



**Universidad Austral de Chile**

---

Escuela de Ingeniería en Alimentos

**Estudio de Prefactibilidad Técnica para la  
Elaboración del Producto Cola de Mono de Larga  
Vida**

Tesis presentada como parte de los  
requisitos para optar al grado de  
Licenciado en Ciencia de los Alimentos

**Patricio Alejandro Olavarría Castro**

**Valdivia - Chile**  
2006

**PROFESOR PATROCINANTE:**

---

Sr. Haroldo Magariños Hawkins  
Técnico en Lechería  
Magíster en Ciencia y Tecnología de la leche  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

**PROFESORES INFORMANTES:**

---

Sra. Marcia Costa Lobo  
Ingeniero Civil Bioquímico  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

---

Sr. Alejandro Romero Mella  
Bioquímico, Ph. D.  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

## ***Agradecimientos...***

*Quisiera agradecer en estas líneas a muchas personas que han sido parte de este proceso que ha culminado exitosamente.*

*En primer lugar a mis padres, gracias a su amor, cariño y apoyo ha sido posible el ir avanzando en cada etapa de mi vida, con su empuje me han ayudado a dar cada paso importante.*

*A mis hermanos Fabián, Javier, Maximiliano y a tía Adriana por su incondicional amistad y cariño.*

*A mi gran y numerosa familia: tíos, primos, sobrinos...especialmente a nuestros queridos Tata y Nana quienes nos enseñaron a estar siempre unidos.*

*A ti mi pequeña, Erica....que has compartido conmigo prácticamente toda mi vida universitaria, has sido un pilar fundamental en este logro, con tu inmenso amor y con tu paciencia has podido ser mi gran amor, compañera y amiga todos estos años... estoy seguro que ahora más que nunca nuestros sueños están cada vez más cerca de realizarse.*

*También quiero agradecer a mis profesores que fueron la guía para este trabajo especialmente a mi profesor patrocinante Don Haroldo Magariños, a la profesora Marcia Costa, Dr. Alejandro Romero y también la ayuda y consejos durante estos años del profesor Bernardo Carrillo.*

*Al personal del ICYTAL y de la planta piloto por la dedicación y ayuda en la realización de esta tesis, especialmente al Sr. Gastón Salazar por su apoyo y amistad.*

*Finalmente y no por eso menos importante a mis amigos con los cuales compartí interminables horas de alegrías y también otras estresantes horas de estudio, en forma especial a Gaspar, Andrés, Pato B., Javier, Charola, Maximiliano, David, Alfredo, Pato R., Cristóbal, César, Marcela, Olivia y a las promociones '98 y '99... muchas gracias por su amistad, cariño y les deseo un futuro lleno de éxitos y alegrías.*

*Este trabajo está dedicado a mis padres Max y Maria Teresa...*

## ÍNDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISION BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Orígenes históricos del producto	3
2.2	Definición de Cola de Mono	4
2.3	Tratamientos térmicos	4
2.3.1	Proceso UHT	4
2.3.1.1	Método indirecto	5
2.3.1.2	Método directo	5
2.3.2	Pasteurización lenta	6
2.4	Efectos de la temperatura de procesamiento	6
2.5	Características del sistema proteico de la leche	7
2.5.1	Denaturación proteica	8
2.5.2	Sistemas proteásicos de la leche cruda	8
2.5.3	Características de las proteasas bacterianas	9
2.6	Sedimentación y gelificación	11
2.7	pH	11
2.8	Microorganismos presentes en la leche cruda	12
2.8.1	Características de bacterias psicrotróficas	12
2.9	Graduación alcohólica	13
2.10	Deterioro en alimentos y vida útil	15
2.11	Características de las materias primas utilizadas para la elaboración	17
2.11.1	Leche	17
2.11.2	Aguardiente	17
2.11.3	Café	18

2.11.4	Azúcar	18
2.11.5	Especias	18
2.11.5.1	Canela	19
2.11.5.2	Clavos de olor	19
2.11.5.3	Vainilla	19
2.12	Mercado de bebidas alcohólicas	20
2.12.1	Consumo de alcohol en el país	20
2.12.2	Principales bebidas alcohólicas consumidas en Chile	22
2.12.2.1	Vino	23
2.12.2.2	Cerveza	23
2.12.2.3	Pisco	23
2.12.2.4	Otros licores	24
2.13	Tendencias de consumo en el mundo	24
2.14	Mercado de Cola de Mono	24
2.15	Mercado futuro para el producto	25
3	MATERIAL Y MÉTODO	27
3.1	Material	27
3.1.1	Ubicación estudio	27
3.1.2	Materia prima	27
3.1.3	Equipos de planta piloto	27
3.1.4	Materiales y equipo de laboratorio	28
3.2	Método	28
3.2.1	Higiene y esterilización de equipos y materiales	28
3.2.2	Análisis fisicoquímicos y microbiológicos	29
3.2.2.1	Leche cruda	29
3.2.2.2	Producto terminado	29
3.2.3	Diseño experimental	31
3.2.4	Tiempo de almacenamiento y análisis	32
3.2.5	Descripción Línea de Flujo para la elaboración de Cola	

	de Mono	33
	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	36
4.1	Análisis experimental preliminar	36
4.2	Análisis materia prima	37
4.3	Análisis producto terminado	40
4.3.1	Análisis microbiológico	40
4.3.1.1	Análisis microorganismos mesófilos	40
4.3.1.2	Análisis microorganismos psicrotróficos	41
4.3.2	Análisis del grado de proteólisis	44
4.3.3	Análisis de graduación alcohólica	49
4.3.4	Análisis de pH	49
4.3.5	Análisis del índice de sedimentación (IS)	56
4.3.6	Análisis evaluación sensorial	58
4.3.6.1	Evaluación del atributo color	59
4.3.6.2	Evaluación del atributo aroma	59
4.3.6.3	Evaluación del atributo sabor	60
4.3.6.4	Evaluación para la apreciación general	60
4.3.6.5	Evaluación apreciación general contra productos del mercado	61
5	CONCLUSIONES	65
6	RESUMEN – SUMMARY	67
7	BIBLIOGRAFÍA	69
	ANEXOS	77

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Consumo mundial de alcohol per cápita mayores de 15 años, en litros de alcohol puro	21
2	Consumo en países de Sudamérica de alcohol per cápita mayores de 15 años, en litros de alcohol puro	21
3	Esquema análisis en el tiempo	32
4	Análisis microbiológico de materia prima	38
5	Análisis del grado de proteólisis en la materia prima	38
6	Análisis químico de materia prima	38
7	Crecimiento de microorganismos mesófilos en el tiempo en muestras almacenadas a temperatura de refrigeración (5°C)	40
8	Crecimiento de microorganismo psicrotróficos en el tiempo en muestras almacenadas a temperatura de refrigeración (5°C)	42
9	Evolución de la proteólisis en el tiempo para tratamiento A	44
10	Evolución de la proteólisis en el tiempo para tratamiento B	44
11	Evolución de la proteólisis en el tiempo para tratamiento C	45
12	Evolución de la proteólisis almacenamiento ambiente a 20°C	46
13	Evolución de la proteólisis almacenamiento refrigerado a 5°C	46

14	Evolución de la proteólisis almacenamiento cámara a 36,5°C	47
15	Análisis de graduación alcohólica	49
16	Resumen de los promedios para la evaluación sensorial	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Elaboración Cola de Mono. Diagrama de flujo para los tres tratamientos térmicos	35
2	Curva de crecimiento de bacterias mesófilas en el tiempo, en muestras almacenadas a temperatura de refrigeración (5°C)	41
3	Curva de crecimiento de bacterias psicrófilas en el tiempo, en muestras almacenadas a temperatura de refrigeración (5°C)	42
4	Evolución del pH para tratamiento A en el tiempo	50
5	Evolución del pH para tratamiento B en el tiempo	50
6	Evolución del pH para tratamiento C en el tiempo	51
7	Evolución del pH en almacenamiento ambiente a 20°C	52
8	Evolución del pH en almacenamiento refrigerado a 5°C	53
9	Evolución del pH en almacenamiento cámara a 36,5°C	53
10	Evolución pH producto abierto almacenado en refrigeración	54
11	Evolución pH producto abierto almacenado temperatura ambiente	55
12	Evolución índice sedimentación tratamiento B en el tiempo	57
13	Muestras tratamiento B normal y sedimentada	58
14	Gráfico tipo Box y Whisker para atributo aroma	60
15	Gráfico apreciación general en el tiempo para cada tratamiento	61
16	Apreciación general para productos del mercado	62

17	Apreciación general hombres y mujeres para productos del mercado	63
----	--	----

**ÍNDICE DE ANEXOS**

Anexo		Página
1	Importación bebidas alcohólicas 1995-2000	78
2	Distribución de la canasta de alcoholes 1996 -1997	79
3	Consumo bebidas alcohólicas por quintiles de ingreso familiar, proyección al año 2010 (% sobre el volumen total)	79
4	Determinación grado de proteólisis (modificado para Cola de Mono)	80
5	Determinación grado alcohólico	82
6	Determinación índice de sedimentación	82
7	Ficha evaluación descriptiva Cola de Mono	83
8	Evaluación sensorial Cola de Mono (apreciación general)	84
9	Análisis microbiológico mesófilos tratamientos A, B y C en el tiempo	85
10	Comparación resultados microbiológicos mesófilos entre tratamientos para cada tiempo	86
11	Análisis microbiológico psicrotróficos tratamientos A, B y C en el tiempo	87
12	Comparación resultados microbiológicos psicrotróficos entre tratamientos para cada tiempo	88
13	Evolución proteólisis en el tiempo para Tratamiento A	89
14	Evolución proteólisis en el tiempo para Tratamiento B	91
15	Evolución proteólisis en el tiempo para Tratamiento C	93
16	Evolución de la proteólisis por día según tipo de almacenamiento	95

17	Análisis pH Tratamiento A	98
18	Análisis pH Tratamiento B	100
19	Análisis pH Tratamiento C	102
20	Evolución pH almacenamiento ambiente	104
21	Evolución pH almacenamiento refrigerado	106
22	Evolución pH almacenamiento cámara	108
23	Resultados índice de sedimentación	110
24	Gráficos Box y Whisker para diferencias apreciación general días 30 y 60	111

## 1. INTRODUCCIÓN

El Cola de Mono, es una bebida alcohólica tradicional de Chile, demandada por el consumidor preferentemente en la época de navidad. Su origen no está muy claro, pero se cree que nace a principios del Siglo XX.

Desde hace algunos años, los fabricantes de licores del país vienen diversificándose y por ello hoy es posible encontrar una oferta muy variada de estos productos.

Debido a la popularidad del Cola de Mono elaborada por el Centro Tecnológico de la Leche de la Universidad Austral de Chile y a que su vida útil no supera los 30 días, bajo condiciones de refrigeración, resulta interesante realizar un estudio tendiente a evaluar la factibilidad técnica de elaborar este producto aumentando su vida útil a 60 días, aplicando otros tratamientos térmicos sin afectar sus cualidades físico químicas, microbiológicas y sensoriales

### **Hipótesis**

Es factible la elaboración del Cola de Mono tradicional, sin el agregado de componentes artificiales, cuya vida útil sea a lo menos de 60 días

### **Objetivo general**

Determinar el efecto de diversos tratamientos térmicos y condiciones de almacenamiento sobre la vida útil del Cola de Mono.

**Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto de 3 tratamientos térmicos (135 °C por 5 segundos, 65°C por 20 minutos y 90 °C por 15 segundos) en la vida útil del producto.
- Evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre los cambios producidos en los parámetros: recuentos de bacterias psicrófilas y mesófilas, grado de proteólisis, graduación alcohólica, pH e índice de sedimentación en el producto Cola de Mono, durante un periodo de almacenamiento de 60 días.
- Evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento (5°C, 20°C, 36,5°C) sobre la vida útil del producto.
- Evaluar sensorialmente el producto con el fin de comparar los distintos tratamientos térmicos y su influencia en las características organolépticas.

## 2. REVISION BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Orígenes históricos del producto

El Cola de Mono es una bebida tradicional chilena, algunos informes señalan que este preparado se envasaba y se vendía en botellas de Anís de Mono, provenientes de España, sin embargo, la mayoría de las versiones ligan su nombre y su origen a la figura del ex presidente chileno Pedro Montt, a quien sus íntimos llamaban "el mono Montt".

Según la leyenda, en una ocasión en que Montt se encontraba junto con amigos en una velada en casa de doña Filomena Cortés, habría pedido que le entregaran su revólver Colt para retirarse. Como llovía torrencialmente, y nadie quería que el presidente se fuera, argumentaron no encontrar el revólver y lo convencieron de continuar la fiesta. Como se habían acabado los vinos y licores, agregaron aguardiente y azúcar a una jarra de café con leche. La bebida, que tuvo gran éxito, fue bautizada como Colt de Montt (haciendo alusión al asunto del revólver). El nombre del Colt de Montt, habiéndose popularizado, habría degenerado en "col e mon", "colemono" y, finalmente, "Cola de Mono"; otros lo atribuyen a una anécdota ocurrida durante la campaña presidencial de 1901, cuando Montt fue derrotado por Germán Riesco, cuyos seguidores habrían ido a celebrar su victoria y la "cola de Montt" a una heladería en la calle San Pablo. El dueño del local habría servido su especialidad, consistente en agregar aguardiente a los helados de café con leche ya derretidos. La denominación de la bebida, bautizada en la ocasión como "Cola de Montt", habría degenerado, gracias a la picardía popular, en "Cola de Mono".<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> [http://www.nuestro.cl/notas/rescate/colamono\\_origen.htm](http://www.nuestro.cl/notas/rescate/colamono_origen.htm)

## 2.2 Definición de Cola de Mono

Según Ley N° 18.455 (MINAGRI, 1986), que fija normas sobre producción, elaboración y comercialización de alcoholes etílicos, bebidas alcohólicas y vinagres; el producto es definido como: *“El cóctel preparado a base de aguardiente, leche de origen animal, café y edulcorantes, pudiendo contener aditivos tales como aromatizantes, estabilizantes, espesantes, enturbiantes y colorantes. Se permite el reemplazo de la leche de origen animal por otras leches o cremas de origen vegetal, pero en tal caso la rotulación deberá indicar el componente empleado como sucedáneo”*.

## 2.3 Tratamientos térmicos

El proceso de pasteurización se desarrolló originalmente para destruir *Micobacterium tuberculosis*, este tratamiento consistía en calentar la leche a 61,8 °C durante 30 minutos, sin embargo, aún a esta temperatura permanecían viables algunos microorganismos (BADUI, 1999).

Actualmente la pasteurización se lleva a cabo en sistemas continuos de intercambiadores de calor de placas o tubos, en los que la leche se somete a temperaturas de 74 a 76 °C por 15 a 20 segundos conocido como HTST, *High Temperature Short Time* ( STABEL,2004).

**2.3.1 Proceso UHT.** El proceso UHT es un tipo de tratamiento térmico aplicado a la leche en flujo continuo en rangos de temperatura que varían entre 130 °C a 135 °C con tiempos de retención entre 1 a 6 segundos, seguido por un llenado aséptico de la leche ya enfriada (YACINKAYA y OZIMEK, 1993).

Este proceso permite obtener productos de larga vida útil, no requiere refrigeración para su conservación, provocando sólo pequeños cambios en las características bioquímicas y sensoriales del producto.

La legislación chilena a través del Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003), indica en el artículo N° 201 que el *“Tratamiento a Ultra Alta Temperatura (UHT) es el procedimiento al que se somete uniformemente la totalidad de la leche u otros productos lácteos a una temperatura entre 130 y 145°C durante 2 a 4 segundos u otra combinación tiempo - temperatura de tratamiento equivalente”*.

La capacidad de conservación de este producto depende esencialmente del contenido de esporas mesofílicas y/o termofílicas que sobreviven al proceso de calentamiento y del recuento inicial de bacterias, por lo cual la leche destinada a proceso UHT deberá a lo menos cumplir con los requisitos que se requiere para una leche pasteurizada (LEMBKE,1974).

El proceso UHT puede ser llevado a cabo mediante intercambio calórico indirecto o directo.

**2.3.1.1 Método indirecto.** La leche se calienta mediante una barrera conductora de calor, generalmente de acero inoxidable, la cual separa el agente de calentamiento de la leche. La superficie puede ser una placa corrugada, tubos o intercambiadores de calor de superficie raspada, estas tienen un diámetro relativamente pequeño a través del cual fluye la leche. El cilindro es calentado externamente con vapor (BURTON, 1981).

**2.3.1.2 Método directo.** Este método se realiza mediante la mezcla directa del vapor con el producto lácteo a ser esterilizado. Es de primordial importancia en este método la naturaleza del vapor a utilizar, ya que éste no debe contener ninguna sustancia extraña capaz de alterar la calidad de la leche. El vapor puede ser inyectado a la leche o la leche puede ser rociada en una atmósfera de vapor (METHA, 1978).

**2.3.2 Pasteurización lenta.** Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003), en su artículo N°199, la pasteurización *“es el procedimiento por el que se somete uniformemente la totalidad de la leche u otros productos lácteos a una temperatura conveniente durante el tiempo necesario, para destruir la mayor parte de la flora banal y la totalidad de los gérmenes patógenos, seguido de un enfriamiento rápido de la leche o los productos lácteos así tratados”*.

La pasteurización baja o lenta es un tratamiento térmico que se realiza a 63 °C durante 30 minutos. Este tratamiento es suave y no origina grandes modificaciones en la leche; en particular el color y el sabor permanecen inalterables y la separación de la nata no se retrasa. (ALAIS, 1985).

#### **2.4 Efectos de la temperatura de procesamiento**

Durante el tratamiento térmico de la leche ocurren muchas reacciones como la glicosilación no enzimática (reacción de Maillard), isomerización de azúcares y denaturación proteica. VASBINDER (2004), señala que las características de la leche cambian considerablemente durante la elevación de la temperatura, debido a la desnaturalización provocada por el calor a las proteínas del suero.

La estabilidad de la leche frente a la temperatura es diferente. La lactosa contribuye a uno de los principales cambios químicos observados en el calentamiento según lo establecen OLANO y MARTINEZ (1989). Las grasas, vitaminas liposolubles, carbohidratos y minerales no sufren cambios esenciales con el tratamiento térmico, mientras que ciertas vitaminas hidrosolubles y proteínas pueden quedar afectadas en un grado que depende de la intensidad del proceso (Ford y Thompson, citados por PEÑA, 1995).

O'CONNELL (2000), señala que el calor induce la coagulación de la leche debido a una denaturación prematura de las micelas de caseína más grandes seguida de las micelas de caseína más pequeñas. Entre los factores que

influyen en los cambios químicos que ocurren en la leche durante el calentamiento se pueden citar: concentración de proteínas y azúcar, pH, temperatura, tiempo de calentamiento y contenido de sales.

## **2.5 Características del sistema proteico de la leche**

En la leche se pueden distinguir 2 tipos de proteínas: caseínas y proteínas del suero. Las caseínas representan un 80% del total, las proteínas del suero o seroproteínas representan el 20% restante, estas reúnen a las seroalbuminas,  $\beta$ -lactoglobulinas,  $\alpha$ -lactoalbumina y el grupo de las inmunoglobulinas (BADUI, 1999). Las proteínas de suero son aquellas que permanecen en solución después de la precipitación mediante la acidificación a pH 4,6 (ALAIS, 1985).

Las caseínas se encuentran en la leche formando agregados micelares de un tamaño aproximado de 10nm. Estos agregados comprometen una estructura común de  $\alpha$ -caseínas y fosfato de calcio en el cual es retenido la  $\beta$ -caseína. La superficie de las micelas de caseína es rica en  $\kappa$ -caseína, aunque no toda esta se encuentra en la superficie (ALAIS, 1985).

Las proteínas del suero son compactas, globulares y solubles en un intervalo de pH muy amplio. En estado natural no se asocian a las caseínas, pero en leches tratadas térmicamente y homogeneizadas, una fracción si lo hace. VASBINDER, (2004) señala que los tratamientos térmicos causan la denaturación de las proteínas del suero.

En general las proteínas del suero son sensibles a temperaturas altas y en menor grado al pH ácido (al contrario de lo que sucede con las caseínas) debido a que su mecanismo de estabilidad es por hidratación y no por carga eléctrica. También son las primeras proteínas de la leche en desnaturalizarse y su calentamiento libera grupos sulfhídricos que reducen el potencial de óxido reducción que puede llegar a inhibir parcialmente las reacciones de oxidación.

Contienen la mayor cantidad de aminoácidos y un mejor balance de éstos, por lo que su valor nutricional es mejor (ALAIS, 1985).

**2.5.1 Denaturación proteica.** Según BADUI (1999), de todos los constituyentes de la leche, las enzimas libres y las proteínas del suero son las más termosensibles y le siguen las enzimas unidas a las micelas o glóbulos de grasa, las caseínas, la lactosa y los lípidos.

La caseína es menos sensible al calentamiento que las proteínas del suero, debido a las pequeñas estructuras secundarias y terciarias que la conforman, sin embargo, las caseínas y sus estructuras moleculares sufren cambios a temperaturas elevadas tales como desfosforilación, proteólisis, agregación, gelificación e interacción con proteínas del suero ( $\kappa$ -caseína,  $\beta$  - lactoglobulina) (ALAIS, 1985).

La sensibilidad de las proteínas del suero al calor está dada por la carencia de fósforo y al bajo contenido de prolina en comparación con el presente en la caseína y al alto contenido de cisteína y metionina (RENNER y SCHMIDT, 1981).

**2.5.2 Sistemas proteásicos de la leche cruda.** Durante el almacenamiento de la leche tratada mediante UHT la principal causa de deterioro es la actividad causada por lipasas y proteasas nativas o bacterianas, las cuales sobreviven al tratamiento térmico y pueden causar cambios en la leche dependiendo del tiempo y temperatura de almacenamiento según lo determinó RENNER (1988).

Según WALSTRA y JENNES (1987), la actividad enzimática se define como la cantidad de  $\mu$ moles de producto formados por minuto de reacción bajo condiciones estándares de pH y temperatura.

De esta manera la presencia de sistemas enzimáticos en la leche cruda tiene importantes incidencias tecnológicas. Entre los efectos producidos por las proteasas en los productos lácteos están la gelificación de leches UHT, pérdida de calidad en quesos, desarrollo de sabores amargos, degradación de las caseínas y cambios en la viscosidad (Grufferty y Humbert *et al.*, citados por DEHARVEN, 1991).

La proteólisis en la leche bovina se debe a dos principales fuentes: proteasas nativas (endógenas) y proteasas producidas por microorganismos (exógenas). Las proteasas de los microorganismos son mayoritariamente de bacterias psicrótroficas que han crecido durante el almacenamiento refrigerado de la leche previo a su procesamiento según indica GUERRERO (2003); este autor también señala que la proteólisis en la leche tiene dos orígenes; el primero mediante los microorganismos que pueden secretar proteasas exógenas resistentes al calor y muchas de ellas se desarrollan en el almacenamiento en frío, el segundo está relacionado con el deterioro de la ubre enferma lo que incrementa la cantidad de proteasas endógenas.

**2.5.3 Características de las proteasas bacterianas.** Las enzimas proteolíticas de bacterias psicrótroficas han sido estudiadas en las cepas de *Pseudomonas fluorescens*, su peso promedio es de alrededor de 43,5 kDa, la mayoría de las proteasas son metaloenzimas (PEÑA, 1995).

Las proteasas bacterianas atacan principalmente la caseína formando la *para- $\kappa$ -caseína*, y las caseínas  $\alpha$  y  $\beta$  son degradadas respectivamente (Veisser, citado por FLORES, 1990).

También se señala que muchas proteasas de psicrótroficas son fuertemente resistentes al calor y sobreviven a tratamientos de pasteurización y tratamientos UHT (García *et al.*, citados por SHAH, 1994).

Gebre-Egziabher *et al.*, citados por GUERRERO (2003), señalan que las proteasas de la leche cruda son producidas por bacterias psicrótróficas, en general del género *pseudomonas*. Estos microorganismos crecen con facilidad a temperaturas de refrigeración y son eliminados mediante la pasteurización, pero muchas especies producen enzimas extracelulares termorresistentes hacia el final del crecimiento exponencial o en la fase de crecimiento estacionaria.

MCKELLAR (1981), señala que la leche UHT es más sensible a la acción de las enzimas proteolíticas que la leche pasteurizada.

Por su parte GUAMIS *et al.* (1987), indica que tratamientos térmicos de 64 a 68°C por 10 segundos previo al tratamiento UHT conducen a una considerable reducción de la flora psicrótrófica.

En relación con la temperatura óptima para las proteasas de *pseudomonas*, según estudios esta se encontraría en el rango de 30°C y 45°C, sin embargo, estas enzimas pueden retener actividad considerable a temperaturas de refrigeración.

En cuanto al pH óptimo para su actividad, se establece un rango muy amplio, cuyos óptimos están entre 6,5 y 8,0; las proteasas activas en estos rangos se denominan proteasas neutras (Mitchell y Marsahall, citados por POBLETE, 2000).

Un aspecto importante de señalar, tiene que ver con la degradación de las proteínas por parte de las proteasas de los microorganismos psicrótróficos y otros organismos gram negativos pues según KOCAK y ZADOW (1985), GUAMIS *et al.* (1987), estas provocan la gelificación y sabores amargos; otros autores como Humbert y Alais, citados por POSTIGO (1986), indican que se ha observado gelificación, espesamiento y coagulación en productos lácteos

líquidos tratados mediante UHT. La sedimentación sería la primera fase de la gelificación según Paggi *et al.*, citados por FLORES (1990).

Según lo anterior, no existe un consenso en el efecto que producen las proteasas bacterianas sobre los productos tratados por tratamientos UHT, por lo cual es de gran importancia conocer los efectos de los tratamientos sobre el producto que además contiene alcohol en su formulación.

## **2.6 Sedimentación y gelificación**

Una de las principales características de leches sometidas a UHT es su inestabilidad durante el almacenamiento, con su consiguiente limitación en la vida útil, de esta forma parecen ocurrir dos tipos de proceso: primero la formación de un sedimento formada por material proteínico como una capa en el fondo del envase y en segundo lugar la gelificación, en el cual la viscosidad de la leche aumenta en el tiempo con la eventual formación de un gel en la leche.

El proceso de gelificación se caracteriza por un ligero adelgazamiento seguido por un periodo de pequeños cambios, luego comienza una etapa de un abrupto aumento de la viscosidad y finalmente concluye con la formación del gel dentro de 1 a 3 semanas, este proceso es irreversible (Harwalkar y Vreeman, citados por VENKATACHALM *et al.*, 1993).

## **2.7 pH**

La solubilidad de las proteínas está muy influenciada por el pH al que se encuentren, de esta forma es mínima en su punto isoeléctrico y aumenta al alejarse de él. En el punto isoeléctrico las fuerzas de repulsión son mínimas con lo cual se favorece la interacción proteína-proteína que inducen a la agregación con la consecuente insolubilización final (BADUI, 1999).

Las caseínas y las demás proteínas de la leche están estabilizadas por diferentes mecanismos de interacción. Mediante la manipulación de algunos parámetros como el pH, la temperatura y la fuerza iónica es sencillo romper estas uniones. El método clásico para la separación de las proteínas es la precipitación de las caseínas a pH 4,6.

Sin embargo, no todas las proteínas lácteas se comportan igual frente al pH debido a que las proteínas del suero no son insolubles en su punto isoelectrico, ya que en su estabilidad influyen más los mecanismos de hidratación que los de carga eléctrica (BADUI, 1999).

## **2.8 Microorganismos presentes en la leche cruda**

La leche representa un buen sustrato para el crecimiento de diversos microorganismos, en ella se encuentran bacterias gram negativas de los géneros: *Acinetobacter*, *Campylobacter*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Serratia*, *Yersinia*, y *Xanthobacter* (JAYARO y WANG, 1999).

Las bacterias del género *pseudomonas* son las que predominan en la leche cruda y dentro de estas la especie más abundante es *Pseudomona fluorescens*, estas son las bacterias responsables del deterioro de gran cantidad de productos lácteos.

**2.8.1 Características de bacterias psicrótróficas.** Las bacterias psicrótróficas son aquellas que pueden crecer a temperaturas de refrigeración, estas bacterias crecen a 7°C o a menor temperatura, independiente de su temperatura óptima que se encuentra entre los 20 y 30°C (Krat y Rey, citados por COX, 1993).

El almacenamiento previo al proceso de la leche, en rangos de temperatura que varían de 4°C a 7°C hasta por 4 días, permite el desarrollo de los microorganismos psicotróficos que tienen la capacidad de producir las enzimas proteolíticas termoestables mencionadas con anterioridad que sobreviven al proceso UHT y son capaces de gelificar el producto (McKellar, citado por FLORES, 1990).

Recio *et al.*, citado por MIRALLES (2003), señala que el almacenamiento refrigerado es usualmente usado para el procesamiento de leche, sin embargo, esto permite el crecimiento de bacterias psicotróficas que producen enzimas causantes de proteólisis.

El almacenamiento refrigerado de leche cruda origina un aumento en el número de bacterias lipolíticas y proteolíticas y consecuentemente origina un aumento en el contenido de ácidos grasos libres y una disminución del pH. En promedio el aumento de psicotróficas como proporción del recuento total en placa es de un 47% a un 80% después de dos días de almacenamiento a 4°C según lo expuesto por CELESTINO *et al.*, (1996).

Guinot *et al.*, citados por GUERRERO (2003), señalan que el contenido de bacterias psicotróficas en la leche cruda se considera como el parámetro más importante que influye durante el comportamiento de la leche en el almacenamiento.

## **2.9 Graduación alcohólica**

La evaluación de la graduación alcohólica tiene relación con las temperaturas que se emplean en el proceso, pudiéndose establecer si existe pérdida a través de evaporación durante el proceso.

La graduación alcohólica y toda la normativa en relación a venta, producción, distribución y comercialización de bebidas alcohólicas en Chile se rige de acuerdo a la Ley N° 18.455 promulgada el 31 de Julio de 1986. Según la ley y con el fin de conocer los conceptos que involucran la elaboración del producto Cola de Mono es necesario tener en cuenta los siguientes conceptos, definidos en el artículo N°1 de la mencionada ley.

- **Aguardiente:** El destilado de vinos al cual no se han agregado aditivos, excepto azúcares y agua.
- **Cóctel:** Bebida alcohólica obtenida por la mezcla de uno o más destilados, licores o bebidas alcohólicas fermentadas a las que se les puede adicionar productos analcohólicos.
- **Graduación alcohólica potencial:** Es el grado alcohólico Gay-Lussac que se obtendría al fermentar totalmente las sustancias reductoras remanentes en un producto.
- **Graduación alcohólica real:** Es la proporción de alcohol que contiene un producto, medido con un alcoholímetro centesimal Gay-Lussac a 20 grados Celsius de temperatura.
- **Graduación alcohólica total:** Es la suma de las graduaciones alcohólicas potencial y real.
- **Cola de Mono:** Es el cóctel preparado a base de aguardiente, leche de origen animal, café y edulcorantes, pudiendo contener aditivos tales como aromatizantes, estabilizantes, espesantes, enturbiantes y colorantes. Se permite el reemplazo de la leche de origen animal por otras leches o cremas

de origen vegetal, pero en tal caso la rotulación deberá indicar el componente empleado como sucedáneo.

Además según el artículo N°12 de la ley y en relación a la graduación alcohólica, el Cola de Mono se encuentra dentro del grupo N°5, correspondiente a los cócteles.

#### Grupo 5: Cócteles

- Graduación mínima 12°: Los que no contienen leche o huevo.
- Graduación mínima 16°: Los que contienen leche o huevo.

### **2.10 Deterioro en alimentos y vida útil**

La vida útil de cualquier producto es el periodo de tiempo bajo condiciones normales de almacenamiento en que este permanece seguro y aceptable para el consumidor según Tortorello *et al.* (1991), citado por MONJE (2003). Los alimentos son sistemas físico-químicos y biológicamente activos, por lo cual para cada tipo de alimento en particular existe un tiempo después de su elaboración, durante el cual mantiene sus cualidades organolépticas y de seguridad, en condiciones determinadas de conservación, este es un periodo definido como vida útil según lo describen CASP y ABRIL, (1999).

POTTER y HOTCHKISS (1999), definen la vida útil como el tiempo que transcurre hasta que el producto se convierte en inaceptable.

Otros autores como WILBEY (1997), establecen que la vida útil no sólo debe ser vista desde un punto de vista legal, sino que como el periodo de tiempo en el cual el alimento permanece seguro, mantienen las características físico-químicas y sensoriales y microbiológicas deseadas, y finalmente cumple con los acuerdos nutricionales.

La estabilidad de los productos alimenticios depende de factores intrínsecos y extrínsecos según lo expuesto por WILBEY (1997), entre los factores intrínsecos se encuentran las características físicas, calidad de la materia prima, pH, actividad de agua, dentro de los extrínsecos se pueden mencionar las condiciones del proceso, la higiene, empaque y las condiciones de almacenamiento de los productos. Cada uno de estos factores puede actuar individualmente y contribuir al deterioro o también es posible que contribuyan sinérgicamente. Otros factores son agregados por CAMPBELL-PLATT (1989), el cual señala como factores que afectan la vida útil y la calidad de un producto alimenticio a la calidad de la materia prima, el procesamiento, la higiene de la planta y el personal, el tiempo y temperatura de mantención y distribución y finalmente, la composición del alimento.

Durante los periodos de almacenamiento y distribución, los alimentos se encuentran expuestos a diversos tipos de cambios ambientales, en los cuales factores como temperatura, humedad, oxígeno y luz contribuyen a reacciones de deterioro, según lo señalado por MAN y JONES (2000).

LABUZA (1982), presenta los mecanismos de deterioro de alimentos de la siguiente manera:

- Microbiológicos: Es el principal problema de los productos alimenticios, debido a que estos presentan pH neutro y altos valores de actividad de agua ( $A_w$ )
- Estructurales: Son producidos generalmente por cambios físicos producto de procesos bioquímicos.
- Bioquímicos y químicos: Al disminuir el  $A_w$ , el deterioro causado por microorganismos disminuye su importancia y toma ahora mayor importancia

factores como la oxidación de lípidos, concentración de oxidantes en alimentos congelados y la acción de enzimas.

### **2.11 Características de las materias primas utilizadas para la elaboración**

Para la elaboración del producto Cola de Mono, las materias primas utilizadas corresponden a las siguientes: leche, aguardiente, café, y especias (vainilla, canela, clavo de olor).

**2.11.1 Leche.** Está definida en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003), en el artículo 198 como *“el producto de la ordeña completa a ininterrumpida de vacas sanas, bien alimentadas y en reposo, exenta de calostro.”*

Las características exigidas a la leche son:

- a) caracteres organolépticos normales
- b) exenta de materias extrañas
- c) peso específico: 1,028 a 1,034 a 20 °C
- d) índice crioscópico: de 0,53 a 0,57 "Horvet" ó 0,512 a 0,550 °C
- e) pH: 6,6 a 6,8
- f) acidez: 12 a 21 ml de hidróxido de sodio 0,1 N/100 ml de leche
- g) sólidos no grasos: 82,5 gramos por litro, como mínimo
- h) exenta de sangre y pus
- i) exenta de antisépticos, antibióticos y neutralizantes
- j) sus requisitos microbiológicos y su contenido de materia grasa, serán los que determina el Reglamento Sanitario de los Alimentos.

**2.11.2 Aguardiente.** Corresponde al nombre genérico de bebidas alcohólicas, de entre 40 y 45 grados, que pueden ser consumidos puros, añejados,

aromatizados o mezclados. Son obtenidos a través de la destilación del vino o de determinados cereales, frutas o semillas, como centeno, cebada, cereza, uvas y el anís, entre otras. Entre los aguardientes encontramos diferentes tipos por ejemplo: anisados, pisco, brandy, anís, cachaça, ron, coñac, entre otros. En la ley N° 18.455 está definido como *“el destilado de vinos al cual no se han agregado aditivos, excepto azúcares y agua.”*

**2.11.3 Café.** Es originario de un arbusto perteneciente a la familia de las rubiáceas que se da en las regiones tropicales. El café como si mismo no posee valor alimenticio y es consumido por sus propiedades de ser una bebida estimulante y refrescante. Durante la etapa del tostado en el procesamiento el café adquiere su aroma característico, comúnmente se utilizan temperaturas de 260°C por 5 minutos (POTTER y HOTCHKISS, 1999).

**2.11.4 Azúcar.** Este producto es extraído de la remolacha (*betavulgaris*) o de la caña de azúcar (*saccharum officinarum*), químicamente forma parte de los hidratos de carbono, es usado como edulcorante en la industria alimentaria. Existen 3 tipos de glúcidos simples: la sacarosa (llamada azúcar), la lactosa y la fructosa; éstas se pueden combinar para formar macromoléculas (glúcidos complejos) como por ejemplo el almidón. El azúcar es una fuente de energía de fácil y rápida asimilación necesaria para nuestro organismo (su valor energético corresponde a 4 kilocalorías por gramo), especialmente para el cerebro, músculos y el sistema nervioso.<sup>1</sup>

**2.11.5 Especies.** Estos componentes de los alimentos y bebidas están constituidos por partes muy diversas de las plantas más variadas, frutos, semillas, hojas, flores, tallos, cortezas, hojas, bulbos, etc. Gracias a su

---

<sup>1</sup> <http://www.azucar.cl/preguntas.htm>

contenido en sustancias aromáticas, sápidas le confieren a los alimentos caracteres agradables al paladar y al olfato, debido a esto son utilizadas en productos alimenticios con el fin de aderezar o mejorar el aroma, aumentando a la vez las secreciones del tubo digestivo y estimulando el apetito (SCHMIDT HEBBEL, 1980).

El Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003), define a las especias en su artículo N°430 como “*plantas o partes de ellas (raíces, rizomas, bulbos, hojas, cortezas, flores, frutos y semillas) que contienen sustancias aromáticas, sápidas o excitantes, o sus principios activos suspendidos en un soporte alimenticio adecuado, empleadas para condimentar alimentos y bebidas.*”

**2.11.5.1 Canela.** Especia a base de cortezas que tiene su origen en Ceylan (Sri-Lanka), está constituida por la corteza desecada y privada de la mayor parte de su capa epidérmica de la Laurácea (*Cinnamomum zeylanicum*). La canela está constituida por un 55-70% de aldehído cinámico y de un 4 -10% de eugenol, además de linalol y ácido cinámico (SCHMIDT HEBBEL, 1980). La canela también se cultiva en Brasil, Birmania, India, Indonesia e islas del Océano Pacífico.

**2.11.5.2 Clavos de olor.** Están constituidos por los botones florales desecados de la Mirtácea (*Caryophyllus aromaticus L. o Eugenia Caryophyllata T.*). El árbol se desarrolla en un clima marítimo tropical, principalmente en islas como Madagascar, Indonesia, Filipinas, islas del Caribe y costa de Guyana (SCHMIDT HEBBEL, 1980). Los clavos de olor deben contener por lo menos un 13% de esencia, constituida por 70-90% de eugenol.

**2.11.5.3 Vainilla.** Es el fruto de la orquidácea trepadora. Existen más de cien especies de plantas de vainilla, que pertenecen a la familia de la orquidáceas. Las tres especies más importantes que se cultivan en la actualidad son: *Vainilla*

*Fragrans, Vainilla Tahitensis, Vainilla Pompona*. Las plantas de vainilla se desarrollan casi exclusivamente en climas subtropicales, cálidos, y húmedos (SCHMIDT HEBBEL, 1980).

## **2.12 Mercado de bebidas alcohólicas**

En el mercado internacional, los alcoholes se pueden dividir en dos grupos: alcoholes *commodities* y alcoholes locales. La categoría *commodity* incluye a aquellos alcoholes presentes en el comercio internacional, los que tienden a clasificarse en tres categorías primarias: cerveza de cebada, vino de uvas y ciertos destilados espirituosos. Los alcoholes locales son bebidas que aparecen sólo en algunas regiones del mundo. En Chile, la categoría *commodity* incluye a la cerveza, vino, whisky y otros licores importados. El pisco corresponde entonces a un alcohol local, tal como lo sería el Cola de Mono (GEMINES, 2002).

En Chile el mercado de bebestibles alcohólicos es muy poco diversificado, esto denota que el consumidor chileno es todavía muy conservador en sus gustos, a pesar de las variadas alternativas que ofrece el mercado, a precios competitivos con los alcoholes de mayor aceptación. Entre los factores que explican este comportamiento está la tradición de consumo de vino y la legislación de impuestos a los alcoholes, la que afectó negativamente el precio relativo de los licores de mayor graduación alcohólica. En la actualidad, todas las bebidas alcohólicas deben pagar 27% de Impuesto de la Ley de Alcoholes (ILA) de su valor neto para ingresar a Chile, es decir, deben pagar: valor CIF + derecho *ad valorem* (6% CIF) + IVA + impuesto adicional (27%).<sup>1</sup>

**2.12.1 Consumo de alcohol en el país.** Nuestro país registra un consumo de la población adulta de 6.02 litros per cápita en términos de alcohol puro,

---

<sup>1</sup> [http://www.aduana.cl/p4\\_principal/antialone.html?page=http://www.aduana.cl/p4\\_principal/site/](http://www.aduana.cl/p4_principal/antialone.html?page=http://www.aduana.cl/p4_principal/site/)

ubicándose en el lugar 81 de un listado de otras 195 naciones para el año 2004. En el CUADRO 1 se puede observar los países que a nivel mundial más alcohol puro ingieren. En relación a Sudamérica y el consumo de alcohol, Chile se ubica en el lugar número cinco, como se puede apreciar en el CUADRO 2.

**CUADRO 1. Consumo mundial de alcohol per capita mayores de 15 años, en litros de alcohol puro.**

Posición	País	Litros per cápita
1	Uganda	19,47
2	Luxemburgo	17,54
3	Republica Checa	16,21
4	Irlanda	14,45
5	Republica Moldova	13,88
6	Francia	13,54
7	Reunion	13,39
8	Bermuda	12,92
9	Alemania	12,89
10	Croacia	12,66
81	Chile	6,02

FUENTE: Global Status report on alcohol 2004. United Nations.

[http://www.who.int/substance\\_abuse/publications/global\\_status\\_report\\_2004\\_ov](http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_status_report_2004_ov)

**CUADRO 2. Consumo en países de Sudamérica de alcohol per capita mayores de 15 años, en litros de alcohol puro.**

País	Litros per cápita
Venezuela	8,78
Argentina	8,55
Uruguay	6,96
Paraguay	6,66
Chile	6,02
Colombia	5,92
Brasil	5,32
Perú	4,68
Bolivia	3,43
Ecuador	1,99

FUENTE: Global Status report on alcohol 2004. United Nations.

[http://www.who.int/substance\\_abuse/publications/global\\_status\\_report\\_2004\\_ov](http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_status_report_2004_ov)

Entre 1970 y 1997 el total de bebidas consumidas por persona disminuyó de un promedio de 55,7 litros en la década de los '70, a 46,6 litros entre 1990 y 1997, esto corresponde a un 16,3% de caída.

En el año 2000, la oferta total de bebestibles alcohólicos en el país totalizó un volumen de 1.103 millones de litros (11 millones de hectolitros), de los cuales en torno al 98% corresponde a producción interna, mientras que sólo un 2% corresponde a importaciones. Las exportaciones de estas bebidas, en tanto, fueron 283 millones de litros. Un detalle de las importaciones de bebidas alcohólicas por productos durante el periodo 1995 -2000 se puede encontrar en el ANEXO 1

En el IV Estudio Nacional de Consumo de Drogas en las trece regiones del país, realizada por el Consejo Nacional para el Control de Estupefacientes, (CONACE), se señala que los hombres aún duplican a las mujeres en cuanto al consumo de bebidas alcohólicas, pero que esta brecha se acorta en el grupo de jóvenes de entre 12 y 18 años, en el que el 33% de los hombres y el 28% de las mujeres declararan consumo reciente de alcohol.

Desde el punto de vista económico las bebidas alcohólicas se comportan en nuestro país como productos con elasticidad ingreso positiva, esto significa que aumentos en el nivel de ingreso de las personas originan aumentos en su consumo (GEMINES, 2002).

**2.12.2 Principales bebidas alcohólicas consumidas en Chile.** En el año 2000, la mayor participación por productos la registró el vino, con un monto transado de \$236.000 millones, equivalentes al 42% del mercado. Le sigue en importancia la cerveza con ventas por \$200.000 millones y el 36% del mercado, a continuación, el pisco y los demás licores incluyendo al whisky como el principal dentro de estos. A la fecha de este estudio las tendencias no han

variado significativamente (GEMINES, 2002).

**2.12.2.1 Vino.** La oferta de vinos está conformada principalmente por producción interna, de la cual un 43% es comercializado en el exterior. El destino de la producción de vinos chilenos está compartiéndose casi en partes iguales entre el mercado interno y las exportaciones. Esto se ha conseguido tras el desarrollo exportador experimentado por la vitivinicultura chilena que ha hecho perder importancia al primero. El 7% del consumo de vinos en Chile corresponde a los denominados finos y sólo el 11% corresponde a vino comercializado en botellas. Los envases Tetra Pack han ganado una participación de mercado superior al 30%, esto unido al 58% de consumo masivo a granel o en otros envases, revela la orientación hacia los vinos corrientes que todavía muestra el mercado chileno (GEMINES, 2002).

**2.12.2.2 Cerveza.** Constituye el segundo producto de mayor relevancia, con una participación de 36%. Prácticamente la totalidad de la oferta proviene de producción interna, en tanto que sólo un 2% corresponde a importaciones. La producción de cerveza tiene casi 100% de destino el mercado doméstico. La competencia con otras bebidas alcohólicas depende mayoritariamente de la ocasión de consumo, ya que por el grado de alcohol que contiene no tiene sustitutos cercanos.

**2.12.2.3 Pisco.** El pisco, con una producción nacional en torno a 39 millones de litros, representa el 10,6% de la oferta de bebestibles alcohólicos en el país. En el mercado interno compite abiertamente con bebidas alcohólicas de alta graduación, lo que produjo una caída en el consumo de un 34% entre 1996 y el año 2000. A diferencia del vino, la producción de pisco tiene casi 100% de destino el mercado interno. El año 2000, uno de los de mayor cantidad de exportación, estas no sobrepasaron el 1,5% del total de la producción. Como producto local, no ha tenido el desarrollo exportador experimentado por la

vitivinicultura chilena, debido a la falta de recursos para promocionarlo en el resto del mundo (GEMINES, 2002).

**2.12.2.4 Otros licores.** Finalmente, otras bebidas alcohólicas tales como whisky, ron, gin, tequila, vodka y otras, representan sólo el 1,7% de la oferta global, en términos de volumen. Dentro de éstos es importante destacar el caso del ron, el que desde el año 2000 ha venido en ascenso, cuando sus importaciones crecieron 37%, siendo uno de los licores actualmente más consumidos con casi un millón de litros de venta anual y con una tendencia del crecimiento sobre el 25%.

En general el consumo de bebidas alcohólicas en Chile ha disminuido del orden de 23% desde 1981 a la fecha, estabilizándose en torno a 47 litros per cápita al año. Esta cifra incluye cerveza, vino, pisco y whisky. La disminución ha sido exclusivamente en el consumo de vino. El consumo de cerveza, pisco, whisky y demás licores ha aumentado (GEMINES, 2002).

### **2.13 Tendencias de consumo en el mundo**

Los países europeos muestran los mayores niveles de consumo de alcohol del mundo, le sigue en importancia el continente americano. En América latina Chile se ubica en el lugar número cinco después de Paraguay, Argentina, Venezuela y Uruguay, en el consumo de alcohol.

### **2.14 Mercado de Cola de Mono**

Este producto como se ha mencionado con antelación es un producto de tendencia estacionaria, aumentándose su consumo en fiestas patrias y festividades de fin de año. Por lo anterior no existe en el mercado una presencia regular del producto a la venta a lo largo del año, sin embargo, algunas empresas mantienen un reducido *stock* en supermercados.

En relación a la producción de Cola de Mono diferentes industrias elaboran este producto bajo distintas marcas, entre ellas tenemos Artesanos del Cochiguaz (Cooperativa Agrícola Pisquera Elqui Limitada, Capel), Campanario (Cooperativa Control Pisquero, Control), Chillan (Licores Mitjans), Mendoza (Viña Mendoza), Pirque (Agroindustrial Pirque), Quillayes, Líder (D y S), CTL (Centro Tecnológico de la leche, Universidad Austral de Chile), Doña Amanda (ABA Drinks). De éstas, no más de tres están presentes durante todo el año, por lo cual es un importante nicho de exploración.

Un competidor fuerte para este producto son los licores en base a cremas de leche, entre ellas la más importante y que ha aumentado su consumo es el producto Baileys desarrollado hace aproximadamente treinta años en Europa y presente desde hace tres en Chile. También empresas nacionales han creado sus propias marcas, entre ellas destacan Drake's, de Licores Mitjans, a base de crema de leche estadounidense y whisky escocés; Cremisse de Alto del Carmen y Mistral Creme, ambas a base de crema holandesa y alcohol de pisco.<sup>1</sup>

### **2.15 Mercado futuro para el producto**

Durante los últimos años la tendencia en el consumo de licores en Chile no ha variado mayormente, sin embargo, sí ha aumentado la producción e importación de licores distintos a los tradicionales. Como se mencionó los licores de crema han mejorado su participación en el mercado dejando la ventana abierta para la incorporación de nuevos productos o productos estacionarios que puedan ser comercializados todo el año (caso del Cola de Mono). La tendencia del consumo de bebidas alcohólicas por *quintiles de*

---

<sup>1</sup> <http://www.planetavino.com/reportajes/detalle.asp?id=8>

*ingreso*<sup>1</sup> en el país puede observarse en los ANEXOS 2 y 3, los cuales muestran el dinamismo que muestra el mercado de bebidas alcohólicas en el periodo 1997-1998 y las proyecciones para el año 2010, según el estudio *Bebidas alcohólicas: Recomposición de la canasta en el mediano plazo*, de la consultora GEMINES, (2002).

Por otro lado, también es posible la exportación de este producto como un producto típico chileno, como lo señala la Comisión Bicentenario dependiente del Ministerio de Interior, la cual indica que es necesario: *Desarrollar y posicionar internacionalmente productos de elaboración agroindustrial que podrían ser el orgullo y emblema nacional de la agroindustria chilena, (como hoy es el vino). Por ejemplo productos como el “aceite de oliva”, la “quesería con sabores”, el “pisco en versión chilena”, otros licores emblemáticos como la “cola de mono” y el mate refinado que se producirían muy bien en Chile con denominación de origen porque existirían las condiciones climáticas, empresariales, profesionales y técnicas para fabricar estos productos con alta calidad internacional.*<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Los quintiles de ingreso son una forma de clasificar a los hogares según sus ingresos. Cada quintil corresponde al 20% de los hogares ordenados en forma ascendente de acuerdo al ingreso per cápita autónomo del hogar. El primer quintil corresponde al 20% más pobre, y el quinto al más rico

<sup>2</sup> [http://www.mideplan.cl/publico/print\\_cat.php?secid=4&catid=22](http://www.mideplan.cl/publico/print_cat.php?secid=4&catid=22)

### 3. MATERIAL Y METODO

#### 3.1 Material

En este punto se describirá el lugar de trabajo, la metodología utilizada y se hará mención de materiales y equipos utilizados durante la investigación.

**3.1.1 Ubicación estudio.** El producto fue elaborado en la planta piloto del Instituto de Ciencia y Tecnología de los alimentos (ICYTAL), perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, durante el mes de Septiembre de 2005. Los análisis físico-químicos y microbiológicos tanto de la materia prima como del producto terminado fueron realizados en laboratorios dependientes del mismo instituto. Los análisis correspondientes a graduación alcohólica fueron realizados en el Instituto de Agroindustria de la Universidad de la Frontera, en Temuco, Región de la Araucanía.

**3.1.2 Materia Prima.** La materia prima utilizada correspondió a leche procedente del fundo Santa Rosa perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile y aguardiente proveniente de Chillán, además se utilizó en menor cantidad: café, vainilla, canela y clavos de olor.

**3.1.3 Equipos de planta piloto.** Los equipos utilizados fueron los siguientes:

- Bomba desplazamiento positivo de tres pistones Rannie, tipo 1650. Velocidad de flujo 200 L/h.
- Preesterilizador Paasch- Silkeborg de intercambio calórico indirecto, modelo S-304. Velocidad de flujo 200 L/h.
- Homogeneizador Rannie

- Botellas de vidrio con capacidad de 250 ml, previamente esterilizadas.
- Campana de flujo laminar
- Bomba peristáltica

**3.1.4 Materiales y equipo de laboratorio.** Los materiales de laboratorio que se utilizaron fueron los siguientes:

- pHmetro
- Espectrofotómetro: Spectronic Genesys 5
- Termómetros
- Timer o cronómetro
- Material de vidrio (pipetas, matraces, embudos, etc.)
- Placas Petri
- Medios de Cultivo
- Refrigerador regulado a 4-5 °C para almacenamiento
- Cámara almacenamiento, regulada a 36,5 °C

## **3.2 Método**

Para la elaboración del producto en primer lugar se realizó una sanitización del área en la cual se trabajó así como también de cada uno de los materiales y equipos que se utilizaron, posteriormente el producto fue elaborado para finalmente proceder a realizar los análisis establecidos.

**3.2.1 Higiene y esterilización de equipos y materiales.** La metodología para la limpieza y la higiene de los equipos se realizó en una primera etapa con un lavado de los equipos con el fin de eliminar todo el resto de productos que pudiesen encontrarse en la superficie, a continuación se realizó la sanitización.

El lavado comenzó con un enjuague de los equipos con agua tibia (45 °C), posteriormente a ello se realizó un lavado con soda cáustica al 1% para la eliminación de materia orgánica que pudiese estar presente y no haya sido

eliminada. El siguiente paso en la etapa de lavado consistió en enjuague con una solución de ácido fosfórico diluida al 0,1%, debido a que al ser un ácido débil y utilizarlo en bajas concentraciones evita la formación de piedra de leche o sales provenientes de aguas duras.

En el sanitizado, la primera tarea consistió en el uso de una solución clorada de 200 ppm a una temperatura de 50°C durante 30 minutos, mediante recirculación. Seguido a esto se procedió a sanitizar los equipos mediante el uso de vapor y finalmente se hizo recircular por el equipo una corriente de agua estéril.

**3.2.2 Análisis fisicoquímicos y microbiológicos.** Los análisis realizados para el presente estudio se realizaron tanto a la materia prima como al producto terminado.

**3.2.2.1 Leche cruda.** Los análisis realizados a la materia prima fueron:

- Determinación de pH: Potenciómetro (CHILE, INN, 1979)
- Acidez titulable, (CHILE, INN, 1998)
- Prueba de alcohol, (CHILE, INN, 1998)
- Grado de proteólisis: Método espectrofotométrico descrito por HULL (1947), ANEXO 4
- Recuento total de bacterias mesófilas: Metodología descrita por HOUGHTBY *et al.* (1992)
- Recuento total de bacterias psicrótróficas: Metodología descrita por HOUGHTBY *et al.* (1992)

**3.2.2.2 Producto terminado.** Los análisis realizados al producto una vez elaborado fueron:

- Determinación de pH: Potenciómetro (CHILE, INN, 1979).

- Recuento total de bacterias mesófilas: Metodología descrita por HOUGHTBY *et al.* (1992)
- Recuento total de bacterias psicrófilas: Metodología descrita por HOUGHTBY *et al.* (1992)
- Grado de proteólisis: Método espectrofotométrico descrito por HULL (1947), modificado.
- Graduación alcohólica: Método descrito por SCHMIDT-HEBBEL (1981), ANEXO 5.
- Índice de sedimentación. Para determinar la tasa de precipitado o sedimento presentes en las muestras en almacenamiento, descrito según Método de Rustom *et al.* (1995), modificado por CANO-RUIZ y RICHTER (1998), ANEXO 6.
- Evaluación sensorial. Los datos fueron analizados con el programa STATISTICA 6.0 para Windows. Se utilizaron el Test de Friedman (no paramétrico) para verificar si existían diferencias entre los tratamientos y el Test de Wilcoxon (no paramétrico) para verificar cuales fueron los tratamientos distintos si existiesen.

En este análisis se utilizaron las muestras almacenadas en refrigeración y la evaluación se realizó con un total de 10 jueces, 5 varones y 5 mujeres con el fin de tener una muestra más representativa. Se realizó la evaluación de 4 atributos: color, aroma, sabor y apreciación general; cada uno de estos atributos fue medido en diferentes tiempos (0, 30 y 60 días) para poder observar la evolución organoléptica del producto a través del tiempo y comprobar si pierde o no sus características sensoriales. También se realizó un análisis sensorial con la muestra almacenada en cámara, transcurridos los 60 días de almacenamiento.

Con el tratamiento que obtuvo mejor puntaje durante los 60 días se realizó un análisis comparativo de apreciación general con productos del mercado. Las

marcas con las cuales se comparó se establecieron siguiendo el criterio del precio de venta en el mercado<sup>1</sup>, es decir, aquellas que se encontraran en un rango de precios de término medio, esto es alrededor de \$1.500, por lo que escogió las marcas Artesanos del Cochiguaz (\$1.936) y Chillan (\$1.355); a su vez la marca CTL se encuentra entre estos precios (\$1.550).

Los atributos determinados según el método de LARMOND (1977), fueron los siguientes:

- Color. Usando una escala de 1 a 5, donde 1 representa color “muy inadecuado” y 5 “muy adecuado”.
- Aroma: Usando una escala de 1 a 5, donde 1 representa “falta de aroma, atípico” y 5 “aroma agradable, típico”.
- Sabor: Usando una escala de 1 a 5, donde 1 representa sabor “insuficiente” y 5 “demasiado intenso”.
- Apreciación general: Usando escala de 1 a 7, donde 1 representa una apreciación “muy malo” y 7 “muy bueno”. La ficha utilizada en ambas evaluaciones se encuentran en los ANEXOS 7 y 8.

**3.2.3 Diseño Experimental.** Se consideraron tres tratamientos térmicos para la elaboración del producto:

A: 65 °C por 20 minutos (Pasteurización lenta)

B: 135 °C por 4-5 segundos (UHT) \*\*

C: 90 °C por 15 segundos (Pasteurización normal)

---

<sup>1</sup> Precios en supermercados de la ciudad de Valdivia durante los meses Diciembre 2005 – Enero 2006.

\*\* Condiciones simuladas de tratamiento UHT

El tratamiento C fue considerado como patrón debido a que éste el tratamiento habitualmente se ha utilizado para la elaboración del producto. Cada uno de estos tratamientos tiene una mezcla base común, por lo que cada uno de ellos difiere del otro sólo en las variables tiempo y temperatura, posteriormente una vez elaborado cada uno de los productos fueron almacenados en distintas condiciones:

- a) Cámara refrigerada a 5 °C
- b) Temperatura ambiente 18-20 °C
- c) Cámara almacenamiento 36,5 °C

**3.2.4 Tiempo de almacenamiento y análisis.** El tiempo de total del experimento fue de 60 días, en los cuales cada 10 días se fueron realizando los diferentes análisis. El esquema de análisis quedó definido de la siguiente forma:

**CUADRO 3. Esquema análisis en el tiempo.**

Días	°G alcohólicos	pH	Grado de proteolisis	Rcto. psicrotróficas	Rcto. mesófilas	Evaluación sensorial
0	x	x	x	x	x	x
10		x				
20		x	x			
30		x		x	x	x
40		x	x			
50		x				
60		x	x	x	x	x

FUENTE: Elaboración propia

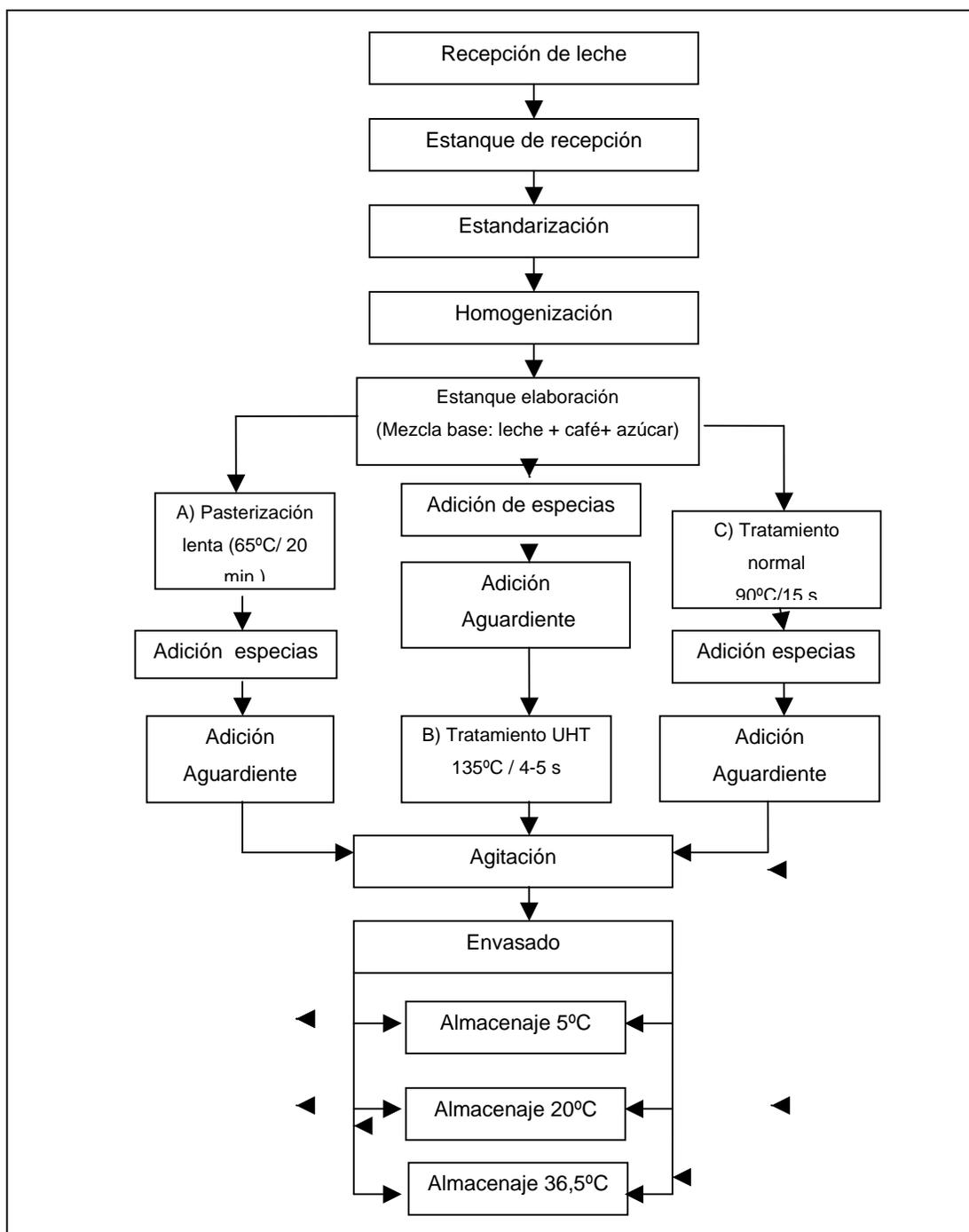
El análisis de datos se realizó mediante un análisis de varianza factorial 3x3, el primer factor corresponde al tratamiento térmico a tres niveles (A, B, C), el segundo factor corresponde a la temperatura de almacenamiento (5, 20, 36 °C), lo que origina 9 tratamientos los cuales fueron realizados en duplicado. Se realizó un análisis de varianza simple y de varianza multifactorial y cuando se detectó diferencias entre ellas se utilizó el test de comparación múltiple (Test de Tuckey).

Para el análisis de evaluación sensorial se utilizó el programa STATISTICA 6.0 y para los demás análisis se utilizó el programa STATGRAPHICS PLUS 5.1.

**3.2.5 Descripción Línea de Flujo para la elaboración de Cola de Mono.** El proceso de elaboración del producto elaborado se puede observar en la FIGURA 1 y el detalle de cada etapa es desarrollado a continuación.

- **Recepción.** La leche es recibida y almacenada en estanques refrigerados para ser utilizada.
- **Estandarización.** Se utiliza la descremadora la cual normalizó la cantidad de grasa y sólidos presentes en la leche
- **Homogenización.** En esta etapa se produce la división de los glóbulos grasos en partículas pequeñas lo que impide la formación de nata en la superficie.
- **Estanque elaboración.** En esta etapa se agregó a la leche el café y el azúcar, para formar una mezcla base, de la cual posteriormente se toman cantidades de litros similares y son derivadas a sus distintos tratamientos según el tipo de producto que se desee elaborar.

- ❖ Tratamiento A: Se realizó en primer lugar el tratamiento térmico, a continuación fueron agregadas las especias (vainilla, canela, clavos de olor) y posteriormente en la etapa final del tratamiento térmico se adicionó el aguardiente.
  - ❖ Tratamiento B: Son agregadas en primer lugar las especias, posteriormente el aguardiente y toda la mezcla resultante es llevada a tratamiento térmico cerrado.
  - ❖ Tratamiento C: Al igual que en el tratamiento A en primer lugar se realizó el tratamiento térmico y posteriormente el agregado de especias y aguardiente.
- **Agitación.** Los estanques fueron agitados para homogenizar el producto
  - **Envasado.** Finalmente se realizó un envasado aséptico, para ello se utilizó una campana de flujo laminar bajo la cual procedió al envasado mediante el uso de una bomba peristáltica para evitar la contaminación del producto.
  - **Almacenamiento.** Las muestras fueron almacenadas a las temperaturas descritas anteriormente



**FIGURA 1. Elaboración cola de mono. Diagrama de flujo para los tres tratamientos térmicos.**

## 4. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

### 4.1 Análisis experimental preliminar

Con el objeto de evaluar en una primera instancia la viabilidad en la elaboración de este producto y poder aumentar de manera considerable su vida útil sin alterar sus características organolépticas, se realizó una serie de pruebas piloto en las cuales se buscó determinar que combinación tiempo - temperatura sería efectiva para lograr el objetivo. Teniendo en cuenta estos antecedentes es necesario acotar ciertos puntos:

La primera prueba piloto se realizó en septiembre del año 2004, en ella se elaboró el producto y se aplicaron 3 tratamientos térmicos.

A: 65 °C por 20 minutos (Pasteurización lenta)

B: 135 °C por 4-5 segundos (UHT)

C: 90 °C por 15 segundos (Pasteurización normal)

El tratamiento C corresponde al producto que históricamente ha sido elaborado y distribuido por el Centro Tecnológico de la Leche (CTL) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile.

Cada una de las muestras se almacenó en condiciones distintas, estas fueron:

- a) Cámara refrigeración (5 °C)
- b) Temperatura ambiente (18-20 °C)
- c) Cámara almacenamiento (36,5 °C)

La segunda prueba se realizó durante el mes de Enero del año 2005 y esta fue una repetición de la primera, por lo cual se conservaron los tratamientos térmicos empleados en aquella oportunidad.

Los resultados indicaron, en ambas pruebas, que el producto que mayor vida útil presentó fue el Tratamiento A (pasteurización lenta), cuya vida útil fue superior a las demás en condiciones de refrigeración, manteniendo sus características estables por un tiempo promedio de 6 meses.

En el caso del Tratamiento B (UHT) los resultados indicaron una vida útil inferior a los dos meses, esto debido principalmente a la sedimentación que comienza a producirse transcurridas 2 semanas de almacenado el producto luego de su elaboración.

El Tratamiento C (pasteurización normal) se logró conservar por un tiempo de 40 días en condiciones de refrigeración. Esta duración se corresponde con la vida útil histórica de este producto.

Teniendo presente los antecedentes antes mencionados, se planteó realizar un estudio para evaluar posibles cambios en los parámetros durante el almacenamiento de los productos.

#### **4.2 Análisis de la materia prima**

Los resultados de análisis microbiológicos, enzimáticos y químicos realizados se encuentran en los CUADROS 4, 5 y 6.

**CUADRO 4. Análisis microbiológico de materia prima.**

Microorganismos	UFC/ml	Log (UFC/ml)
mesófilos	6,55 E+3	3,81
psicrotróficos	1,3 E+4	4,11

**CUADRO 5. Análisis grado de proteólisis en la materia prima.**

Absorbancia	A 650 promedio	Microgramos tirosina/ml	Microgramos( $\mu$ g) Filtrado/ ml
	0,05	0,60	6,05

**CUADRO 6. Análisis químico de materia prima.**

Análisis químico	Promedio
pH	6,80
Acidez	14 ml NaOH 0,1N /100 ml leche
Prueba alcohol	negativa

El Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003), establece como parámetros de calidad rangos entre  $5 \times 10^5$  y  $10^6$  para leches crudas, según esto la materia prima utilizada se encuentra dentro de los parámetros de calidad permitidos. La contaminación de la materia prima con bacterias mesófilas y psicrotróficas es un factor muy importante a considerar para la elaboración de productos con base láctea, debido a que un error en los procedimientos (ordeña, aseo, manipulación, elaboración, etc.) podría producir una contaminación que ponga en riesgo la salud del consumidor, además de afectar considerablemente la vida útil del producto.

GAIMARI (1987), señala que la calidad de la materia prima influye sobre la calidad de la leche UHT durante el almacenamiento, debido a que una alta población de bacterias psicrotróficas podría generar una vida útil reducida del

producto, aún cuando las bacterias viables hayan sido destruidas con el tratamiento térmico.

Una leche de buena calidad microbiológica puede ser almacenada por 48 horas sin que se altere su características fisicoquímicas, este almacenamiento permite un incremento en la flora psicrótrfica que posteriormente incrementará la proteólisis en las caseínas de la leche, según lo señala Guinot *et al.*, citados por GUERRERO (2003).

El almacenamiento refrigerado es usualmente usado para el procesamiento de leche, sin embargo, esto permite el crecimiento de bacterias psicrótrficas que producen enzimas causantes de proteólisis según Recio *et al.*, citado por MIRALLES (2003), esto es coincidente con lo señalado por DUYVESTYEN (2001), quien señala que la vida útil de la leche pasteurizada es usualmente estimada por su carga de bacterias psicrótrficas.

Para una extensión de la vida útil de los productos lácteos es siempre conveniente evitar la contaminación con bacterias psicrótrficas, ya que puede existir suficiente cantidad de enzimas termoestables que luego producirán defectos durante el almacenamiento. Según el grado de proteólisis para la leche los resultados son coincidentes con los resultados de mediciones realizadas en análisis previos a la etapa experimental. En relación a los valores de pH para la materia prima, ALAIS (1985) señala un rango normal para la leche de 6,6 y 6,8; por su parte AMIOT (1991) indica un rango entre 6,2 y 6,8; por lo cual la leche utilizada se encontró dentro de estos rangos.

Según los antecedentes mencionados con anterioridad, para la elaboración del producto se contó con materia prima que cumplía con las exigencias de la autoridad sanitaria.

### 4.3 Análisis del producto terminado

Los resultados de los análisis realizados para el producto una vez elaborado y posteriormente almacenado se presentan a continuación.

**4.3.1 Análisis microbiológico.** El análisis microbiológico del producto se dividió en dos tipos de análisis el primero para evaluar el crecimiento de microorganismos mesófilos y el segundo para la evaluación de microorganismos psicrótróficos durante el almacenamiento. Estos análisis se realizaron para determinar la efectividad de los distintos tratamientos térmicos utilizados.

**4.3.1.1 Análisis microorganismos mesófilos.** Se realizó un análisis de varianza simple para determinar la evolución del crecimiento de microorganismos mesófilos en cada uno de los tratamientos térmicos utilizados, el análisis de varianza se encuentra en el ANEXO 9.

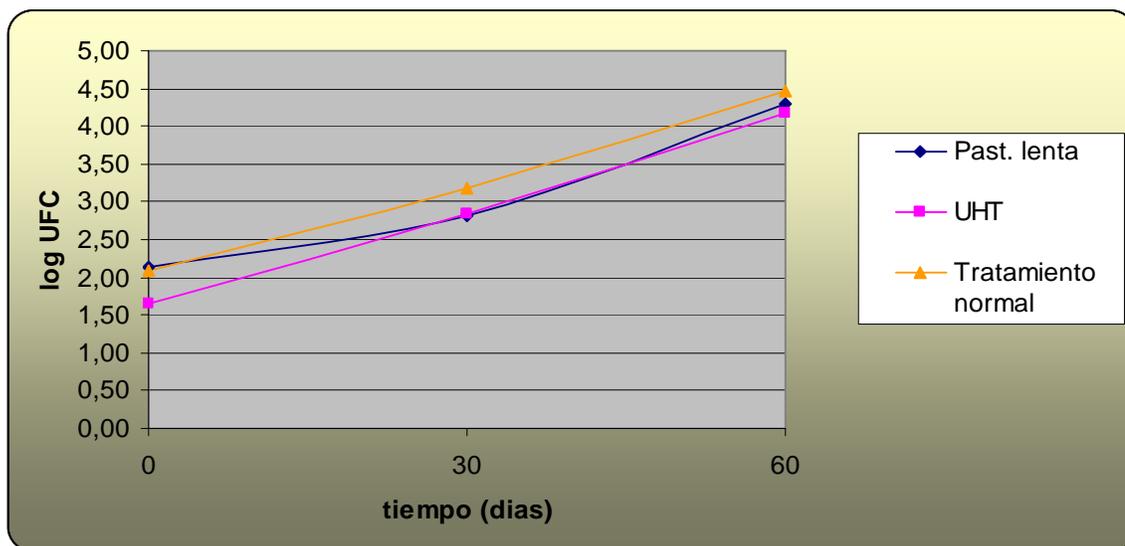
El análisis de cada tratamiento indica que para cada unos de ellos existen diferencias significativas, aumentando los recuentos a través del tiempo. Los resultados se presentan en el CUADRO 7.

**CUADRO 7. Crecimiento de microorganismos mesófilos en el tiempo en muestras almacenadas a temperatura de refrigeración (5°C).**

tiempo	Tratamiento A (Past. lenta) (log UFC/ml)	Tratamiento B (UHT) (log UFC/ml)	Tratamiento C (Past. Normal) (log UFC/ml)
0	2,13±0,03 C a	1,66±0,25 C b	2,09±0,02 C a
30	2,81±0,02 B b	2,84±0,11 B b	3,18±0,15 B a
60	4,29±0,03 A b	4,18±0,04 A c	4,46±0,08 A a

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en columnas para el parámetro estudiado.

\*\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en filas para el parámetro estudiado



**FIGURA 2. Curva de crecimiento de bacterias mesófilas en el tiempo, en muestras almacenadas a temperatura de refrigeración (5°C).**

La FIGURA 2 presenta la curva de crecimiento de bacterias mesófilas, en ella se observa que al realizar una comparación en cada tiempo (0, 30 y 60) en forma particular, existen diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el tiempo 0, donde el tratamiento B (UHT) muestra un recuento inferior a los dos restantes. En el tiempo 30, el tratamiento C (pasteurización normal) muestra un recuento mayor, esto finalmente también ocurre en el tiempo 60 donde el tratamiento C es el que presentó un mayor recuento de bacterias mesófilas (ANEXO 10).

**4.3.1.2 Análisis de microorganismos psicrotróficos.** Para la obtención de resultados del crecimiento de microorganismos psicrotróficos en el tiempo para cada tratamiento se realizó un análisis de varianza simple, el detalle de este análisis se encuentra en el ANEXO 11. Los resultados indican que aumentan los recuentos para los tratamientos A y C durante los 60 días, mientras el tratamiento B aumenta significativamente hasta el tiempo 30. Los resultados se presentan en el CUADRO 8.

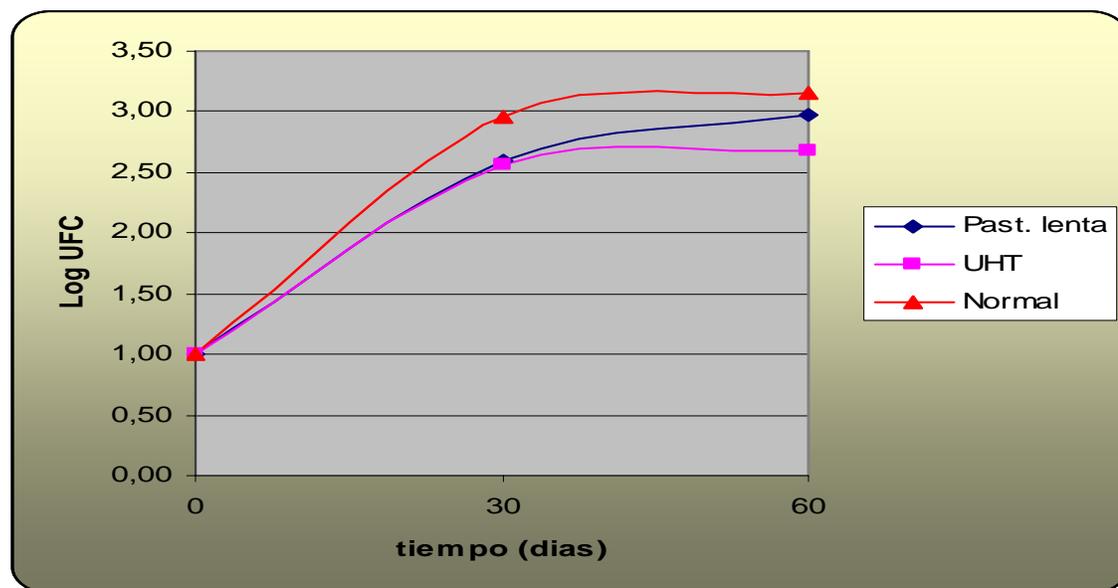
**CUADRO 8. Crecimiento microorganismo psicrotróficos en el tiempo en muestras almacenados a temperatura de refrigeración (5°C).**

tiempo	Tratamiento A (Past. Lenta) (log UFC/ml)	Tratamiento B (UHT) (log UFC/ml)	Tratamiento C (Past. Normal) (log UFC/ml)
0	1,00±0,00 C	1,00±0,00 B	1,00±0,00 C
30	2,59±0,38 B a	2,56±0,19 A a	2,96±0,03 B b
60	2,97±0,03 A b	2,71±0,09 A c	3,15±0,04 A a

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado.

\*\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en las filas para el parámetro estudiado

Observando la curva de crecimiento en la FIGURA 3, se puede determinar que el crecimiento de bacterias psicrotróficas en el día 30 es significativo en el tratamiento C (pasteurización normal), finalmente en el día 60 existen diferencias en los recuentos de los tres tratamientos térmicos empleados. En el ANEXO 12 se puede encontrar el análisis de varianza para cada tiempo en particular.



**FIGURA 3. Curva crecimiento de bacterias psicrotróficas en el tiempo en muestras almacenados a temperatura de refrigeración (5°C).**

En general de los resultados expuestos para el crecimiento de microorganismos mesófilos como para psicrótrófos, se puede establecer que la muestra que menos se ve afectada por el crecimiento bacteriano corresponde al tratamiento UHT, situación esperable debido a la alta temperatura utilizada en su tratamiento térmico, a continuación se encuentra el tratamiento de pasteurización lenta y finalmente el tratamiento de pasteurización normal, que es finalmente el que presenta un mayor crecimiento de microorganismos a través del tiempo.

Los resultados del análisis microbiológico indican que existe un aumento considerable en la población bacteriana en el tiempo tanto para mesófilos como para psicrótrófos, sin embargo, este crecimiento se encuentra dentro de los rangos permitidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003), para leches tratadas térmicamente. Específicamente éste señala que para el caso de leches pasteurizadas los recuentos deben encontrarse dentro del rango de  $10^4$  y  $5 \times 10^4$  (4 y 4,69 log UFC/ml). El máximo recuento para los productos elaborados, fue en el tratamiento C, que alcanzó un recuento de  $4,46 \pm 0,08$  log UFC/ml.

Una posible explicación al lento crecimiento bacteriano en el tiempo puede deberse a la influencia del alcohol que acompaña el producto (aguardiente), este alcohol originalmente de 50° Gay Lussac (°GL) se encuentra en el producto final entre rangos de 7 a 9 °GL, lo cual influiría inhibiendo de alguna forma el crecimiento bacteriano, además otro factor a considerar se encuentra en el prolijo proceso de elaboración, en el cual se utilizaron botellas estériles y un envasado realizado en condiciones de atmósfera estéril utilizando una bomba peristáltica y una campana de flujo laminar, de manera de reducir en forma significativa los riesgos de contaminación, los que sumados a la buena calidad microbiológica de la materia prima debieron influir los bajos recuentos del producto terminado.

**4.3.2 Análisis del grado de proteólisis.** Los resultados en la medición del grado de proteólisis muestran una conducta irregular, esto debido a que durante los primeros 20 días se observó una disminución de la proteólisis, para luego a partir del día 20 manifestar un leve aumento, no obstante no alcanzar en la mayoría de los casos, los niveles iniciales de proteólisis.

A continuación se presenta el análisis para cada uno de los tratamientos térmicos utilizados y la variación del grado de proteólisis, según el tipo de almacenamiento en el tiempo. Los resultados para el tratamiento A se observan en el CUADRO 9 en él se indica que para los tres tipos de almacenamiento existe una disminución en la proteólisis. El detalle estadístico se encuentra en el ANEXO 13.

**CUADRO 9. Evolución de la proteólisis en el tiempo para el Tratamiento A.**

<b>Tiempos</b>	<b>Ambiente 20°C</b> ( $\mu\text{g}$ tirosina/ml)	<b>Refrigerado 5°C</b> ( $\mu\text{g}$ tirosina/ml)	<b>Cámara 36,5°C</b> ( $\mu\text{g}$ tirosina/ml)
0	5,82 $\pm$ 0,17 A	5,82 $\pm$ 0,17 A	5,82 $\pm$ 0,17 A
20	2,03 $\pm$ 0,16 B	1,79 $\pm$ 0,17 B	2,80 $\pm$ 0,42 B
40	2,03 $\pm$ 0,16 B	1,56 $\pm$ 0,33 B	3,10 $\pm$ 0,50 B
60	2,32 $\pm$ 0,08 B	2,21 $\pm$ 0,42 B	3,57 $\pm$ 0,16 B

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado.

En el CUADRO 10 se muestran los resultados de proteólisis para el tratamiento B.

**CUADRO 10. Evolución de la proteólisis en el tiempo para el tratamiento B.**

<b>Tiempos</b>	<b>Ambiente 20°C</b> ( $\mu\text{g}$ tirosina/ml)	<b>Refrigerado 5°C</b> ( $\mu\text{g}$ tirosina/ml)	<b>Cámara 36,5°C</b> ( $\mu\text{g}$ tirosina/ml)
0	5,17 $\pm$ 0,59 A	5,17 $\pm$ 0,59 A	5,17 $\pm$ 0,59
20	2,50 $\pm$ 0,17 B	1,85 $\pm$ 0,25 B	4,64 $\pm$ 0,67
40	2,39 $\pm$ 0,50 B	1,97 $\pm$ 0,25 B	4,04 $\pm$ 0,66
60	2,50 $\pm$ 0,17 B	2,32 $\pm$ 0,08 B	4,52 $\pm$ 0,16

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado

En el análisis del tratamiento B se observa una disminución de la proteólisis en los tres tipos de almacenamiento, la proteólisis tiene valores menores en almacenamiento refrigerado luego de los 60 días, por otra parte, resultados encontrados para leche UHT por FLORES (1990), indica rangos de 6,2 y 8,0 (microgramos tirosina/ml) entre los días 0 y 60 respectivamente, de esta manera los resultados para el producto Cola de Mono son menores para proteólisis en comparación a la leche UHT. Los detalles estadísticos de este tratamiento se encuentran en el ANEXO 14.

**CUADRO 11. Evolución de la proteólisis en el tiempo para el tratamiento C.**

<b>Tiempos</b>	<b>Ambiente 20°C</b> (µg tirosina/ml)	<b>Refrigerado 5°C</b> (µg tirosina/ml)	<b>Cámara 36,5°C</b> (µg tirosina/ml)
0	6,77 ± 0,50 A	6,77 ± 0,50 A	6,77 ± 0,50
20	2,09 ± 0,25 BC	2,74 ± 0,50 B	6,65 ± 0,50
40	4,58 ± 0,25 B	2,56 ± 0,08 B	7,54 ± 0,42
60	5,41 ± 0,42 A	3,39 ± 0,75 B	8,19 ± 0,67

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado

Según lo expuesto en el CUADRO 11 para el tratamiento C se observan al igual que los demás tratamientos una disminución en la proteólisis, sin embargo, es posible observar un aumento de ésta en el almacenamiento en cámara, siendo la única medición de proteólisis que se encuentra por sobre su medición inicial. El análisis de varianza se encuentra en el ANEXO 15.

El análisis realizado en los tiempos: 0, 20, 40 y 60 para los distintos almacenamientos se presenta a continuación; los detalles estadísticos se encuentran en el ANEXO 16.

Es posible observar en el CUADRO 12 que durante el almacenamiento a temperatura ambiente, la proteólisis tiende a mantenerse estable en general, a excepción del tratamiento C que a partir del día 20 muestra un aumento.

**CUADRO 12. Evolución de la proteólisis en el almacenamiento a temperatura ambiente a 20°C.**

<b>Tiempos</b>	<b>A (Past. Lenta) (µg tirosina/ml)</b>	<b>B (UHT) (µg tirosina/ml)</b>	<b>C (Past. normal) (µg tirosina/ml)</b>
0	5,82 ± 0,17 b	5,17 ± 0,59 b	6,77 ± 0,50 a
20	2,03 ± 0,16 b	2,50 ± 0,17 a	2,09 ± 0,25 b
40	2,03 ± 0,16 b	2,39 ± 0,50 b	4,58 ± 0,25 a
60	2,32 ± 0,08 b	2,50 ± 0,17 b	5,41 ± 0,42 a

\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en filas para el parámetro estudiado

Según señala DATTA, (2003), la proteólisis de la leche UHT durante el almacenaje a temperatura ambiente es un factor importante que limita su vida útil a través de cambios en su sabor y textura, la proteólisis es caracterizada por aumentos en la viscosidad que conduce en algunos casos a la formación del gel.

Los resultados obtenidos en almacenamiento refrigerado presentados en el CUADRO 13, también señalan una disminución en la proteólisis. Al comparar cada tiempo, se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento C y los dos restantes.

**CUADRO 13. Evolución de la proteólisis en el almacenamiento refrigerado a 5°C.**

<b>Tiempos</b>	<b>A (Past. Lenta) (µg tirosina/ml)</b>	<b>B (UHT) (µg tirosina/ml)</b>	<b>C (Past. Normal) (µg tirosina/ml)</b>
0	5,82 ± 0,17 b	5,17 ± 0,59 b	6,77 ± 0,50 a
20	1,79 ± 0,17 b	1,85 ± 0,25 b	2,74 ± 0,50 a
40	1,56 ± 0,33 b	1,97 ± 0,25 b	2,56 ± 0,08 a
60	2,21 ± 0,42 b	2,32 ± 0,08 b	3,39 ± 0,75 a

\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en filas para el parámetro estudiado

En el CUADRO 14 se presenta la proteólisis presentada para el almacenamiento en cámara. Al igual que los resultados mostrados en los cuadros anteriores, se observa una disminución en la proteólisis, excepto en el tratamiento C donde se produce un aumento en la medición, siendo ésta superior a la medición inicial.

**CUADRO 14. Evolución de la proteólisis en el almacenamiento cámara a 36,5°C.**

<b>Tiempos</b>	<b>A (Past. Lenta) (µg tirosina/ml)</b>	<b>B (UHT) (µg tirosina/ml)</b>	<b>C Past. Normal) (µg tirosina/ml)</b>
0	5,82 ± 0,17 b	5,17 ± 0,59 b	6,77 ± 0,50 a
20	2,80 ± 0,42 c	4,64 ± 0,67b	6,65 ± 0,50 a
40	3,10 ± 0,50 b	4,04 ± 0,66 b	7,54 ± 0,42 a
60	3,57 ± 0,16 c	4,52 ± 0,16 b	8,19 ± 0,67 a

\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en filas para el parámetro estudiado

Los resultados generales para el grado de proteólisis muestran que ésta se encuentra bajo los niveles iniciales, incluso en algunos casos en niveles menores que el encontrado para la materia prima 6,05 (microgramos tirosina/ml). Estos resultados son contradictorios, debido a que la proteólisis debería aumentar a medida que pasa el tiempo, debido al mayor crecimiento de bacterias psicrótróficas que generarían un aumento en proteasas, traduciéndose en un aumento del grado de proteólisis. No obstante, en condiciones de almacenamiento a temperaturas elevadas (cámara), los resultados coinciden con autores como PICARD *et al.* (1996), quienes señalan que la temperatura de almacenamiento de la leche UHT es muy importante, ya que influye sobre la actividad proteolítica de enzimas termorresistentes de la flora psicrótrófica, señalando que a mayor temperatura de almacenamiento la actividad proteolítica resultó mayor.

Estos antecedentes son coincidentes con lo expuesto por FLORES (1990), quien indica que existen aumentos en la proteólisis de leches UHT almacenadas a 35°C con respecto a las almacenadas a 21°C. Estos resultados muestran igual tendencia que los presentados por POSTIGO (1986), quien almacenó la leche UHT a 37°C y a 2°C obteniendo mayores resultados de proteólisis en la primera.

Mottar, citado por SHAH (1994), señala que existe una relación significativa entre el recuento de bacterias psicrotrofas proteolíticas y la actividad proteasica residual. Por su parte SANTOS *et al.* (2003), señalan que el sustrato principal para la proteólisis en leche es la caseína.

A su vez resultados en leche UHT presentados por POBLETE (2000), indican que existe un aumento significativo de proteólisis a mayor tiempo de almacenamiento, alcanzando los máximos valores en el día 90.

Otros autores como MA *et al.* (2000), señalan que la proteólisis de la leche durante el almacenaje puede dar lugar a la acumulación de los péptidos pequeños que conducen al desarrollo de la amargura y astringencia.

Una explicación al resultado obtenido en la determinación de proteólisis puede deberse a la modificación que se realizó al método de HULL (1947), el cual consistió en hacer pasar el filtrado del producto por un nuevo filtro de carbón activo y lana de vidrio. Esta modificación fue realizada debido a que en los análisis pre-experimentales se comprobó que el método de HULL (1947), aplicado directamente a este producto no era eficaz, dado que el color del filtrado del producto influía directamente en las mediciones de absorbancia, produciéndose una interferencia en el paso de la luz del espectrofotómetro, no obstante se trató de subsanar con la modificación antes mencionada. Además,

es posible que al igual que en el resultado microbiológico el alcohol tenga cierta influencia en los resultados de proteólisis.

Finalmente también es posible mencionar que los resultados del tiempo 0 estén relacionadas con el hecho de que el análisis se realizó inmediatamente después de elaborado el producto, por lo cual existirían ciertos factores tales como la temperatura del producto, homogenización, color, etc. que influyen en los resultados y den lecturas erróneas.

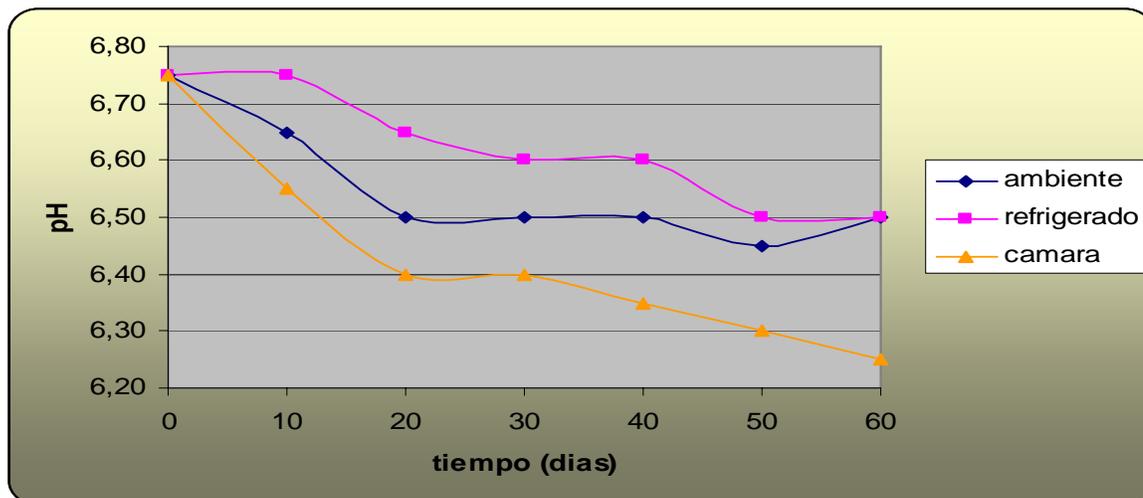
**4.3.3 Análisis de graduación alcohólica.** El resultado de los grados alcohólicos para cada uno de los tratamientos se encuentra en el CUADRO 15.

**CUADRO 15. Análisis de la graduación alcohólica.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Grados alcohólicos (G.L) teóricos</b>	<b>(G.L) reales</b>
A	7,0	7,1
B	9,0	9,0
C	7,0	6,6

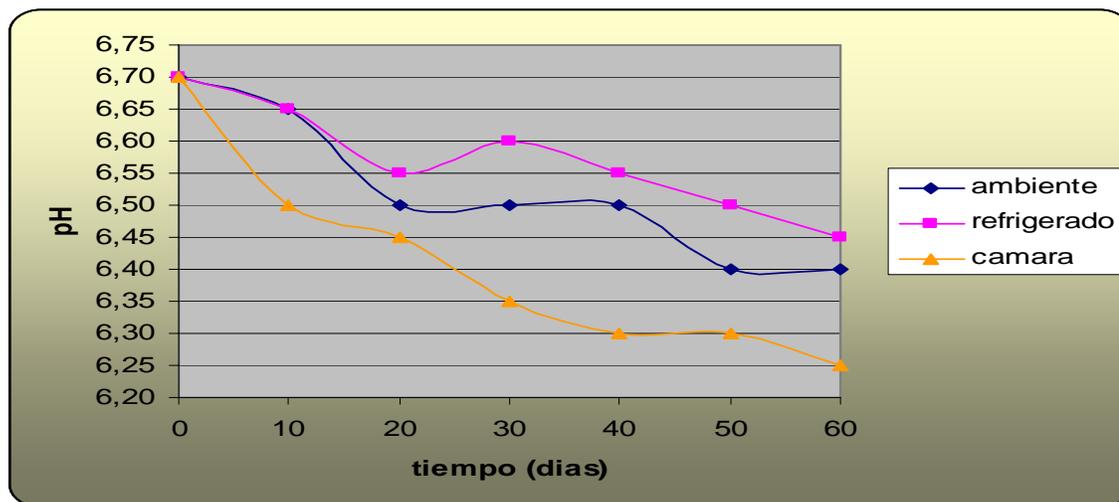
Los resultados indican que el tratamiento B es el que contiene la mayor cantidad de alcohol, esto se debe a que en la elaboración de este producto se estableció agregar una mayor cantidad de alcohol debido a una posible pérdida por volatilización del alcohol como efecto de las altas temperaturas alcanzadas, sin embargo, esto no ocurrió, conservando después del tratamiento térmico los grados alcohólicos teóricos según la formulación del producto. Donde sí existió una pérdida de alcohol fue en el tratamiento C, donde se esperaba una graduación de 7 °G.L llegando sólo a los 6,6 °G.L.

**4.3.4 Análisis de pH.** Los valores de pH, para cada uno de los tratamientos estudiados se analizaron mediante varianza simple. Los resultados obtenidos con el tratamiento A se observan en la FIGURA 4.



**FIGURA 4. Evolución del pH para tratamiento A en el tiempo.**

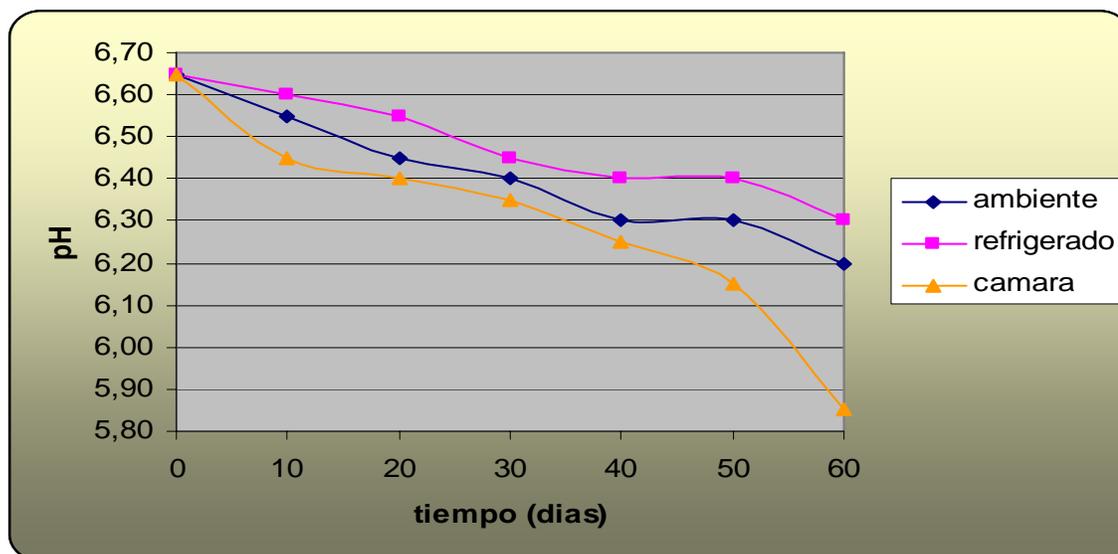
El tratamiento A muestra una disminución del pH durante el almacenamiento, resultando más evidente durante el almacenamiento en cámara (ANEXO 17). También se observó que el pH disminuye en menor medida en el almacenamiento refrigerado.



**FIGURA 5. Evolución del pH para tratamiento B en el tiempo.**

El análisis de la FIGURA 5 para el tratamiento B (ANEXO 18), muestra una disminución del pH en los tres almacenamientos, llegando a un pH más bajo en

el almacenamiento en cámara, mientras en almacenamiento ambiente el pH llega luego de 60 días a  $6,40 \pm 0,00$  y refrigerado a  $6,45 \pm 0,07$ .



**FIGURA 6. Evolución del pH para tratamiento C en el tiempo.**

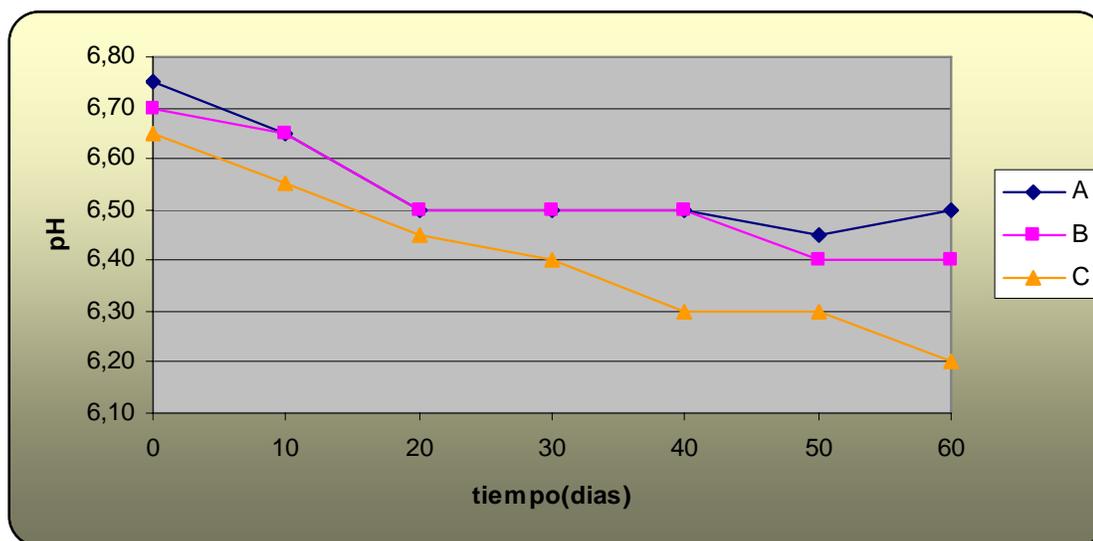
En la FIGURA 6 se observa la variación del pH para el tratamiento C, al igual que los anteriores, existe una disminución de éste parámetro desde los primeros días. Es en éste tratamiento donde se producen las mayores bajas en el pH del producto, alcanzando en el almacenamiento en cámara un pH de  $5,85 \pm 0,07$  en el día 60. El análisis de varianza correspondiente se encuentra en el ANEXO 19.

De los resultados anteriores se desprende que el almacenamiento en cámara es el que contribuye a una disminución más rápida del pH. Por su parte, el almacenamiento en refrigeración la disminución es más lenta.

Otra forma de analizar estos resultados es mediante los cuadros que se presentan a continuación y sus detalles que se encuentran en los ANEXOS 20,

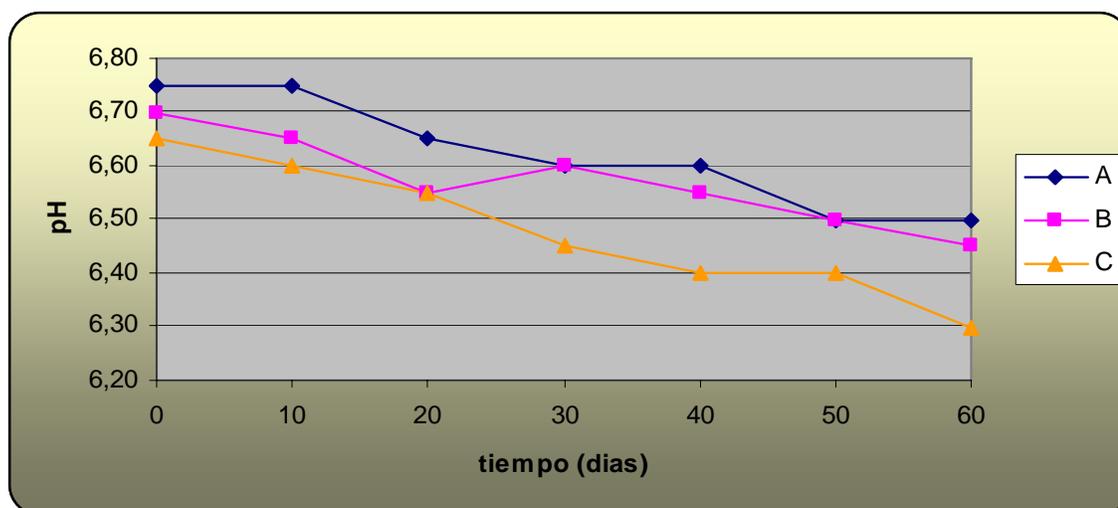
21 y 22. En ellos queda demostrado como el tratamiento C presenta los valores de pH más bajos para las tres condiciones de almacenaje.

En la FIGURA 7 se puede observar que el pH disminuye en mayor medida en el tratamiento C ( $6,20 \pm 0,00$ ), y existe una menor disminución en los tratamientos A y B, para el almacenamiento a temperatura ambiente.



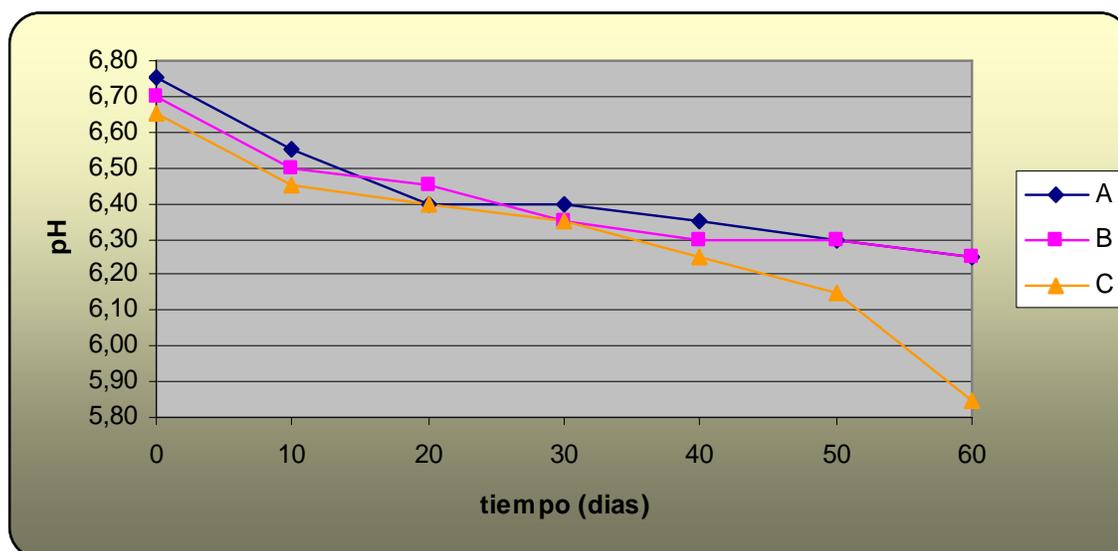
**FIGURA 7. Evolución del pH en almacenamiento a temperatura ambiente a 20°C.**

La FIGURA 8 muestra que durante el almacenaje refrigerado es cuando el pH disminuye más lentamente, resultando la medición más baja  $6,30 \pm 0,00$  para el tratamiento C, luego de 60 días. Los tratamientos A y B no muestran diferencias significativas en el tiempo 60.



**FIGURA 8. Evolución del pH en almacenamiento refrigerado a 5°C.**

Finalmente en la FIGURA 9, se aprecia que durante el almacenamiento en cámara se registran las mayores bajas de pH, esto ocurre con las muestras correspondientes al tratamiento C que registra un pH de  $5,85 \pm 0,07$  luego de los 60 días de almacenamiento.



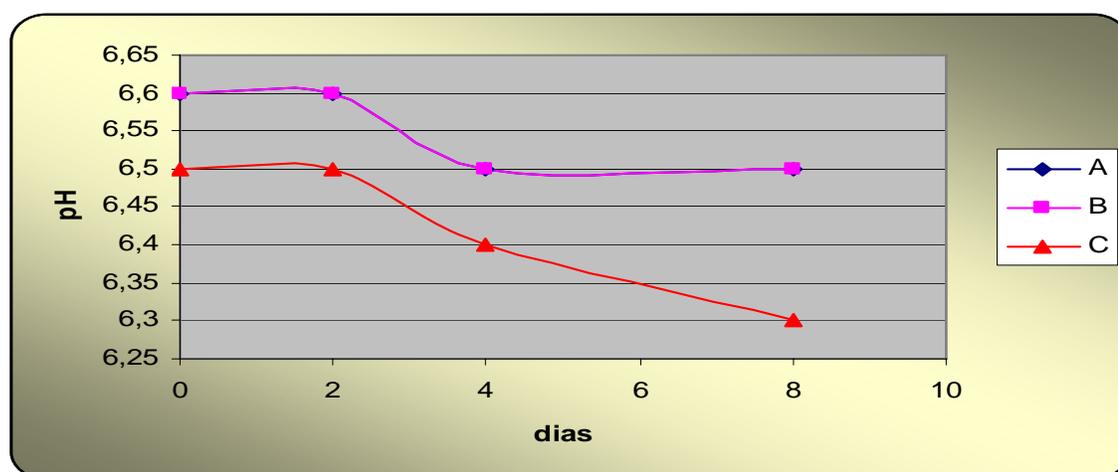
**FIGURA 9. Evolución del pH en almacenamiento en cámara a 36,5°C.**

Los resultados anteriores coinciden con los encontrados por FLORES (1990), para leche UHT, que también encontró considerables disminuciones del pH, a medida que las temperaturas de almacenamiento de leches UHT se elevaban.

Por su parte VENKATACHALAM *et al.* (1993), también observaron una disminución gradual del pH en el almacenamiento y lo atribuyeron a la liberación de protones debido a la precipitación del fosfato de calcio durante el almacenamiento.

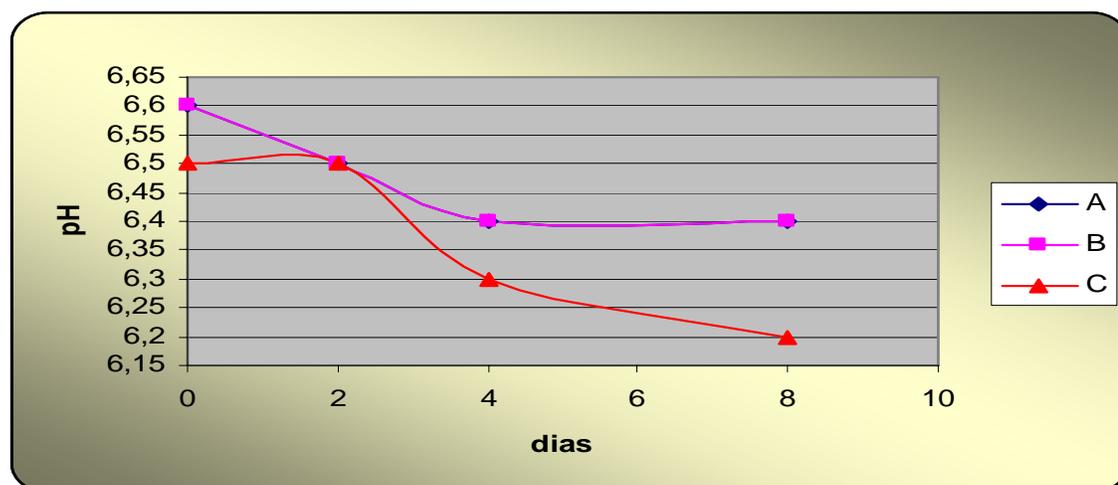
POBLETE (2000), indica que mientras más drástico es el tratamiento térmico, mayor es el decrecimiento del pH, debido a mayores alteraciones en el equilibrio salino y a progresivas reacciones durante el almacenamiento, como la reacción de Maillard.

Otra evaluación relacionada con el pH, consistió en verificar qué ocurre con este parámetro una vez que el producto es abierto. Se midió su disminución en el tiempo, las FIGURAS 10 y 11 muestran lo ocurrido para los tres tratamientos en condiciones de almacenamiento refrigeradas y a temperatura ambiente respectivamente.



**FIGURA 10. Evolución del pH para el producto abierto almacenado en refrigeración.**

En la FIGURA 10 se puede observar que para los tratamientos A y B no existen diferencias en la disminución del pH, por el contrario, quien disminuye en forma más rápida, transcurridos 8 días, es la muestra del tratamiento C.



**FIGURA 11. Evolución del pH para el producto abierto almacenado a temperatura ambiente.**

En el caso del almacenamiento a temperatura ambiente, presentado en la FIGURA 11, tampoco se observan diferencias entre las muestras A y B, y al igual que el almacenamiento refrigerado el tratamiento C es quien disminuye más abruptamente su pH, alcanzado valores de  $6,2 \pm 0,15$ ; a los 8 días de abierto el producto.

Los resultados anteriores indican que el pH disminuye en los tres tratamientos a medida que pasa el tiempo, siendo el tratamiento C el que mostró la baja más considerable, especialmente en el almacenamiento en cámara. Por su parte los tratamientos A y B disminuyen también sus pH transcurridos los 60 días del estudio, pero no lo hacen de forma tan apreciable como ocurre con el tratamiento C. Es importante destacar que en el almacenamiento refrigerado el pH disminuye menos en los tres tratamientos, lo que indica que es un buen

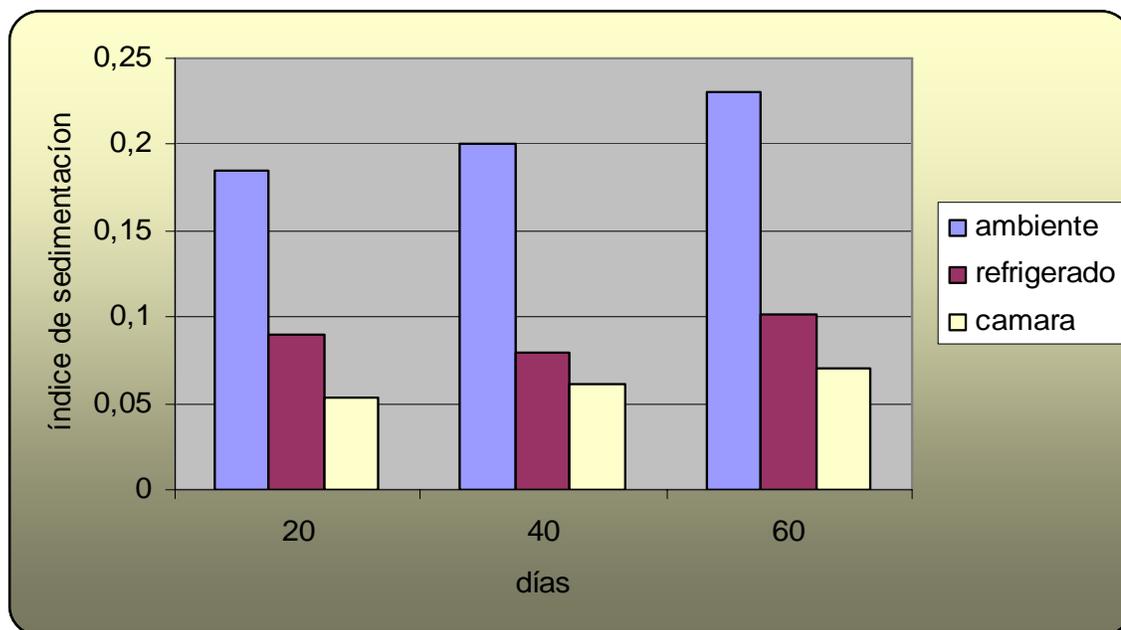
método de conservación especialmente si se considera que el producto abierto también disminuye lentamente su pH llegando a 6,5 luego de 8 días abierto y conservado en refrigeración.

La disminución del pH debería estar relacionada con el aumento de bacterias presentes en el producto a través del tiempo, debido a un número importante de bacterias en la materia prima según lo observado por Zadow citado por POBLETE (2000), quien señala que existe un decrecimiento en el pH de la leche de 0,3 a 0,5 unidades debido a contaminación bacteriana previo al tratamiento UHT y a las condiciones de almacenamiento. Esto confirma que el tratamiento A es el que mejor proyecciones de vida útil tiene debido a su leve disminución de pH y a la menor carga bacteriana que posee. Por el contrario, el tratamiento C, es el que muestra una baja más considerable del pH y una mayor carga bacteriana.

A pesar de la disminución de pH que experimentaron las muestras correspondientes a los tres tratamientos estudiados, es importante señalar que las bajas de pH no fueron tan significativas como para influir en la aceptación del producto, como se comprueba mediante los resultados de evaluación sensorial, en que las muestras evaluadas al día 60 no fueron rechazadas.

**4.3.5 Análisis del Índice de sedimentación (IS).** Debido a que en las pruebas preliminares de este estudio se detectó precipitación o sedimento en algunas muestras, se consideró necesario estudiar las muestras que precipitan y bajo qué condiciones. Realizadas las pruebas se pudo concluir que solamente el tratamiento B (UHT) fue el que mostró una sedimentación a través del tiempo. Las muestras correspondientes a los tratamientos de pasteurización lenta (A) y de pasterización normal (C) no mostraron indicios de precipitación, de esta manera la muestra B fue sometida a un análisis de sedimentación bajo distintas

condiciones de almacenamiento y sus resultados pueden observarse en la FIGURA 12.



**FIGURA 12. Evolución del índice de sedimentación tratamiento B en el tiempo.**

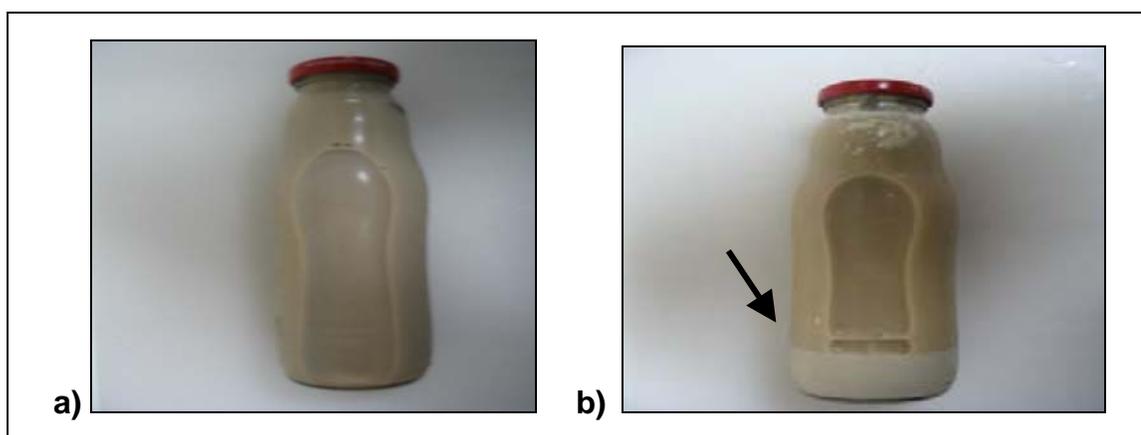
De lo observado en esta figura, es posible concluir, que la mayor precipitación ocurre en la muestra almacenada a temperatura ambiente y donde menos se observa este precipitado es en cámara a 36,5°C; aunque en cada unos de los almacenamientos el sedimento va aumentando a medida que transcurren los días.

En el ANEXO 23 se encuentra el análisis de varianza para la prueba de índice de sedimentación, este indica que se observan diferencias estadísticamente significativas para el tipo de almacenamiento ( $P \leq 0,05$ ) y para los tiempos de almacenamiento, no existiendo estas diferencias para las interacciones, mostrando además que a partir del día 40 el índice de sedimentación aumenta en forma significativa.

La sedimentación experimentada por el tratamiento B en el tiempo influyó directamente en la evaluación sensorial, debido a esto sólo fue posible incluirla en el análisis sensorial hasta la segunda evaluación (día 30).

Los altos índices de sedimentación del tratamiento B podrían explicarse debido a las elevadas temperaturas que se utilizan en su elaboración, lo cual debe generar una pérdida en la estructura de las proteínas del suero, favoreciendo su desestabilización y la consiguiente sedimentación. Por su parte HOLLAR *et al.* (1995), señalan que la denaturación de las proteínas del suero comienza con una hinchazón inicial de la estructura proteica al ser expuesta al calor, mientras la intensidad del tratamiento térmico se incrementa, las proteínas se desdobl原因 formando agregados y sedimentando posteriormente.

Un ejemplo de la sedimentación presentada en la muestra B se puede observar en la FIGURA 13.



**FIGURA 13. Muestras del tratamiento B: normal (a) y sedimentada (b)**

#### **4.3.6 Análisis evaluación sensorial**

Los resultados del análisis de evaluación sensorial para los atributos en los tres tiempos estudiados se presentan en el CUADRO 16.

**CUADRO 16. Resumen de los promedios para la evaluación sensorial.**

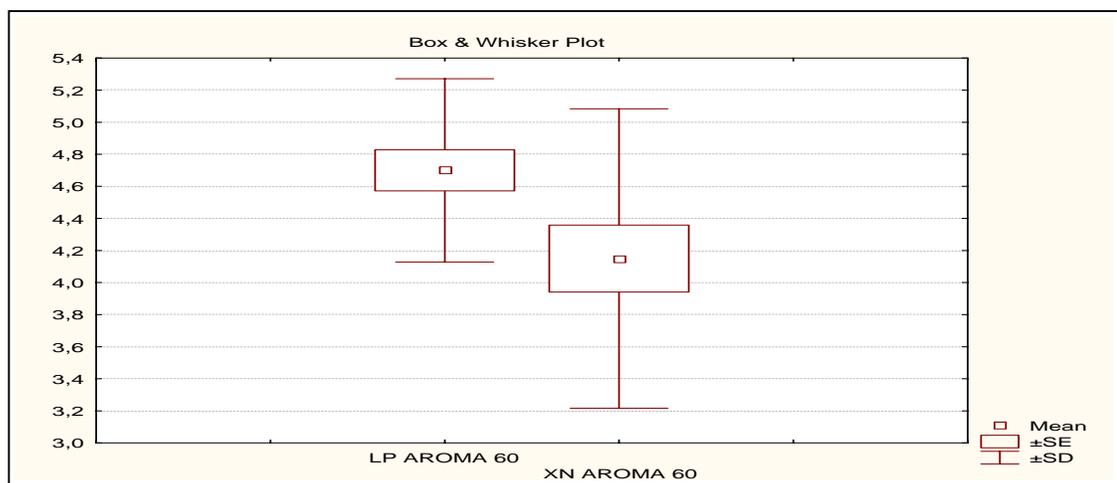
Atributo	Tiempo	Muestras (tratamientos)		
		A (Past. Lenta)	B (UHT)	C (Past. Normal)
<b>Color</b>				
	<b>0</b>	4,0	4,0	4,2
	<b>30</b>	4,1	3,8	3,9
	<b>60</b>	3,5	**	3,0
<b>Aroma</b>				
	<b>0</b>	3,9	3,6	4,0
	<b>30</b>	3,8	4,0	4,2
	<b>60</b>	4,7	**	4,2
<b>Sabor</b>				
	<b>0</b>	3,0	3,2	3,2
	<b>30</b>	3,3	3,5	3,4
	<b>60</b>	3,3	**	3,1
<b>General</b>				
	<b>0</b>	5,8	5,0	5,7
	<b>30</b>	5,6	3,9	5,5
	<b>60</b>	6,0	**	4,9

\*\*Las muestras correspondientes al tratamiento B solo pudieron ser evaluadas hasta el tiempo 30 debido al alto grado de sedimentación que presentaron, por lo cual no fueron evaluadas por los jueces.

**4.3.6.1 Evaluación del atributo color.** El resultado para color en cada tiempo indica que no se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos para los días 0, 30 y 60. Los tres tratamientos presentan una disminución del atributo en el tiempo, especialmente el tratamiento C, que obtuvo un valor menor otorgado por los jueces a los 60 días, quedando en la calificación de “muy inadecuado”.

**4.3.6.2 Evaluación del atributo aroma.** En la evaluación de aroma, no se encuentran diferencias entre los tratamientos hasta el día 30. Para sí encontrar diferencias significativas entre los tratamientos al día 60. En este análisis se

observó diferencias entre los tratamientos A y C, obteniendo un mayor puntaje el tratamiento A, calificado entre los rangos “adecuado” y “demasiado intenso”; la FIGURA 14 presenta de mejor forma la diferencia encontrada entre ambas muestras en el día 60 de almacenamiento.

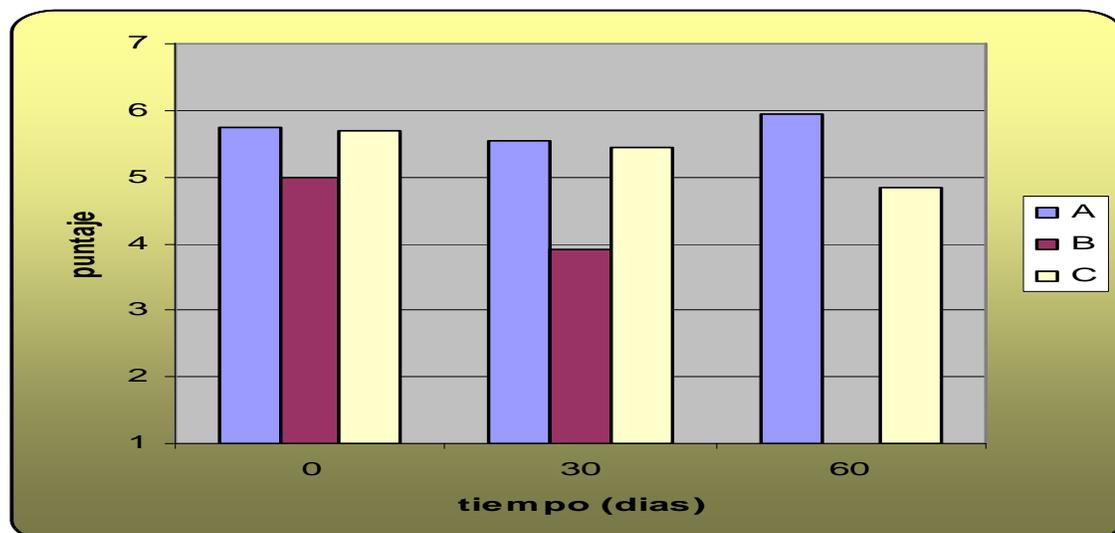


**FIGURA 14. Grafica tipo Box y Whisker para atributo aroma.**

**4.3.6.3 Evaluación del atributo sabor.** La evaluación del atributo sabor característico indica que los jueces no encuentran diferencias significativas entre los tratamientos para este atributo. En cada uno de los tiempos, sin embargo, se observa una tendencia a disminuir el sabor para el tratamiento C y a un leve aumento y estabilización del tratamiento A en un rango calificado como un sabor “adecuado”.

**4.3.6.4 Evaluación de la apreciación general.** La apreciación general (jueces hombres y mujeres) indica diferencias significativas en los días 30 y 60 (ANEXO 24), en este análisis se aprecia en el día 30 un mayor puntaje promedio de 5,6 calificado entre “más que regular” y “bueno” para la tratamiento A y uno menor de 3,9 calificado como “regular” para el tratamiento B. Por su parte al día 60, el análisis estadístico arroja nuevamente que el tratamiento A fue el mejor

evaluado, con un puntaje de 6,0 “bueno” contra un 4,9 de C, calificado entre “regular” y “mas que regular”.



**FIGURA 15. Grafico de la apreciación general en el tiempo para cada tratamiento.**

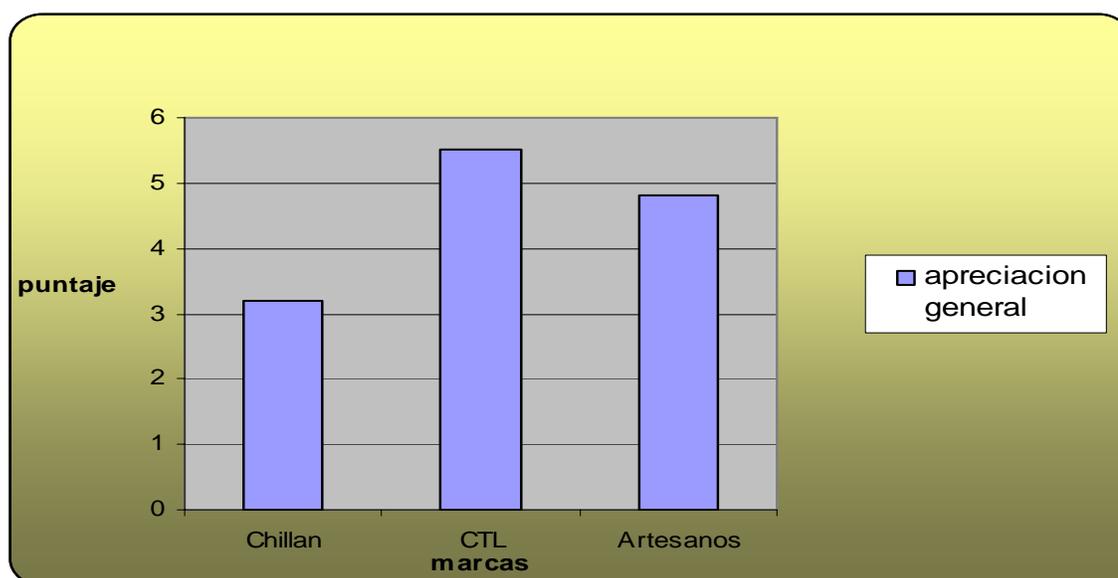
En la FIGURA 15 se observa el puntaje entregado de los jueces a través del tiempo en la evaluación de la apreciación general, mostrando una tendencia a la disminución del puntaje, tanto para el tratamiento B como para el C, observándose un leve aumento en el puntaje otorgado al tratamiento A para el día 60.

El análisis sensorial realizado a las muestras almacenadas en cámara transcurridos los 60 días, indicaron que el tratamiento A presentó un sabor aceptable, el B un sabor levemente amargo y finalmente el C un sabor caramelizado. No obstante, es importante destacar, que las tres muestras mantuvieron las características organolépticas propias del producto.

**4.3.6.5 Evaluación de la apreciación general contra productos del mercado.** Debido a que las muestras correspondientes al tratamiento A fueron las mejores evaluadas por los jueces, éstas fueron sometidas a una evaluación

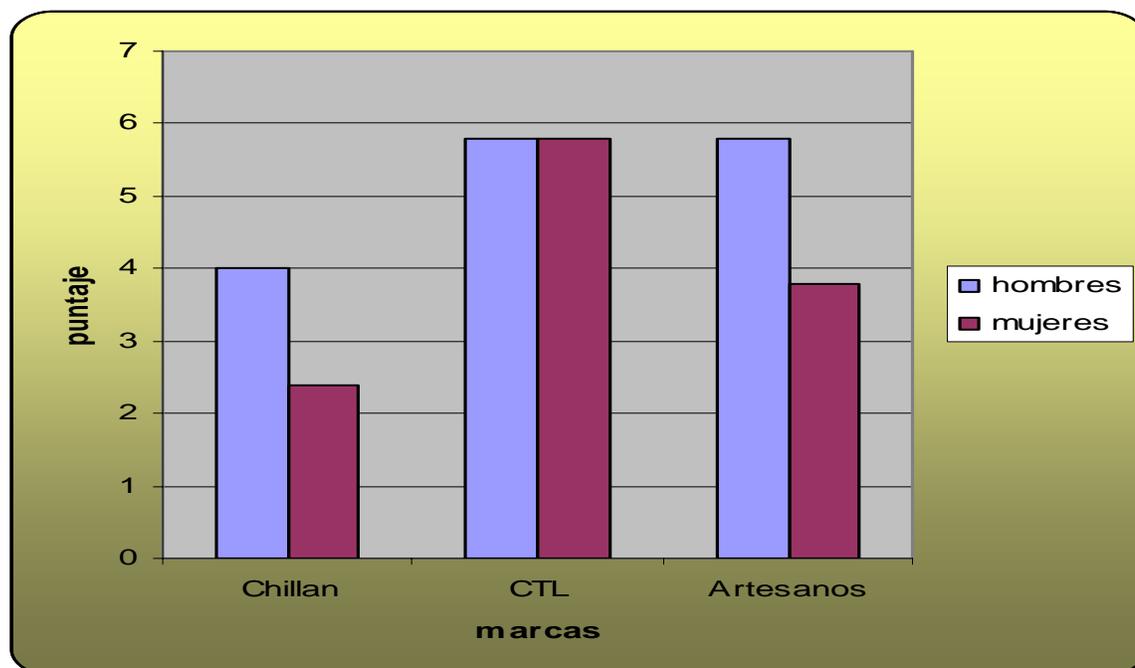
de apreciación general para poder compararlas con productos encontrados habitualmente en el mercado.

Los resultados indican que la marca CTL fue con un 40% la de mayor aceptación, obteniendo un puntaje de 5,5; entre “mas que regular” y “bueno”. La segunda marca con mejor puntaje fue Artesanos (36%) con un puntaje de 4,8 entre “ más que regular” y “regular” y finalmente la marca con más bajo puntaje fue Chillán (24%) con un puntaje de 3,2 en el rango de “menos que regular”. Estos resultados pueden apreciarse en la FIGURA 16.



**FIGURA 16. Apreciación general para productos del mercado.**

En las preferencias por separado, los hombres prefieren en forma igual las marcas CTL y Artesanos (37%), con un puntaje de 5,8 (“bueno”) y en menor medida la marca Chillán con un 26% y un puntaje de 4 (“regular”), según se observa en la FIGURA 17.



**FIGURA 17. Apreciación general de hombres y mujeres para productos del mercado.**

Por su parte las mujeres optan en mayor porcentaje por la marca CTL (48%) y un puntaje similar al de los hombres 5,8 (“bueno”), en segundo lugar muestra preferencia por la marca Artesanos (32%) con un puntaje de 3,8 (“regular”) y finalmente en último lugar por la marca Chillán (20%).

El análisis de evaluación sensorial indica que la mejor muestra evaluada, en cuanto a la medición de sus atributos en forma particular como en la apreciación general, correspondió al tratamiento A. Además, al compararla con las muestras presentes en el mercado, también fue evaluada por los jueces como la mejor, quedando en segundo lugar el tratamiento C, el cual empieza a perder sus atributos sensoriales a partir del día 30 y por último se ubica el tratamiento B, que fue evaluado por los jueces con el menor puntaje, debido a los niveles de sedimentación presentados.

La sedimentación del tratamiento B impidió su evaluación hasta el término del experimento, debido a que fue rechazada por los jueces. Esto coincide con lo que indica MA *et al.* (2000), para el caso de leche fluida. Este autor señala que la aceptación del consumidor de leche fluida es determinada fuertemente por sus características sensoriales, tales como sabor, apariencia así como también por su valor alimenticio. El desarrollo de malos gustos en leche como resultado de la lipólisis y de proteólisis puede reducir la vida útil y la calidad de la leche fluida pasteurizada. Esto coincide por lo señalado por SANTOS *et al.* (2003), quienes indican que los malos gustos o sabores en leches procesadas son producto de lipólisis y proteólisis.

Finalmente POTINENI *et al.* (2005), indican que la degradación del sabor en los productos lácteos se ha ligado previamente a las reacciones enzimáticas de degradación.

## 5. CONCLUSIONES

- Es posible elaborar Cola de Mono tradicional de larga vida sin el agregado de componentes artificiales.
- El tratamiento térmico más efectivo correspondió al de pasteurización lenta, el cual preservó las características sensoriales y mantuvo los recuentos microbiológicos dentro de las normas sanitarias en las diferentes condiciones de almacenamiento.
- El tratamiento térmico UHT extendió la vida útil del producto, pero aumentó el índice de sedimentación durante el almacenamiento.
- Los productos cumplieron con las normas de seguridad establecidas en el Reglamento Sanitario de los Alimentos, cuando se aplicó especialmente el tratamiento UHT y el de pasteurización lenta.
- Los resultados de graduación alcohólica, pH, índice de se mantuvieron dentro de los parámetros esperados.
- La proteólisis, en la mayoría de los casos, no mostró una tendencia normal.
- El almacenamiento bajo condiciones de refrigeración resultó ser el más efectivo para este tipo de producto, los cambios físico-químicos, microbiológicos y sensoriales fueron mínimos para los diferentes tratamientos térmicos.

- La pasteurización lenta combinada con un almacenamiento refrigerado prolonga la vida útil del producto en un mínimo promedio de 4 meses.
- La evaluación sensorial del producto indicó que el tratamiento de pasteurización lenta fue el mejor evaluado.

## 6. RESUMEN

El mercado de los licores se ha diversificado durante los últimos años en el país debido al cambio en el comportamiento de los consumidores; de esta manera se han incrementado las importaciones y las industrias elaboradoras de bebidas alcohólicas han tenido que introducir nuevos productos para satisfacer la demanda. Dentro de este nuevo marco en el comercio nacional e internacional es que se decide realizar un estudio de prefactibilidad técnica para la elaboración del tradicional producto Cola de Mono cuya vida útil supere por lo menos el doble de lo habitual con el fin de poder ser, eventualmente, comercializado fuera de la región. De esta manera se procedió a realizar el estudio comparando tres tratamientos térmicos distintos (pasteurización lenta, UHT y pasteurización normal) bajo tres condiciones de almacenamiento también distintas (20°C, 5°C y 36.5°C) y evaluar como influían éstos en ciertos parámetros físico-químicos y microbiológicos en el producto; los parámetros estudiados fueron pH, graduación alcohólica, grado de proteólisis, índice de sedimentación, recuentos de bacterias psicrotrofas y mesófilas, también se realizó un análisis sensorial en distintas etapas del estudio que tuvo una duración total de 60 días. Los resultados indican que el tratamiento de pasteurización lenta fue el que mejor cumple con los requerimientos exigidos de seguridad y de características sensoriales, obteniéndose una vida útil de 2 meses sin preservantes ni componentes artificiales, siendo el método de conservación más efectivo, la refrigeración. Por otro lado, el tratamiento UHT presentó una evidente sedimentación al transcurrir un par de semanas de elaborado el producto, en el tratamiento de pasteurización normal se determinó una vida útil menor y menores puntuaciones en la evaluación sensorial. De esta manera se establece que es posible la elaboración de este producto con una vida útil aceptable y de esta manera es factible abrir un nuevo mercado para este tradicional producto chileno.

## SUMMARY

In Chile the liquors market has been diversified during the last years due to changes in the consumers behavior. Therefore the products imports have been increased and the industries of beverages have had to introduce new products to satisfy the demand. Within this new frame in the domestic and international trade a study has been made to determine the conditions to increase the lifetime of the traditional Chilean product Cola de Mono in order to commercialize it along all the country. That study compared three different heat treatments (low temperature, UHT and normal pasteurization) under three also different storage conditions (20°C, 5°C and 36.5°C) to evaluate its effects on certain microbiological and physical-chemistries parameters in the product; the studied parameters were pH, alcoholic graduation, proteolysis degree, sedimentation index, psicotrophics and mesophilics bacteria counts. Also a sensorial analysis was made in different stages of the storage which lasted 60 days. The results indicate that the low temperature treatment was the one that better fulfills the demanded requirements of security and sensorial characteristics, obtaining a lifetime of 2 months, without artificial component nor preserver. The best storage condition was the refrigeration. On the other hand the UHT treatment presents an evident sedimentation after a couple weeks of the product storage. In the treatment of normal pasteurization a smaller lifetime and a smaller score in the sensorial evaluation were found. Thus, it is possible to elaborate Cola de Mono with an acceptable lifetime and this way does is possible to open a new market for this traditional Chilean product.

## BIBLIOGRAFIA

AMIOT, J. 1991. Ciencia y Tecnología de la leche. Editorial Zaragoza. España. 547 p.

ALAIS, CH. 1985. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. 2º edición. Ed. Reverté. Barcelona. España. 873p.

BADUI, S. 1999. Química de los Alimentos. Ed. Pearson. Mexico. 648 p.

BURTON, H. 1981. Sistemas de procesamiento UHT para leche y productos lácteos. In: Federation Internationale de Laitiere. Bulletin la leche UHT. Document N° 133: 76 - 89.

CAMPBELL y PLATT, G. 1989. Shelf life –who needs it? Food Science and Technology Today. 3(4): 244 - 246.

CANO-RUIZ, M. y RICHTER, R. 1998. Changes in Physicochemical Properties of Retort-Sterilized Dairy Beverages During Storage. Journal of Dairy Science. 81: 2116 – 2123.

CASP, A. y ABRIL, J. 1999. Procesos de Conservación de Alimentos. Ediciones Mundi prensa. Coedición. España. 493p.

CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, INN. 1979. Leche y productos lácteos - Determinación del pH. NCh1671.Of 1979.

CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA. 1986. Ley 18.455 que fija normas sobre producción, elaboración y comercialización de alcoholes etílicos, bebidas alcohólicas y vinagres. 22p.

CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, INN. 1998. Determinación de Acidez titulable en leche cruda. NCh1738.Of 1998.

CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, INN. 1998. Leche cruda, Ensayo de termoestabilidad - Prueba de alcohol. NCh1744.Of 1998.

CHILE, MINISTERIO DE SALUD. 2003. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Diario oficial de la República de Chile. Diciembre 2003. 184 p.

CELESTINO, E., IYER, M y ROGINSKI, H. 1996. The effects of refrigerated storage on the quality of raw milk. The Australian Journal of Dairy Technology 51(2): 59-63.

COX, J. 1993. The significance of psychrotrophic pseudomonads in dairy products. The Australian Journal of Dairy Technology 47(3): 108-113.

DATTA, N., DEETH, H. 2003. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie. 36(2): 173-182.

DEHARVENG, G y NIELSEN, S. 1991. Partial purification and characterization of native plasminogen activators from bovine milk. Journal of Dairy Science 74 (7): 2060-2072.

- DUYVESTREYN,W., SHIMONI,E. y LABUZA,T. 2002. Determination of the end shelf life for milk using Weibull Hazard Method. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*. 34(3): 143-148.
- FLORES, O. 1990. Efecto del tratamiento térmico y condiciones de almacenamiento sobre la estabilidad de la leche UHT. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 63p.
- GAIMARI, S. 1987. Efecto de la calidad higiénica de la leche y del tratamiento térmico sobre la actividad proteásica residual en leches UHT. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia, Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 136p.
- GEMINES. 2002. Bebidas alcohólicas: Recomposición de la canasta en el mediano plazo. Consultora GEMINES. Chile. 232p.
- GUAMIS, B., HUERTA, T. y GARAY, E. 1987. Heat inactivation of bacterial proteases in milk before UHT treatment. *Milchwissenschaft* 42(10): 651-653.
- GUERRERO, L., ROMAN, S. y PACHECO, L. 2003. Proteolysis during cold storage of refrigerated raw milk. Effect of proteolytic Enzymes on casein integrity. *FCV-LUZ*, 13(3): 187-192
- HOLLAR, C. y PARRIS, N. 1995. Factors Affecting the Denaturation and Aggregation of Whey Proteins in Heated Whey Protein Concentrate Mixtures. *Journal of Dairy Science*. 78(2): 260-267.

HOUGHTBY, G., MATURIN, L., KOENING, E. y MESSER, J. 1992. Chapter 6. Microbiological counts methods. In Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 16<sup>o</sup> Edition. Robert T. Marshall, Editor. American Public Health Association. 213-214pp.

HULL, M.E. 1947. Studies on milk protein.II. Colorimetric determination of partial hydrolysis of the protein in milk . Journal of Dairy Science. 30 (11): 881-884.

JAYARAO, A., WANG, L. 1999. A study on prevalence of gram-negative bacteria in bulk tank milk. Journal of Dairy Science 82(12): 2620-2624.

KOCAK, H. R. y ZADOW, J.G. 1985. The effect of low temperatura inactivation treatment on age gelation of UHT whole milk. The Australian Journal of Dairy Technology 40(2): 53-58.

LABUZA, T. 1982. Shelf life dating of foods. Food & Nutrition Press, Westport, CT. USA.

LARMOND, E. 1977. Métodos de laboratorio para evaluación sensorial de alimentos. Food Research Institute. Canadá. Departament of Agriculture. 80p.

LEMBKE, A. 1974. Aspectos bacteriológicos de leche esterilizada. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias.5p.

MA, Y., RYAN, C., BARBANO, M., GALTON, M., RUDAN, M. y BOOR, K. 2000. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Science*. 83 (2): 264-274.

MAN, D. y JONES, A. 2000. Shelf life evaluation of foods. An Aspen Publications. 288 p.

McKELLAR, R. 1981. Development of off-flavors in ultra-high temperature and pasteurized milk as a function of proteolysis. *Journal of Dairy Science* 64(11): 2138-2145.

METHA, R. y BASSETTE, R. 1978. Organoleptic, chemical and microbiological changes in ultra high temperature sterilized milk stored at room temperature. *Journal of Food Protection* 41(10): 806-810.

MIRALLES, M. y AMIGO, L. 2003. Influence of Proteolysis of Milk on the Whey Protein to Total Protein Ratio as Determined by Capillary Electrophoresis. *Journal of Dairy Science* 86: 2813-2817.

MITCHELL, S. y MARSHALL, R. 1989. Properties of heat-stable proteases of *Pseudomonas fluorescens*: Characterization and hydrolysis of milk proteins. *Journal of Dairy Science* 72 (4): 864-874.

MONJE, M. 2003. Elaboración y conservación de pasta de ajo blandino. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia, Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 69 p.

- O'CONNELL J. E. y FOX P. F. 2000. The Two-Stage Coagulation of Milk Proteins in the Minimum of the Heat Coagulation Time-pH Profile of Milk: Effect of Casein Micelle Size. *Journal of Dairy Science*. 83 (3): 378–386.
- OLANO, A. y MARTINEZ CASTRO, I. 1989. Modifications e interactions of lactose. In: *Federation Internationale de Laitiere. Heat induced changes in milk. Document N°238: 35-44.*
- PEÑA, C. 1995. Efectos de tratamientos térmicos UHT sobre las características físico químicas y organolépticas de la leche. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia, Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 69 p.
- PICARD, C., PLARD, I. y COLLIN. J. 1996. Applications of the inhibition ELISA method to the study of proteolysis caused by heat-resistant *Pseudomonas* proteinases specific towards k-casin in heated milk. *Milchwissenschaft* 51(8): 438-442.
- POBLETE, A. 2000. Tratamientos térmicos UHT en leche. Efecto del almacenamiento a dos temperaturas en la actividad proteasica, grado de proteolisis, color y HMF. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia, Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 122p.
- POSTIGO, R. 1986. Efecto de la actividad de proteasas sobre la estabilidad de las leches UHT durante su almacenamiento. Tesis Magíster Ciencia y Tecnología de la leche. Valdivia, Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 163 p.
- POTINENI, R. y PETERSON, D. 2005. Influence of Thermal Processing Conditions on Flavor Stability in Fluid Milk: Benzaldehyde. *Journal of Dairy Science*. 88 (1): 1-6.

POTTER, N. y HOTCHKISS, J. 1999. Ciencia de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. 667p.

RENNER, E. y SCHMIDT, C. 1981. Aspectos químicos y físicos químicos. In: Federation Internationale de Laitiere. Heat induced changes in milk. Document N°13: 44-60.

RENNER, E. 1988. Storage stability and some nutritional aspects of milk powders and ultra high temperature products at high ambient temperatures. Journal of Dairy Research 55 (1): 125-142.

ROMERO, A. y OLANO, A. 1993. Modificación de un método para determinar la actividad proteasica en leches fluidas. En resumen de trabajos presentados en el X congreso de la Sociedad de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (SOCHITAL). Pucón. Chile.

SANTOS, M., MA, Y. y BARBANO, M. 2003. Sensory threshold of off-flavors caused by proteolysis and lipolysis in milk. Journal of Dairy Science. 86 (5): 1601–1607.

SCHMIDT HEBBEL, H. 1980. Las Especies: condimentos vegetales su importancia en química y tecnología de alimentos y en el arte culinario. Editorial Fundación Chile. Chile. 107 p.

SCHMIDT HEBBEL, H. 1981. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Alfabetá impresores. Chile. 265p.

SHAH, W. P. 1994. Psychotropics in milk: a review. Milchwissenschaft. 49 (8): 432-437.

STABEL, J.R. HURD, S. CALVENTE, L. y ROSENBUSCH, R. 2004. Destruction of *Mycobacterium paratuberculosis*, *Salmonella* spp., and *Mycoplasma* spp. in Raw Milk by a Commercial On-Farm High-Temperature, Short-Time Pasteurizer. *Journal of Dairy Science*. 87: 2177-2183.

VASBINDER, A., VAN DE VELDE, F. y DE KRUIF, C. 2004. Gelation of Casein-Whey Protein Mixtures. *Journal of Dairy Science*. 87 (5): 1167-1176.

VENKATACHALAM, N., McMAHON, D. y SAVELLO, P. 1993. Role of protein and lactose interaction in the age gelation of ultra – high temperature processed concentrated skim milk. *Journal of Dairy Science* 76 (7): 1882-1894.

YACINKAYA, S. y OZIMEK, L. 1993. Laboratory scale UHT system. *Milchwissenschaft* 48(6): 307-309.

WALSTRA, P. y JENNES, R. 1987. *Química y física lactológica*. Editorial Acribia S.A. España. 423 p.

WILBEY, R. 1997. Estimating shelf life. *Internacional Journal of Dairy Technology*. 50(2): 64-67.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

## Importación bebidas alcohólicas 1995-2000

Producto	Años					
	1995	1996	1997	1998	1999	2000
<b>Destilados y licores</b>	20,8	23,7	23,4	22	20,8	21,2
<b>Whisky</b>	12,7	14,3	13,8	12,3	12,1	11,3
<b>Ron</b>	0,9	1,2	1,6	1,6	2,4	3,5
<b>Vodka</b>	1	1,2	1,2	1,9	1,4	1
<b>Gin</b>	1,2	0,9	1	0,8	0,8	0,6
<b>Cognac-Brandy</b>	0,4	0,3	0,3	0,5	0,2	0,2
<b>Otros</b>	2,1	2,8	2,4	2,2	1,7	2
<b>Cerveza</b>	4,9	5,6	7,8	8,7	7,5	5
<b>Vinos y Champagne</b>						
<b>Vinos</b>	0,1	0,3	6,9	5,7	3,1	3,6
<b>Champagne</b>	0,2	0,2	0,3	0,5	0,8	0,3
<b>Total</b>	26,1	28,9	38,4	36,9	32,1	30,1

Elaboración Gemines 2002, en base a información de Aduanas.

## ANEXO 2

### Distribución de la canasta de alcoholes 1996-1997 (1)

	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	TOTAL
<b>Vino</b>	36,9	30,1	29,7	30,4	34,4	32,4
<b>Cerveza</b>	40,3	43,8	41,1	32,4	22,4	31,7
<b>Pisco</b>	18,5	16,2	16,1	17,7	20,6	18,8
<b>Whisky</b>	0	1,1	2,1	4,7	9,3	5,4
<b>Otros licores</b>	8,3	2,9	4,7	4,8	7,6	8,3
<b>Total</b>	100	100	100	100	100	100

Elaboración: GEMINES, 2002. A partir de datos del INE.

(1) La diferencia hasta completar 100% corresponde a chicha y champagne

## ANEXO 3

### Consumo bebidas alcohólicas por quintiles de ingreso familiar, proyección al año 2010 (% sobre el volumen total)

	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	TOTAL
<b>Vino</b>	16,3	22	21,3	21,5	18,8	100
<b>Cerveza</b>	12,3	21,4	25,6	19,8	20,8	100
<b>Pisco</b>	9,6	16,4	19,4	24,1	30,6	100
<b>Whisky</b>	2,1	8	17,2	26,9	45,8	100
<b>Otros licores</b>	5,6	12,3	18,5	24,8	38,7	100
<b>Total</b>	13,6	21	23,2	21	21,3	100

FUENTE: GEMINES, 2002.

## ANEXO 4

### **Determinación grado de proteolisis (modificado para Cola de Mono)**

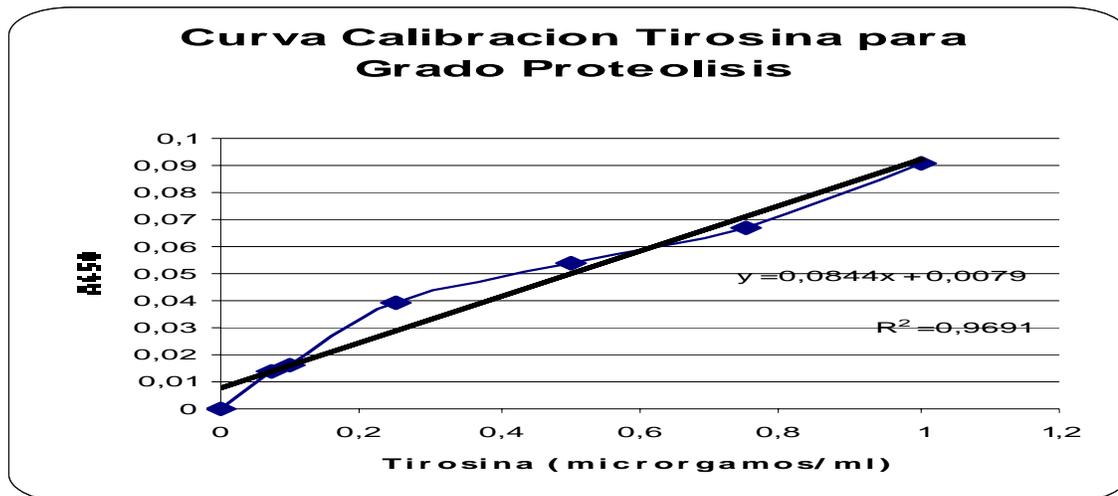
El método de Hull (1947), determina hidrólisis parcial de la leche, expresada en términos de contenido de tirosina.

#### **Reactivos**

- Acido Tricloroacetico 0.72 N
- Reactivo Fenol elaborado según Folin y Ciocalteau, dos volúmenes de agua destilada son adicionados por volumen de reactivo fenol
- Solución de carbonato de sodio anhidro y hexametáfosfato de sodio. Se disuelven 75 g de carbonato de sodio anhidro y 10 g de hexametáfosfato en agua destilada y se diluyen a 500ml.

#### **Procedimiento**

- Introducir en un tubo de ensayo limpio y seco
  - 5 ml producto
  - 10 ml acido tricloroacetico 0.72 N
  - 1 ml agua destilada
- Agitar
- Dejar en reposo por 10 minutos
- Filtrar usando papel Whatman nº1
- Filtrar nuevamente a través de un filtro de carbón activo y lana de vidrio, hasta obtener 2.5 ml filtrado
- Agregar 1.5 ml reactivo fenol, 5 ml hexametáfosfato de sodio cuya temperatura deberá ser de 40°C y llevar a 25 ml en matraz aforado
- Mezclar y dejar reposar por 10 minutos
- Leer absorbancia a 650 nm. Antes de 30 min.



## ANEXO 5

### Determinación Grado Alcohólico

- Se determina por destilación del producto y luego el destilado es transformado mediante refractometría y/o picnometría a graduación alcohólica.

- **Reactivos**

Carbonato de calcio

- **Material y equipos**

Balón de destilación

Condensador liso

Manto calefactor

Alcoholímetro

Refractómetro

phmetro

- **Desarrollo**

- Se toman 100 ml de muestra neutralizada con una solución de carbonato de calcio saturada

- Se destila y se reciben unos 70 ml, completando el volumen de 100 ml con agua destilada

-Se determinan los grados alcohólicos con el alcoholímetro según las especificaciones

-Se confirma con lecturas en el refractómetro. Las lecturas del refractómetro se llevan a las tablas del AOAC, para hacer la conversión a grados alcohólicos.

## ANEXO 6

### Determinación Índice Sedimentación

Descrito por RUSTOM *et al.* (1995), modificado por CANO-RUIZ y RICHTER (1998)

Las muestras son mezcladas, se toman 10 ml y son llevadas a un tubo de ensayo, se mide la altura (A). Luego se centrifuga a 1100rpm por 20 minutos. A continuación se mide el sedimento formado (B). El Índice de Sedimentación es expresado como  $IS=B/A$

## ANEXO 7

### Ficha Evaluación descriptiva de cola de mono

Nombre:.....

Fecha:.....

Sírvase a evaluar las siguientes muestras de cola de mono, debe realizar la tarea en el orden señalado, colocando en cada casillero correspondiente la calificación que mejor represente su opinión. La escala de evaluación es de 1 a 5 desde color a sabor y de 1 a 7 para la apreciación general.

ATRIBUTOS	CALIFICACION				
<b>1. Color</b>	1) muy inadecuado 3) intermedio 5) muy adecuado				
<b>3. Aroma</b>	1) falta de aroma, atípico 3) agradable, atípico 5)agradable, típico				
<b>4. Sabor</b>	1) insuficiente 3)adecuado 5)demasiado intenso				
<b>5. Apreciación general</b>	1) muy malo 2)malo 3)menos que regular 4)regular 5)mas que regular 6) bueno 7)muy bueno				

Comentarios:.....  
 .....  
 .....  
 .....

***Gracias por su colaboración***

## ANEXO 8

### Evaluación sensorial Cola de Mono (apreciación general)

Sírvase a evaluar las siguientes muestras de cola de mono, la escala de evaluación es de 1 a 7.

Apreciación general				
1	muy malo			
2	malo			
3	menos que regular			
4	regular			
5	mas que regular			
6	bueno			
7	muy bueno			

Comentarios

.....

.....

.....

*Gracias por su colaboración*

## ANEXO 9

### Análisis microbiológico mesófilos tratamiento A en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para log UFC según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	2	2,145	X
30	2	2,816	X
60	2	4,3005	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 30	*-0,671	0,141072
0 - 60	*-2,1555	0,141072
30 - 60	*-1,4845	0,141072

\* indica una diferencia significativa.

### Análisis microbiológico mesófilos tratamiento B en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para log UFC B según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	2	1,595	X
30	2	2,808	X
60	2	4,175	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 30	*-1,213	0,73679
0 - 60	*-2,58	0,73679
30 - 60	*-1,367	0,73679

### Análisis microbiológico mesófilos tratamiento C en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para log UFC C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	2	2,0965	X
30	2	3,148	X
60	2	4,454	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 30	*-1,0515	0,377861
0 - 60	*-2,3575	0,377861
30 - 60	*-1,306	0,377861

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 10

## Comparación resultados microbiológicos mesófilos entre tratamientos para cada tiempo

### Tiempo 0

Contraste Múltiple de Rango para log UFC tiempo 0 según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
B	3	1,66067	X
C	3	2,09067	X
A	3	2,13467	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*0,474	0,334352
A - C	0,044	0,334352
B - C	*-0,43	0,334352

\* indica una diferencia significativa.

### Tiempo 30

Contraste Múltiple de Rango para log UFC tiempo 30 según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	2,81033	X
B	3	2,836	X
C	3	3,18367	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	-0,0256667	0,228966
A - C	*-0,373333	0,228966
B - C	*-0,347667	0,228966

\* indica una diferencia significativa.

### Tiempo 60

Contraste Múltiple de Rango para log UFC tiempo 60 según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
B	3	4,18467	X
A	3	4,29333	X
C	3	4,46167	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*0,108667	0,0714913
A - C	*-0,168333	0,0714913
B - C	*-0,277	0,0714913

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 11

### Análisis microbiológico psicrotróficos tratamiento A en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para rec log UFC A según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	1,0	X
30	3	2,59067	X
60	3	2,97133	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 30	*-1,59067	0,361645
0 - 60	*-1,97133	0,361645
30 - 60	*-0,380667	0,361645

\* indica una diferencia significativa.

### Análisis microbiológico psicrotróficos tratamiento B en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para rec UFC B según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	1,0	X
30	3	2,562	X
60	3	2,68667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 30	*-1,562	0,19465
0 - 60	*-1,68667	0,19465
30 - 60	-0,124667	0,19465

\* indica una diferencia significativa.

### Análisis microbiológico psicrotróficos tratamiento C en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para rec UFC C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	1,0	X
30	3	2,96633	X
60	3	3,15533	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 30	*-1,96633	0,0480835
0 - 60	*-2,15533	0,0480835
30 - 60	*-0,189	0,0480835

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 12

### Comparación resultados microbiológicos psicrotróficos entre tratamientos para cada tiempo

- **Tiempo 0**

*Sin diferencias significativas*

- **Tiempo 30**

Contraste Múltiple de Rango para log ufc dia 30 según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
b	3	2,562	X
a	3	2,59067	XX
c	3	2,96633	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
a - b	0,0286667	0,404313
a - c	-0,375667	0,404313
b - c	*-0,404333	0,404313

\* indica una diferencia significativa.

- **Tiempo 60**

Contraste Múltiple de Rango para log ufc dia 60 según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
b	3	2,715	X
a	3	2,97133	X
c	3	3,15533	X

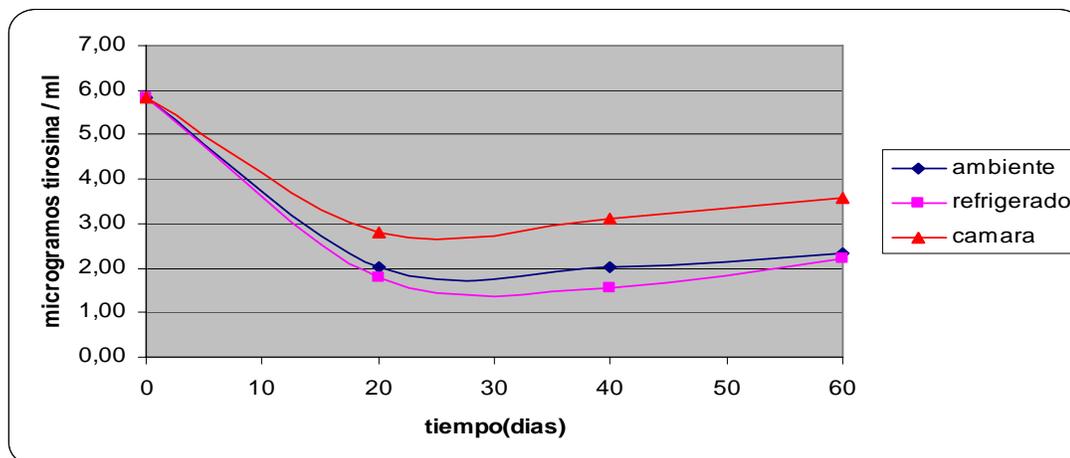
  

Contraste	Diferencias	+/- Límites
a - b	*0,256333	0,0969251
a - c	*-0,184	0,0969251
b - c	*-0,440333	0,0969251

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 13

## Evolución proteólisis en el tiempo para Tratamiento A



- Ambiente**

Contraste Múltiple de Rango para proteólisis según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
20	2	2,025	X
40	2	2,025	X
60	2	2,32	X
0	2	5,82	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 20	*3,795	0,606895
0 - 40	*3,795	0,606895
0 - 60	*3,5	0,606895
20 - 40	0,0	0,606895
20 - 60	-0,295	0,606895
40 - 60	-0,295	0,606895

\* indica una diferencia significativa.

- Refrigerado**

Contraste Múltiple de Rango para proteólisis refrigerado según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
40	2	1,555	X
20	2	1,79	X
60	2	2,205	X
0	2	5,82	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 20	*4,03	1,19053
0 - 40	*4,265	1,19053
0 - 60	*3,615	1,19053
20 - 40	0,235	1,19053
20 - 60	-0,415	1,19053
40 - 60	-0,65	1,19053

\* indica una diferencia significativa.

## • Cámara

Contraste Múltiple de Rango para proteolisis camara según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
20	2	2,795	X
40	2	3,095	X
60	2	3,565	X
0	2	5,82	X

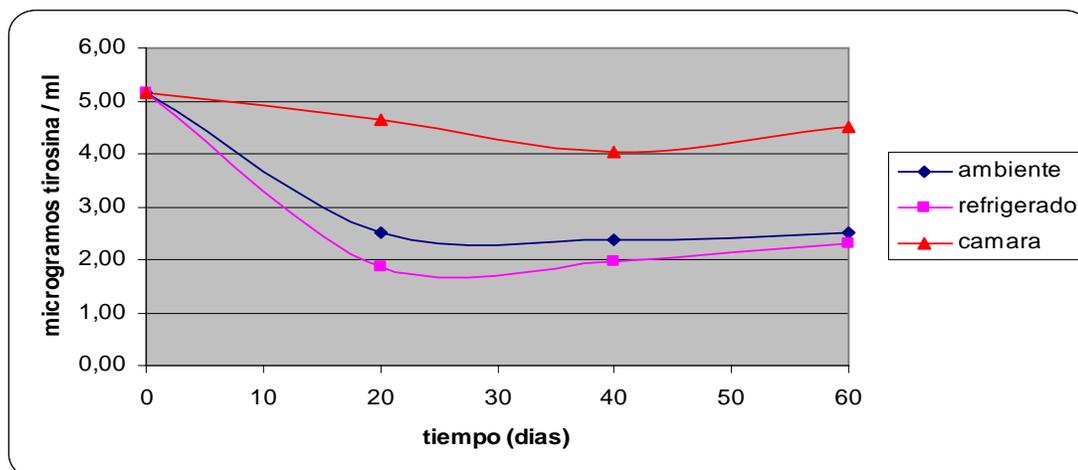
  

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 20	*3,025	1,41219
0 - 40	*2,725	1,41219
0 - 60	*2,255	1,41219
20 - 40	-0,3	1,41219
20 - 60	-0,77	1,41219
40 - 60	-0,47	1,41219

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 14

## Evolución proteólisis en el tiempo para Tratamiento B



- Ambiente**

Contraste Múltiple de Rango para proteolisis ambiente B según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
40	2	2,385	X
20	2	2,5	X
60	2	2,5	X
0	2	5,165	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 20	*2,665	1,64621
0 - 40	*2,78	1,64621
0 - 60	*2,665	1,64621
20 - 40	0,115	1,64621
20 - 60	0,0	1,64621
40 - 60	-0,115	1,64621

\* indica una diferencia significativa.

- Refrigerado**

Contraste Múltiple de Rango para proteolisis refrigerado B según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
20	2	1,85	X
40	2	1,965	X
60	2	2,32	X
0	2	5,165	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 20	*3,315	1,40683
0 - 40	*3,2	1,40683
0 - 60	*2,845	1,40683
20 - 40	-0,115	1,40683
20 - 60	-0,47	1,40683
40 - 60	-0,355	1,40683

\* indica una diferencia significativa.

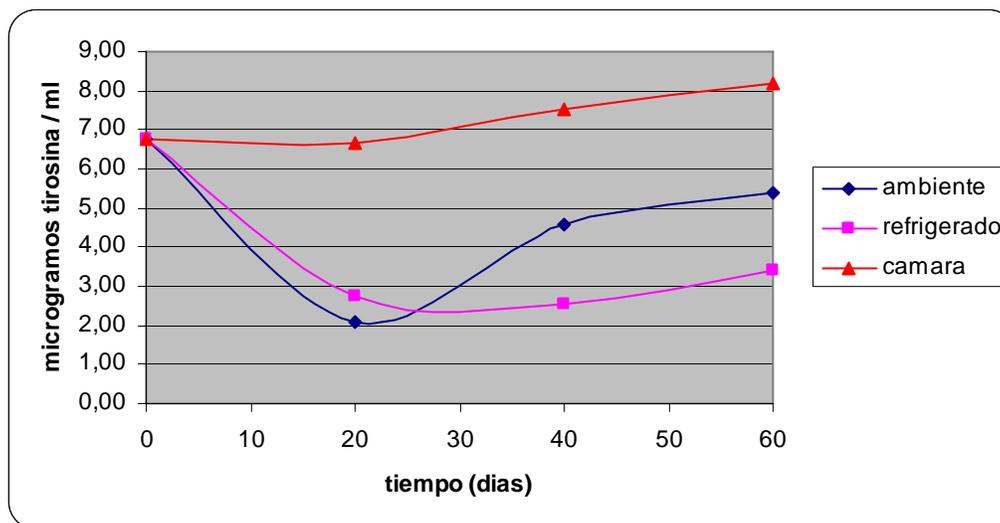
- **Cámara**

Tabla ANOVA para proteolisi camara B según tiempo

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,28154	3	0,427179	1,35	0,3767
Intra grupos	1,26395	4	0,315987		
Total (Corr.)	2,54549	7			

## ANEXO 15

## Evolución proteólisis en el tiempo para Tratamiento C



- **Ambiente**

Contraste Múltiple de Rango para proteólisis ambiente C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
20	2	2,085	X
40	2	4,575	X
60	2	5,405	XX
0	2	6,765	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 20	*4,68	1,50761
0 - 40	*2,19	1,50761
0 - 60	1,36	1,50761
20 - 40	*-2,49	1,50761
20 - 60	*-3,32	1,50761
40 - 60	-0,83	1,50761

\* indica una diferencia significativa.

- **Refrigerado**

Contraste Múltiple de Rango para proteólisis refrigerado C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
40	2	2,56	X
20	2	2,735	X
60	2	3,39	X
0	2	6,765	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 20	*4,03	2,10854
0 - 40	*4,205	2,10854
0 - 60	*3,375	2,10854
20 - 40	0,175	2,10854
20 - 60	-0,655	2,10854
40 - 60	-0,83	2,10854

\* indica una diferencia significativa.

- **Cámara**

Tabla ANOVA para proteolisis camara C según tiempo

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	3,10495	3	1,03498	3,67	0,1209
Intra grupos	1,1294	4	0,28235		
Total (Corr.)	4,23435	7			

## ANEXO 16

## Evolución de la proteólisis por día según tipo de almacenamiento

- Almacenamiento temperatura ambiente

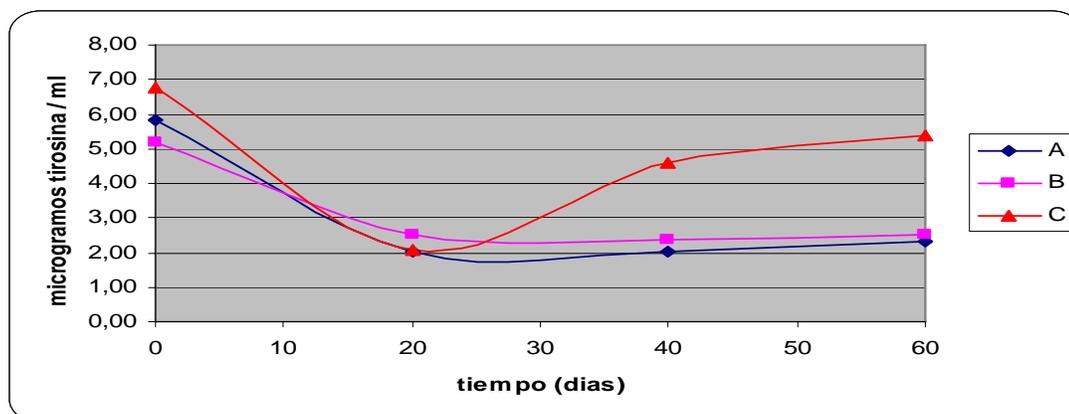
**Día 0**

Tabla ANOVA para prot 0 según Tratamiento

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	2,58803	2	1,29402	6,21	0,0858
Intra grupos	0,6253	3	0,208433		
Total (Corr.)	3,21333	5			

**Día 20**

Tabla ANOVA para ambiente 20 según tratamiento termico

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,267633	2	0,133817	3,45	0,1670
Intra grupos	0,1165	3	0,0388333		
Total (Corr.)	0,384133	5			

**Día 40**

Contraste Múltiple de Rango para ambiente40 según tratamiento termico

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
Nivel	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	2	2,025	X
B	2	2,385	X
C	2	4,575	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	-0,36	1,40515
A - C	*-2,55	1,40515
B - C	*-2,19	1,40515

\* indica una diferencia significativa.

## Día 60

Contraste Múltiple de Rango para ambiente 60 según tratamiento termico

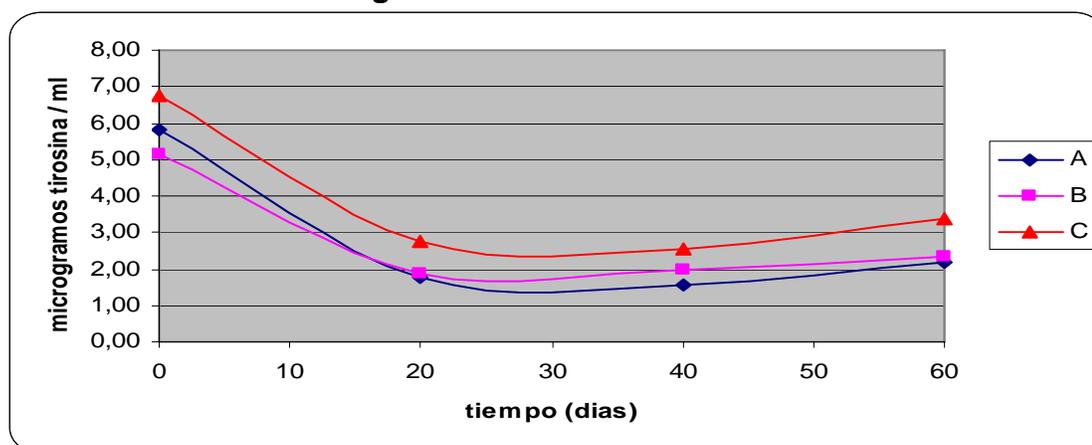
Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

Nivel	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	2	2,32	X
B	2	2,5	X
C	2	5,405	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	-0,18	1,10485
A - C	*-3,085	1,10485
B - C	*-2,905	1,10485

\* indica una diferencia significativa.

## Almacenamiento refrigerado



## Día 20

Tabla ANOVA para refrigerado 20 según tratamiento termico

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,1199	2	0,55995	4,86	0,1145
Intra grupos	0,34565	3	0,115217		
Total (Corr.)	1,46555	5			

## Día 40

Tabla ANOVA para refrigerado40 según tratamiento termico

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,02143	2	0,510717	8,56	0,0575
Intra grupos	0,1789	3	0,0596333		
Total (Corr.)	1,20033	5			

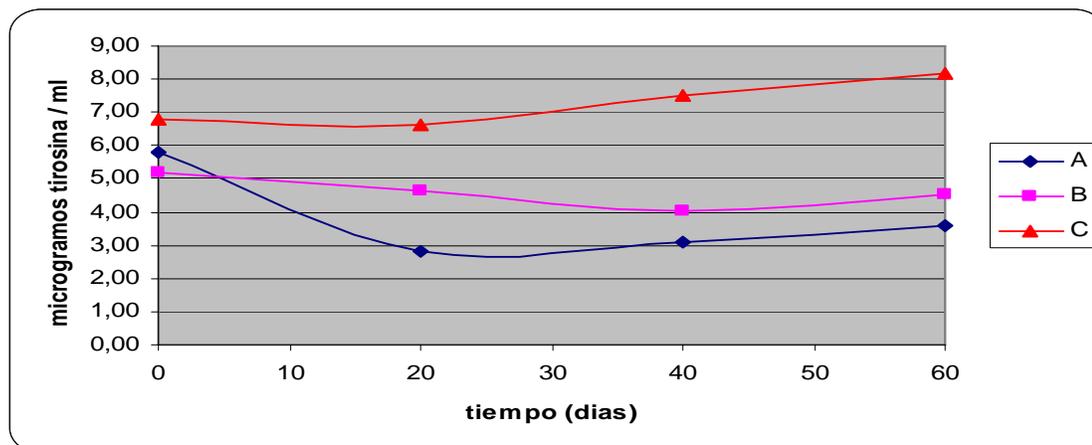
## Día 60

Tabla ANOVA para refrigerado60 según tratamiento termico

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,70823	2	0,854117	3,45	0,1669
Intra grupos	0,74305	3	0,247683		
Total (Corr.)	2,45128	5			

## • Almacenamiento cámara



### Día 20

Contraste Múltiple de Rango para camara 20 según tratamiento termico

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
Nivel	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	2	2,795	X
B	2	4,635	XX
C	2	6,645	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	-1,84	2,25802
A - C	*-3,85	2,25802
B - C	-2,01	2,25802

\* indica una diferencia significativa.

### Día 40

Contraste Múltiple de Rango para camara40 según tratamiento termico

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
Nivel	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	2	3,095	X
B	2	4,04	X
C	2	7,535	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	-0,945	2,24583
A - C	*-4,44	2,24583
B - C	*-3,495	2,24583

\* indica una diferencia significativa.

### Día 60

Contraste Múltiple de Rango para camara60 según tratamiento termico

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
Nivel	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	2	3,565	X
B	2	4,515	X
C	2	8,185	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	-0,95	1,71168
A - C	*-4,62	1,71168
B - C	*-3,67	1,71168

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 17

## Análisis pH Tratamiento A

Tiempos	Ambiente 20°C	Refrigerado 5°C	Cámara 36,5°C
0	6,75 ± 0,07 A	6,75 ± 0,07 A	6,75 ± 0,07 A
10	6,65 ± 0,07 AB	6,75 ± 0,07 A	6,55 ± 0,07 AB
20	6,50 ± 0,00 BC	6,65 ± 0,07 A	6,40 ± 0,00 B
30	6,50 ± 0,00 BC	6,60 ± 0,00 AB	6,40 ± 0,00 BC
40	6,50 ± 0,00 BC	6,60 ± 0,00 B	6,35 ± 0,07 BC
50	6,45 ± 0,07 BC	6,50 ± 0,00 B	6,30 ± 0,00 C
60	6,50 ± 0,00 BC a	6,50 ± 0,00 B a	6,25 ± 0,07 C b

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado

\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en la fila para el tiempo 60.

- Ambiente

Contraste Múltiple de Rango para ph según tiempo

```

-----
Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey
tiempo      Frec.      Media      Grupos homogéneos
-----
50           2           6,45      X
20           2           6,5       XX
30           2           6,5       XX
40           2           6,5       XX
60           2           6,5       XX
10           2           6,65      XX
0            2           6,75      X
-----
Contraste      Diferencias      +/- Límites
-----
0 - 10          0,1              0,183492
0 - 20          *0,25           0,183492
0 - 30          *0,25           0,183492
0 - 40          *0,25           0,183492
0 - 50          *0,3            0,183492
0 - 60          *0,25           0,183492
10 - 20         0,15            0,183492
10 - 30         0,15            0,183492
10 - 40         0,15            0,183492
10 - 50         *0,2            0,183492
10 - 60         0,15            0,183492
20 - 30         0,0             0,183492
20 - 40         0,0             0,183492
20 - 50         0,05            0,183492
20 - 60         0,0             0,183492
30 - 40         0,0             0,183492
30 - 50         0,05            0,183492
30 - 60         0,0             0,183492
40 - 50         0,05            0,183492
40 - 60         0,0             0,183492
50 - 60         -0,05           0,183492
-----

```

\* indica una diferencia significativa.

## • Refrigerado

Contraste Múltiple de Rango para pH refrigerado según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,5	X
50	2	6,5	X
30	2	6,6	XX
40	2	6,6	XX
20	2	6,65	XX
10	2	6,75	X
0	2	6,75	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	0,0	0,183492
0 - 20	0,1	0,183492
0 - 30	0,15	0,183492
0 - 40	0,15	0,183492
0 - 50	*0,25	0,183492
0 - 60	*0,25	0,183492
10 - 20	0,1	0,183492
10 - 30	0,15	0,183492
10 - 40	0,15	0,183492
10 - 50	*0,25	0,183492
10 - 60	*0,25	0,183492
20 - 30	0,05	0,183492
20 - 40	0,05	0,183492
20 - 50	0,15	0,183492
20 - 60	0,15	0,183492
30 - 40	0,0	0,183492
30 - 50	0,1	0,183492
30 - 60	0,1	0,183492
40 - 50	0,1	0,183492
40 - 60	0,1	0,183492
50 - 60	0,0	0,183492

\* indica una diferencia significativa.

## • Cámara

Contraste Múltiple de Rango para pH camara según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,25	X
50	2	6,3	X
40	2	6,35	XX
20	2	6,4	XX
30	2	6,4	XX
10	2	6,55	XX
0	2	6,75	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	0,2	0,211879
0 - 20	*0,35	0,211879
0 - 30	*0,35	0,211879
0 - 40	*0,4	0,211879
0 - 50	*0,45	0,211879
0 - 60	*0,5	0,211879
10 - 20	0,15	0,211879
10 - 30	0,15	0,211879
10 - 40	0,2	0,211879
10 - 50	*0,25	0,211879
10 - 60	*0,3	0,211879
20 - 30	0,0	0,211879
20 - 40	0,05	0,211879
20 - 50	0,1	0,211879
20 - 60	0,15	0,211879
30 - 40	0,05	0,211879
30 - 50	0,1	0,211879
30 - 60	0,15	0,211879
40 - 50	0,05	0,211879
40 - 60	0,1	0,211879
50 - 60	0,05	0,211879

\* indica una diferencia significativa.

## • Análisis tiempo 60

Contraste Múltiple de Rango para pH Trat A tiempo 60 según almacenamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
almacenamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
cam	3	6,23333	X
refr	3	6,5	X
amb	3	6,5	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
amb - cam	*0,266667	0,0665967
amb - refr	0,0	0,0665967
cam - refr	*-0,266667	0,0665967

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 18

## Análisis pH Tratamiento B

Tiempos	Ambiente 20°C	Refrigerado 5°C	Cámara 36,5°C
0	6,75 ± 0,17 A	6,75 ± 0,14 A	6,75 ± 0,14 A
10	6,65 ± 0,07 AB	6,75 ± 0,21 A	6,55 ± 0,14 BC
20	6,50 ± 0,00 BC	6,65 ± 0,07 AB	6,40 ± 0,07 BC
30	6,50 ± 0,00 BC	6,60 ± 0,00 AB	6,40 ± 0,07 BC
40	6,50 ± 0,00 BC	6,60 ± 0,07 AB	6,35 ± 0,00 BC
50	6,45 ± 0,00 C	6,50 ± 0,00 C	6,30 ± 0,00 C
60	6,40 ± 0,00 C a	6,45 ± 0,07 C a	6,25 ± 0,07 C b

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado

\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en la fila para el tiempo 60.

- Ambiente**

Contraste Múltiple de Rango para pH ambiente B según tiempo

Método:	95,0	porcentaje	HSD de Tukey	
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos	
50	2	6,45	X	
20	2	6,5	XX	
30	2	6,5	XX	
40	2	6,5	XX	
60	2	6,5	XX	
10	2	6,65	XX	
0	2	6,75	X	

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	0,1	0,183492
0 - 20	*0,25	0,183492
0 - 30	*0,25	0,183492
0 - 40	*0,25	0,183492
0 - 50	*0,3	0,183492
0 - 60	*0,25	0,183492
10 - 20	0,15	0,183492
10 - 30	0,15	0,183492
10 - 40	0,15	0,183492
10 - 50	*0,2	0,183492
10 - 60	0,15	0,183492
20 - 30	0,0	0,183492
20 - 40	0,0	0,183492
20 - 50	0,05	0,183492
20 - 60	0,0	0,183492
30 - 40	0,0	0,183492
30 - 50	0,05	0,183492
30 - 60	0,0	0,183492
40 - 50	0,05	0,183492
40 - 60	0,0	0,183492
50 - 60	-0,05	0,183492

\* indica una diferencia significativa.

## ● Refrigerado

Contraste Múltiple de Rango para pH refrigerado B según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,5	X
50	2	6,5	X
30	2	6,6	XX
40	2	6,6	XX
20	2	6,65	XX
10	2	6,75	X
0	2	6,75	X

Contraste	Diferencias	+/-	Límites
0 - 10	0,0	0,183492	
0 - 20	0,1	0,183492	
0 - 30	0,15	0,183492	
0 - 40	0,15	0,183492	
0 - 50	*0,25	0,183492	
0 - 60	*0,25	0,183492	
10 - 20	0,1	0,183492	
10 - 30	0,15	0,183492	
10 - 40	0,15	0,183492	
10 - 50	*0,25	0,183492	
10 - 60	*0,25	0,183492	
20 - 30	0,05	0,183492	
20 - 40	0,05	0,183492	
20 - 50	0,15	0,183492	
20 - 60	0,15	0,183492	
30 - 40	0,0	0,183492	
30 - 50	0,1	0,183492	
30 - 60	0,1	0,183492	
40 - 50	0,1	0,183492	
40 - 60	0,1	0,183492	
50 - 60	0,0	0,183492	

\* indica una diferencia significativa.

## ● Cámara

Contraste Múltiple de Rango para pH camara B según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,25	X
50	2	6,3	X
40	2	6,35	XX
20	2	6,4	XX
30	2	6,4	XX
10	2	6,55	XX
0	2	6,75	X

Contraste	Diferencias	+/-	Límites
0 - 10	0,2	0,211879	
0 - 20	*0,35	0,211879	
0 - 30	*0,35	0,211879	
0 - 40	*0,4	0,211879	
0 - 50	*0,45	0,211879	
0 - 60	*0,5	0,211879	
10 - 20	0,15	0,211879	
10 - 30	0,15	0,211879	
10 - 40	0,2	0,211879	
10 - 50	*0,25	0,211879	
10 - 60	*0,3	0,211879	
20 - 30	0,0	0,211879	
20 - 40	0,05	0,211879	
20 - 50	0,1	0,211879	
20 - 60	0,15	0,211879	
30 - 40	0,05	0,211879	
30 - 50	0,1	0,211879	
30 - 60	0,15	0,211879	
40 - 50	0,05	0,211879	
40 - 60	0,1	0,211879	
50 - 60	0,05	0,211879	

\* indica una diferencia significativa.

## ● Análisis tiempo 60

Contraste Múltiple de Rango para pH Trat B tiempo 60 según almacenamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
almacenamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
cam	3	6,23333	X
amb	3	6,4	X
refr	3	6,43333	X

Contraste	Diferencias	+/-	Límites
amb - cam	*0,166667	0,0941819	
amb - refr	-0,0333333	0,0941819	
cam - refr	*-0,2	0,0941819	

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 19

## Análisis pH Tratamiento C

Tiempos	Ambiente 20°C	Refrigerado 5°C	Cámara 36,5°C
0	6,65 ± 0,07 A	6,65 ± 0,07 A	6,65 ± 0,07 A
10	6,55 ± 0,07 A	6,60 ± 0,14 A	6,45 ± 0,07 AB
20	6,45 ± 0,07 BC	6,55 ± 0,07 AB	6,40 ± 0,00 ABC
30	6,40 ± 0,00 BC	6,45 ± 0,07 AB	6,35 ± 0,07 BC
40	6,30 ± 0,00 CD	6,40 ± 0,00 AB	6,25 ± 0,07 BC
50	6,30 ± 0,00 CD	6,40 ± 0,00 AB	6,15 ± 0,07 C
60	6,20 ± 0,00 D b	6,30 ± 0,00 B a	5,85 ± 0,07 D c

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado

\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en la fila para el tiempo 60.

- Ambiente

Contraste Múltiple de Rango para pH ambiente C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

tiempo Frec. Media Grupos homogéneos

60	2	6,2	X
50	2	6,3	XX
40	2	6,3	XX
30	2	6,4	XX
20	2	6,45	XX
10	2	6,55	XX
0	2	6,65	X

Contraste Diferencias +/- Límites

0 - 10	0,1	0,183492
0 - 20	*0,2	0,183492
0 - 30	*0,25	0,183492
0 - 40	*0,35	0,183492
0 - 50	*0,35	0,183492
0 - 60	*0,45	0,183492
10 - 20	0,1	0,183492
10 - 30	0,15	0,183492
10 - 40	*0,25	0,183492
10 - 50	*0,25	0,183492
10 - 60	*0,35	0,183492
20 - 30	0,05	0,183492
20 - 40	0,15	0,183492
20 - 50	0,15	0,183492
20 - 60	*0,25	0,183492
30 - 40	0,1	0,183492
30 - 50	0,1	0,183492
30 - 60	*0,2	0,183492
40 - 50	0,0	0,183492
40 - 60	0,1	0,183492
50 - 60	0,1	0,183492

\* indica una diferencia significativa.

## • Refrigerado

Contraste Múltiple de Rango para pH refrigerado C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,3	X
50	2	6,4	XX
40	2	6,4	XX
30	2	6,45	XX
20	2	6,55	XX
10	2	6,6	X
0	2	6,65	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	0,05	0,280289
0 - 20	0,1	0,280289
0 - 30	0,2	0,280289
0 - 40	0,25	0,280289
0 - 50	0,25	0,280289
0 - 60	*0,35	0,280289
10 - 20	0,05	0,280289
10 - 30	0,15	0,280289
10 - 40	0,2	0,280289
10 - 50	0,2	0,280289
10 - 60	*0,3	0,280289
20 - 30	0,1	0,280289
20 - 40	0,15	0,280289
20 - 50	0,15	0,280289
20 - 60	0,25	0,280289
30 - 40	0,05	0,280289
30 - 50	0,05	0,280289
30 - 60	0,15	0,280289
40 - 50	0,0	0,280289
40 - 60	0,1	0,280289
50 - 60	0,1	0,280289

\* indica una diferencia significativa.

## • Cámara

Contraste Múltiple de Rango para pH camara C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	5,85	X
50	2	6,15	X
40	2	6,25	XX
30	2	6,35	XX
20	2	6,4	XXX
10	2	6,45	XX
0	2	6,65	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	0,2	0,259497
0 - 20	0,25	0,259497
0 - 30	*0,3	0,259497
0 - 40	*0,4	0,259497
0 - 50	*0,5	0,259497
0 - 60	*0,8	0,259497
10 - 20	0,05	0,259497
10 - 30	0,1	0,259497
10 - 40	0,2	0,259497
10 - 50	*0,3	0,259497
10 - 60	*0,6	0,259497
20 - 30	0,05	0,259497
20 - 40	0,15	0,259497
20 - 50	0,25	0,259497
20 - 60	*0,55	0,259497
30 - 40	0,1	0,259497
30 - 50	0,2	0,259497
30 - 60	*0,5	0,259497
40 - 50	0,1	0,259497
40 - 60	*0,4	0,259497
50 - 60	*0,3	0,259497

\* indica una diferencia significativa.

## • Análisis tiempo 60

Contraste Múltiple de Rango para pH Trat C tiempo 60 según almacenamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
almacenamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
cam	3	5,83333	X
amb	3	6,2	X
refr	3	6,3	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
amb - cam	*0,366667	0,0665967
amb - refr	*-0,1	0,0665967
cam - refr	*-0,466667	0,0665967

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 20

## Evolución pH almacenamiento ambiente

Tiempos	A (Past. Lenta)	B (UHT)	C (Past. Normal)
0	6,75 ± 0,07 A	6,75 ± 0,17 A	6,65 ± 0,07 A
10	6,65 ± 0,07 A	6,65 ± 0,07 A	6,55 ± 0,07 B
20	6,50 ± 0,00 B	6,50 ± 0,00 B	6,45 ± 0,07 C
30	6,50 ± 0,00 B	6,50 ± 0,00 B	6,40 ± 0,00 CD
40	6,50 ± 0,00 B	6,50 ± 0,00 B	6,30 ± 0,00 DE
50	6,45 ± 0,07 B	6,45 ± 0,00 B	6,30 ± 0,00 EF
60	6,50 ± 0,00 B a	6,40 ± 0,00 B b	6,20 ± 0,00 F c

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado.

\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en la fila para el tiempo 60.

- **Tratamiento A**

Contraste Múltiple de Rango para A según tpo

Método: 95,0 porcentaje LSD

tpo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
50	2	6,45	X
20	2	6,5	X
30	2	6,5	X
40	2	6,5	X
60	2	6,5	X
10	2	6,65	X
0	2	6,75	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	0,1	0,109461
0 - 20	*0,25	0,109461
0 - 30	*0,25	0,109461
0 - 40	*0,25	0,109461
0 - 50	*0,3	0,109461
0 - 60	*0,25	0,109461
10 - 20	*0,15	0,109461
10 - 30	*0,15	0,109461
10 - 40	*0,15	0,109461
10 - 50	*0,2	0,109461
10 - 60	*0,15	0,109461
20 - 30	0,0	0,109461
20 - 40	0,0	0,109461
20 - 50	0,05	0,109461
20 - 60	0,0	0,109461
30 - 40	0,0	0,109461
30 - 50	0,05	0,109461
30 - 60	0,0	0,109461
40 - 50	0,05	0,109461
40 - 60	0,0	0,109461
50 - 60	-0,05	0,109461

\* indica una diferencia significativa.

## • Tratamiento B

Contraste Múltiple de Rango para amb B según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
50	2	6,4	X
60	2	6,4	X
20	2	6,5	X
40	2	6,5	X
30	2	6,5	X
10	2	6,65	X
0	2	6,7	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	0,05	0,141314
0 - 20	*0,2	0,141314
0 - 30	*0,2	0,141314
0 - 40	*0,2	0,141314
0 - 50	*0,3	0,141314
0 - 60	*0,3	0,141314
10 - 20	*0,15	0,141314
10 - 30	*0,15	0,141314
10 - 40	*0,15	0,141314
10 - 50	*0,25	0,141314
10 - 60	*0,25	0,141314
20 - 30	0,0	0,141314
20 - 40	0,0	0,141314
20 - 50	0,1	0,141314
20 - 60	0,1	0,141314
30 - 40	0,0	0,141314
30 - 50	0,1	0,141314
30 - 60	0,1	0,141314
40 - 50	0,1	0,141314
40 - 60	0,1	0,141314
50 - 60	0,0	0,141314

\* indica una diferencia significativa.

## • Tratamiento C

Contraste Múltiple de Rango para amb C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,2	X
50	2	6,25	XX
40	2	6,3	XX
30	2	6,35	XX
20	2	6,4	X
10	2	6,5	X
0	2	6,6	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	*0,1	0,0893746
0 - 20	*0,2	0,0893746
0 - 30	*0,25	0,0893746
0 - 40	*0,3	0,0893746
0 - 50	*0,35	0,0893746
0 - 60	*0,4	0,0893746
10 - 20	*0,1	0,0893746
10 - 30	*0,15	0,0893746
10 - 40	*0,2	0,0893746
10 - 50	*0,25	0,0893746
10 - 60	*0,3	0,0893746
20 - 30	0,05	0,0893746
20 - 40	*0,1	0,0893746
20 - 50	*0,15	0,0893746
20 - 60	*0,2	0,0893746
30 - 40	0,05	0,0893746
30 - 50	*0,1	0,0893746
30 - 60	*0,15	0,0893746
40 - 50	0,05	0,0893746
40 - 60	*0,1	0,0893746
50 - 60	0,05	0,0893746

\* indica una diferencia significativa.

## • Análisis para el tiempo 60

Contraste Múltiple de Rango para pH tiempo 60 según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
C	3	6,2	X
B	3	6,4	X
A	3	6,5	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*0,1	0,0
A - C	*0,3	0,0
B - C	*0,2	0,0

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 21

## Evolución pH almacenamiento refrigerado

Tiempos	A (Past. Lenta)	B (UHT)	C (Past. Normal)
0	6,75 ± 0,07 A	6,75 ± 0,14	6,65 ± 0,07 A
10	6,75 ± 0,07 A	6,75 ± 0,21	6,60 ± 0,14 AB
20	6,65 ± 0,07 AB	6,65 ± 0,07	6,55 ± 0,07 ABC
30	6,60 ± 0,00 BC	6,60 ± 0,00	6,45 ± 0,07 BCD
40	6,60 ± 0,00 BC	6,60 ± 0,07	6,40 ± 0,00 CD
50	6,50 ± 0,00 C	6,50 ± 0,00	6,40 ± 0,00 CD
60	6,50 ± 0,00 C a	6,50 ± 0,07 a	6,30 ± 0,00 D b

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado.

\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en la fila para el tiempo 60.

- Tratamiento A

Contraste Múltiple de Rango para refr A según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,5	x
50	2	6,5	x
30	2	6,6	xx
40	2	6,6	xx
20	2	6,65	xx
10	2	6,75	x
0	2	6,75	x
Contraste			
		Diferencias	+/- Límites
0 - 10		0,0	0,109461
0 - 20		0,1	0,109461
0 - 30		*0,15	0,109461
0 - 40		*0,15	0,109461
0 - 50		*0,25	0,109461
0 - 60		*0,25	0,109461
10 - 20		0,1	0,109461
10 - 30		*0,15	0,109461
10 - 40		*0,15	0,109461
10 - 50		*0,25	0,109461
10 - 60		*0,25	0,109461
20 - 30		0,05	0,109461
20 - 40		0,05	0,109461
20 - 50		*0,15	0,109461
20 - 60		*0,15	0,109461
30 - 40		0,0	0,109461
30 - 50		0,1	0,109461
30 - 60		0,1	0,109461
40 - 50		0,1	0,109461
40 - 60		0,1	0,109461
50 - 60		0,0	0,109461

\* indica una diferencia significativa.

- Tratamiento B

Tabla ANOVA para refr B según tiempo

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,0885714	6	0,0147619	1,29	0,3691
Intra grupos	0,08	7	0,0114286		
Total (Corr.)	0,168571	13			

## • Tratamiento C

Contraste Múltiple de Rango para refr C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,3	X
50	2	6,4	XX
40	2	6,4	XX
30	2	6,45	XXX
20	2	6,55	XXX
10	2	6,6	XX
0	2	6,65	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	0,05	0,167205
0 - 20	0,1	0,167205
0 - 30	*0,2	0,167205
0 - 40	*0,25	0,167205
0 - 50	*0,25	0,167205
0 - 60	*0,35	0,167205
10 - 20	0,05	0,167205
10 - 30	0,15	0,167205
10 - 40	*0,2	0,167205
10 - 50	*0,2	0,167205
10 - 60	*0,3	0,167205
20 - 30	0,1	0,167205
20 - 40	0,15	0,167205
20 - 50	0,15	0,167205
20 - 60	*0,25	0,167205
30 - 40	0,05	0,167205
30 - 50	0,05	0,167205
30 - 60	0,15	0,167205
40 - 50	0,0	0,167205
40 - 60	0,1	0,167205
50 - 60	0,1	0,167205

\* indica una diferencia significativa.

## • Análisis para el tiempo 60

Contraste Múltiple de Rango para pH tiempo 60 refrigerado según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
C	3	6,3	X
B	3	6,46667	X
A	3	6,5	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	0,0333333	0,0835085
A - C	*0,2	0,0835085
B - C	*0,166667	0,0835085

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 22

## Evolución pH almacenamiento cámara

Tiempos	A (Past. Lenta)	B (UHT)	C (Past. Normal)
0	6,75 ± 0,07 A	6,75 ± 0,14 A	6,65 ± 0,07 A
10	6,55 ± 0,07 B	6,55 ± 0,14 A	6,45 ± 0,07 B
20	6,40 ± 0,00 C	6,40 ± 0,07 BC	6,40 ± 0,00 BC
30	6,40 ± 0,00 C	6,40 ± 0,07 BC	6,35 ± 0,07 BC
40	6,35 ± 0,07 CD	6,35 ± 0,00 BC	6,25 ± 0,07 CD
50	6,30 ± 0,00 CD	6,30 ± 0,00 BC	6,15 ± 0,07 D
60	6,25 ± 0,07 D a	6,25 ± 0,07 C a	5,85 ± 0,07 E b

\*letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en las columnas para el parámetro estudiado.

\*letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en la fila para el tiempo 60.

- **Tratamiento A**

Contraste Múltiple de Rango para cámara A según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,25	X
50	2	6,3	XX
40	2	6,35	XX
20	2	6,4	X
30	2	6,4	X
10	2	6,55	X
0	2	6,75	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	*0,2	0,126395
0 - 20	*0,35	0,126395
0 - 30	*0,35	0,126395
0 - 40	*0,4	0,126395
0 - 50	*0,45	0,126395
0 - 60	*0,5	0,126395
10 - 20	*0,15	0,126395
10 - 30	*0,15	0,126395
10 - 40	*0,2	0,126395
10 - 50	*0,25	0,126395
10 - 60	*0,3	0,126395
20 - 30	0,0	0,126395
20 - 40	0,05	0,126395
20 - 50	0,1	0,126395
20 - 60	*0,15	0,126395
30 - 40	0,05	0,126395
30 - 50	0,1	0,126395
30 - 60	*0,15	0,126395
40 - 50	0,05	0,126395
40 - 60	0,1	0,126395
50 - 60	0,05	0,126395

## • Tratamiento B

Contraste Múltiple de Rango para camara B según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	6,25	X
50	2	6,3	XX
40	2	6,3	XX
30	2	6,35	XX
20	2	6,45	XX
10	2	6,5	XX
0	2	6,7	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	0,2	0,209602
0 - 20	*0,25	0,209602
0 - 30	*0,35	0,209602
0 - 40	*0,4	0,209602
0 - 50	*0,4	0,209602
0 - 60	*0,45	0,209602
10 - 20	0,05	0,209602
10 - 30	0,15	0,209602
10 - 40	0,2	0,209602
10 - 50	0,2	0,209602
10 - 60	*0,25	0,209602
20 - 30	0,1	0,209602
20 - 40	0,15	0,209602
20 - 50	0,15	0,209602
20 - 60	0,2	0,209602
30 - 40	0,05	0,209602
30 - 50	0,05	0,209602
30 - 60	0,1	0,209602
40 - 50	0,0	0,209602
40 - 60	0,05	0,209602
50 - 60	0,05	0,209602

## • Tratamiento C

Contraste Múltiple de Rango para camara C según tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tiempo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
60	2	5,85	X
50	2	6,15	X
40	2	6,25	XX
30	2	6,35	XX
20	2	6,4	XX
10	2	6,45	X
0	2	6,65	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
0 - 10	*0,2	0,154801
0 - 20	*0,25	0,154801
0 - 30	*0,3	0,154801
0 - 40	*0,4	0,154801
0 - 50	*0,5	0,154801
0 - 60	*0,8	0,154801
10 - 20	0,05	0,154801
10 - 30	0,1	0,154801
10 - 40	*0,2	0,154801
10 - 50	*0,3	0,154801
10 - 60	*0,6	0,154801
20 - 30	0,05	0,154801
20 - 40	0,15	0,154801
20 - 50	*0,25	0,154801
20 - 60	*0,55	0,154801
30 - 40	0,1	0,154801
30 - 50	*0,2	0,154801
30 - 60	*0,5	0,154801
40 - 50	0,1	0,154801
40 - 60	*0,4	0,154801
50 - 60	*0,3	0,154801

## • Análisis para el tiempo 60

Contraste Múltiple de Rango para pH tiempo 60 camara según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
C	3	5,86667	X
B	3	6,26667	X
A	3	6,26667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	0,0	0,144641
A - C	*0,4	0,144641
B - C	*0,4	0,144641

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 23

## Resultados índice de sedimentación

Análisis de la Varianza para IS - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Col_1	0,0540778	2	0,0270389	152,09	0,0000
B:Col_2	0,00181111	2	0,000905556	5,09	0,0332
INTERACCIONES					
AB	0,000222222	4	0,0000555556	0,31	0,8626
RESIDUOS	0,0016	9	0,000177778		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0577111	17			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

- Almacenamiento

Contraste Múltiple de Rangos para IS según Col\_1

Método: 95,0 porcentaje LSD				
Col_1	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
cámara	6	0,065	0,00544331	X
refrigerado	6	0,095	0,00544331	X
ambiente	6	0,193333	0,00544331	X
Contraste			Diferencias	+/- Límites
ambiente - cámara			*0,128333	0,0174141
ambiente - refrigerado			*0,0983333	0,0174141
cámara - refrigerado			*-0,03	0,0174141

\* indica una diferencia significativa.

- Tiempo

Contraste Múltiple de Rangos para IS según Col\_2

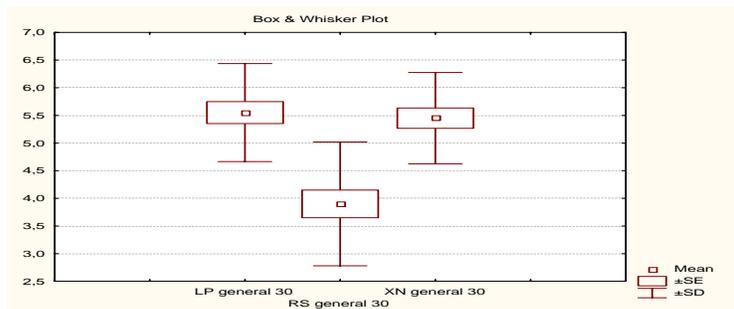
Método: 95,0 porcentaje LSD				
Col_2	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
20	6	0,108333	0,00544331	X
40	6	0,113333	0,00544331	X
60	6	0,131667	0,00544331	X
Contraste			Diferencias	+/- Límites
20 - 40			-0,005	0,0174141
20 - 60			*-0,0233333	0,0174141
40 - 60			*-0,0183333	0,0174141

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 24

## Gráficos Box y Whisker para diferencias apreciación general días 30 y 60

- Apreciación general día 30



- Apreciación general día 60

