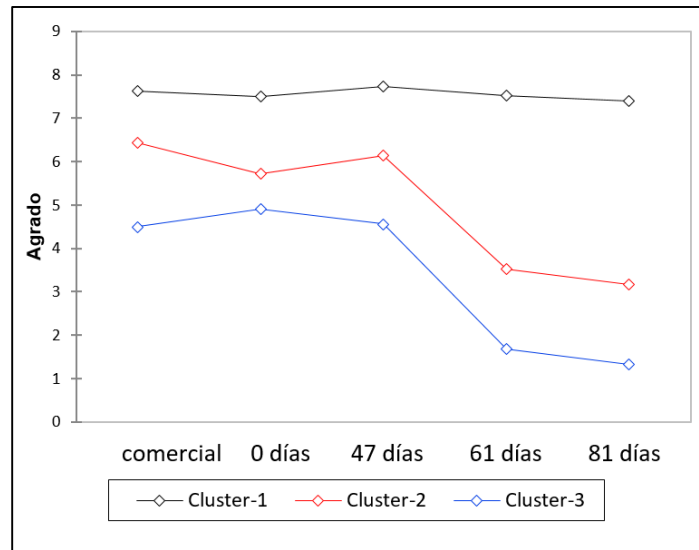


Figura 15. Promedio de agrado general del prototipo con diferente grado de almacenamiento y de su leche homóloga comercial de acuerdo al *cluster*.

En la Figura 16 se observa la frecuencia de consumo de leche, donde en general la mayoría consume leche 1 vez al día o incluso más de una vez al día.

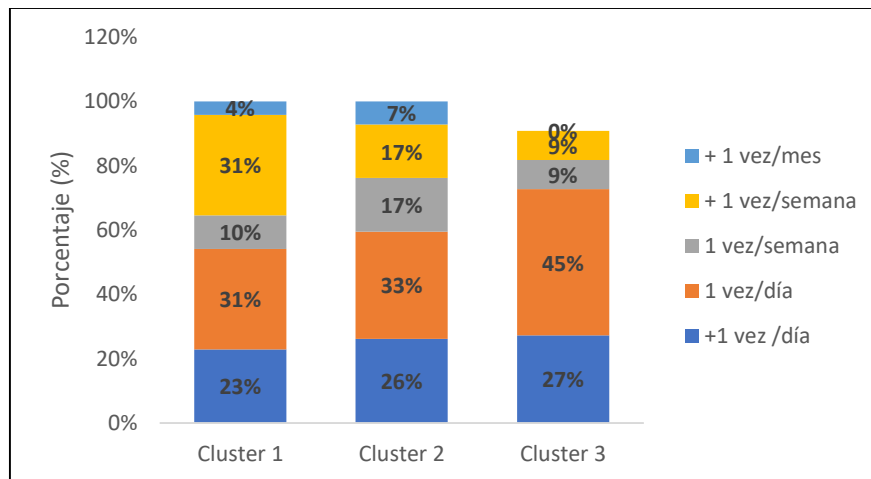


Figura 16. Conformación de los *clusters* según frecuencia de consumo de leche.

Además de la frecuencia de consumo, se preguntó a los consumidores el tipo de leche que consumen con mayor frecuencia. Los resultados se muestran en la Figura 17, donde se observa que en general la mayoría consume leche semi-descremada, seguida de leche descremada, leche entera y en último lugar leche deslactosada.

Dichos resultados permiten entender el comportamiento de los panelistas a la hora de calificar las muestras, ya que el grupo 1 otorga las mayores calificaciones al tener un 15 % de consumidores de leche deslactosada, los cuales se familiarizan con el prototipo, el cual es deslactosado. Por otra parte, el grupo 3, otorga las menores calificaciones al producto, ya que ningún panelista frecuenta consumir este tipo de producto y el grupo 2 un intermedio entre los mencionados.

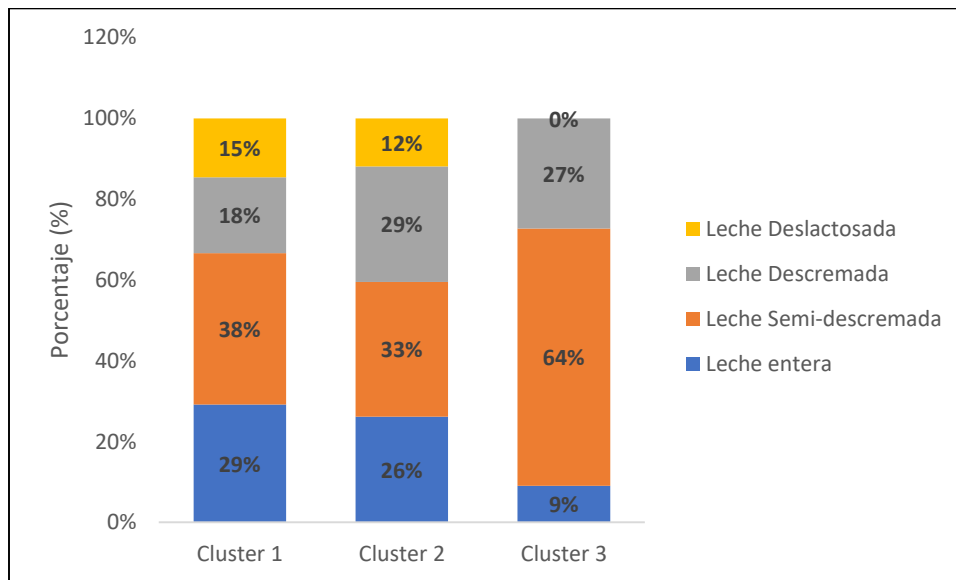


Figura 17. Conformación de los *clusters* según el tipo de leche que consume con mayor frecuencia.

Dado que el grupo 3 otorgó las menores calificaciones al producto evaluado, incluso indicando puntuaciones en la sección de desagrado de la escala para el prototipo con cero días de almacenamiento y debido a que no presenta consumidores de leche deslactosada (Figura 17), se procedió a eliminar a dichos consumidores, dejando un total de 89 consumidores, para la estimación de la vida útil.

Lo anterior debido a que según Hough y Fiszman (2005), la estimación de la vida útil empleando técnicas sensoriales dependerá no solo del producto en cuestión, sino de la población seleccionada y del contexto experimental. Por ello, recomiendan eliminar aquellos consumidores que atribuyen calificaciones bajas a

las muestras frescas, debido a que presentan desagrado por el producto y puede alterar la estimación de la vida útil.

Al realizar el análisis de regresión con los resultados obtenidos del agrado general, excluyendo la muestra comercial y los 11 consumidores del grupo 3, se obtiene la regresión lineal presentada en la Figura 18. Dicha regresión presenta una probabilidad significativa y una pendiente negativa (Cuadro XX), indicando una disminución significativa en el agrado general del prototipo al aumentar el tiempo de almacenamiento a 37 °C.

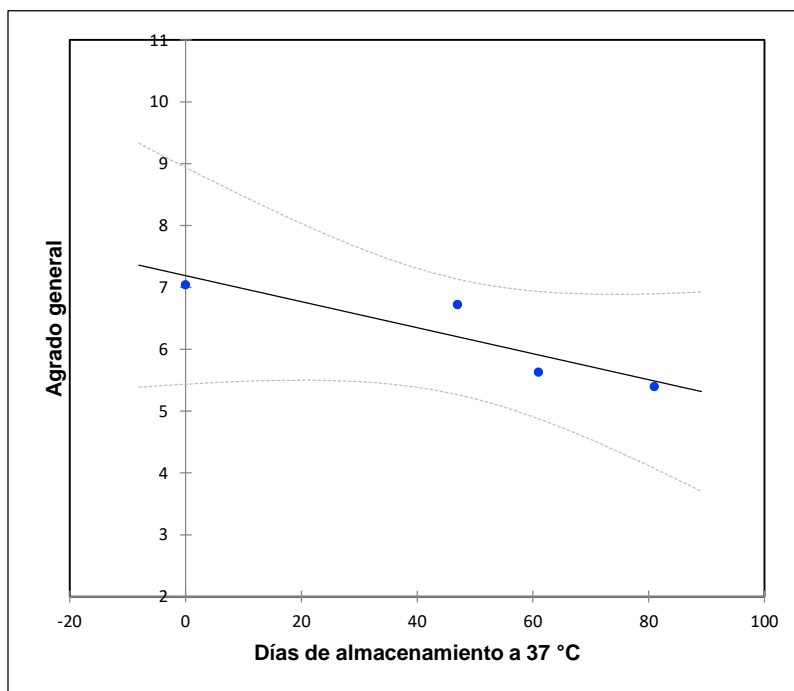


Figura 18. Agrado general del prototipo durante el almacenamiento a 37 °C.

Cuadro XX. Parámetros estimados de la regresión lineal del agrado del prototipo durante el almacenamiento a 37 °C.

Pendiente de la regresión	Intercepto de la regresión	R² Coeficiente de determinación	Probabilidad asociada ($\alpha=0,05$)
-0,0210	7,1869	0,806	0,003

5.3.3 Estimación preliminar de vida útil

Los resultados anteriores permiten entonces realizar una estimación de la vida útil de producto. Huamani (2012) establece que la aceptación sensorial en productos asépticos, como el caso de la leche UHT, es la propiedad que más limita vida útil del producto, definida entonces por medio de la aceptabilidad por parte de los consumidores. Tomando en consideración lo anterior, se puede anticipar una vida útil del prototipo elaborado cercana a los 61 días de almacenamiento a 37 °C, lo cual hace referencia al tiempo en el cual los consumidores otorgan calificaciones de agrado significativamente menores.

A raíz de la retroalimentación recibida por parte de panel entrenado, así como por parte de los consumidores del panel de agrado general, y según los datos instrumentales, el color pardo del prototipo se define como la variable crítica de deterioro que va a limitar y definir la vida útil del producto, al presentar los mayores cambios durante el almacenamiento.

En las Figura 19 y 20 se observa el avance en dicha tonalidad pardeada en el prototipo a lo largo del almacenamiento.

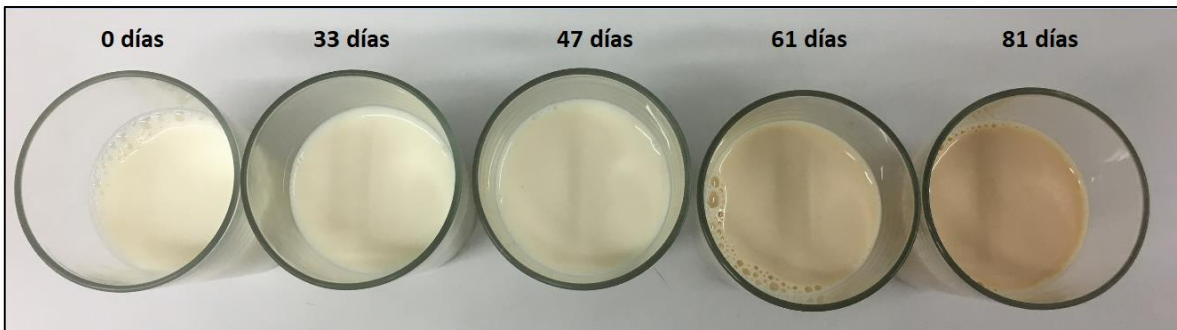


Figura 19. Imagen (vista superior) del prototipo durante el almacenamiento a 37 °C.



Figura 20. Imagen (vista lateral) del prototipo durante el almacenamiento a 37 °C.

A partir de la calificación de agrado otorgada por los 89 panelistas presentada en el Cuadro XIX y el valor de color pardo otorgado por los panelistas del panel entrenado, para los tiempos 0, 47, 61 y 81, se procede a realizar el gráfico de punto de corte presentado en la Figura 21.

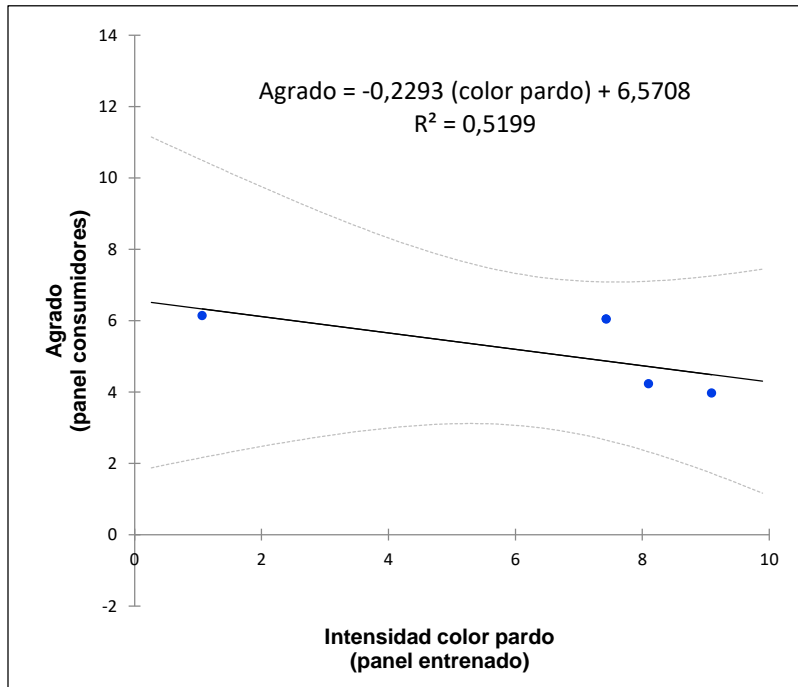


Figura 21. Promedio de agrado en función de la intensidad del color pardo para la determinación del punto de corte.

Con base a la ecuación de la regresión lineal presentada en la Figura 21, y utilizando un valor de aceptabilidad crítica de 4,49, el cual corresponde al valor promedio de agrado general otorgado por los consumidores en el cual el agrado del producto comienza a ser significativamente diferente al de la muestra control y la muestra comercial, se procede a realizar el punto de corte. Se obtiene por ende un valor de intensidad de color pardo que corresponde a 9,07.

A partir del punto de corte para la variable color pardo, se procede a estimar de forma preliminar la vida útil a 37 °C, obteniéndose un valor de 72,72 días, como se observa en la Figura 22, la cual corresponde a 2,4 meses.

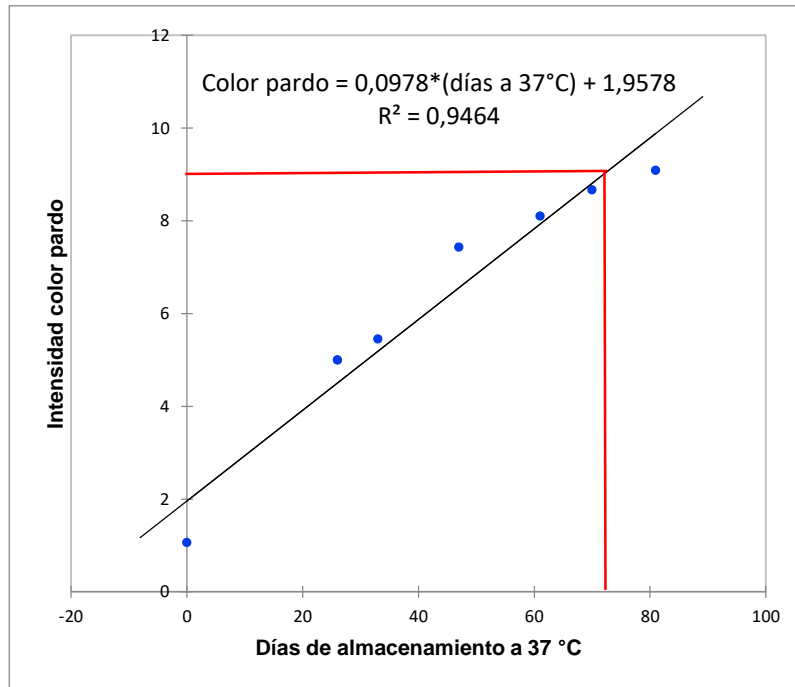


Figura 22. Intensidad de color pardo en función del tiempo de almacenamiento a 37 °C.

Una vez estimada la vida útil preliminar del prototipo a 37 °C, se procedió a estimar, preliminarmente, la vida útil a una temperatura de almacenamiento de 25 °C. La vida útil estimada representa un valor preliminar dado que el presente estudio exploratorio de almacenamiento fue realizado únicamente a una temperatura de almacenamiento y utilizando una única repetición de producto por limitaciones de la empresa previamente mencionadas. Según lo anterior, el valor obtenido no es estadísticamente representativo.

A partir de la Ecuación 5 y con un valor de Q_{10} de 2,5, según lo reportado en la literatura para leche descremada UHT (Richards *et al.* 2014), se estimó entonces una vida útil preliminar a 25 °C de 218,16 días, lo que corresponde a 7,3 meses.

6. CONCLUSIONES

1. La materia prima en estudio presenta una composición fisicoquímica similar a la de una leche comercial descremada, con mayor contenido de proteína y calcio principalmente, producto de la concentración de la operación de ultrafiltración.
2. El retenido de la operación de ultrafiltración de leche descremada y pasteurizada, ajustado a 50 % más de proteína en comparación con el contenido promedio de proteína en leche, cumple con las especificaciones que debe reunir la leche según el RTCR y por ende con la normativa vigente.
3. La formulación del prototipo desarrollado consistió en un X% de la materia prima en estudio, al cumplir el mismo con la normativa asociada a productos lácteos y según los requerimientos de la empresa solicitante del proyecto. Para su comercialización, debe indicarse la leyenda “leche ultrafiltrada, descremada y deslactosada” y debe especificarse el tratamiento térmico aplicado (UHT).
4. El prototipo puede comercializarse indicando las declaraciones comparativas nutricionales “50 % más de proteína” y “35 % más de calcio”, así mismo pueden indicarse las declaraciones de propiedades relativas al contenido de nutrientes “alto en proteína”, “alto en calcio”, “buena fuente de calcio” y “buena fuente de proteína”.
5. La aplicación de un tratamiento térmico por UHT no modificó significativamente el pH y la acidez del prototipo elaborado en pruebas piloto.
6. El tratamiento térmico por UHT causó un incremento significativo en los parámetros de color a^* y b^* del prototipo elaborado en pruebas piloto, más no causó incremento significativo en el parámetro L^* .
7. El perfil sensorial del prototipo elaborado en pruebas piloto se vio alterado de manera significativa al aplicar un tratamiento térmico por UHT, ocasionando la

aparición de coloraciones pardeadas y de sabores y olores a cocido y dulces, los cuales fueron detectados por los consumidores.

8. El agrado del prototipo UHT no presentó diferencia significativa respecto al agrado de la leche comercial descremada, indicando que la aceptabilidad por parte de los consumidores es comparable a la de la leche de mayor consumo en la población costarricense.
9. Durante el tiempo de almacenamiento del prototipo a 37 °C, se observó un aumento significativo en el color pardo del mismo y en la intensidad de los atributos sensoriales descriptivos evaluados, así como una disminución significativa en el pH, siendo el color la variable crítica de deterioro que limita la vida útil del mismo.
10. La vida útil preliminar estimada del prototipo a una temperatura de 37 °C es de 72,72 días, es decir 2,4 meses. Además, tomando un valor referencia de Q_{10} de 2,5, se estima una vida útil preliminar a 25 °C de 218,16 días, la cual corresponde a 7,3 meses.

7. RECOMENDACIONES

1. Realizar mediciones adicionales de las variables fisicoquímicas de la materia prima en estudio y del prototipo UHT, de manera que se conozca con profundidad la variabilidad de la materia prima y del proceso y su efecto sobre el prototipo.
2. Utilizar prototipo deslactosado en las pruebas a nivel piloto, para evaluar si la operación de deslactosado modifica las variables fisicoquímicas y sensoriales analizadas, luego de la aplicación de un tratamiento térmico por Ultra Alta Temperatura.
3. Realizar un estudio de almacenamiento acelerado como tal, utilizando tres temperaturas de almacenamiento y tres repeticiones del estudio, de manera que la estimación de la vida útil del prototipo sea estadísticamente representativa.
4. Realizar un panel de agrado general con 100 consumidores incluyendo muestras del estudio formal de almacenamiento, de manera que se logren correlacionar los resultados y con ello estimar la vida útil real del producto.
5. Hacer pruebas de estabilidad proteica al prototipo durante el almacenamiento, por ejemplo, prueba de alcohol, para evidenciar la estabilidad de la misma y anticipar posibles coagulaciones o precipitaciones durante la vida útil del producto.
6. Una vez realizados todos los análisis recomendados, se recomienda realizar un estudio de mercado y mercadeo previo al lanzamiento del producto de manera que se incluya en su formulación y/o presentación las necesidades actuales de los consumidores.

8. REFERENCIAS

- ÁLVAREZ, M. 2012. Comparación de las características fisicoquímicas y sensoriales de leche de cabra entera, descremada y deslactosada, con sus respectivas leches análogas de vaca. Tesis Ing. de Alimentos, Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica.
- ANEMA, S. & Li, Y. 2003. Effect of pH on the association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51: 1640-1646.
- ÁNGULO, O. & O'MAHONY, M. 2009. Aplicación de un modelo Thustoniano a pruebas sensoriales de diferencia. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 59 (4): 349-357.
- ANSARI, I. & SAHOO, P. 2018. Color variation of Ultra High Temperature (UHT) sterilized milk during storage. *International Journal of Chemical Studies*. 6 (2): 754-757.
- AOAC. 2016. *Official Methods of Analysis 20^o ed.* Acidity of Milk: Titrimetric Method 947.05. Association of Official Analytical Chemists. Maryland.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis 18^o ed.* Method 972.16. Association of Official Analytical Chemists. Maryland.
- ARAYA, D. 2012. Determinación de la vida útil de arroz con espárragos preparado por la empresa Tucapel S. A. mediante pruebas aceleradas. Tesis. Lic. Ingeniería de Alimentos. Facultad de Ciencia de los alimentos y Tecnología Química, Universidad de Chile.
- ARIAS, 2009. Producción de enzimas en la industria láctea: Lactasa y Renina. Tesis Ing. de Alimentos, Facultad de Ingeniería de Alimentos, Universidad Nacional Abierta y a Distancia Zipaquirá.
- AZOFEIFA, C. 2016. Evaluación de la aceptación sensorial y del concepto de producto de tres mermeladas de vegetales con especias y determinación de la vida útil de la mermelada más susceptible al deterioro mediante un estudio de almacenamiento. Tesis Ing. de Alimentos, Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica.

- BARRERA, J. 2012. Determinación de la vida útil de leche cruda envasada y después pasteurizada (LTLT) vs. leches pasteurizadas y envasadas por procedimientos tradicionales. Tesis Lic. Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingeniería de Alimentos, Universidad Austral de Chile.
- BARRIENTOS, O. & VILLEGAS, L. 2010. Sector Agropecuario: Cadena Productiva de Leche, Políticas y Acciones. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Costa Rica.
- BECERRA, A. 2014. Estudio de vida útil acelerado de leche UHT a dos temperaturas. Tesis Lic. Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingeniería de Alimentos, Universidad Austral de Chile.
- BIDOT, A. 2017. Composición, cualidades y beneficios de la leche: revisión bibliográfica. Revista producción animal. 29 (2):32-41.
- BLANCO, P. 2016. Intolerancia a la lactosa: problemática y alimentación. Trabajo final de grado, Escuela de Química, Nutrición y Bromatologías, Universidad de Salamanca.
- BOGUE, J. & RITSON, C. 2000. Market oriented new product development: functional foods. Journal of Food Technology. 10 (2): 15-22.
- BYLUND, G. 2003. Dairy Processing Handbook. Tetrapack Processing Systems AB. Lund, Suecia.
- CALVO, M., CASTRO, M., GARCÍA, A., RODRÍGUEZ, L., JUÁRES, M. & FONTECHA, J. 2014. Grasa láctea: una fuente de compuestos bioactivos. Alimentación, Nutrición y Salud. 21 (3): 57-63.
- CÁMARA NACIONAL DE PRODUCTORES DE LECHE. 2017. Sector lácteo costarricense en el marco de la apertura comercial. San José, Costa Rica. INTERNET: <http://proleche.com/wp-content/uploads/2017/10/Charla1.pdf>.
- CÁMARA NACIONAL DE PRODUCTORES DE LECHE. 2013. Situación actual y perspectivas del sector lácteo costarricense. San José, Costa Rica. INTERNET: http://www.proleche.com/info_sector.htm.

- CARRILLO, M. & MONDRAGÓN, F. 2011. Estudio de vida útil del queso asadero. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 12 (3): 1-9.
- CARRILLO, M. & REYES, A. 2013. Vida útil de los alimentos. *Revista Iberoamericana de Ciencias Biológicas y Agropecuarias*. 2 (3): 1-25.
- CEP. 2016. The effect of heat treatment in the nutritional value of milk. Consumer Education Project of Milk, South Africa.
- CHACÓN, A. 2006. Tecnología de membranas en la agroindustria láctea. *Agronomía Mesoamericana*. 17 (2): 243-264.
- CHAPMAN, K., LAWLESS, H. & BOOR, K. 2001. Quantitative descriptive analysis and principal component analysis for sensory characterization of ultra-pasteurized milk. *Journal of Dairy Science*. 84: 12-20.
- CLARE, D., BANG, W., CARTWRIGHT, G., DRAKE, M., CORONEL, P. & SIMUNOVIC, J. 2005. Comparison of sensory, microbiological, and biochemical parameters of microwave versus indirect UHT fluid skim milk during storage. *Journal of Dairy Science*. 88: 4172-4182.
- DALGLEISH, D. 2011. On the structural models of bovine casein micelles-review and possible improvements. *Soft Matter*. 7: 2265-2272.
- DATTA, N. & DEETH, H. C. 2003. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. *Food Science and Technology*. 36: 173-182.
- DÍAZ, D. 2010. Comportamiento y evaluación de las proteínas de la leche frente al tratamiento térmico y Ph. Tesis de Post-grado en Tecnología de Alimentos, Escuela de Post-Grado, Universidad de Nacional Agraria La Molina.
- ENNIS, D., ROUSSEAU, B., ENNIS, J. 2014. Tables for product testing methods. En: *Tools and Applications of Sensory and Consumer Science: 52 Technical Report Scenarios Based on Real-Life Problems*. Institute for Perception.
- ENNIS, D. & JESIONKA, V. 1993. The Power of Sensory Discrimination Methods. *Journal of Sensory Studies*. 8(4): 353-370.
- FERNÁNDEZ, E., MARTÍNEZ, J., MARTÍNEZ, V., MORENO, J., COLLADO, L., HERNÁNDEZ, M. & MORÁN, F. 2015. Importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutrición Hospitalaria*. 31: 92-101.

- FOX, P., UNIACKE-LOWE, T. & MCSWEENEY, P. 2015. Heat-Induced Changes in Milk in: Dairy Chemistry and Biochemistry. Springer, Cham.
- FRANCIS, J. 2005. Colorimetric properties of foods. *In* Rao, A., Datta, A., & Rizvi, H. Engineering properties of food. 3ra Ed. CRC Press, Nueva York.
- GAN, G. 2011. Data clustering in an object-oriented approach. CRC Press, Florida.
- GARCÍA, C., MONTIEL, R. & BORDERA, T. 2014. Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis y modificación. Archivos de Zootecnia de la UAM. 63: 85-105.
- GIRALDO, G. 1999. Métodos de estudio de vida de anaquel de los alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- GRIGIONI, G., BIOLATTO, A., IRURUETA, M., SANCHO, A., PÁEZ, R. & PENSEL, N. 2007. Color changes of milk powder due to heat treatments and season of Manufacture. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 5: 335-339.
- GEA. 2012. Membrane filtration in the Dairy Industry. Dinamarca.
- GÓMEZ, D. & MEJÍA, O. 2005. Composición Nutricional de la Leche de Ganado Vacuno. *Revista Lasallista de Investigación*. 2: 38-42.
- GONZÁLEZ, M. 2007. Diseño de un pasteurizador para helados. Tesis Ing. Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz.
- GUERRERO, J. & RODRÍGUEZ, P. 2010. Características fisicoquímicas de leche y sus variaciones. Tesis Lic. Zootecnia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria.
- GURSOY, O. & KINIK, O. 2002. Off flavours in milk and milk products. *Journal of Engineering Science*. 9: 79-88.
- GUTIÉRREZ, H. 2013. Obtención de derivados lácteos por ultrafiltración de leche. *Revista Alimentaria*. 440: 51-54.
- HOUGH, G. 2010. Sensory shelf life estimation of food products. CRC Press, Florida.
- HOUGH, G. & FISZMAN, S. Eds. 2005. Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos. Programa CYTED, Madrid.
- HUAMANI, A. 2012. Almacenamiento y vida útil de leche envasada. CRC Press, Florida.

- JÁUREGUI, C. 2015. Modelo de hidrólisis de lactosa para fermentación láctica en una base prebiótica y simbiótica. *Revista Tecnológica ESPOL*. 28 (3): 53-68.
- JUARÉZ, J., RODRÍGUEZ, J., MARTÍNEZ, C. HERNÁNDEZ, B., GAMBOA, E., GÓMEZ, C. & LARA, E. 2015. Evaluación y clasificación de la calidad de leches comerciales consumidas en México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 2 (6): 327-337.
- KOPPER, G. 1994. Taller regional sobre pequeña y mediana empresa alimentarias: Cómo determinar la vida útil de un alimento. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Costa Rica
- KUMAR, P., SHARMA, N., RANJAN, R., KUMAR, S., BHAT, Z. & KEE, D. 2013. Perspective of Membrane Technology in Dairy Industry: A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 28 (9): 1347-1358.
- LAGOS, L. & HERNÁNDEZ, V. 2002. Estudio de factibilidad de la producción y comercialización de leche deslactosada. Tesis. Lic. Agroindustria, Zamorano, Honduras.
- LE, T., BHANDARI, B. & DEETH, H. 2011. Chemical and Physical Changes in Milk Protein Concentrate (MPC80) during storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 59: 5465-5473.
- LEDEZMA, D. 2013. Estimación de la vida útil de una pulpa de naranja congelada producida por una empresa costarricense. Tesis Ing. de Alimentos, Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica.
- MINTEL. 2017. Tendencias de alimentación y bebidas del 2017. INTERNET. <http://es.mintel.com/tendencias-de-alimentacion-y-bebidas/>.
- MARTÍNEZ, E. 2005. Errores frecuentes en la interpretación del coeficiente de determinación lineal. *Anuario Jurídico y Económico Escurialense*. 3: 315-332.
- MARTÍNEZ, J. 2016. Fuentes alternativas de proteínas: ¿Hacia dónde se está orientando la innovación en alimentos? INTERNET. <https://www.ainia.es/tecnoalimentalia/consumidor/fuentes-alternativas-de-proteinas-hacia-donde-se-esta-orientando-la-innovacion-en-alimentacion/>.
- MERCADO, J., LÓPEZ, M., MARTÍNEZ, G. & ABRAHAM, M. 2016. Estimación de la vida de anaquel mediante pruebas aceleradas de fresa entera en bolsa de

- polietileno. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. 1: 636-640.
- MURILLO, L. 2013. Recuperación y purificación de L (+) ácido láctico aplicando tecnologías de membrana a un caldo de piña (*Ananas comosus*) fermentado. Tesis Lic. en Ingeniería de Alimentos, Escuela de Ingeniería de Alimentos, Universidad de Costa Rica.
- NEGRI, L. 2005. Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. 2º ed. INTA.
- NOURI, M. & EZATTPANAH, H. 2017. The Quality of UHT skim milk. Nutrition and Food Science Research. 4 (3): 39-46.
- OLIVAS, R., NEVÁREZ, G. & GASTÉLUM, M. 2009. Pruebas de diferencia en el análisis sensorial de los alimentos. TecnoCiencia. 3: 1-7.
- PESTANA, J., GERANNI, A., MONTEIRO, B., LEHN, D. & VOLKEN, C. 2015. Effects of Pasteurization and UHT Processes on Proximate Composition and Fatty Acid Profile of Bovine Milk. American Journal of Food Technology. 10: 265-272.
- POPOV, J., LAKIC, N., LALICIC, J., BARAC, M. & SIKIMIC, V. 2008. Color changes of UHT milk during storage. 8 (9): 5961-5974.
- QUIRÓS, M. 2016. Factibilidad técnica de la elaboración de un chocolate con leche de cabra y evaluación de sus características físico-químicas y sensoriales. Tesis Ing. de Alimentos, Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica.
- RAIKOS, V. 2010. Effect of heat treatment on milk protein functionality. Food Hydrocolloids. 24: 259-265.
- RAMÍREZ, M. 2016. Comparación en el uso de tablas binomiales y las correcciones estadísticas, como método de análisis de pruebas de discriminación. Tesis Ing. de Alimentos, Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica.
- REBOLLEDO, C., GUERRERO, J., GUTIÉRREZ, I. & SÁNCHEZ, I. 2001. Estudios gerenciales: tratamientos térmicos. Revista Científica de Latinoamérica. 79: 99-118.

- REID, D., KOTTE, K., KILMARTIN, P. & YOUNG, M. 2003. A new method for accelerated shelf life prediction of frozen food. *Journal of Food Science and Agriculture*. 83: 1018-1021.
- RICHARDS, M., DE KOCK, H. & BUYS, E. 2014. Multivariate accelerated shelf-life test of low fat UHT milk. Universidad de Pretoria, South África.
- ROBERTSON, G. 2010. *Food Packaging and Shelf Life: A practical guide*. CRC Press, Florida.
- ROBERTSON, G. 1999. Shelf Life of packaged foods, its measurement and prediction. In Brody, A. & Lord, J., eds. *Developing new food products for a changing Marketplace*. CRC Press, Nueva York.
- RODRÍGUEZ, V. 2004. Estimación de la vida útil de la harina de pejibaye, obtenida por deshidratación. Tesis Lic. en Tecnología de Alimentos, Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica.
- ROGINSKI, H. 2005. *Encyclopedia of dairy science*. Ed. Academic/ Elsevier Science, Amsterdam.
- ROVIRA, R. 2015. La leche y sus derivados: fuentes dietéticas de calcio. *Nutrición Hospitalaria*. 31 (2): 1-9.
- RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano). 2014. RTCA 67.04.66:12. Leche Pasteurizada.
- RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano). 2013. RTCA 67.04.65:12. Uso de Térmicos Lecheros.
- RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano). 2011. RTCA 67.01.60:10 Etiquetado Nutricional Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humano para la Población a partir de 3 años.
- RTCR (Reglamento Técnico Costa Rica). 2006. RTCR 401:2006. Leche Cruda y Leche Higienizada.
- SÁNCHEZ, J. & PÉREZ, J. 2016. Vida útil del queso mantecoso por pruebas aceleradas. *Ciencia Agropecuaria*. 7 (3): 215-222.

- SCOTT, D. 2008. UHT processing and aseptic filling of dairy products. Tesis. M. Sc. Food Science, College of Agriculture, Kansas University.
- SHIMAMURA, T. & UKEDA, H. 2012. Maillard's Reaction in Milk: Effect of heat treatment. INTECH.
- SIMPSON, R., JIMÉNES, M., VEGA, M., ROMERO, A. & COSTA, M. 2000. Evaluación de leches UHT comerciales y optimización del proceso industrial. Revista Latinoamericana de Nutrición. 50 (4).
- SMITH, K. 2013. Membrane Processing: Development of Membrane Processes. Wiley- Blackwell, Reino Unido.
- SOP. 2018. Procedimiento de manufactura de leche descremada. 2-09-03-02-010
- SUÁREZ, E., SAN MARTIN, R., ÁLVAREZ, R. & COCA, J. 1992. Reverse osmosis of whey: determination of mass transfer coefficients. Journal of Membrane Science. 68: 301-305.
- VALENCIA, F., MILLÁN, L. & JARAMILLO, Y. 2008. Estimación de la vida útil de un queso crema bajo en calorías. Revista Lasallista de Investigación. 5: 28-33.
- VALENTAS, K. 1997. Handbook of Food Engineering. CRC Press, Florida.
- VARGAS, L. 2004. Determinación de la variación de algunas propiedades físicas de leche cruda. Tesis Lic. Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.
- VUHOLM, A. 2016. Evaluation of accelerated shelf-life testing of UHT milk. Thesis M. Sc. In Molecular Nutrition and Food Technology, Universidad de Aarhus, Dinamarca.
- WALSTRA, P. & JENNESS, R. 1999. Dairy chemistry and physics. Editorial Marcel Dekker, Nueva York.
- WATTS, S. 2016. A mini review on technique of milk pasteurization. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 5 (5): 99-101.
- WORCH, T. & DELCHER, R. 2013. A practical guideline for discrimination testing. Journal of Sensory Studies. 28: 396-400.
- WINGCHING, R. & MORA, E. 2013. Composición de la leche cruda y entera de bovinos antes y después del filtrado. Agronomía Mesoamericana. 24: 203-307.

- ZAVALA, J. 2015. Cambios organolépticos y nutricionales producidos por los tratamientos térmicos durante el procesamiento de la leche. Dirección General de Competitividad Agraria del Ministerio de Agricultura de Perú, Perú.
- ZAVALA, J. 2005. Aspectos Nutricionales y Tecnológicos de la Leche. Dirección General de Promoción Agraria, Ministerio de Agricultura y Dirección de Crianzas, Lima.
- ZEGLER, J. 2018. Tendencias mundiales en alimentos y bebidas para el 2018. MINTEL.

9. ANEXOS

Anexo 1. Acuerdo de participación en paneles sensoriales con consumidores

Antes de iniciar la degustación, se le solicita su consentimiento o disposición a participar en esta prueba sensorial mediante su firma. Con la cual usted confirma que se le ha indicado y descrito el tipo de alimento a evaluar y que en caso de identificar algún tipo de problema o inconveniencia personal derivado de su consumo queda en usted la decisión de continuar o no con la degustación.

Nota: En esta prueba usted degustará varias muestras de leche.

De acuerdo a su conveniencia complete la siguiente información.

Estoy de acuerdo
Estoy en desacuerdo

Nombre: _____

Fecha: _____

Cédula: _____

Firma: _____

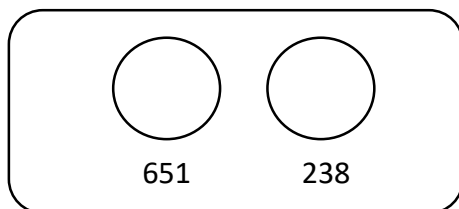
Anexo 2. Evaluación sensorial: prueba de discriminación 2-AFC.

¡Bienvenido!

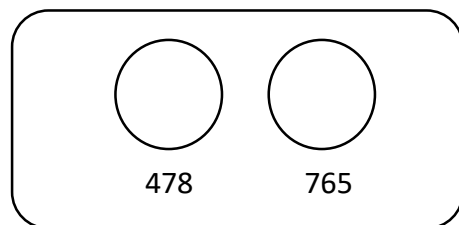
A continuación, se le presentarán una serie de muestras pareadas, las cuales deben ser evaluadas de izquierda a derecha, respetando la presentación. Pruebe la muestra rotulada como primer, de manera que pueda familiarizarse con el atributo sensorial descrito. Seguidamente, pruebe las muestras de la pareja y seleccione en la pantalla, el número de la muestra donde perciba mayor intensidad del atributo. Realice un enjuague entre cada set de muestras y expectore en el vasito destinado para este fin.

Gracias.

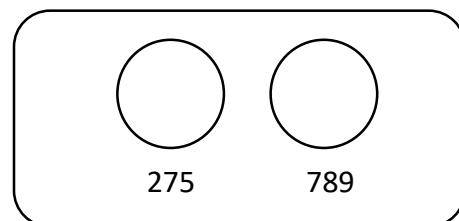
Color pardo (Coloraciones asociadas al pardeamiento, coloraciones marrones y/o oscuras)



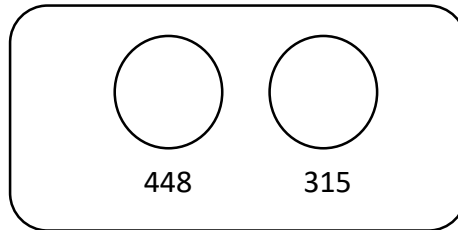
Aroma a cocido (Intensidad de aroma a leche hervida, asociados con la exposición de la leche al calor)



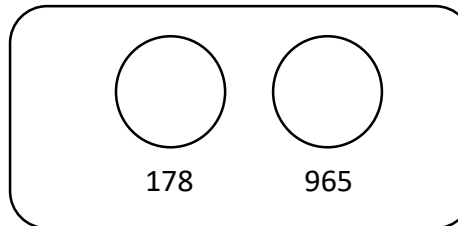
Sabor a cocido (Intensidad de sabor a leche hervida, asociados con la exposición de la leche al calor)



Sabor dulce (Sabor asociado a sustancias dulces, como por ejemplo el azúcar)



Sabor residual dulce (Sabor asociado a sustancias dulces, como por ejemplo el azúcar, que permanece en la boca luego de tragar)



Anexo 3. Evaluación sensorial: panel de agrado general

¡Bienvenido!

A continuación, se le presentan varias muestras de leche. Pruebe las muestras tomando un trago suficiente para cubrir la lengua, respetando el orden en que se le presentan y verifique que los códigos concuerden con de la pantalla. Por favor enjuáguese dos veces con agua entre cada muestra y expectore los enjuagues.

Pruebe la muestra y marque en la escala, con un clic, cuánto le gusta.



Anexo 4. Ficha técnica del prototipo

Tipo de producto	Leche UHT ultrafiltrada, descremada y deslactosada
Descripción del producto	Consiste en leche UHT ultrafiltrada, descremada y deslactosada. Su contenido de proteína fue ajustado a 50% más respecto al contenido promedio de proteína en leche.
Características fisicoquímicas (parámetros críticos)	<p><u>Acidez</u> (expresada como ácido láctico): 0,13 – 0,17</p> <p><u>pH</u>: 6,5 - 6,7</p> <p><u>Sólidos totales</u>: Mínimo 8 %</p> <p><u>Proteína</u>: 4,8 - 5,2 %</p> <p><u>Grasa</u>: Menor al 1 %</p> <p><u>Cenizas</u>: Máximo 0,8 %</p> <p><u>Lactosa residual</u>: Menor al 0,1 %</p> <p><u>Densidad</u> (a 15 °C): 1,029 g/mL</p> <p><u>Punto de congelación</u>: Mínimo -0,541 °C Máximo -0,513 °C</p>
Características sensoriales	<p><u>Color</u>: Debe ser blanco o marfil, puede presentar una tonalidad pardeada leve.</p> <p><u>Aroma</u>: Propio de la leche, se considera anormal cualquier olor ajeno que dé lugar a duda.</p> <p><u>Consistencia y textura</u>: Líquido opaco coloidal, con aspecto uniforme. No debe haber variaciones en la viscosidad ni presentar separación de fases.</p> <p><u>Sabor</u>: Propio de la leche, con ligero sabor a cocido. Se considera anormal cualquier sabor ajeno que dé lugar a duda.</p>
Reglamentación aplicable	RTCA: Leche Pasteurizada (2014), RTCR: Leche cruda y Leche Higienizada (2006), RTCA: Uso de Términos Lecheros (2013), RTCA: Etiquetado Nutricional (2011).
Presentación y envase	Presentación de 1000 mL, envasado aséptico tetrabrik.
Detalle del tratamiento térmico aplicado	El precalentamiento se realiza a una temperatura entre 65-90 °C, posteriormente la esterilización de la leche se realiza a 140 ± 2 °C, por 3 segundos y se enfría a 28 ± 5 °C para su envase. El envasado se realiza de manera automática en un envase esterilizado previamente.
Observaciones	El producto es almacenado en cuarentena por 5 días a temperatura ambiente hasta ser liberado por el departamento de Aseguramiento de Calidad.

Anexo 5. Evaluación sensorial: panel entrenado

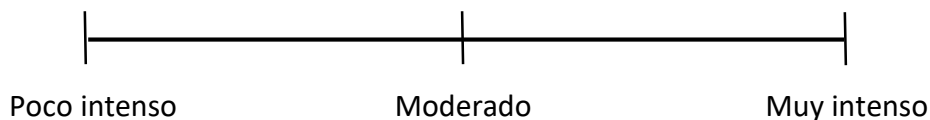
Nombre: _____

En primer lugar, dispone usted de una leche a ser usada como una **muestra de referencia (R)** para recordar las características propias de una leche alta en proteína. Pruebe la “referencia”, enjuague e inicie la evaluación de las muestras. **Analice y califique por descriptor las muestras** en comparación con la referencia, de acuerdo a la intensidad percibida y marque con una línea vertical sobre la línea horizontal, en el lugar que considere apropiado en la escala. Enjuague su boca entre muestras. Si lo requiere puede descartar el enjuague en el vaso dispuesto con ese fin y al final depositarlo en el basurero.

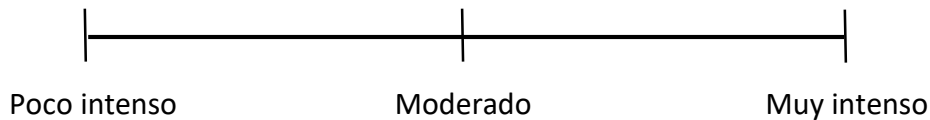
Muchas gracias.

Color Pardo (Evaluar la intensidad de la tonalidad de la leche asociada al color “caramelo claro”; levemente café)

Muestra: _____

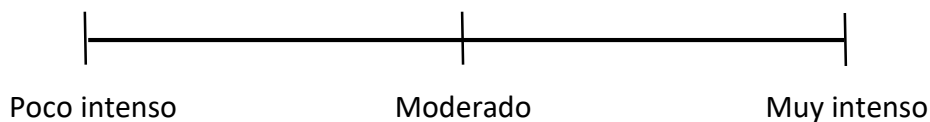


Muestra: _____

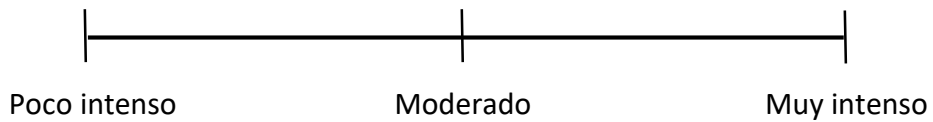


Olor a cocido (Evaluar la intensidad del olor a leche hervida, con notas dulcetes como de caramelo, asociadas a la cocción)

Muestra: _____

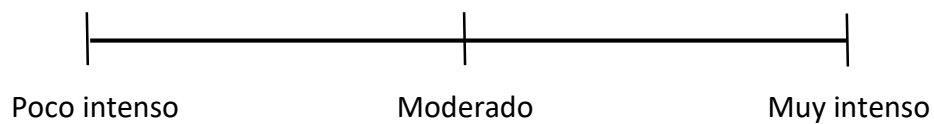


Muestra: _____

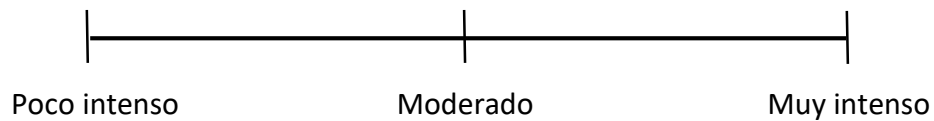


Sabor a cocido (Evaluar la intensidad del sabor que recuerda al de la leche hervida, con notas dulcetes como de suave caramelo, asociadas a la cocción)

Muestra: _____

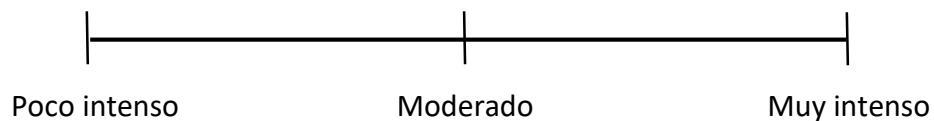


Muestra: _____

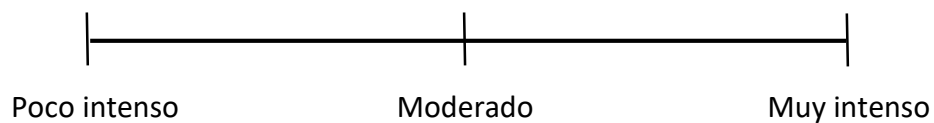


Recubrimiento bucal (Evaluar la sensación bucal relacionada al espesor/consistencia de la leche en la boca al ser ligeramente movida y al tragar; relacionada con la persistencia de la boca en la leche)

Muestra: _____

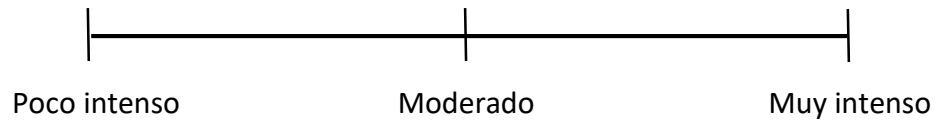


Muestra: _____

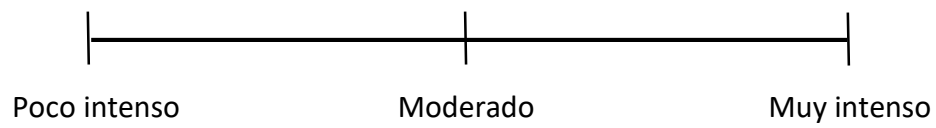


Arenosidad (Evaluar la sensación seca/polvorienta en la boca, como presencia de grumos y/o partículas en la leche percibidas en la cavidad bucal)

Muestra: _____



Muestra: _____



Anexo 6. Caracterización fisicoquímica del retenido de la operación de ultrafiltración de leche descremada y pasteurizada, ajustado a 50% más de proteína en comparación con el contenido promedio de proteína en leche.

a) Análisis proximal

Lote	Réplica	Análisis proximal					
		Humedad (%)	Sólidos totales (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Lactosa (%)	Cenizas (%)
17-may	1	89,23	10,77	0,19	4,98	4,60	0,861
	2	89,23	10,77	0,18	4,97	4,61	0,863
	3	89,23	10,77	0,18	4,97	4,61	0,860
	Promedio	89,23	10,77	0,18	4,97	4,61	0,861
2-jun	1	89,42	10,58	0,1	4,98	4,66	0,858
	2	89,42	10,58	0,1	4,95	4,18	0,85
	3	89,42	10,58	0,1	4,93	4,18	0,856
	Promedio	89,42	10,58	0,10	4,95	4,34	0,855
10-jun	1	89,63	10,37	0,15	5,05	4,55	0,89
	2	89,69	10,31	0,11	5,06	4,57	0,88
	3	89,62	10,38	0,15	5,05	4,48	0,89
	Promedio	89,65	10,35	0,14	5,05	4,53	0,89

b) Color

Lote	Réplica	Color		
		L*	a*	b*
17-may	1	91,47	-3,25	10,63
	2	91,27	-3,32	10,81
	3	91,24	-3,37	10,88
	Promedio	91,33	-3,31	10,77
2-jun	1	90,08	-3,88	11,36
	2	90,11	-3,59	11,04
	3	90,49	-3,71	11,13
	promedio	90,23	-3,73	11,18
10-jun	1	90,16	-3,56	10,98
	2	90,19	-3,76	10,73
	3	90,97	-3,78	11,01
	promedio	90,44	-3,70	10,91

c) Acidez y pH

Lote	Réplica	Acidez	pH
17-may	1	0,148	6,64
	2	0,149	6,65
	3	0,148	6,62
	Promedio	0,15	6,64
2-jun	1	0,166	6,61
	2	0,166	6,63
	3	0,166	6,61
	promedio	0,17	6,62
10-jun	1	0,17	6,61
	2	0,167	6,59
	3	0,17	6,61
	promedio	0,17	6,60

d) Calcio

Lote	Réplica	Calcio (mg en 250 mL)
17-may	1	410
	2	413
	3	417
	Promedio	413,33
2-jun	1	390
	2	392
	3	390
	promedio	390,67
10-jun	1	400
	2	408
	3	378
	promedio	395,33

Anexo 7. Variables fisicoquímicas (color, acidez y pH) de las muestras de retenido control (pasteurizado) y de retenido UHT para la evaluación del efecto del tratamiento térmico por UHT sobre dichas variables.

Lote	Réplica	Color			Acidez	pH
		L*	a*	b*		
Pasteurizado						
1	1	90,69	-3,9	8,59	0,17	6,56
	2	90,6	-3,75	8,44	0,167	6,58
	3	90,5	-3,73	8,28	0,17	6,58
	Promedio	90,60	-3,79	8,44	0,17	6,57
2	1	91,14	-3,66	8,83	0,166	6,6
	2	91,13	-3,87	9,12	0,166	6,6
	3	90,66	-3,67	9,39	0,165	6,61
	promedio	90,98	-3,73	9,11	0,17	6,60
3	1	90,58	-3,64	8,44	0,17	6,63
	2	90,6	-3,66	8,57	0,17	6,62
	3	90,22	-3,72	8,46	0,168	6,62
	promedio	90,47	-3,67	8,49	0,17	6,62
UHT						
1	1	90,4	-0,47	11,64	0,162	6,57
	2	90,43	-0,63	11,72	0,162	6,6
	3	90,43	-0,52	11,68	0,17	6,6
	Promedio	90,42	-0,54	11,68	0,16	6,59
2	1	90,49	-0,49	11,8	0,166	6,61
	2	90,57	-0,59	11,38	0,17	6,64
	3	90,59	-0,57	11,97	0,17	6,64
	promedio	90,55	-0,55	11,72	0,17	6,63
3	1	90,54	-0,75	11,91	0,169	6,62
	2	90,39	-0,68	11,64	0,16	6,62
	3	90,48	-0,57	11,79	0,163	6,64
	promedio	90,47	-0,67	11,78	0,16	6,63

Anexo 8. Determinaciones de pH y color del prototipo elaborado en la producción industrial durante su almacenamiento a 37 °C.

Tiempo	pH	color L*	color a*	color b*
0	6,63	89,94	-0,58	11,78
	6,62	90,04	-0,8	11,93
	6,59	90,02	-0,75	11,93
26	6,66	88,66	0,88	11,97
	6,64	88,78	0,76	11,94
	6,63	88,68	0,86	12,02
33	6,60	87,89	1,3	12,16
	6,60	87,77	1,43	12,15
	6,59	87,89	1,31	11,97
47	6,56	84,82	3,24	13,73
	6,58	84,76	3,18	13,85
	6,54	85,11	3,22	14,01
61	6,54	81,43	5,05	16,71
	6,58	81,35	5,22	16,56
	6,55	81,5	4,99	16,84
70	6,48	79,48	5,17	18,38
	6,46	79,81	5,09	18,94
	6,44	79,83	5,19	18,39
81	6,44	77,63	5,05	19,07
	6,42	77,48	5,11	18,89
	6,48	77,23	5,08	19,01