



Universidad Austral de Chile

Escuela de Ingeniería en Alimentos

Determinación de Vida Útil de la Leche Cruda Envasada y Después Pasteurizada (LTLT) vs. Leches Pasteurizadas y Envasadas por Procedimientos Tradicionales

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

Juana Abigail Barrera Cañulef

Valdivia – Chile

2012

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:

Prof. Erwin Carrasco Ruiz
Ingeniero Civil Químico
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 quienes hicieron posible que este sueño se convierta en realidad.

A mi profesor patrocinante Don Haroldo Magariños por su ayuda y dedicación en todo este tiempo, a mis profesores informantes Don Erwin carrasco y Don Alejandro Romero, y también al profesor Jimmy Reyes Rocabado de la ciudad de Antofagasta por su incondicional ayuda.

A mis amados padres, hermanos, sobrinos, amigos, esposo y hermosos hijos por su amor y apoyo de siempre.

A Dios y todos ustedes muchas gracias...

Dedicado a mi GRAN FAMILIA...

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Objetivo general	1
1.2	Objetivos específicos	2
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Antecedentes generales	3
2.2	Tendencias de consumo de leche pasteurizada	5
2.3	Definición de pasteurización	7
2.3.1	Tipos de pasteurización	9
2.3.1.1	Pasteurización baja	10
2.3.1.2	Pasteurización alta	11
2.3.1.3	Súper – Pasteurización	13
2.3.1.4	Pasteurización en el envase definitivo	14
2.4	Materiales de envase	16
2.5	Estabilidad térmica de la leche	17
2.6	Efectos de la pasteurización	18
2.6.1	Efectos microbiológicos	20

2.6.2	Efecto enzimáticos	22
2.6.3	Efectos nutricionales	22
2.6.4	Efectos organolépticos	23
2.7	Definición de vida útil	23
2.7.1	Factores que afectan la vida útil de la leche pasteurizada	24
2.7.1.1	Calidad de la materia prima	26
2.7.1.2	Postpasteurización	27
2.7.1.3	Bacterias psicrotróficas	28
2.7.1.4	Termoresistencia	28
2.8	Ph	30
3	MATERIAL Y MÉTODO	31
3.1	Ubicación del ensayo	31
3.2	Materiales	31
3.2.1	Materia prima	31
3.2.2	Equipos y materiales de la planta piloto	31
3.2.3	Equipos y materiales de laboratorio	31
3.3	Método	32
3.3.1	Diseño experimental	32
3.3.2	Protocolo de procesamiento	33

3.3.3	Limpieza y sanitización de equipos y utensilios	33
3.3.4	Análisis fisicoquímico y microbiológico	33
3.3.4.1	Leche cruda	33
3.3.4.2	Leche pasteurizada	34
3.3.5	Análisis organoléptico de la leche pasteurizada	34
3.3.6	Análisis estadístico	35
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	36
4.1	Consideraciones generales	36
4.2	Análisis de la materia prima	36
4.3	Análisis de la leche pasteurizada	38
4.3.1	Análisis microbiológico	38
4.3.1.1	Análisis de microorganismos mesófilos	38
4.3.1.2	Análisis de microorganismos coliformes	40
4.3.1.3	Análisis de microorganismos psicrotróficos	43
4.3.2	Análisis químico	45
4.3.2.1	Análisis de pH	45
4.3.2.2	Análisis de Acidez titulable	46
4.3.3	Análisis evaluación sensorial	48
4.3.3.1	Análisis de aceptación general	48

4.3.3.2	Análisis de apariencia	49
5	CONCLUSIONES	52
6	RESUMEN – SUMMARY	54
7	BIBLIOGRAFÍA	56
8	ANEXOS	61

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición promedio de la leche de vaca	4
2	Relación de tiempo y temperatura para pasteurización	8
3	Porcentaje de pérdida de algunas vitaminas después de la pasteurización de la leche	23
4	Análisis microbiológico de materia prima	36
5	Análisis químico de materia prima	37
6	Crecimiento de microorganismos mesófilos en el tiempo	39
7	Crecimiento de microorganismos coliformes en el tiempo	41
8	Crecimiento de microorganismos psicrótrófos en el tiempo	43
9	pH en el tiempo	45
10	Acidez titulable en el tiempo	47
11	Resumen de promedios para evaluación sensorial	51

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Elaboración de leche fluida por tipo	6
2	Equipo pasteurizador para proceso Bach	11
3	Intercambiador de calor	12
4	Diagrama de flujo leche pasteurizada para los tres tratamientos térmicos	35
5	Curva de crecimiento de bacterias mesófilas en el tiempo	40
6	Curva de crecimiento de bacterias coliformes en el tiempo	42
7	Curva de crecimiento de bacterias psicrotróficas en el tiempo	44
8	Evolución del pH en el tiempo	46
9	Evolución de la acidez titulable en el tiempo	48
10	Gráfico de la aceptación general en el tiempo para cada tratamiento	49
11	Gráfico de la apariencia en el tiempo para cada tratamiento	50

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Resultado de análisis químico y microbiológico en leche pasteurizada	62
2	Análisis de varianza de leche pasteurizada para mesófilos, coliformes, psicrotróficos, pH y acidez titulable	63
3	Análisis microbiológico mesófilos tratamiento A, B y C en el tiempo	65
4	Comparación de resultados microbiológicos mesófilos entre tratamientos para cada tiempo	67
5	Análisis microbiológico coliformes tratamiento A, B y C en el tiempo	69
6	Comparación de resultados microbiológicos coliformes entre tratamientos para cada tiempo	70
7	Análisis microbiológico psicrotróficos tratamiento A, B y C en el tiempo	72
8	Comparación de resultados microbiológicos psicrotróficos entre tratamientos para cada tiempo	74
9	Análisis químico pH tratamiento A, B y C en el tiempo	76
10	Comparación de resultados químicos pH entre tratamientos para cada tiempo	78
11	Análisis químico acidez titulable tratamiento A, B y C en el tiempo	80

12	Comparación de resultados químicos acidez titulable entre tratamientos para cada tiempo	82
13	Evaluación sensorial de aceptación general en el tiempo	84
14	Evaluación sensorial de apariencia en el tiempo	86
15	Cartilla de evaluación sensorial de leche fluida aceptación	88
16	Cartilla de evaluación sensorial de leche fluida apariencia	89
17	Resumen de defectos de evaluación sensorial	90

1 INTRODUCCIÓN

La leche constituye un alimento básico en la alimentación humana, ya que aporta los nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo. La importancia de este alimento ha llevado a crear diferentes técnicas para su conservación como por ejemplo: secado, acidificación, radiación, el tratamiento por calor y frío. Estas técnicas buscan prolongar y conservar las características nutricionales y organolépticas de la leche original.

El proceso de pasteurización es un tratamiento controlado de tipo comercial que consiste en destruir mediante el empleo de calor, la totalidad de la flora patógena y casi la totalidad de flora banal que pudiese estar presente en la leche, procurando alterar lo menos posible sus características nutricionales y organolépticas de la leche original.

Existen dos tipos de pasteurización bien diferenciados: Pasteurización a alta temperatura durante un breve periodo de tiempo HTST (High Temperature – Short Time) y el proceso a bajas temperaturas por un tiempo prolongado LTLT (Low Temperatura - Long Time).

El estudio a realizar se plantea bajo la hipótesis que al pasteurizar leche cruda, envasada en recipientes definitivos (bolsas plásticas de medio litro), bajo el método de pasteurización en Baño María podría alcanzar una vida útil de 30 días.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Comparar los resultados de vida útil de leche pasteurizada en Baño María (64°C/20 minutos), previamente envasada en bolsas, con leche sometida a condiciones de pasteurización LTLT (64°C/20minutos) y HTST (75°C/15 segundos) envasadas después del tratamiento térmico.

1.1.2 Objetivos específicos

- Pasteurizar a 64 °C por 20 minutos en Baño María, leche cruda previamente envasada en bolsas (tratamiento A).
- Pasteurizar leche cruda antes del envasado, usando los métodos LTLT a 64 °C por 20 minutos (tratamiento B) y HTST a 75°C por 15 segundos (tratamiento C).
- Determinar vida útil de las leches pasteurizadas de los diferentes tratamientos: A, B y C a través de recuentos de bacterias mesófilas, coliformes y psicrótrofos, pH, acidez titulable y evaluación sensorial durante un periodo de 30 días.
- Comparar vida útil y condiciones de pasteurización de las leches tratadas mediante los métodos HTST, LTLT y en Baño María.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes generales

Desde un punto de vista fisicoquímico la leche es un fluido acuoso complejo formado por la presencia de varias fases en equilibrio. Posee una fase continua consistente en una solución acuosa de lactosa, sales orgánicas e inorgánicas, proteínas, vitaminas y otras pequeñas moléculas y dos fases discontinuas; una de ellas son los lípidos, existentes como glóbulos grasos con diámetros de 0,1 a 20 μm que forman una emulsión con la fase continua, y la otra fase consiste en agregados coloidales (caseínas) cuyo diámetro puede oscilar entre 50 y 600 nm. Por lo tanto, podría decirse que la leche es una emulsión de una fase grasa dispersa y una fase acuosa coloidal continua. En el CUADRO 1 se muestra la composición promedio de los componentes fundamentales de la leche. Cabe mencionar que la composición puede variar dependiendo de la salud del animal, del estado nutricional, etapa de lactación, edad, intervalos entre ordeños, entre otros (ALAIS, 1985; FENNEMA, 2000)

La leche como fuente de proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales, es uno de los alimentos más vulnerables a las alteraciones físico-químicas y deterioración por microorganismos y constituye un excelente medio de cultivo para determinados organismos, sobre todo para las bacterias mesófilas y, dentro de éstas, las patógenas, cuya multiplicación depende principalmente de la temperatura y de la presencia de otros microorganismos competitivos. Estos contaminantes pueden causar deterioración físico-química y organoléptica, que limitan la durabilidad de la leche y sus derivados, además de problemas económicos y de salud pública.

La práctica de hervir la leche antes de beber, ha constituido un gran avance en los correctos hábitos de consumo. Esta práctica ha producido la disminución de enfermedades transmitidas por el consumo de leche cruda. Sin embargo, el hervir la leche, causa la destrucción de muchas de las cualidades nutritivas de esta por sobre exposición al calor. El óptimo tratamiento es una combinación de tiempo y temperatura. Debido a esto, se han creado métodos como la acidificación, el secado, tratamiento por calor entre los que se encuentra la pasteurización, esterilización, entre otros; para lograr bajar los niveles de contaminación, lo que ha potenciado un mejoramiento de su calidad haciendo posible la difusión de su comercio a lugares lejanos, antes restringido.

CUADRO 1 Composición promedio de la leche de vaca.

Componentes	Composición (%)	
	1	2
Agua	87,3	86,6
Lactosa	4,9	5,0
Materia Grasa	3,4	4,1
Proteínas	3,4	3,6
Sales	0,9	0,7

FUENTE 1) ALAIS (1985); 2) FENNEMA (2000).

Uno de los principales métodos de conservación de la leche es la pasteurización, el cual debe su nombre al científico francés Louis Pasteur. Entre 1866 y 1876, estudiando las alteraciones del vino y de la cerveza, descubrió que un calentamiento moderado, sin sobrepasar la temperatura de 60°C, era capaz de evitar algunas alteraciones de los alimentos al dificultar el desarrollo de los microorganismos que las producen. Hasta el año 1880, este método no se aplicó a la leche. Poco después se comprobó que la pasteurización realizada de una determinada manera, era capaz de destruir también los gérmenes patógenos que frecuentemente contaminan la leche (SARRIA, 1998). El

proceso térmico comercial de la leche comienza a fines de 1880 con el principal objetivo de destruir el *Mycobacterium tuberculosis*, agente causante de la tuberculosis en humanos (ROGINSKI, 2005).

Los avances tecnológicos en materia de leche fluida en los últimos años, incluye mejoras importantes en unidades de operación de separación, estandarización, pasteurización, homogenización y envasado. Los avances se han dirigido hacia la capacidad de producción, automatización y una operación higiénica minuciosa. Se producen leches con larga vida útil con tratamientos a altas temperaturas, leche saborizada en envases individuales que han traído variedad y conveniencia al consumidor. Además, se han investigado otros métodos no térmicos como los campos eléctricos pulsados y el procesamiento a altas presiones, pero no se ha encontrado una aplicación práctica (GOOF, 2006).

A pesar de todos los adelantos tecnológicos en materia de leche, aún existen grupos que consumen leche sin pasteurizar, donde no existe control o inspección sanitaria. Debido que la leche es un alimento que proporciona al ser humano nutriente necesario para el crecimiento, desarrollo y mantención de la salud. Es necesario que la leche llegue a los consumidores de manera inocua y segura. Una forma de disminuir el comercio informal de leche es proporcionar a los pequeños productores un procedimiento de pasteurización práctico de bajo costo, que asegure un aumento de conservación y de comercialización de la leche, sin riesgo para el consumidor (OLIVEIRA, 1994).

2.2 Tendencias de consumo de leche pasteurizada

La producción de leche fluida ha ido aumentando en nuestro país de manera ininterrumpida desde el año 2004, con excepción del año 2008; no obstante, la producción de leche pasteurizada en los últimos años ha disminuido, siendo la industria Soprole, la única que produce leche pasteurizada. El contenido de grasa de esas leches pueden ser de 3%, 2.5% o descremada, aunque desde el año 2004 esta última

no se produce. La leche pasteurizada con 2,5% m.g. es la de mayor producción como se puede observar en el FIGURA 1. Del total de la leche fluida, menos del 3% es destinada a la elaboración de leche pasteurizada, lo restante es destinado a leche UHT en sus variedades entera, descremada y con sabor, la que incrementó su consumo por tercer año consecutivo en nuestro país. Lo que indica claramente que el consumidor chileno prefiere leche UHT antes que la leche pasteurizada (CHILE, ODEPA 2010).

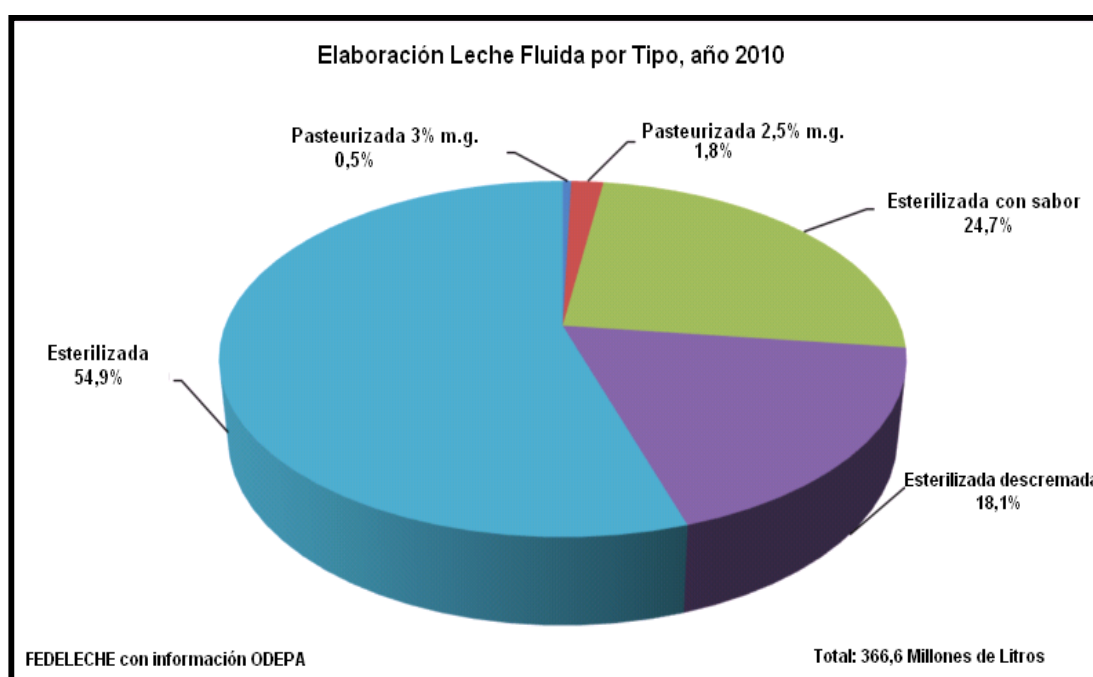


FIGURA 1 Elaboración de leche fluida por tipo.

FUENTE: FEDELECHE, 2010.

Situación similar ocurre en países como Colombia, Venezuela y Puerto Rico, donde la leche pasteurizada registra producciones mínimas, en comparación con la leche UHT la que en los últimos años ha aumentado su demanda por parte de los consumidores de los países mencionados (INFOLECHE). Un estudio realizado por TERAN (2007), sobre el consumo de leche UHT y leche fresca (pasteurizada y homogenizada) en el área central de Puerto Rico, indica como principales factores el consumo de leche UHT el envase, el precio, la conveniencia de no tener que refrigerarla hasta una vez abierta y el largo periodo de almacenamiento que posee.

En países desarrollados como Estados Unidos la leche fluida se presenta principalmente de forma ultra-pasteurizada, este método permite conservar la leche de manera refrigerada y se impone de manera gradual sobre la tradicional pasteurización. Además, la excelente refrigeración – distribución y sistemas en punto de venta, unido a la limitaciones en sabor que presenta la leche esterilizada debido al intenso calentamiento, han evitado que se acepte la leche UHT (ROGINSKI, 2005).

2.3 Definición de Pasteurización

La pasteurización es una medida de control microbiológica que utiliza calor con el objeto de reducir la cantidad de microorganismos patógenos de cualquier tipo que puedan estar presentes en la leche y los productos lácteos líquidos a un nivel en que no implique ningún peligro significativo para la salud del consumidor. Las condiciones de la pasteurización están hechas para destruir efectivamente los microorganismos *Mycobacterium tuberculosis* y *Coxiella burnetti* (FAO, 2007). Se debe considerar además, el poder prolongar la vida útil causando mínimos cambios químicos, físicos y organolépticos que ocurren en la leche durante el calentamiento (ROGINSKI, 2005).

La legislación chilena a través del Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003), indica en su artículo N° 199, que 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”.

Por su parte la Federación Láctea Internacional (The International Dairy Federation) define pasteurización como: “Un proceso aplicado a un producto con el objeto de disminuir posibles riesgos a la salud debido a microorganismos patógenos asociados a la leche, mediante un tratamiento térmico que consiste en mínimos cambios químicos, físicos y organolépticos en el producto”.

Las condiciones de tiempo y temperatura de la pasteurización que se muestran en el CUADRO 2 se tomaron de una curva de tiempo y temperatura los que fueron desarrollados sobre la base del tratamiento térmico necesario para destruir *Mycobacterium tuberculosis*, el cual fue considerado en ese momento como el patógeno mas resistente encontrado en la leche. Generalmente, los tiempos y temperaturas de pasteurización de la leche son basados sobre el tiempo de letalidad térmica del patógeno causante de la fiebre Q, *Coxiella burnetti* el cual fue subsecuentemente reconocido como ligeramente más resistente al calor (ROGINSKI, 2005).

CUADRO 2 Relación de tiempo y temperatura para pasteurización.

Temperatura °C	63 ^a	72 ^a	89	90	94	96	100
Tiempo	30 min.	15 s	1.0 s	0.5 s	0.1 s	0.05 s	0.01 s

FUENTE: Food and Drug Administration (FDA) para leche pasteurizada

^a si el contenido de grasa de la leche es 10% o más, o si es endulzada, la temperatura especificada debe ser incrementada en 3 °C.

La higiene y control de la leche tiene como objetivo básico asegurar la inocuidad. La presencia de cantidades suficientemente altas de ciertos microorganismos y sus toxinas constituyen la causa mas frecuente de problemas sanitarios, además de problemas económicos.

Actualmente, la leche utilizada por la industria lechera debe ser de alta calidad, para obtener el máximo de rendimiento en los productos lácteos y también aumentar el tiempo de vida útil, por lo tanto, la legislación sanitaria ha llevado a la industria a implementar sistemas que garanticen la calidad de sus productos.

2.3.1 Tipos de pasteurización. El tratamiento de pasteurización es un proceso controlado de tipo comercial. Este, implica un tratamiento térmico suave, generalmente a temperaturas por debajo del punto de ebullición del agua.

La pasteurización puede realizarse como operación discontinua “pasteurización por lotes” o “pasteurización lenta” a baja temperatura (LTLT), en la que el producto se calienta y se retiene en una cisterna cerrada, o como una operación continua “pasteurización rápida” a alta temperatura (HTST), en la que el producto se calienta en un intercambiador de calor y luego se deja en un tubo de retención por el tiempo requerido (FAO y OMS, 2007).

De acuerdo a CASP Y ABRIL (1999), se puede elegir entre dos grandes sistemas de pasteurización.

1. Baja temperatura en un tiempo largo (LTLT: low temperatura-long time): para este caso, sería mantener el producto a 63° C durante 30 minutos, de forma que se consiga destruir el bacilo tuberculoso sin que la temperatura empleada afecte las proteínas.
2. Alta temperatura durante un tiempo corto (HTST: high temperatura-short time): que en caso de la leche consistiría en un calentamiento a 72-75° C durante 15-20 segundos.

El sistema de pasteurización elegido, condicionará el equipamiento necesario para aplicarlo. El sistema LTLT se puede plantear en procesos por cargas o discontinuos, para productos líquidos (que se calientan por convección) a granel (en marmitas) o envasados; y el sistema HTST solo tiene sentido para productos líquidos en procesos continuos, empleando equipos de intercambio térmico de suficiente eficiencia para que la homogeneidad del tratamiento sea la conveniente pese a que el tiempo es corto (CASP Y ABRIL, 1999).

Por otro lado, POTTER (1999), separa los métodos de conservación por calor en dos modalidades; una implica el calentamiento de los alimentos en sus envases definitivos y en la otra el calentamiento se realiza previamente al envasado. Esta última modalidad incluye métodos que requieren un envasado en condición aséptica o muy próxima a tal situación con el fin de evitar, o al menos minimizar, la recontaminación.

Los procesos tradicionales de pasteurización (LTLT y HTST) se realizan bajo distintos métodos, tiempos y temperaturas de procesamientos. Por otro lado, POTTER (1999), señala que La pasteurización HTST o continua equivale al de pasteurización discontinua o LTLT en lo que se refiere a la destrucción de microorganismos.

2.3.1.1 Pasteurización baja. Es un método empleado hoy en día, sobre todo en países en desarrollo y por pequeños productores, debido a que es un proceso sencillo. Es uno de los métodos mas antiguos para pasteurizar eficazmente alimentos líquidos, como la leche (POTTER, 1999).

La pasteurización baja (Low-temperature long-time, LTLT) usa una combinación de tiempo y temperatura de 63° C por 30 min., provocando mínimas modificaciones en el sabor y el color (ALAIS, 1985). Este tratamiento se realiza mediante el método batch, a presión atmosférica, realizándose en un estanque o tina de doble pared y para evitar posible contaminaciones durante el tratamiento térmico, el proceso se realiza en estanques cerrados como se muestra en la FIGURA 2. Estos tanques están provistos de un agitador que asegura el calentamiento uniforme y de un termómetro que registra la temperatura y el tiempo del proceso. Este método ha sido sustituido por el método HTST (POTTER, 1999).

La ventaja de la pasteurización Bach es la simplicidad del método – calentamiento-retención- enfriamiento el cual puede ser hecho con sólo un tanque de doble pared. Sin embargo, para aumentar la eficiencia y reducir los costos de energía, todas las plantas

de leche líquida usan intercambiadores de calor de placas o tubulares que continuamente calientan la leche a un mínimo de 72° C por un mínimo de 15 segundos. El método continuo es llamado método high-temperature, short-time (HTST) (ROGINSKI, 2005).

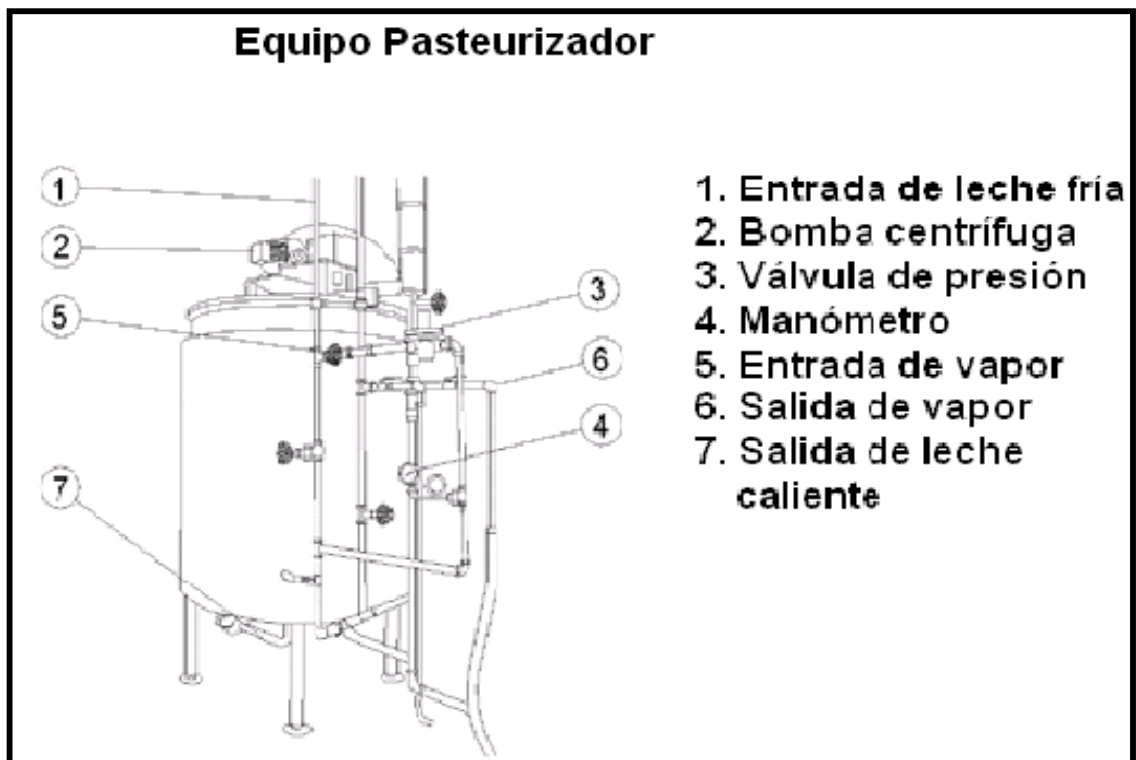


FIGURA 2 Equipo Pasteurizador para Proceso Bach.

2.3.1.2 Pasteurización alta. Actualmente, el método de pasteurización más común es el de los intercambiadores de calor diseñados para el proceso HTST (high-temperature short-time), proceso continuo que se realiza a temperatura de 72° C por 15 segundos (ROGINSKI, 2005).

En el sistema HTST la leche cruda mantenida en un estanque, a temperaturas de refrigeración, se hace pasar por un intercambiador de calor de placas (ver FIGURA 3) o de forma tubular donde alcanza la temperatura programada. La clave del proceso

reside en asegurar que cada partícula de leche permanece a no menos de $71,7^{\circ}\text{C}$ por al menos 15 segundos. Esto se logra haciendo pasar la leche por un tubo de mantenimiento de manera que cada partícula tarde 15 segundos en recorrerlo. Al final del recorrido existe un sensor de temperatura y una válvula de desviación. Si cualquier volumen de leche que alcance una temperatura inferior a la programada, se abre la válvula de desviación y la leche es enviada al inicio del recorrido (POTTER, 1999).

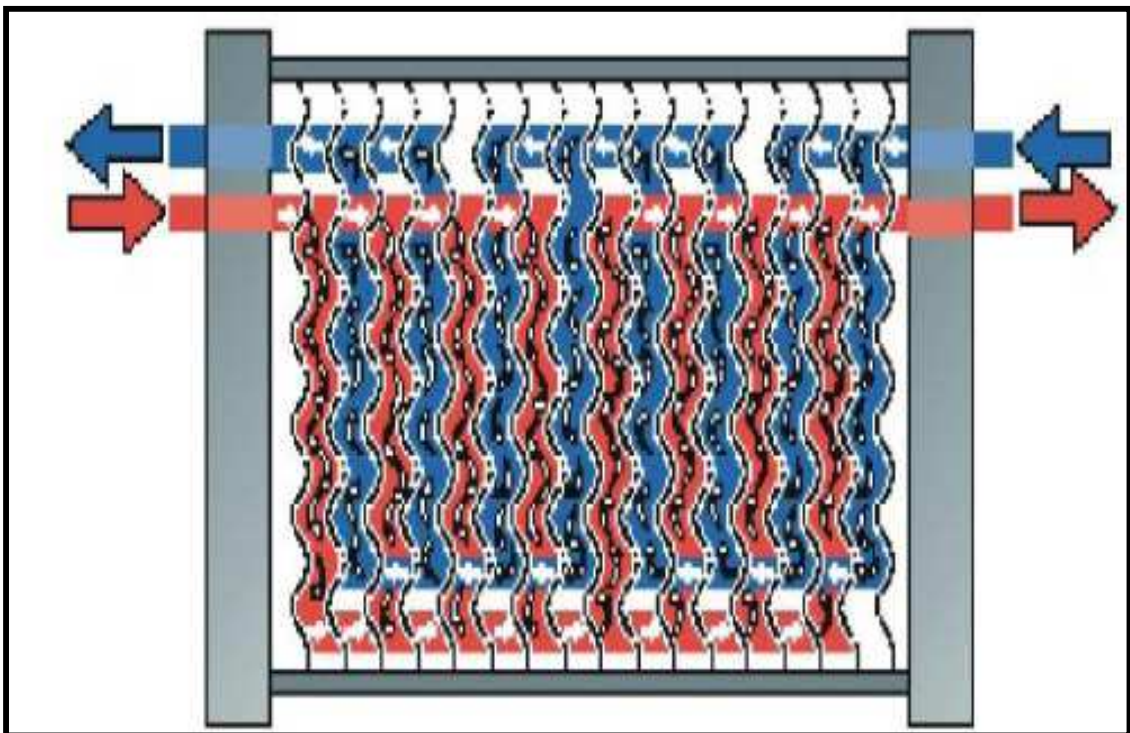


FIGURA 3 Intercambiador de calor.

El método HTST es el más aplicado por la industria lechera a gran escala, ya que permite realizar la pasteurización de grandes cantidades de leche en poco tiempo. Además debido a que los sistemas biológicos son mas sensibles a la temperatura que los sistemas nutricionales como los involucrados en la destrucción de nutrientes, la tecnología de los alimentos moderna emplea este principio para eliminar los microorganismos y enzimas perjudiciales minimizando el daño de las características nutritivas y organolépticas, por esto los procesos actuales privilegian las altas

temperaturas por corto tiempo a diferencia de aquellos que implican largos tiempos de exposición térmica (PERÚ, MINISTERIO DE AGRICULTURA 2009).

El equipo del Pasteurizador esta compuesto por un panel de control con termoregistrador y termorregulador automático, válvula automática de desvío de flujo y termómetro, son condiciones que minimizan la contaminación (SOUZA, 2005).

2.3.1.3 Súper pasteurización. El proceso de Súper- pasteurización es un tipo de tratamiento térmico aplicado a la leche mediante tecnologías térmicas de manera directa o indirecta. La temperatura utilizada generalmente en la súper pasteurización es de 138 °C por 2 segundos, el cual es menor a la temperatura usada en el proceso UHT (145 °C por 3 segundos) y mayor a la pasteurización HTST (75 °C por 15 segundos) (ROGINSKI, 2005).

La leche Súper pasteurizada posee una vida útil de hasta 90 días a temperaturas de refrigeración y sus propiedades sensoriales son superiores a la leche esterilizada (UHT). Esta leche representa una alternativa para el proceso UHT, combinando los beneficios de una larga vida útil con buenas características sensoriales de la leche pasteurizada tradicional. Este método involucra un apropiado tratamiento térmico con tecnologías de envasado aséptico y un control de temperatura durante su distribución (ROGINSKI, 2005).

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, US. (2007), menciona que el término ultra – pasteurización (UP) se utiliza para describir un producto lácteo, que haya sido procesado térmicamente a o por encima de 138 °C (280 °F) a lo menos por 2 segundos, ya sea antes o después del envasado, a fin de producir un producto que tenga una larga vida útil bajo condiciones de refrigeración. Los efectos de la ultra pasteurización sobre la calidad nutricional son mínimos, no se presentan cambios en el contenido graso, la lactosa o las sales, sólo se presentan cambios menores en el valor nutricional en proteínas y vitaminas (ZAVALA, 2009).

2.3.1.4 Pasteurización en el envase definitivo. El tratamiento térmico tradicional de la leche consiste en pasteurizar la leche y luego envasarla; en la pasteurización en envase definitivo, primero se envasa la leche y luego se somete a pasteurización. La ventaja de pasteurizar la leche en el envase, radica en que el empaque también es sometido al tratamiento térmico, con lo que se consigue disminuir la carga inicial de microorganismos viables, incrementándose la duración de la leche.

Si nos referimos a la pasteurización de productos envasados, debemos decir que, el producto se calentará y enfriará dentro de un envase, por lo tanto, la relación térmica estará determinada por la geometría del envase (diseño, capas, material) y naturaleza del producto (líquidos y sólidos). Para el caso de la leche líquida, se debe mencionar que es un producto de baja viscosidad, lo cual permite la formación de corriente de convección, en los que el calentamiento es muy rápido (CASP Y ABRIL, 1999, WELTI CHANES, 2005).

Cuando se quiere pasteurizar productos envasados, ya sean líquidos o sólidos, se puede realizar de dos maneras, pasteurización por inmersión en baño de agua o por lluvia de agua. Así mismo, POTTER (1999), señala que pulverizaciones de agua caliente o chorros de vapor se aplican directamente a los envases al pasar por la zona de calentamiento, los que luego deben pasar por la zona de enfriamiento.

La evolución de los envases, ha llevado al reemplazo de las botellas de vidrio por envases de polietileno logrando nuevos y fáciles procesos. La pasteurización de la leche en bolsa, es una nueva alternativa que la FAO (Food and Agricultura Organization, 2001) y los gobiernos de los países en desarrollo están difundiendo en varias modalidades para ayudar a los pequeños productores de leche en países subdesarrollados a comercializar en pequeña escala la leche, obteniendo una mejor retribución económica por su actividad.

De acuerdo a un estudio realizado en Brasil por TEIXEIRA NETO *et al.* (1997),

concluye que el método de pasteurización de leche por inmersión en agua caliente de bolsas de polietileno, es un proceso conveniente para ser usado en procesos en pequeña escala. Asimismo, OLIVEIRA (1994), indica que la pasteurización en Baño María, es un proceso práctico y de bajo costo para pequeños productores de leche, asegurando así un aumento de tiempo de conservación y consecuentemente comercialización, sin riesgo para el consumidor.

La pasteurización artesanal en bolsas, llamado procesamiento Milkpro, es una nueva alternativa de origen Sud Africano, que consiste en envasar la leche antes de la pasteurización. El tipo de envase utilizado puede ser bolsa de polietileno (sachets) o botellas plásticas, su operación manual es simple y fácil de mantener. Este método requiere de poco gasto en activos, posee un equipo de envasado que tiene un sistema de sellado de bolsas por gravedad, un pasteurizador donde se depositan canastas especiales tipo mini estantes con bolsas llenas de leche. Estas canastas impiden que las bolsas entren en contacto unas con otras y además se escapen a la superficie del pasteurizador. También hay un tanque enfriador de agua helada con recirculación por intermedio de una bomba para bolsas de leche ya pasteurizada. Este sistema está limitado a pocos volúmenes de procesamiento (hasta 1,400 litros/día). Ya existe en América Latina, en Ecuador y el Perú (PERÚ, MINISTERIO DE AGRICULTURA. 2009)

En un estudio realizado en Brasil por SHUSTER (2005), se comprobó la eficiencia de la pasteurización lenta de la leche previamente envasada. Se usó un equipo alternativo, el que demostró ser adecuado para pequeños volúmenes de pasteurización lenta de la leche, y se puede procesar la leche recién ordeñada o la leche refrigerada. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las bolsas deben estar dispersas de forma uniforme y sumergidas, para que la pasteurización se produzca correcta y plenamente en toda la leche.

Además, ALAIS (1985), menciona que la pasteurización de leche dentro del envase, debe aplicarse dentro de las 24 horas siguientes a la recogida; y el tiempo total transcurrido entre el primer ordeño y el envasado será como máximo de 96 horas,

realizándose la pasteurización y el envasado en la misma fábrica. La leche puede ser entera, semidescremada o descremada. La materia prima utilizada debe ser cruda o moderadamente calentada y mantenida a 4 °C después de su recepción.

2.4 Materiales de envase

El contacto del alimento con el material de envase produce interacción que puede afectar el sabor, la vida útil y el aroma del alimento. Interacciones pueden ser permeabilidad de gases, vapor de agua, migración de componentes del envase hacia el alimento y la penetración de la luz a través del envase. Estas interacciones alteran la composición, calidad, y propiedades físicas del alimento y el envase (SIMON y HANSEN, 2001).

Con el aumento continuado del uso de materiales flexibles para el envasado, se ha desarrollado la esterilización de alimentos en bolsas flexibles de plástico. Las bolsas de plástico requieren tiempos mas cortos en el autoclave porque la penetración del calor a través de las finas paredes del plástico es bastante rápida, lo que, a su vez, puede posibilitar la obtención de productos de alta calidad y al mismo tiempo se logra un ahorro energético (POTTER, 1999)

El material más usado en la fabricación de envases flexibles es el Polietileno de baja densidad (LDPE). También se encuentra el Polietileno de baja densidad lineal (LLDPE), Polietileno de ultra baja densidad (ULDPE), Polietilenos Metalocenos y Polipropileno (PP), (GALLOTTO y GUARDA, 2002) . El Polietileno de baja densidad (LDPE) es un termoplástico, obtenido del etileno, se usa en la fabricación de bolsas de todo tipo y su punto de ablandamiento es entre 120 – 180 °C. Se puede obtener un film monocapa y la lámina hecha de este material es suave al tacto, flexible y fácilmente estirable, tiene buena claridad, provee una buena barrera para el agua y vapor de agua, además posee una excelente resistencia química, pero presenta una baja resistencia al oxígeno (ROBERTSON, 1993)

También se encuentra el Polietileno de alta densidad lineal (LLDPE) no tiene olor o sabor que pueda afectar al producto empacado, y es fácilmente sellable por calor. Se utiliza en la capa de Sello, esta capa es de suma importancia, ya que será la que va a estar en contacto directo con el alimento, por lo que los materiales utilizados en esta capa son inocuos evitándose cualquier tipo de reactividad (ILLANES, 2004)

De acuerdo a un estudio sobre la deterioración de la calidad de leche inducida por la luz envasada en bolsas de polietileno de color claro, se observó cambios en el sabor de la leche (ROBERTSON, 1993)

Dependiendo del grado de protección que ofrezca el envase, este permitirá permear mayor o menor cantidad de oxígeno en el tiempo, que definirá en la vida útil del alimento, ya que los cambios químicos (oxidación lipídica) o microbiológicos (crecimiento bacteriano) se ven acelerados con la presencia de oxígeno. Entonces controlar la tasa de ingreso de oxígeno al interior del envase es un atributo crítico del envase de barrera.

2.5 Estabilidad térmica de la leche

Los tratamientos térmicos tienen como consecuencia una serie de modificaciones de las características de la leche. Según POTTER (1999), los tratamientos térmicos pueden afectar los componentes termolábiles, el equilibrio físico - químico de las sales, producir efectos sobre la estabilidad, pH, poder óxido – reducción y afectar las propiedades organolépticas y nutritivas de la leche.

Por su parte Alais y FAO, citados por CID (2004), indican que los efectos de un tratamiento térmico y sus consecuencias se relacionan con la precipitación de las proteínas solubles sobre las caseínas restringiéndose la cantidad de calcio y fosfatos solubles.

Además Fox, citado por CID (2004), afirma que la exposición de la leche a elevadas temperaturas y por tiempos prolongados produce cambios tales como:

- Denaturación de proteínas del suero e interacción con la caseína
- Precipitación del fosfato de calcio
- Reacción de Maillard
- Modificación de las caseínas que incluyen desfosforilación, hidrólisis de κ -CN e hidrólisis en general
- Cambios de la hidratación y disociación de la estructura micelar
- Disminución del pH

Esta disminución de pH se debería a la producción de ácidos orgánicos, precipitación del fosfato de calcio primario y secundario y a la hidrólisis del fosfato orgánico con una posterior precipitación como $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ liberando iones de hidrógeno.

2.6 Efectos de la pasteurización

Las temperaturas de pasteurización son aplicadas con la finalidad de destruir los microorganismos patógenos que pueda haber en la leche y que tengan importancia desde el punto de vista de la salud pública. El segundo objetivo de la pasteurización es ampliar la vida útil desde un punto de vista microbiano y enzimático (Potter, 1999).

De igual forma WALSTRA (1999), señala que el calor produce cambios químicos en la leche que dependerán de la intensidad del tratamiento; es decir, de la combinación de la temperatura y la duración del calentamiento. Los tratamientos térmicos también pueden causar cambios indeseables como: pardeamiento, desarrollo de sabor a cocido, pérdida de calidad nutricional, inactivación de inhibidores bacterianos. Tales cambios apenas ocurren en tratamientos térmicos de baja intensidad como lo es la pasteurización HTST y LTLT.

Según O'connell, citado por OLAVARRÍA (2006), 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

Por su parte ROGINSKI (2005), menciona que el proceso de pasteurización ha sido diseñado para destruir todos los patógenos no formadores de esporas resistentes al calor que se encuentran en la leche cruda, incluyendo *Coxiella burnetti*, *Mb. Tuberculosis* y *Listeria monositógenes*. Otros patógenos menos resistentes al calor relacionados con la salud pública como: *Brucella*, *Staphilococcus aureus*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Echerichia coli* O157:H7, son aún más fácilmente inactivados por la pasteurización. Sin embargo, bacterias termodiuricas formadoras de esporas (*bacillus* y *clostridium*) pueden sobrevivir en la pasteurización.

Las industrias lácteas a veces emplean temperaturas altas de pasteurización para aumentar la corta vida útil de la leche (RANIERI, 2009). Por otro lado, SIMON y HANSEN (2001), indica que si la temperatura de procesamiento es mayor al rango de 80 a 90 °C, esto puede estimular el crecimiento de esporas, disminuyendo el efecto inhibidor de compuestos antimicrobianos, produciendo elementos de crecimiento más fácilmente disponible para las células, y así disminuir la vida útil de la leche.

La Organización mundial de la salud y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (OMS/FAO, 2007), indica que las condiciones mínimas de pasteurización para leche entera (4% de grasa) son las que tienen efectos bactericidas equivalentes al calentamiento de cada partícula en la leche a 72 °C por 15 segundos o a 63 °C durante 30 minutos. Se pueden obtener condiciones similares uniendo la línea que conecta estos puntos en un gráfico logarítmico de tiempo y temperatura, y también tratamiento a temperaturas superiores a 72 °C.

El efecto del calentamiento (72 °C por 20 segundos) sobre el glóbulo de grasa es que desnaturaliza las aglutininas superficiales de los glóbulos y dificulta la formación de la capa de crema. Cuando el calentamiento alcanza 85 - 90 °C durante 15 a 20 s puede observarse la pérdida de material de la membrana del glóbulo graso (SARRIA, 1998).

2.6.1 Efecto microbiológico. Dado que se trata de un producto de origen animal, sujeto a grandes variables en su proceso de obtención primaria, se puede contaminar por microorganismos provenientes del centro de producción primaria o de la planta de proceso. Algunos de estos microorganismos son patógenos para el hombre, mientras que otros, producen alteraciones en la leche, como acidificación, proteólisis y lipólisis, que la hacen poco apta para el consumo.

La relación de tiempo - temperatura de pasteurización fueron originalmente desarrollados sobre la base del tratamiento térmico necesario para destruir la *Mycobacterium tuberculosis*, el cual fue considerado en ese momento como el más resistente al calor encontrado en la leche. Actualmente, el tiempo y temperatura de pasteurización de la leche se basan en estudios para el patógeno más resistentes al calor encontrado en la leche, *Coxiella burnetti* (ALAIS, 1985 y WALSTRA, 1999)

En el caso de la leche, los microorganismos patógenos más importantes son *Salmonella Thypi* y *Parathypi* (productores del tifus), *Brucella melitensis* (bacilo de la fiebre de Malta), *Streptococcus*, *Staphylococcus* y el bacilo de Koch (responsable de la tuberculosis). La mayor parte de estos gérmenes no producen alteraciones en la leche y no pueden ser puestos de manifiesto, sino a través de un análisis bacteriológico. Afortunadamente, todos estos microorganismos son destruidos por un tratamiento térmico ligero (CASP Y ABRIL, 1999), siendo *Mycobacterium tuberculosis* (bacteria no esporulada) el organismo mas termorresistente, que puede transmitir la tuberculosis al hombre; Sin embargo, empleando temperaturas de 62° C por 30 minutos, se asegura su destrucción (POTTER, 1999). No obstante, en estas condiciones todavía sobrevive la *Coxiella burnettii*, responsable de la fiebre Q y el patógeno más termorresistente que crece en la leche. Por esta razón, la temperatura de pasteurización se incrementó a

63 °C por 30 minutos (BADUI, 1999). FAO (1984), señala que los métodos de pasteurización de 63 – 65 °C por 30 minutos y 72 – 75 °C por 16 segundos, destruye todos los microorganismos patógenos y el 99% de los no patógenos, pero no destruye los microorganismos esporulados (AMIOT, 1991).

La destrucción de los microorganismos por pasteurización es descrita por la cinética de primer orden (ALAIS, 1985). La pasteurización destruye la mayoría de los microorganismos de la leche, pero no la vuelve estéril. Esporas y bacterias termodiuricas pueden ser sobre todo difíciles de destruir por pasteurización. Por lo tanto, la leche pasteurizada debe ser conservada bajo condiciones de refrigeración (menor a 4 °C) a lo largo de la distribución y almacenamiento (ROGINSKI, 2005).

Por su parte ALAIS (1985), indica que numerosos estudios han demostrado que no existe ninguna relación entre la microflora total de la leche suministrada por el productor y el número de bacterias termoresistentes que se encuentran en la leche después de la pasteurización, y que son estas últimas las que influyen en la calidad de conservación de la leche pasteurizada, si se evita toda otra contaminación.

Las bacterias coliformes crecen rápidamente en la leche, especialmente sobre 20 °C, y atacan proteínas y lactosa, como resultado de esto se forma gas y el sabor de la leche se vuelve “sucio”. La pasteurización baja 72 °C por 15 segundos, mata a los coliformes prácticamente al mismo grado como el *Mycobacterium tuberculosis*. Si los coliformes están ausentes en la leche pasteurizada, el producto ha sido calentado eficientemente y es muy probable que no haya sido recontaminada. (WALSTRA, 1999).

Las bacterias ácido lácticas, entre las que se encuentran los géneros *Lactococcus* y *Lactobacillus*, producen ácido láctico fundamentalmente a partir de la lactosa y un tratamiento de pasteurización baja suele ser suficiente para eliminarlas (PEREDA, 2008).

2.6.2 Efecto enzimático. Las enzimas de la leche se hallan repartidas por todo el sistema, sobre la superficie del glóbulo graso, asociados a las micelas de caseína y en forma simple en suspensión coloidal. (FENEMA, 1985).

Según ROGINSKI (2005), varias enzimas endógenas de la leche son destruidas por la pasteurización. La denaturación de lipasas y algunas proteasas limitan la formación de mal sabor en la leche pasteurizada y así contribuye a extender la vida útil. En contraste, muchas lipasas y proteasa de origen bacteriano son muy resistentes al calor y no pueden ser inactivadas por pasteurización.

2.6.3 Efecto nutricional. La pasteurización causa solo pérdidas nutricionales menores en la leche. El compuesto más afectado en la leche es la vitamina C, cuyas pérdidas, como se muestran en el CUADRO 3, llegan a un 20% del contenido original del producto (ROGINSKI, 2005). Sin embargo, estas pérdidas no se deben solamente a la pasteurización, cuando la leche es expuesta a la luz sufre pérdidas de esta vitamina con gran rapidez. Una manera de evitar en gran medida la pérdida de ácido ascórbico durante el tratamiento térmico, es eliminando el oxígeno de la leche antes de pasteurizarla (SARRIA, 1998).

De acuerdo a ROGINSKI (2005), las proteínas séricas de la leche son muy termolábiles, se desnaturalizan cuando se someten a temperaturas superiores a 56 °C por 30 minutos. El calentamiento provoca la agitación de las moléculas de proteínas del suero que tienen carácter globular. Esta agitación aumenta con la temperatura y provoca la ruptura de enlaces secundarios que unen las cadenas polipeptídicas produciendo cambios en la estructura nativa (SARRIA, 1998). La desnaturalización de las proteínas séricas es más importante cuanto más alta sea la temperatura utilizada en el procesamiento industrial. Para el caso de la pasteurización LTLT (63° C por 30 min.) y HTST (72° C por 15 - 20 s.) el porcentaje de proteína séricas desnaturalizadas es mínima en comparación con tratamientos UHT.

Las vitaminas liposolubles A, D, E y K que se encuentra en la leche son componentes

de la fase lipídica, bastante estables al calor y otros tratamientos. No obstante, se produce una importante destrucción de vitamina A y E en presencia de lípidos oxidados o cuando los productos se exponen a la luz (FENNEMA, 1985).

CUADRO 3 Porcentaje de pérdida de algunas vitaminas después de la pasteurización de la leche.

Vitaminas	A	B ₁	B ₆	B ₉	B ₁₂	C	D
Perdidas (%)	ns *	10	1- 5	3 – 5	1 – 10	5 – 20	ns *

*ns, no significativo

FUENTE: ROGINSKI, 2005

Los tratamientos térmicos severos, como la esterilización en el envase y la deshidratación, puede causar pérdidas de muchas vitaminas. Esto es de especial importancia en cuanto a la vitamina B₁₂, debido a que la leche es una fuente dietética importante de esta vitamina (FENNEMA, 2000).

2.6.4 Efecto organoléptico. El tratamiento de pasteurización no altera significativamente el sabor de la leche y el sabor a cocido es insignificante en la leche pasteurizada (SIMON y HANSEN, 2001). Así mismo POTTER (1999), señala que las temperaturas alcanzadas en la pasteurización no producen “sabor a leche cocida” ni afecta el valor nutritivo de la leche, pues aunque se destruya una cantidad mínima de vitaminas se compensa fácilmente con el consumo de otros alimentos de la dieta.

2.7 Definición de vida útil

Los alimentos son sistemas físico-químicos y biológicamente activos, por lo tanto la calidad de los alimentos es un estado dinámico que se mueve continuamente hacia niveles más bajos. Así pues, para cada alimento en particular, hay un periodo de tiempo determinado, después de su producción, durante el cual mantiene el nivel

requerido de sus cualidades organolépticas y de seguridad, bajo determinadas condiciones de conservación. Este periodo se define como vida útil del alimento (CASP Y ABRIL, 1999).

La vida útil es el tiempo durante el cual la leche pasteurizada puede ser guardada bajo ciertas condiciones sin cambios indeseables aparentes. De acuerdo a ALAIS (1985) y AGGAD (2010), indican que la vida útil de la leche pasteurizada en el envase es de 7 días, a una temperatura de almacenamiento igual o inferior a 6 °C, antes que aparezcan defectos.

Según ROGINSKI (2003), señala que la leche pasteurizada por métodos tradicionales, generalmente tiene una vida útil de 7 a 28 días, el que depende de factores tales como: la calidad de la leche cruda, contaminación post pasteurización y control de temperatura especialmente en el envasado y almacenamiento.

2.7.1 Factores que afectan la vida útil de la leche pasteurizada. La vida útil de la leche pasteurizada depende de factores tales como: calidad microbiológica de la leche cruda (BARBANO *et al.*, 2006), condiciones precisas de procesamiento, contaminación post - pasteurización y temperatura de refrigeración (ROGINSKI, 2005; ALAIS 1985). Debido a que la leche pasteurizada no es una leche estéril, el enfriamiento debe realizarse inmediatamente después de la pasteurización, este factor evita la multiplicación de bacterias sobrevivientes, ya que la temperatura de almacenamiento es altamente dependiente del tiempo de generación de los microorganismos (POTTER, 1999).

Para obtener leche con una prolongada vida útil se debe tomar en cuenta el esquema de proceso, limpieza y sanitización y el control de temperatura del producto desde sus inicios hasta el consumidor para evitar la contaminación de bacterias sicrótróficas, tales como *Seudomonas* y especies de *Bacillus* quienes disminuyen la vida útil del producto final (ROGINSKI, 2005).

Los cambios en la leche pasteurizada durante el almacenamiento pueden distinguirse en:

- Descomposición por crecimiento bacteriano en la leche, como producción de ácido, proteólisis e hidrólisis de grasa.
- descomposición por enzimas de la leche o por enzimas bacterianas extracelulares, como fallas en la grasa y proteínas.
- reacciones químicas causando sabor a oxidado o a luz solar (asoleada)
- cambios fisicoquímicos como floculación y formación de gel el cual puede causarse por cambios mencionados anteriormente.

La deterioración de la leche pasteurizada se debe especialmente al crecimiento de microorganismos. Esto es determinado por: temperatura de almacenamiento, magnitud de recontaminación, grado de crecimiento (tiempo de generación) de la bacteria involucrada, número de esporas de *Bacillus cereus* en la leche original y actividad de las sustancias que inhiben el crecimiento bacteriano (WALSTRA, 1999).

BARBANO *et al.*, (2006), indica si el recuento bacteriano de la leche cruda es < 25.000 ufc/ml. entonces el recuento de células somáticas de la leche cruda será el factor más importante en la vida útil de la leche pasteurizada con respecto al desarrollo de sabores desagradables cuando el crecimiento bacteriano está controlado (es decir, < 500.000 ufc/ml.). La influencia del recuento de células somáticas en la leche cruda sobre la calidad de la leche fluida pasteurizada es causada por el aumento de niveles de proteasas y lipasas termoestables originarias de la vaca con altos recuentos de células somáticas.

Como la pasteurización no es capaz de eliminar todas las toxinas, enzimas y esporas microbiológicas que pueden estar presentes en la leche cruda es necesario mantener bajo control el proceso antes y después de la pasteurización, así como la temperatura de refrigeración en el almacenamiento de la leche pasteurizada, ya que es un punto

importante de contaminación. (López y Stamford, citado por SOUZA, 2005)

2.7.1.1 Calidad de la materia prima. La calidad de la leche cruda según Sokolow *et al.* citado por RODRÍGUEZ (2002), es el conjunto de características que determinan su grado de idoneidad para los fines previstos de uso y tratamiento.

Heimlich y Carrillo, citados por RODRÍGUEZ (2002). Señalan que el parámetro de calidad más importante a considerar es la calidad microbiológica de la leche. Esta se expresa como la cantidad de bacterias por ml de leche, sin embargo, el recuento de células somáticas también es tomado en cuenta por las industrias lecheras como un indicador de calidad higiénica que refleja el estado de salud de la ubre del animal.

En un estudio realizado por MA *et al.*, (2000) para determinar el efecto de recuento de células somáticas en la leche cruda sobre la lipólisis, proteólisis, atributos sensoriales y calidad microbiológicas de leche fluida pasteurizada durante 21 días de vida útil, determinó que la leche con altos recuentos de células somáticas presentó a los 14 días defectos sensoriales tales como amargura y rancidez. Sin embargo, la leche con bajos recuentos mantuvo sus características organolépticas hasta los 21 días. Además, Amiot y Wheelock, citado por CID (2004) mencionan que la presencia de enfermedades como la mastitis los contenidos de sodio y cloruros aumentan, haciendo la leche más salada, mientras que el contenido de calcio, fósforo y potasio disminuyen.

Un manejo deficiente de los procesos de obtención de leche a nivel predial, de la recolección y de la recepción y almacenamiento a nivel de centro de acopio, sin duda que puede afectar la calidad higiénica de la leche, y específicamente sus recuentos microbiológicos. Uno de los principales factores que inciden en la obtención de una leche de “buena” calidad microbiológica, es el grado de limpieza del proceso de ordeña y posterior almacenamiento, pues la contaminación inicial es uno de factores más importantes que determinan el número de microorganismos de la leche (CARRILLO, B.; GONZALEZ, M. y SCHOBITZ, R. 2004).

La leche cruda contiene bacterias saprofitas que atacan a los principales constituyentes de la leche como las bacterias glicolíticas (*estreptococos* y *lactobacilos*), bacterias proteolíticas (*Pseudomonas*, *enterobacterias* y bacterias aerobias formadoras de esporas) y lipolíticas (*Pseudomonas*, *micrococcus*, *aeromonas* y *corynebacterias*). La presencia y multiplicación de bacterias saprofitas puede cambiar la composición de la leche e influir en la calidad de los productos (Heeschen, citado por MUÑOZ, 2003).

Además ALAIS (1985) señala, que el tratamiento de pasteurización reduce al nivel mas bajo posible la flora saprofita quedando un remanente; por lo tanto, este procedimiento no transforma una leche cruda de mala calidad microbiológica en una leche pasteurizada de buena calidad.

2.7.1.2 Postpasteurización. Los cambios durante el almacenamiento en la leche pasteurizada, se deben especialmente a contaminaciones postpasteurización, esto es debido a que el proceso no es aséptico y una cierta cantidad de contaminación luego de realizar el tratamiento térmico es inevitable. Especialmente, la contaminación por bacterias Psicrótróficas, tales como *Bacillus* y *Pseudomonas*, quienes acortan la vida útil del producto terminado (ROGINSKI, 2003).

De acuerdo a VALBUENA *et al.*, (2007), después de una pasteurización adecuada, los microorganismos pueden contaminar la leche de manera directa o indirectamente, a través de equipos defectuosos, contacto con las manos o ropa de los operarios, exposición a estornudo o tos o por caídas de gotas contaminadas, produciendo de esta manera una recontaminación, constituyendo un peligro para el consumidor.

La temperatura de la leche durante su transporte y almacenamiento es uno de los factores más importante que afecta el crecimiento bacteriano y por lo tanto influye en su tiempo de conservación, determinando los tipos de microorganismos que se desarrollan. Por otro lado ALAIS (1985), indica que la mayoría de los gérmenes responsables de la recontaminación son sicrótróficos no esporulados, sobre todo *Pseudomonas*; bacterias láctica (*estreptococos*) y sicrótróficos esporulados del genero

bacillus (*B. cereus*, *B. licheniformes*). Si la leche es conservada sobre el rango de los 10 y 12 °C, es la flora termofílica la beneficiada y por lo tanto responsable de las alteraciones de la leche pasteurizada (VALBUENA et al., 2007).

2.7.1.3 Bacterias psicrófilas. La refrigeración de la leche es usada en centros de acopio e industrias, el uso de bajas temperaturas (4 °C) a mejorado la calidad de leche evitando el crecimiento de microorganismos mesófilos. Desde la ordeña hasta su pasteurización la leche es mantenida en temperaturas de refrigeración, ocasionando una reducción en el número de bacterias mesófilas. Sin embargo, prácticas como estas pueden provocar un crecimiento selectivo de bacterias psicrófilas (SOUZA, 2005). Estos microorganismos son capaces de crecer a temperaturas menores a 7 °C, aunque su temperatura óptima de crecimiento esta situada entre los 20 y 30 °C. Sin embargo, estos microorganismos son fácilmente destruidos por la pasteurización pero sus enzimas proteolíticas y lipolíticas resistentes al calor permanecen en la leche incluso después del tratamiento térmico (ROGINSKI, 2005 y WALSTRA, 1999).

Las bacterias psicrófilas que se encuentran en la leche provienen del medio ambiente, suelo, agua, vegetación, ubres y del equipo de ordeña inadecuadamente limpiado (SAEKI, 2010). Aunque las bacterias psicrófilas encontradas en la leche refrigerada comprenden bacterias Gram-negativas y Gram-positivas (FROEDER et al, 2008). Particularmente *Pseudomonas* dominan la leche cruda y pasteurizada, en el momento del deterioro, por presentar mejor capacidad de crecimiento en ambientes refrigerados (SOUZA, 2005).

ROGINSKI (2005), menciona que leche pasteurizada de corta vida útil (<5 días a 4-6 °C) contiene casi en su totalidad *Pseudomonas spp* (90,7%), mientras que otras con vida útil >10 días tiene un mayor porcentaje de tener otros tipos de microorganismos y *Pseudomonas spp* un 68% de los aislamientos.

De acuerdo a Sorhaug y Stepaniak, citados por PEREDA (2008) La mayoría de la bacterias psicrófilas producen proteasas y lipasas, así por lo tanto atacan proteínas

y grasas, provocando alteraciones físicas y organolépticas causando sabores anormales (jabonoso y pútrido) durante su almacenamiento, comprometiendo el consumo de la leche. Así mismo, GANDY et al. (2008), indica que las lipasas provenientes de bacterias psicrotróficas, hidrolizan triglicéridos de cadena corta, dejando como resultado un sabor rancio en la leche.

Además, ALAIS (1985), señala que las lipasas se encuentran en la leche de manera natural, en pequeñas cantidades, pero su estabilidad térmica es mínima y se destruye por encima de los 60 °C. Esta sensibilidad al calor las diferencia de las lipasas de las bacterias psicrotróficas, las que son altamente resistentes al calor, alterando incluso propiedades fisicoquímicas en leche UHT almacenada (WALSTRA, 1999).

El número de bacterias psicrotróficas presentes en la leche cruda se relaciona con las condiciones higiénicas de producción, temperatura y tiempos prolongados de almacenamientos o conservación. Un bajo recuento de psicrotróficas en la leche es fundamental, ya que la actividad metabólica de estos microorganismos resulta en cambios bioquímicos en los componentes de la leche que limitan la vida útil de los productos lácteos.

2.7.1.4 Termoresistencia. Las bacterias termofilas son aquellas cuya temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre 55 y 65 °C, como máximo, para algunas especies, pudiendo alcanzar entre 75 y 90° C y un mínimo de 35° C. La leche cruda, normalmente, contiene pocas bacterias termofilas, aunque con capacidad para desarrollarse en la leche cuando se mantienen a temperaturas elevadas, pudiendo alcanzar gran número de estos microorganismos en el producto. Estas bacterias constituyen un problema en la leche pasteurizada cuando es mantenida por algún tiempo, entre 50 y 70° C (SOUZA, 2005). Altos recuentos de bacterias termófilas han sido asociados con rebaños con poca higiene, equipos sucios y prácticas sanitarias inadecuadas (JAYARAO, 2004).

2.8 pH. Los valores normales de pH de la leche son 6,6 – 6,8. De acuerdo a FENNEMA (1985), a valores normales de pH, la leche es bastante estable en los procesos de elaboración. La disminución del pH facilita la agrupación de los glóbulos de grasa y de las miselas de caseína. La calidad microbiológica de la leche guarda estrecha relación con los cambios de pH. Además, los microorganismos psicrótrófos producen enzimas lipolíticas y proteolíticas que contribuyen a la desestabilización.

De acuerdo a AMIOT (1991), la calidad de la leche puede ser valorada de forma aproximada por medio de: la acidez titulable y los indicadores de pH; ya que ambos análisis ponen en evidencia el crecimiento excesivo de las bacterias.

El pH no es un valor constante, sino que puede variar en el curso del ciclo de la lactación y bajo la influencia de la alimentación. El pH de la leche cambia de una especie a otra, dadas las diferencias de su composición química, especialmente en caseína y fosfato. El pH representa un estado, en lo que a la estabilidad térmica se refiere (ALAIS, 1985).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del ensayo

El estudio se realizó en el Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, Valdivia.

3.2 Materiales

La elaboración de la leche pasteurizada se realizó con materia prima y materiales descritos a continuación.

3.2.1 Materia prima. Leche cruda, con 3.4% de materia grasa, proveniente del fundo Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile.

3.2.2 Equipos y materiales de la planta piloto. Los equipos empleados fueron:

- a) Homogeneizador Homo-Mic Rannie, capacidad 2.000 L/hr.
- b) Tarros de acero inoxidable con capacidad para 50 litros
- c) Tina de doble pared de 200 litros de capacidad
- d) Pasteurizador de placas PBA-1, Paasch & Silkeborg, capacidad 2.000 L/hr.
- e) Envasadora de leche fluida Prepac, capacidad 1.000 L/hr.
- f) Cámara regulada a 4° C para el almacenamiento de las leches

3.2.3 Equipos y materiales de laboratorio. Los materiales y equipos de laboratorio que se utilizaron fueron los siguientes:

- a) pHmetro
- b) medios de cultivo
- c) baño termoregulado a 45° C
- d) placas petri
- e) refrigerador regulado a 7° C
- f) termómetros
- g) material de vidrio
- h) campana de flujo laminar

3.3 Método

Para la elaboración de la leche pasteurizada se comenzó con la limpieza y sanitización de equipos y materiales utilizados en este proceso, posteriormente obtenido el producto se realizaron los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y organolépticos para finalmente hacer un análisis estadístico.

3.3.1 Diseño experimental. Para este ensayo se realizó un diseño multifactorial, con tres factores. El primer factor corresponde al tratamiento térmico aplicado, el cual posee tres niveles (A, B y C), el segundo factor corresponde al tiempo de almacenamiento, el cual posee cinco niveles y el tercer factor corresponde a la materia prima, el cual posee tres niveles.

Los niveles para cada factor estudiado fueron:

- Tratamientos térmicos:

A: 64 °C/20 minutos (Pasteurización en Baño María)

B: 64 °C/20 minutos (Pasteurización LTLT)

C: 75 °C/15 segundos (Pasteurización HTST)

- Tiempo de almacenamiento de 0, 3, 7, 15, 30 días a 4 °C.
- Materia prima: 1, 2, 3 (repeticiones).

3.3.2 Protocolo de procesamiento. El proceso de pasteurización se realizó de acuerdo al protocolo presentado en la FIGURA 4

3.3.3 Limpieza y sanitización de equipos y utensilios. El trabajo de limpieza y sanitización de equipos se realizó en dos etapas:

a) Lavado de equipos: primero se realizó un enjuague de agua tibia a 45° C con el propósito de eliminar restos de leche y materia extraña que pudiese estar presente en los equipos. Un segundo enjuague se realizó con una solución de soda cáustica (NaOH) al 1% con el propósito de disolver sustancias proteicas, saponificar la grasa y precipitar materia sólida del agua.

b) Sanitizado de los equipos: El primer paso en la sanitización de los equipos 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 efectuó mediante la circulación de agua hirviendo con inyección de vapor hasta alcanzar una temperatura de 80 °C. Por último se dejó recircular el agua a esta temperatura durante 10 minutos.

3.3.4 Análisis fisicoquímicos y microbiológicos. Los análisis realizados para este estudio comprendieron a la materia prima y al producto terminado.

3.3.4.1 Leche cruda. Los análisis realizados a la materia prima son los siguientes:

- Determinación de pH: Potenciómetro, según NCh 1671.
- Acidez titulable: método, según NCh 1738.
- Prueba de alcohol - Ensayo de termoestabilidad: método cualitativo, según NCh 1744.

- Determinación de sustancias inhibidoras - penicilina y antibióticos β lactámicos: método cualitativo de color, según NCh 1765.
- Determinación de microorganismos aerobios mesófilos viables: método de recuento en placa a 32° C, según NCh 2045.
- Determinación de microorganismos psicrotróficos: método de recuento de colonias a 6,5° C, según norma FIL - IDF 101A:1991
- Determinación de células somáticas – Método A: método microscópico de referencia, según NCh 1746.

3.3.4.2 Leche pasteurizada. Los análisis realizados al producto terminado fueron:

- Determinación del pH: método Potenciómetro, de acuerdo a la NCh 1671
- Determinación de la acidez titulable, de acuerdo a la NCh 1738.
- Determinación fosfatasa negativa: método de referencia, según NCh 1665/1.
- Determinación de microorganismos aerobios mesófilos viables: método de recuento en placa a 32° C, según NCh 2045.
- Determinación de coliformes: técnica de recuento en placa, según NCh 2635
- Determinación de microorganismos psicrotróficos: método de recuento de colonias a 6,5° C, según norma FIL - IDF 101A:1991

3.3.5 Análisis organoléptico a la leche pasteurizada. En el análisis sensorial de la leche pasteurizada se utilizó un panel entrenado de 8 personas. Estos evaluaron apariencia y aceptación, de acuerdo a la norma FIL - IDF 99C:1997. Se utilizaron muestras almacenadas en refrigeración (4° C) las que fueron evaluadas en diferentes tiempos (5, 8, 14 y 28 días) para poder observar la evolución organoléptica de la leche a través del tiempo. Las fichas utilizadas se encuentran en los ANEXOS 15 y 16.

3.3.6 Análisis estadístico. Para el análisis de datos en la determinación de vida útil entre los distintos tratamientos se efectuó un análisis de varianza simple y factorial utilizando el software STATGRAPHICS 5.1 y cuando se detectó diferencias significativas entre los tratamientos se utilizó el test de comparación múltiple (test de Tukey).

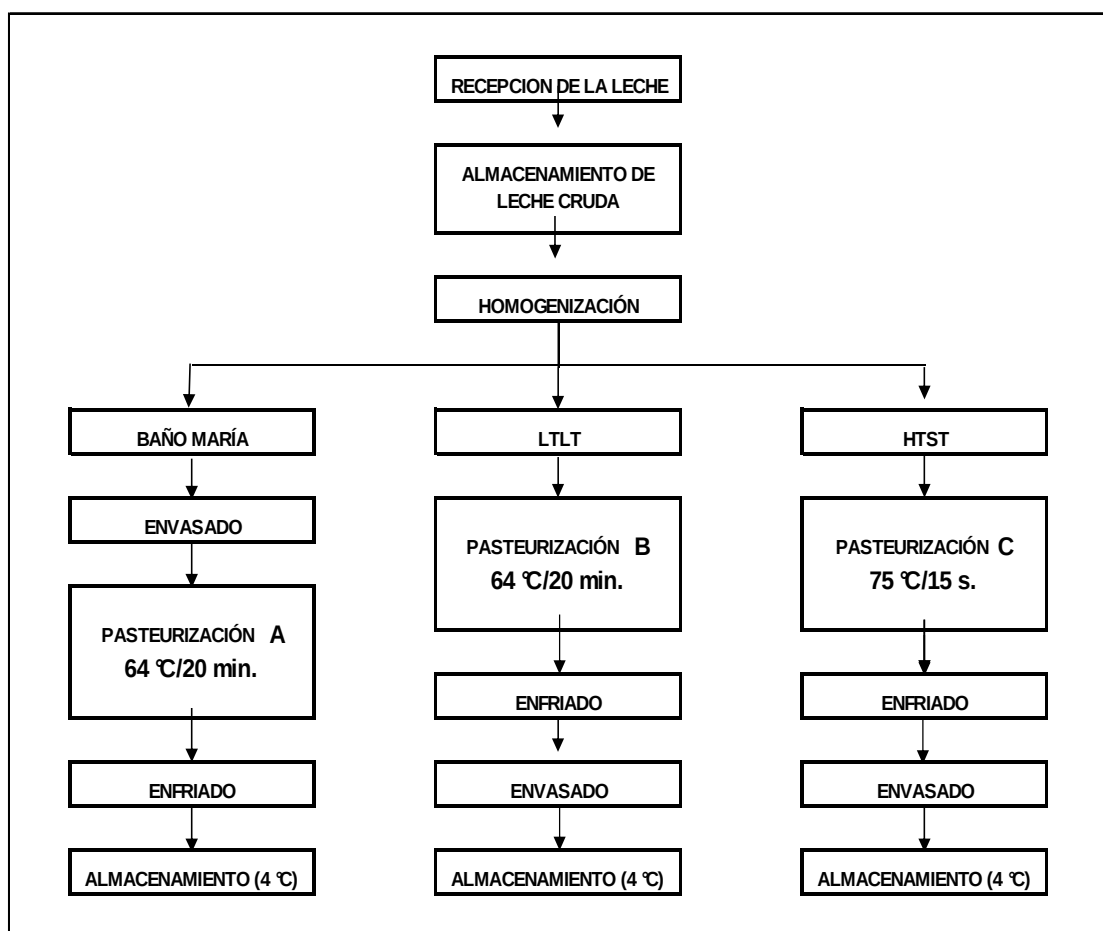


FIGURA 4 Diagrama de flujo leche pasteurizada para los tres tratamientos térmicos

4 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

4.1 Consideraciones generales

Los análisis realizados para este trabajo, son de acuerdo a lo establecido por el reglamento Sanitario de los alimentos (2003). Para el caso de la prueba de alcohol este fue efectuado con un 72% y no un 68% como lo dice el Reglamento Sanitarios de los Alimentos (Chile, 2003), debido a que en la actualidad las industrias lecheras han ido aumentando la concentración de etanol a fin de asegurarse que la leche sea más estable frente a los tratamientos térmicos.

4.2 Análisis de la materia prima

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

CUADRO 4 Análisis microbiológico de la materia prima.

Microorganismo	ufc/ml		
	repetición 1	repetición 2	repetición 3
Mesófilos	5,1 E+4	2,12 E+5	1,02 E+5
psicrotróficos	1 E+2	7,2 E+4	1,94 E+4

El Reglamento Sanitario de los alimentos (2003), establece como parámetros de calidad, para bacterias mesófilas, rangos entre 5×10^5 y 10^6 ufc/ml para leches crudas, encontrándose la materia prima utilizada dentro de los parámetros de calidad aceptados. El recuento total de bacterias mesófilas en la leche cruda, permite controlar la sanitización de los procesos de obtención y condiciones de almacenamiento.

Heeschen, citado por MUÑOZ (2003), señala que los recuentos de bacterias mesófilas entre 10^2 y 10^3 ufc/ml, son prácticamente inevitables y se deben a microorganismos presentes en el interior de los pezones. Si se realiza una ordeña se obtiene un recuento de 10^4 ufc/ml debido principalmente a los microorganismos presentes en la superficie de los pezones. Con un almacenamiento de 4° C el número de microorganismos puede ser mantenido entre 10^4 y 10^5 ufc/ml, las diferencias sensoriales detectables ocurren en recuentos entre 10^6 y 10^7 ufc/ml dependiendo de la especie y actividad de los microorganismos.

También los altos niveles de bacterias psicrotróficas en la leche cruda, puede contribuir en cantidades suficientes de proteasas termoestables y lipasas que causan desintegración de proteína y grasa en la leche después de la pasteurización (BARBANO *et al.*, 2006).

Los altos recuento de células somáticas producen un aumento en la concentración de enzimas como lipasas, proteasas, oxidasas plasmina y plasminógeno, lo cual puede tener un efecto adverso sobre el sabor de la leche y sobre el procesamiento de productos lácteos (Oliver y Almeida, citado por REHL, 2007).

CUADRO 5 Análisis químico de la materia prima.

Análisis químico	repetición 1	repetición 2	repetición 3
pH	6,70	6,74	6,74
Acidez (ml NaOH 0,1N /100 ml leche)	15,80	15,80	15,80
Prueba alcohol 72%	negativa	negativa	Negativa
Inhibidores	negativa	negativa	Negativa
Células somáticas (cel/ml.)	151.613	196.371	161.484

De acuerdo al Reglamento Sanitario de los alimentos (2003), el pH de la leche debe ser 6,6 y 6,8. Por lo tanto, la materia prima utilizada para pasteurizar cumple con los requisitos, ya que se encuentra dentro del parámetro establecido.

La prueba de alcohol, es una prueba de aceptación o rechazo de la leche a nivel industrial y centros de acopio, a fin de detectar la termoestabilidad de la leche cruda. Si la muestra es inestable se produce la coagulación de la leche, por lo que no es apta para su industrialización. La reglamentación sanitaria establece la prueba de alcohol con 68% v/v. En un estudio realizado por CARRILLO (2001), recomienda como máxima concentración de etanol al 75% v/v para la prueba de alcohol a nivel de centros de acopio.

4.3 Análisis de la leche pasteurizada

Se realizó un análisis de varianza multifactorial para determinar si existía diferencia entre las repeticiones (materias primas), tratamientos y tiempos. Se encontró que no existe diferencia significativa entre las repeticiones, lo que hace suponer que las materias primas son iguales entre si, el análisis de varianza se encuentra en el ANEXO 2.

La primera prueba realizada a la leche pasteurizada fue la determinación de fosfatasa negativa, con el objetivo de comprobar la correcta pasteurización para proceder de esta manera con los análisis microbiológicos, químicos y sensoriales. Los resultados de los análisis realizados a la leche pasteurizada tratada mediante los métodos tradicionales LTLT (tratamiento B) y HTST (tratamiento C) y pasteurización en Baño María (tratamiento A), se presentan a continuación.

4.3.1 Análisis microbiológico. Los análisis microbiológicos fueron realizados para evaluar el crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos, coliformes y psicrotróficos durante el almacenamiento.

4.3.1.1 Análisis de microorganismos mesófilos. Se realizó un análisis de varianza simple para determinar el crecimiento de bacterias mesófilas en los distintos tratamientos a través del tiempo. Ver ANEXO 3.

El análisis de cada tratamiento (A, B y C) indica que los recuentos aumentaron en el tiempo. Sin embargo, el tratamiento A presentó el recuento más bajo en el día 0 de 2,50 Log ufc/ml, resultados que se mantuvieron durante todo los 30 días del análisis. Los tratamientos B y C aumentaron de manera significativa hasta el día 15. Los resultados se presentan en el CUADRO 6.

CUADRO 6 Crecimiento de microorganismos mesófilos en el tiempo en leche Almacenadas a 4 °C.

Tiempo (día)	Tratamiento A (Past. en Baño María) (log ufc/ml) ± DE	Tratamiento B (Past. LTLT) (log ufc/ml) ± DE	Tratamiento C (Past. HTST) (log ufc/ml) ± DE
0	2,50 ± 0,57 *C b	3,49 ± 0,48 * C ba	3,66 ± 0,49 *D a
3	3,02 ± 0,30 C c	4,26 ± 0,62 C b	5,77 ± 0,43 C a
7	3,40 ± 0,48 CB c	6,06 ± 1,02 B b	7,69 ± 0,24 B a
15	4,87 ± 1,13 BA b	8,52 ± 0,24 A a	8,48 ± 0,25 A a
30	6,48 ± 1,54 A b	9,17 ± 0,11 A a	9,02 ± 0,05 A a

DE: Desviación Estándar

*Letras mayúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en columnas para el parámetro estudiado.

**Letras minúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en filas para el parámetro estudiado.

La FIGURA 5 presenta la curva de crecimiento de bacterias mesófilas y se puede observar que los microorganismos aumentan de manera considerable en el tiempo. En el día 0 el tratamiento A no presenta diferencia significativa con el tratamiento B, pero si con el tratamientos C. En los días 3, 7, 15 y 30 el tratamiento A presenta recuentos significativamente más bajos en comparación con los tratamientos B y C. Los análisis realizados para cada tiempo se encuentran en el ANEXO 4.

De acuerdo al Reglamento Sanitario de los alimentos (2003), señala que para el caso

de leches pasteurizadas los recuentos deben encontrarse dentro del rango de 10^4 y 5×10^4 (4 y 4,69 log ufc/ml). Los tratamientos que cumplen con la norma son el tratamiento A hasta el día 7, el tratamiento B hasta el día 3 y el C sólo el día 0. Es posible que la leche pasteurizada mediante el tratamiento A se encuentre aun aceptable en el día 7, debido al procedimiento de pasteurización en Baño María. Según un estudio realizado en Brasil por SCHUSTER (2006), en la validación de un equipo de pasteurización lenta de leche, previamente envasada en bolsas de polietileno de baja densidad, señala la eficiencia del proceso para reducir el número de aerobios mesófilos, el cual osciló desde 99,97 hasta 99,99 por ciento con temperaturas de pasteurización de 63 ° C por 30 minutos.

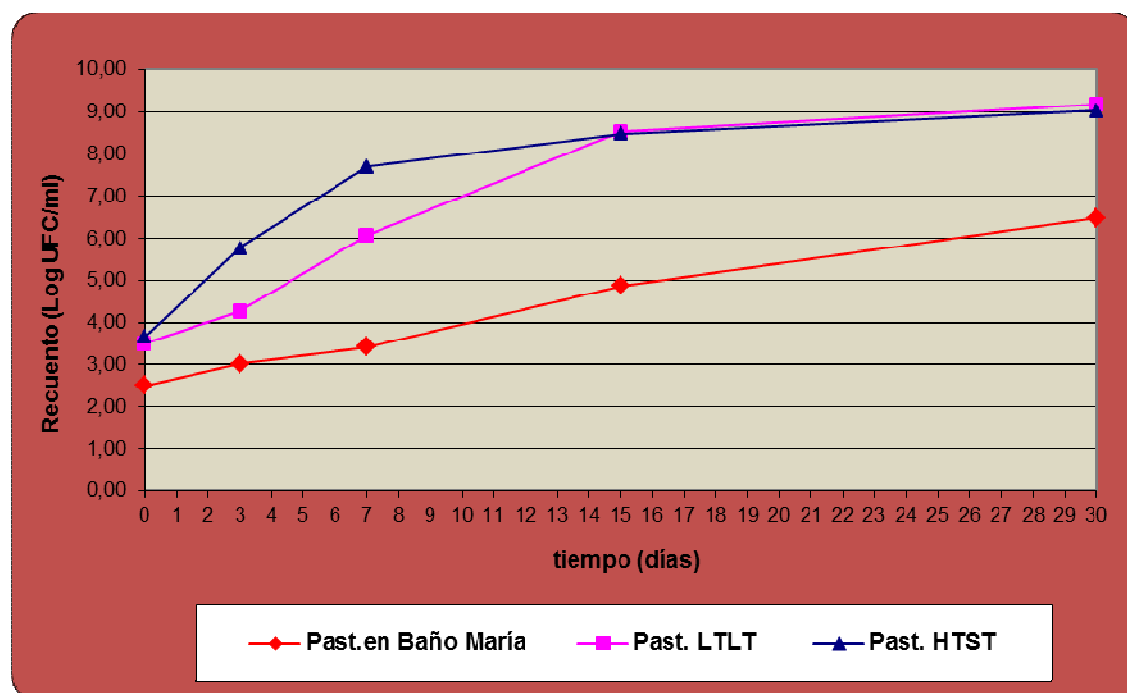


FIGURA 5 Curva de crecimiento de bacterias mesófilas en el tiempo.

4.3.1.2 Análisis de microorganismos coliformes. Para determinar el crecimiento de bacterias coliformes en el tiempo para cada tratamiento, se realizó un análisis de varianza simple que se encuentra en el ANEXO 5, el cual indica diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

En el CUADRO 7 se dan a conocer los resultados de los recuentos y las desviaciones estándar de cada tratamiento en el tiempo. El tratamiento A presentó el valor más bajo de 0,0 ufc/ml durante los 30 días, encontrándose dentro de los límites aceptables por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003) de 1 y 10 ufc/ml (0 y 1 log ufc/ml), siendo estadísticamente igual al tratamiento B sólo en el tiempo 0 (ANEXO 6).

El resultado del análisis de bacterias coliformes, indica que existe un aumento considerable de bacterias en el tiempo para los tratamientos B y C. Además, se destaca que los recuentos del tratamiento C (HTST) y el tratamiento B (LTLT), del día 0 y 3 respectivamente, no cumplieron con la reglamentación vigente, el cual especifica que para el caso de leches pasteurizadas los recuentos deben encontrarse dentro de los rangos 1 y 10 (0 y 1 log ufc/ml).

CUADRO 7 Crecimiento de microorganismos coliformes en el tiempo en leches almacenadas a 4 °C.

Tiempo (día)	Tratamiento A (Past. en Baño María) (ufc/ml) ± DE	Tratamiento B (Past. LTLT) (log ufc/ml) ± DE	Tratamiento C (Past. HTST) (log ufc/ml) ± DE
0	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 E b	1,27 ± 0,87 D a
3	0,00 ± 0,00 c	1,79 ± 0,53 D b	3,59 ± 0,33 C a
7	0,00 ± 0,00 c	4,21 ± 0,43 C b	5,40 ± 0,57 B a
15	0,00 ± 0,00 c	7,00 ± 0,16 B b	7,73 ± 0,50 A a
30	0,00 ± 0,00 b	8,89 ± 0,05 A a	8,66 ± 0,20 A a

DE: Desviación Estándar

*Letras mayúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en columnas para el parámetro estudiado.

**Letras minúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en filas para el parámetro estudiado.

La FIGURA 6 muestra que el tratamiento B aumenta de manera significativa durante los 30 días, mientras el tratamiento C aumenta significativamente hasta el día 15. Además, los tratamientos A y B en el tiempo de 0 día y los tratamientos B y C en el tiempo de 30 días, son estadísticamente iguales; es decir, no presentan diferencia significativa. Por el contrario, en el tiempo 3, 7 y 15 los tratamientos A, B y C son estadísticamente diferentes.

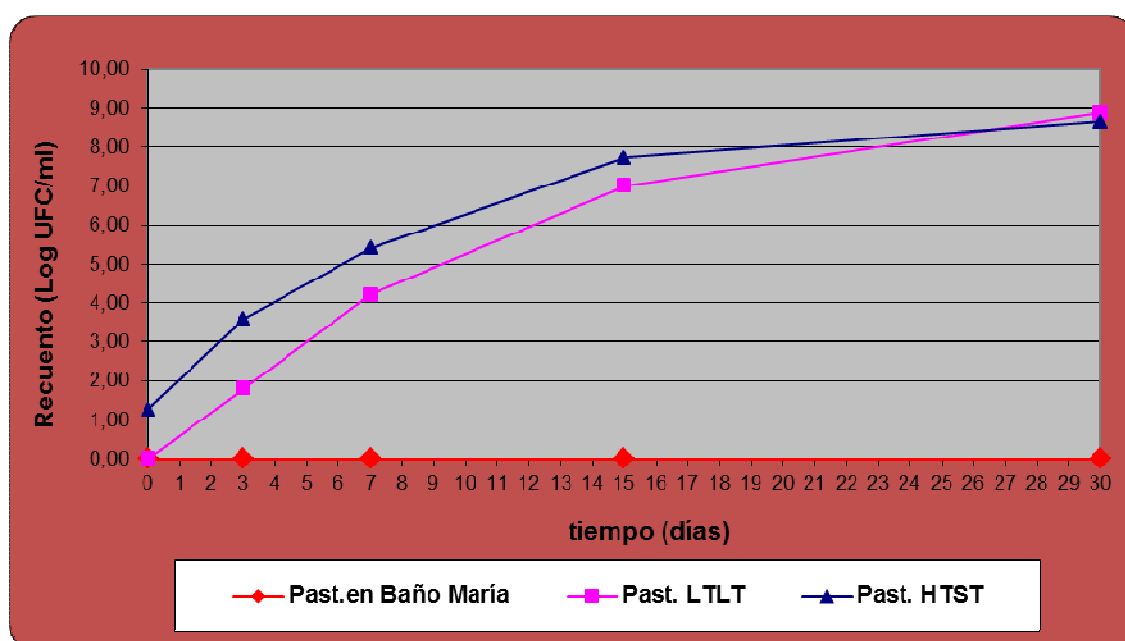


FIGURA 6 Curva de crecimiento de bacterias coliformes en el tiempo.

La causa de los altos recuentos de bacterias coliformes presentes en la leche tratada mediante los métodos tradicionales, puede deberse a una contaminación durante su envasado o un tratamiento térmico insuficiente. SILVA *et al.* (2008), señala que los coliformes se destruyen en la pasteurización y la presencia de estos en la leche pasteurizada indica la necesidad de medidas más eficaces para controlar el tiempo y la temperatura de la pasteurización y desinfectar el equipo que entra en contacto con la leche después de la pasteurización. De igual modo OLIVEIRA *et al.* (1994), realizaron un estudio en leche envasada en bolsas plásticas pasteurizadas en Baño María, el cual indican que este método de procesamiento elimina totalmente los coliformes (totales y fecales) presentes en la leche cruda.

La eficiencia de la pasteurización, en este trabajo, se evaluó mediante la determinación de fosfatasa negativa al término del proceso. Esta prueba permite confirmar si la pasteurización se realizó correctamente. Los resultados indicaron que la pasteurización se realizó de manera adecuada para todos los tratamientos, con excepción del tratamiento C (HTST) en una de las repeticiones, teniendo que realizar nuevamente la pasteurización. Esto podría indicar alguna falla en el equipo pasteurizador. Hecho que explicaría la alta contaminación que presentó desde el día 0, siendo inaceptable para la reglamentación vigente.

4.3.1.3 Análisis de microorganismo psicrotróficos. Realizados los análisis estadísticos, mediante análisis de varianza (ANDEVA) con una significancia de $p < 0,05$, se encontró que el tratamiento y el tiempo influyen sobre los recuentos de bacterias psicrotróficas. En el ANEXO 7 y 8 se encuentra el análisis de varianza para cada tratamiento en el tiempo.

CUADRO 8 Crecimiento de microorganismo psicrotróficos en el tiempo en leche almacenada a 4 °C.

Tiempo (día)	Tratamiento A (Past. en Baño María) (log ufc/ml) ± DE	Tratamiento B (Past. LTLT) (log ufc/ml) ± DE	Tratamiento C (Past. HTST) (log ufc/ml) ± DE
0	0,0 ± 0,0 A a	0,0 ± 0,0 *D a	2,03 ± 1,76 C a
3	0,0 ± 0,0 A b	2,04 ± 1,78 C b	4,76 ± 0,0 B a
7	0,67 ± 0,57 A b	5,53 ± 0,39 B a	5,76 ± 0,0 B a
15	0,67 ± 0,57 A b	6,96 ± 1,31 B a	8,26 ± 0,43 A a
30	0,67 ± 0,57 A b	8,92 ± 0,18 A a	8,85 ± 0,37 A a

DE: Desviación Estándar

*Letras mayúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en columnas para el parámetro estudiado.

**Letras minúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en filas para el parámetro estudiado.

El tratamiento A no presenta diferencia significativa durante los 30 días, mientras que el tratamiento B y C presentan diferencia significativa en el tiempo. (CUADRO 8).

En la FIGURA 7 se observa que los resultados de los recuentos de las muestras de leche de los distintos tratamientos, no presentan diferencia significativa en el tiempo 0. El tratamiento A presenta los recuentos más bajos durante los 30 días. A diferencia de los tratamientos B y C que presentan recuentos significativamente altos con respecto al tratamiento A.

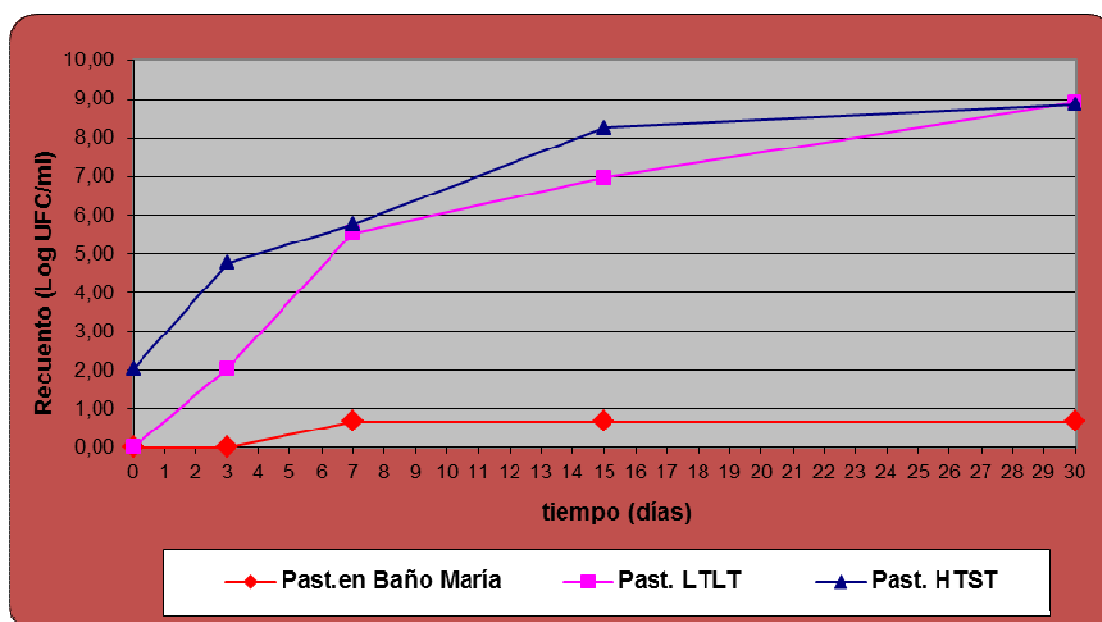


FIGURA 7 Curva de crecimiento de bacterias psicrotróficas en el tiempo.

FROEDER (2008), analizó muestras de leche cruda obtenida de los tanques de almacenamiento en centros de acopio. El género más aislado fue *Pseudomonas* y la mayoría de las bacterias presentaron actividad proteolítica y lipolítica a temperaturas de refrigeración de 4, 7 y 10 °C. Las enzimas producidas por las bacterias psicrotróficas son termoresistentes y afectan el sabor y olor de los productos lácteos.

Un estudio realizado en Brasil por SAEKI y MATSUMOTO (2010), analizaron muestras

de leche pasteurizada adquiridas en el comercio, encontrando recuentos de bacterias psicrófilas que oscilaban entre 1,0 a 4,28 log ufc/ml. Mencionando que recuentos a partir de 6 log ufc/ ml permiten cambios en la leche y los productos lácteos, acortando la vida útil de la leche y productos lácteos.

4.3.2 Análisis químico. Los análisis químicos fueron realizados para evaluar la evolución del pH y acidez titulable durante el almacenamiento. . El análisis de varianza correspondiente al pH se encuentra en los ANEXOS 9 y 10.

4.3.2.1 Análisis de pH. Los valores de pH para los tratamientos A, B y C, fueron analizados mediante un análisis de varianza simple, presentando diferencia significativa con un P-valor menor a 0,05 a través del tiempo (0 a 30 días). Al aplicar a los datos obtenidos al test de comparación múltiple de Tuckey, se observó que el valor de pH en los tratamientos A y C presentan diferencias significativas sólo en el día 30 y el tratamiento B presenta diferencia a partir del día 15. Sin embargo, los tiempos 0, 15 y 30 no presentan diferencia significativa entre los tratamientos; pero existe diferencia significativa en los tiempos 3 y 7 (CUADRO 9).

CUADRO 9 Cambios de pH en el tiempo para leches almacenadas a 4 °C.

Tiempo (día)	Tratamiento A (Past. en Baño María)	Tratamiento B (Past. LTLT)	Tratamiento C (Past. HTST)
0	6,67± 0,02 *B a	6,76 ± 0,10 *B a	6,79 ± 0,03 *B a
3	6,67 ± 0,01 B c	6,75 ± 0,01 B b	6,82± 0,04 B a
7	6,70 ± 0,01 B b	6,76 ± 0,02 B a	6,72± 0,01 B b
15	6,68 ± 0,01 B a	6,5 ± 0,12 A a	6,48 ± 0,19 B a
30	6,61 ± 0,05 A a	6,28 ± 0,24 A a	5,70 ± 0,76 A a

DE: Desviación Estándar

*Letras mayúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en columnas para el parámetro estudiado.

**Letras minúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en filas para el parámetro estudiado.

En la FIGURA 8 se observa que, el tratamiento A durante los 30 días de almacenamiento presenta valores de pH dentro de los rangos establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003), el cual menciona que el pH normal de la leche es 6,6 – 6,8; por lo tanto, un valor menor o mayor a este rango es anormal. En la misma figura, también se muestran los tratamientos B y C, los cuales al cabo de los 15 días presentan valores de pH anormales. Además, se aprecia que el tratamiento C (HTST) registra el promedio de pH más bajo de 5,70 en el tiempo de 30 días.

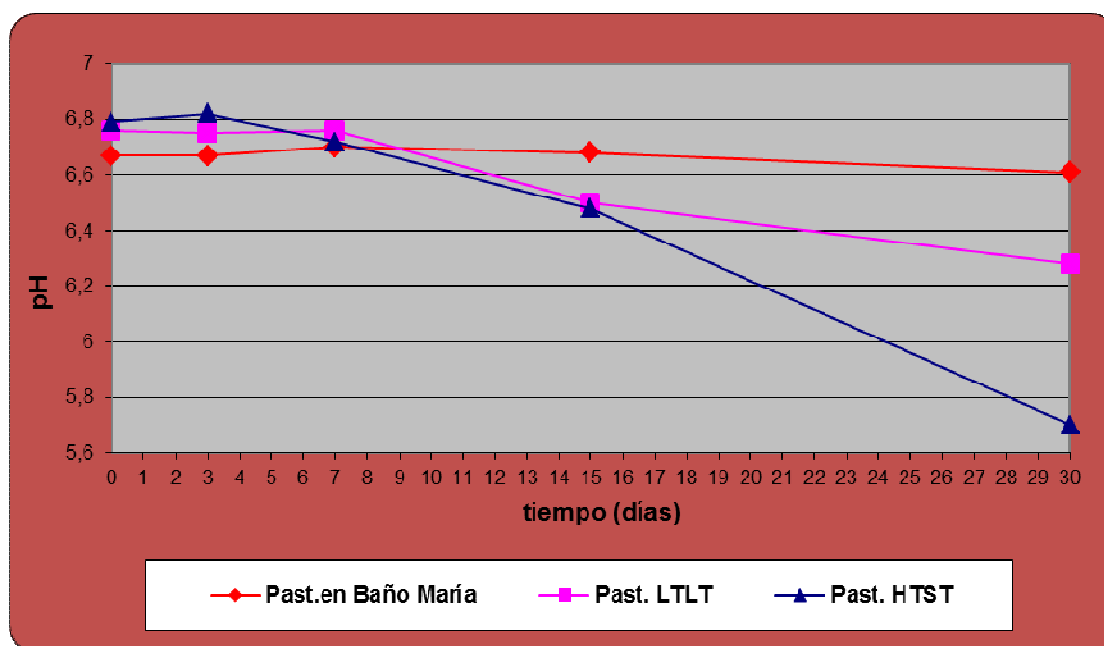


FIGURA 8 Evolución del pH en el tiempo.

4.3.2.2 Análisis de acidez titulable. Los valores de acidez fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza simple que se encuentra en el ANEXO 11 y 12.

Los tratamientos no presentan un aumento significativo hasta el día 15, pero si en el día 30. En el CUADRO 10 se muestra que el tratamiento A y C hasta el día 15 se encuentran dentro del rango aceptable de acidez titulable (12 a 21 ml de hidróxido de sodio 0,1 N/100 ml de leche) que especifica el Reglamento Sanitario de los Alimentos (2003) para leche pasteurizada. Por lo tanto, un valor superior o inferior a este rango no es aceptable, como lo presentan el tratamiento A y C a los 30 días y el tratamiento B a partir del día 15; entonces la leche calificaría como inaceptable.

CUADRO 10 Cambios en la acidez titulable en el tiempo para leche almacenadas a 4 °C.

Tiempo (día)	Tratamiento A (Past. en Baño María)	Tratamiento B (Past. LTLT)	Tratamiento C (Past. HTST)
0	17,35 ± 0,62 B c	16,17 ± 0,28 B b	13,27 ± 0,64 B a
3	18,1 ± 0,65 B c	16,53 ± 0,25 B b	13,6 ± 0,52 B a
7	18,37 ± 0,11 B c	16,7 ± 0,65 B b	15,33 ± 0,28 B a
15	18,7 ± 0,36 B a	23,37 ± 1,72 B b	20,93 ± 1,61 B ab
30	21,17 ± 1,44 A a	36,17 ± 12,84 A a	39,5 ± 14,90 A a

*Letras mayúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en columnas para el parámetro estudiado.

**Letras minúsculas distintas denotan diferencias estadísticamente significativas en filas para el parámetro estudiado.

En la FIGURA 9, se muestra un aumento de acidez en el tiempo para cada tratamiento, especialmente el tratamiento B y C a partir del día 7. El tratamiento C en el día 30 llegó al nivel de acidez más alto alcanzando un valor de 39,5 (ml NaOH 0,1N /100 ml leche) y en el tiempo 0 presentó el nivel más bajo de acidez de 13,27 (ml NaOH 0,1N /100 ml leche). En cambio, el tratamiento A el día 30 presentó en nivel más bajo de acidez de 21, 17 (ml NaOH 0,1N /100 ml leche) en comparación con B y C y en el tiempo 0 presentó el nivel más alto de 17,35 (ml NaOH 0,1N /100 ml leche).

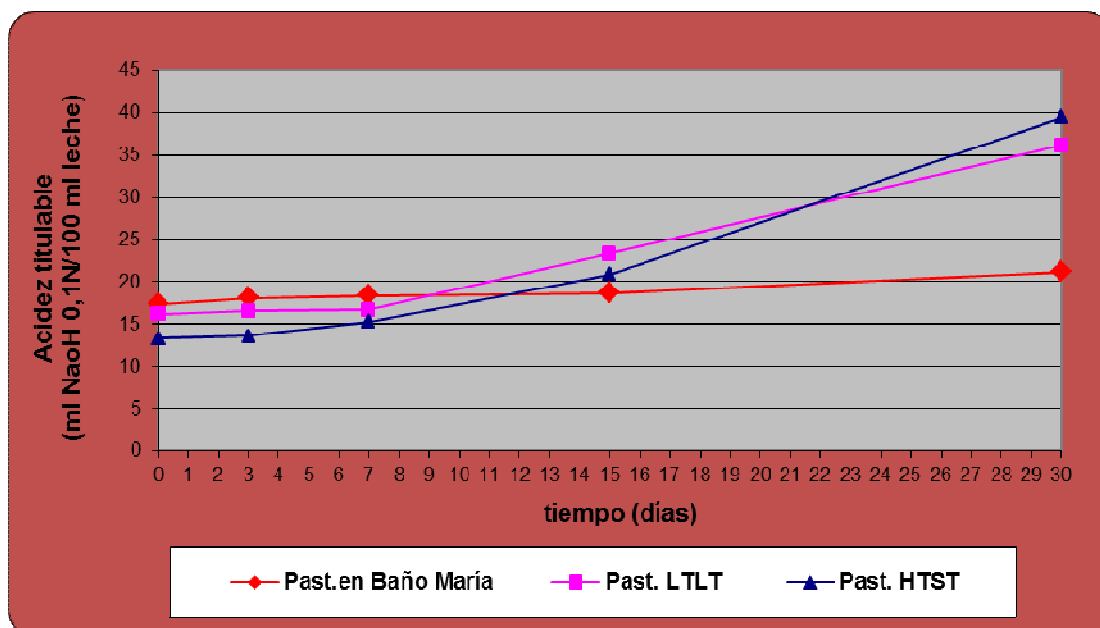


FIGURA 9 Evolución de la acidez titulable en el tiempo.

4.3.3 Análisis evaluación sensorial. Los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de la leche pasteurizada, en el que se evaluó aceptación general y apariencia se presentan en el CUADRO 11. Los análisis estadísticos para aceptación general se muestran en el ANEXO 13 y apariencia ANEXO 14.

4.3.3.1 Análisis de aceptación general. El resultado de aceptación general para los días 5 y 8 no presentaron diferencia significativa entre los tratamientos. Esto quiere decir, que los tratamientos estadísticamente son iguales. Sin embargo, los días 14 y 28 indican diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el tratamiento A el mejor evaluado por los jueces, presentando el mayor promedio de 3,6 el día 14 y de 3,5 el día 28; ambos promedios calificados como “regular”. El tratamiento B y C el día 28 presentan el promedio mínimo de 1,0 calificado como “muy malo” de una escala de 5 puntos.

En la FIGURA 10, se observa que el puntaje entregado por los jueces en la evaluación de la aceptación general, muestra una tendencia a la disminución del puntaje en el

tiempo para todos los tratamientos, especialmente para los tratamientos B y C. A si mismo, el tratamiento A presentó una disminución leve en comparación con los otros tratamientos pasando de un rango calificado como “bueno” a “regular” en los 28 días de análisis.

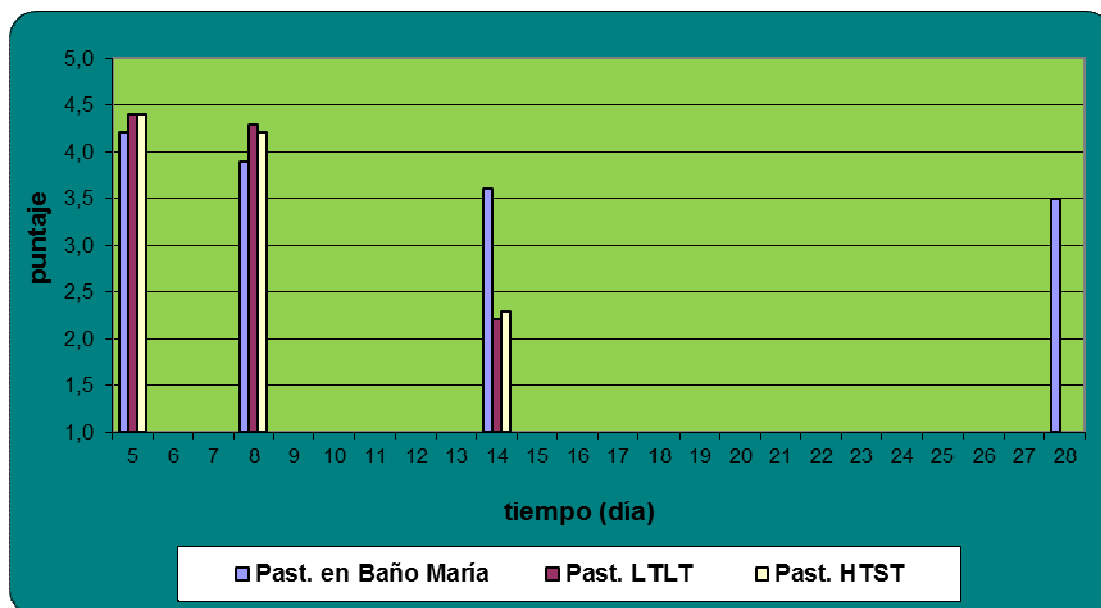


FIGURA 10 Gráfico de aceptación general en el tiempo para cada tratamiento.

4.3.3.2 Análisis de apariencia. El resultado del análisis estadístico de apariencia en el tiempo de 5 días no presenta diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Sin embargo, los análisis para el día 8, 14 y 28 indican diferencia significativa entre los tratamientos. Además, se aprecia en el día 28 que el tratamiento A alcanzó un puntaje de 4,2 calificado como “bueno” y el tratamiento B alcanzó un puntaje de 1,2 calificado como “muy malo” de una escala de 5 puntos.

De acuerdo a la FIGURA 11, la apariencia del tratamiento A se mantiene estable en el tiempo (0 a 30 días); ya que no disminuye de manera abrupta en los días 14 y 28, como se observa en el grafico para los tratamientos B y C.

Los defectos más repetitivo encontrados por los jueces para el tratamiento A, durante el tiempo de almacenamiento (0 a 28 días), fue sabor a cocido. En cambio, para el tratamiento B fue sabor a forraje hasta el día 8 y después sabor ácido hasta el día 28. El defecto del tratamiento C hasta el día 8 fue sabor a cocido y posteriormente fue sabor ácido hasta el término del análisis (ANEXO 17).

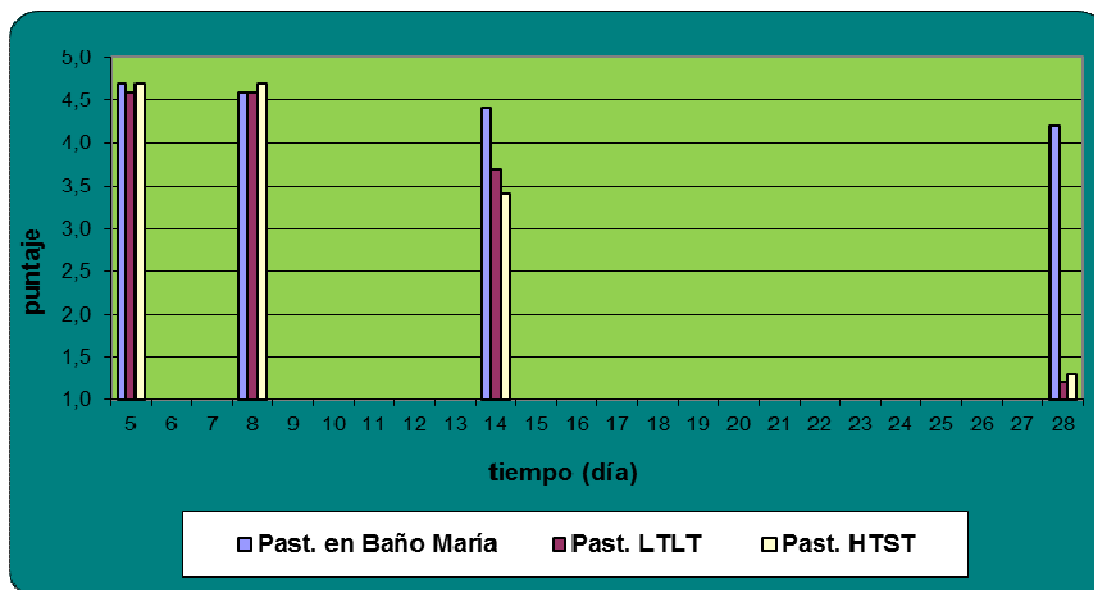


FIGURA 11 Gráfico de la Apariencia en el tiempo para cada tratamiento.

Un estudio realizado por GANDY *et al*, (2008), donde analizó el efecto de la temperatura de pasteurización sobre las características sensoriales y vida útil, en muestras de leche tratadas a cuatro distintas temperaturas de pasteurización, demostrando que después de 10 días postpasteurización, no se puede diferenciar entre un tratamiento y otro, ya que presentan sabores como rancio, ácido y amargo, que definen el fin de la vida útil para todos los tratamientos. Además, señaló que la vida útil no depende de las temperaturas de pasteurización sino, de otros factores tales como carga bacteriana, contaminación postpasteurización y condiciones de almacenamiento. En general, los resultados obtenidos por GANDY *et al* concuerdan con los obtenidos en este análisis con respecto a los tratamientos B y C, pero no así con el tratamiento A.

CUADRO 11 Resumen de promedios para evaluación sensorial.

Atributo	Tiempo (día)	Muestras (tratamientos)		
		Tratamiento A (Past. en Baño María)	Tratamiento B (Past. LTLT)	Tratamiento C (Past. HTST)
Aceptación general	5	4,2	4,4	4,4
	8	3,9	4,3	4,2
	14	3,6	2,2	2,3
	28	3,5	1,0	1,0
Apariencia	5	4,7	4,6	4,7
	8	4,6	4,6	4,7
	14	4,4	3,7	3,4
	28	4,2	1,2	1,3

5. CONCLUSIONES

- El tratamiento más efectivo fue la pasteurización en Baño María (tratamiento A), el cual preservó las características sensoriales y mantuvo los recuentos microbiológicos por más tiempo dentro de rangos establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos.
- La leche pasteurizada en Baño María (tratamiento A) presentó en el tiempo 0 bajos recuentos microbianos con respecto a los tratamientos tradicionales, presentando una mejor calidad, lo que se manifiesta posteriormente en una mayor durabilidad con respecto a los tratamientos B y C.
- La pasteurización HTST (tratamiento C) fue la menos efectiva, el cual presentó en tiempo 0 los recuentos microbiológicos más altos durante el almacenamiento.
- Según los resultados la leche pasteurizada en Baño María (tratamiento A) posee una vida útil de 7 días, siendo las bacterias mesófilas las que definieron su vida útil.
- Por el contrario, los recuentos de bacterias coliformes son los que definen el fin de la vida útil de los procesos tradicionales LTLT y HTST (tratamientos B y C), superando el límite aceptable por el Reglamento Sanitario de los Alimentos a los 3 y cero días, respectivamente.

- La pasteurización en Baño María (tratamiento A) no presentó desarrollo de bacterias coliformes durante todo el tiempo de almacenamiento.
- La evaluación sensorial de la leche pasteurizada al término del análisis, indicó que el tratamiento A fue el mejor evaluado por los jueces, calificada como “buena” y “regular” en comparación con los tratamientos B y C las que fueron calificadas como “muy malo” y “muy pobre en calidad”.
- De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que la hipótesis es nula.

6. RESUMEN

La leche es uno de los alimentos más completos de la naturaleza y su importancia radica en su elevado valor nutritivo siendo rica en proteínas, minerales, grasa, lactosa, vitaminas y su alta digestibilidad. El proceso de pasteurización constituye el mínimo tratamiento calórico para la destrucción de microorganismos patógenos preservando así la mayoría de sus propiedades nutricionales y organolépticas. La mayor desventaja que presenta la leche pasteurizada es su corta vida útil.

La finalidad de este trabajo consistió en determinar la vida útil de leches pasteurizadas en los intervalos de 0, 3, 7, 15 y 30 días, mediante tres métodos de procesamiento distintos: leche envasada en bolsas plásticas (1/2 litro) pasteurizada en Baño María a 64 °C por 20 minutos (tratamiento A); y leches pasteurizadas y envasadas por procedimientos tradicionales, proceso LTLT a 64 °C por 20 minutos (tratamiento B) y HTST tratada a 75 °C por 15 segundos (tratamiento C). Los análisis realizados fueron mesófilos aerobios, coliformes, psicotróficos, pH, acidez titulable y evaluación sensorial.

Los resultados indican que el tratamiento de pasteurización en Baño María, tratamiento A, fue el que mejor cumplió con los requisitos de seguridad y calidad organoléptica, obteniendo una vida útil de 7 días. Además, las pasteurizaciones tradicionales, tratamientos B y C, alcanzaron una vida útil de 3 y 0 días, respectivamente, presentando altos recuentos de bacterias coliformes. De esta manera, se establece que el método de pasteurización en Baño María es más efectivo que los procedimientos tradicionales de pasteurización, al disminuir la contaminación postpasteurización.

SUMMARY

Milk is one of the most complete foods of nature and its importance lies in its high nutritional value, being rich in proteins, minerals, fat, lactose, vitamins and their high digestibility. The pasteurization process is the minimum heat treatment for the destruction of pathogenic micro-organisms while preserving most of its nutritional and organoleptic properties. The major disadvantage of pasteurized milk is its short shelf life.

This study aimed to determine the shelf life of milk pasteurized at intervals of 0, 3, 7, 15 and 30 days, by three different methods: packed milk in plastic bags (1/2 liter) were submitted to heat treatment in water bath at 64 °C for 20 minutes (treatment A); pasteurized and packaged milk by conventional processes, process LTLT at 64 °C for 20 minutes (treatment B) and HTST treated to 75 °C for 15 seconds (treatment C). The analyses performed were aerobic mesophiles, coliform, psychrotrophic, pH, titratable acidity and sensory evaluation.

The results indicate that pasteurization in water bath, treatment A was the one that better fulfills the requirements of safety and organoleptic quality, obtaining a shelf-life of 7 days. In addition, pasteurizations traditional treatments B and C, reached a shelf-life of 3 and 0 days, respectively, with high counts of coliform bacteria. Thus, it is established that the method of pasteurization in water bath is more effective than traditional methods of pasteurization, to reduce post pasteurization contamination.

7 BIBLIOGRAFÍA

AGGAD, H.; BRIDJA, M.; AEK, B.; BENAOUALI, M. y DJEBLI, A. 2010. Some quality aspects of pasteurized milk in Algeria. *World Journal of Dairy and Food Science*. 5 (1): 21-24.

ALAIS, CH. 1985. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. Editorial Reverté, S.A. Barcelona. España. 873 p.

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

BARBANO, D.M.; MA, Y. y SANTOS, M.V. 2006. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. *Journal of Dairy Science*. 89(E. Suppl.):E15–E19

CARRILLO, B.; GONZALEZ, M. y SCHOBITZ, R. 2004. Niveles de contaminación microbiológica en equipos de recepción y almacenamiento de leche, en centros de acopio de la provincia de Valdivia. *Agro sur* 32(2):45-53.

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

CID, C. 2004. Proteína total, calcio, fósforo y estabilidad térmica de la leche y su relación con las variantes genéticas de k-caseína. Época de invierno. Tesis Lic. en Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 90 p.

CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA, ODEPA. 2009. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. Boletín de la leche. 2008 enero 2009. 61p.

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

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

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

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 2006. 184 p.

FENNEMA, O. 2000. Química de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 1258p

FOOD and DRUG ADMINISTRATION (FDA), U.S. 2007. Pasteurized milk ordinance (on line). Department of Health & Human Services. <http://www.fda.gov/food/> (5 Nov. 2011).

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). 2001. Informe sobre la Conferencia electrónica de FAO sobre Acopio y Procesamiento de Leche en Pequeña Escala en Países en Desarrollo, Roma. 29 de mayo al 28 de julio de 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (FAO/ OMS). 2007. Leche y productos lácteos. Codex Alimentarius. Roma. 275p.

FROEDER, E.; LIMA DA SILVA, P.; VASCONCELOS, M.; RENALDI, J.; LANGE, C. y ANJOS, M. 2008. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. Ciência Rural, Santa Maria. 38(8): 2250-2255.

GANDY, A.; SCHILLING, M.; COGGINS, P.; WHITE, C.; YOON, Y. Y KAMADIA, V. 2008. The Effect of Pasteurization Temperature on Consumer Acceptability, Sensory, Characteristics, Volatile Compound Composition, and Shelf-Life of Fluid Milk. Journal of Dairy Science. 91 (5): 1769-1777.

GOOF, H. D. y GRIFFITHS, M. W. 2006. Major advances in fresh milk and milk products: fluid milk products and frozen desserts. Traducido por Morales, V. Journal of Dairy Science. 89 (4): 1163-1173.

ILLANES, J. 2004. Envases flexibles plásticos: Uso y aplicación en la industria alimentaria. Tesis Lic. en Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 69p.

JAYARAO, B.; PILLAI, S.; SAWANT, A.; WOLFGANG, D. y HEGDE, N. 2004. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. Journal of dairy science. 87(10): 3561-3573.

MA, J.; RYAN, C.; BARBANO, D.; GALTON, D.; 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.

MUÑOZ, S. 2004. Perfil microbiológico de la leche de estanque de tres centros de acopio lecheros (CAL) de la Provincia de Valdivia. Tesis Lic. en Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 65p.

OLIVEIRA, AJ.; GALLO, C. y CARVALHO, C. 1994. Tratamento térmico do leite acondicionado em filme plástico em banho maria. Scientia Agricola 51 (1):175-183.

PEREDA, J. 2008. Utilización de la Ultra Alta Presión por Homogenización como Alternativa al Tratamiento de Pasteurización para la Obtención de leche de Consumo. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Facultad de Veterinaria. Bellaterra (Cerdanyola del Valles). 208p.

PERÚ, MINISTERIO DE AGRICULTURA. 2009. Cambios organolépticos y nutricionales producidos por los tratamientos térmicos durante el procesamiento de la leche. Dirección general de competitividad agraria. 15p.

PERÚ, MINISTERIO DE AGRICULTURA. 2009. Manual de centros de acopio y pasteurización, en pequeña escala. Dirección general de competitividad agraria. 33p.

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

RANIERI, J., HUCK, J.; SONNEN, M.; BARBANO, D y BOOR, K. 2009. High temperature, short time pasteurization temperatures inversely affect bacterial numbers during refrigerated storage of pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Science* 92(10):4823-4832.

REHL, H. 2007. Efecto de las Condiciones de Producción y Manejo Sobre el Contenido de Células Somáticas en la Leche de Predios de Alta Producción de la Décima Región. Tesis Lic. en Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 80p.

ROBERTSON, G.1993. *Food Packaging*. Editorial Marcel Dekker. New York, EEUU. 676p.

RODRÍGUEZ, E. 2002. Evaluación del manejo de equipos de ordeña mecánica y su influencia en la calidad higiénica de la Leche de pequeños productores adscritos a un Centro de Acopio Lechero. Tesis Lic. en Ing. Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, 101p.

ROGINSKI, H.; FUQUAY, J. y FOX, P. 2003. *Encyclopedia of dairy science*. Ed. Academic/Elsevier Science. Amsterdam. 2500p.

SAEKI, E. y MATSUMOTO, L. 2010. Contagem de mesófilos e psicrotróficos em amostras de leite pasteurizado e UHT. *Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"*.377(65):29-35.

SARRIA, B. 1998. Efectos del tratamiento térmico de fórmulas infantiles y leche de vaca sobre la biodisponibilidad mineral y proteica. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Biológicas. Madrid, 372p.

SCHUSTER, J.; GONZALEZ, H.; BÜCHLE, J. y TIMM, C. 2006. Avaliação de equipamento alternativo para pasteurização lenta de leite previamente envasado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 26(4):828-831.

SILVA, M.; SILVA, J.; RAMOS, A.; MELO, R. y OLIVEIRA, J. 2008. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28(1): 226-230

SIMON, M. y HANSEN, A. 2001. Effect of Various Dairy Packaging Materials on the Shelf Life and Flavor of Pasteurized Milk. *Journal of Dairy Science* 84 (4):767–773

SOUZA, R. 2005. Condições microbilógicas e avaliação da Pasteurização em amostras de leite comercializadas on município de Piracicaba- sp. Tesis de Master en Ciencias. Universidad de São Paulo. Ciência e Tecnologia de Alimentos. São Paulo. 81p.

TEIXEIRA NETO, R.; DENDER, A.; BARBIERI, M.; EIROA, M. y MOURA, S. 1997. Pasteurização de leite na própria embalagem em banho-maria. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 17(2): 142-147.

TERAN, A. 2007. Estudio sobre el consumo de leche UHT y leche fresca en el área central de Puerto Rico. Tesis maestro en ciencia. Universidad de Puerto Rico. 138p.

VALBUENA, E.; CASTRO, G.; LIMA, K.; ACOSTA, W.; BRIÑEZ, W. y TOVAR, A. 2004. Calidad microbiológica de las principales marcas de leche pasteurizada distribuida en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. Red de revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (REDALYC). XIV (1)

WALSTRA, P. y JENNESS, R. 1984. Dairy chemistry and physics. Editorial Marcel Dekker. New York. USA. 467 p.

WELTI CHANES, J.; GOMES, O.; VERGARA, F. y MARIS, S. 2005. Aplicaciones de ingeniería y fenómenos de transporte al estudio de la trasferencia convectiva de calor en alimentos envasados. Revista Mexicana de Ingeniería Química 4(001): 89-106.

ZAVALA, J. 2009. Cambios Organolépticos y nutricionales producidos por los tratamientos térmicos durante el procesamiento de la leche. (On line).<http://Perulactea.com/tag/leche/> (10 nov. 2011).

ANEXOS

ANEXO 1

Resultado de análisis químico y microbiológico en leche pasteurizada

TRATAMIENTO	REPETICION	TIEMPO	pH	acidez titulable --	mesófilos *	coliformes *	psicrotrofos *
A	1	0	6,65	16,75	2,944	0	0
A	2	0	6,66	18	2,698	0	0
A	3	0	6,7	17,3	1,845	0	0
B	1	0	6,65	16	3,612	0	0
B	2	0	6,78	16	2,954	0	0
B	3	0	6,86	16,5	3,892	0	0
C	1	0	6,75	12,8	3,681	0,301	0
C	2	0	6,81	14	3,155	1,519	2,898
C	3	0	6,82	13	4,136	2	3,19
A	1	3	6,67	17,5	3,008	0	0
A	2	3	6,66	18	3,332	0	0
A	3	3	6,68	18,8	2,724	0	0
B	1	3	6,74	16,5	4,322	2,362	3,346
B	2	3	6,76	16,3	3,602	1,699	2,763
B	3	3	6,75	16,8	4,845	1,301	0
C	1	3	6,77	13	6,064	3,415	4,758
C	2	3	6,85	14	5,973	3,38	4,758
C	3	3	6,83	13,8	5,276	3,982	4,756
A	1	7	6,72	18,3	3,623	0	0
A	2	7	6,69	18,3	3,748	0	1
A	3	7	6,69	18,5	2,845	0	1
B	1	7	6,77	16,8	6,87	4,465	5,758
B	2	7	6,77	17,3	6,41	4,455	5,758
B	3	7	6,73	16	4,914	3,699	5,078
C	1	7	6,71	15	7,902	6,082	5,758
C	2	7	6,71	15,5	7,756	5,137	5,758
C	3	7	6,73	15,5	7,423	4,896	5,758
A	1	15	6,68	18,3	5,978	0	0
A	2	15	6,69	19	4,903	0	1
A	3	15	6,67	18,8	3,716	0	1
B	1	15	6,36	25,3	8,544	7,173	6,758
B	2	15	6,58	22,8	8,756	6,987	8,358
B	3	15	6,58	22	8,274	6,835	5,758
C	1	15	6,26	22,8	8,633	8,124	7,758
C	2	15	6,58	20	8,623	7,892	8,463
C	3	15	6,6	20	8,185	7,164	8,562
A	1	30	6,58	22	7,431	0	0
A	2	30	6,58	22	7,299	0	1
A	3	30	6,67	19,5	4,699	0	1
B	1	30	6	51	9,301	8,845	9,041
B	2	30	6,36	28	9,124	8,94	9,013
B	3	30	6,47	28,5	9,097	8,857	8,708
C	1	30	4,83	56	9	8,477	8,447
C	2	30	6	35,5	9,079	8,613	8,903
C	3	30	6,28	27	8,968	8,875	9,199

-- ml NAOH 0,1N/ 100ml de leche

* log ufc/ml

ANEXO 2

Análisis de varianza de leche pasteurizada para pH, acidez titulable, coliformes, mesófilos y psicrotróficos

- Bacterias mesófilas**

Análisis de la Varianza paramesofilos - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTOS	68,4164	2	34,2082	52,67	0,0000
B:REPETICIÓN	3,48771	2	1,74385	2,68	0,0819
C:TIEMPO	151,93	4	37,9824	58,48	0,0000
RESIDUOS	23,382	36	0,649501		
TOTAL (CORREGIDO)	247,216	44			

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

- Bacterias coliformes**

Análisis de la Varianza paracoliformes - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTOS	242,237	2	121,119	45,60	0,0000
B:REPETICIÓN	0,0775822	2	0,0387911	0,01	0,9855
C:TIEMPO	176,331	4	44,0828	16,60	0,0000
RESIDUOS	95,6159	36	2,656		
TOTAL (CORREGIDO)	514,262	44			

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

- Bacterias psicrotróficas**

Análisis de la Varianza parapsicrotróficos - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTOS	252,592	2	126,296	50,37	0,0000
B:REPETICIÓN	2,27997	2	1,13998	0,45	0,6382
C:TIEMPO	178,242	4	44,5606	17,77	0,0000
RESIDUOS	90,2572	36	2,50714		
TOTAL (CORREGIDO)	523,372	44			

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

- **pH**

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

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTOS	0,208138	2	0,104069	1,62	0,2127
B:REPETICIÓN	0,315538	2	0,157769	2,45	0,1005
C:TIEMPO	1,99323	4	0,498308	7,74	0,0001
RESIDUOS	2,31792	36	0,0643868		
TOTAL (CORREGIDO)	4,83483	44			

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

- **Acidez titulable**

Análisis de la Varianza para acidez titulable - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTOS	70,471	2	35,2355	0,99	0,3830
B:REPETICIÓN	113,84	2	56,9202	1,59	0,2174
C:TIEMPO	1765,48	4	441,369	12,35	0,0000
RESIDUOS	1286,86	36	35,7462		
TOTAL (CORREGIDO)	3236,65	44			

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

ANEXO 3

Análisis microbiológico mesófilos tratamiento A en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para mesofilos según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	2,49567	X
3	3	3,02133	X
7	3	3,40533	XX
15	3	4,86567	XX
30	3	6,47633	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
0 - 3	-0,525667		1,69072
0 - 7	-0,909667		1,69072
0 - 15	*-2,37		1,69072
0 - 30	*-3,98067		1,69072
3 - 7	-0,384		1,69072
3 - 15	*-1,84433		1,69072
3 - 30	*-3,455		1,69072
7 - 15	-1,46033		1,69072
7 - 30	*-3,071		1,69072
15 - 30	-1,61067		1,69072

* indica una diferencia significativa.

Análisis microbiológico mesófilos tratamiento B en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para mesofilos según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	3,486	X
3	3	4,25633	X
7	3	6,06467	X
15	3	8,52467	X
30	3	9,174	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
0 - 3	-0,770333		1,07258
0 - 7	*-2,57867		1,07258
0 - 15	*-5,03867		1,07258
0 - 30	*-5,688		1,07258
3 - 7	*-1,80833		1,07258
3 - 15	*-4,26833		1,07258
3 - 30	*-4,91767		1,07258
7 - 15	*-2,46		1,07258
7 - 30	*-3,10933		1,07258
15 - 30	-0,649333		1,07258

* indica una diferencia significativa.

Análisis microbiológico mesófilos tratamiento C en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para mesofilos según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos

0	3	3,65733	X
3	3	5,771	X
7	3	7,69367	X
15	3	8,48033	X
30	3	9,01567	X

Contraste	Diferencias		+/- Límites

0 - 3	*-2,11367		0,606573
0 - 7	*-4,03633		0,606573
0 - 15	*-4,823		0,606573
0 - 30	*-5,35833		0,606573
3 - 7	*-1,92267		0,606573
3 - 15	*-2,70933		0,606573
3 - 30	*-3,24467		0,606573
7 - 15	*-0,786667		0,606573
7 - 30	*-1,322		0,606573
15 - 30	-0,535333		0,606573

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 4

Comparación de resultados microbiológicos mesófilos entre tratamientos para cada tiempo

Tiempo 0

Contraste Múltiple de Rango para mesófilos según TRATAMIENTOS

Método: 95.0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	2.49567	X
B	3	3.486	XX
C	3	3.65733	X
Contraste		Diferencias	+/- Límites
A - B		-0.990333	1.03527
A - C		*-1.16167	1.03527
B - C		-0.171333	1.03527

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 3

Contraste Múltiple de Rango para mesofilos según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	3,02133	X
B	3	4,25633	X
C	3	5,771	X
Contraste		Diferencias	+/- Límites
A - B		*-1,235	0,942679
A - C		*-2,74967	0,942679
B - C		*-1,51467	0,942679

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 7

Contraste Múltiple de Rango para mesofilos según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	3,40533	X
B	3	6,06467	X
C	3	7,69367	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*-2,65933	1,33804
A - C	*-4,28833	1,33804
B - C	*-1,629	1,33804

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 15

Contraste Múltiple de Rango para mesofilos según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	4,86567	X
C	3	8,48033	X
B	3	8,52467	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*-3,659	1,36678
A - C	*-3,61467	1,36678
B - C	0,0443333	1,36678

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 30

Contraste Múltiple de Rango para mesofilos según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	6,47633	X
C	3	9,01567	X
B	3	9,174	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*-2,69767	1,78291
A - C	*-2,53933	1,78291
B - C	0,158333	1,78291

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 5

Análisis microbiológico coliformes tratamiento A en el tiempo

Sin diferencia significativa

Análisis microbiológico coliformes tratamiento B en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para coliformes según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	0,0	X
3	3	1,78733	X
7	3	4,20633	X
15	3	6,99833	X
30	3	8,88067	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
0 - 3	*-1,78733		0,581986
0 - 7	*-4,20633		0,581986
0 - 15	*-6,99833		0,581986
0 - 30	*-8,88067		0,581986
3 - 7	*-2,419		0,581986
3 - 15	*-5,211		0,581986
3 - 30	*-7,09333		0,581986
7 - 15	*-2,792		0,581986
7 - 30	*-4,67433		0,581986
15 - 30	*-1,88233		0,581986

* indica una diferencia significativa.

Análisis microbiológico coliformes tratamiento C en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para coliformes según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	1,27333	X
3	3	3,59233	X
7	3	5,39833	X
15	3	7,72667	X
30	3	8,655	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
0 - 3	*-2,319		0,999188
0 - 7	*-4,125		0,999188
0 - 15	*-6,45333		0,999188
0 - 30	*-7,38167		0,999188
3 - 7	*-1,806		0,999188
3 - 15	*-4,13433		0,999188
3 - 30	*-5,06267		0,999188
7 - 15	*-2,32833		0,999188
7 - 30	*-3,25667		0,999188
15 - 30	-0,928333		0,999188

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 6

Comparación de resultados microbiológicos coliformes entre tratamientos para cada tiempo

Tiempo 0

Contraste Múltiple de Rango para coliformes según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
B	3	0,0	X
A	3	0,0	X
C	3	1,27333	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
A - B	0,0		1,01015
A - C	*-1,27333		1,01015
B - C	*-1,27333		1,01015

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 3

Contraste Múltiple de Rango para coliformes según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	0,0	X
B	3	1,78733	X
C	3	3,59233	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
A - B	*-1,78733		0,730868
A - C	*-3,59233		0,730868
B - C	*-1,805		0,730868

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 7

Contraste Múltiple de Rango para coliformes según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	0,0	X
B	3	4,20633	X
C	3	5,39833	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*-4,20633	0,838464
A - C	*-5,39833	0,838464
B - C	*-1,192	0,838464

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 15

Contraste Múltiple de Rango para coliformes según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	0,0	X
B	3	6,99833	X
C	3	7,72667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*-6,99833	0,609887
A - C	*-7,72667	0,609887
B - C	*-0,728333	0,609887

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 30

Contraste Múltiple de Rango para coliformes según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	0,0	X
C	3	8,655	X
B	3	8,88067	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*-8,88067	0,240856
A - C	*-8,655	0,240856
B - C	0,225667	0,240856

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 7

Análisis microbiológico psicrotróficos tratamiento A en el tiempo

Tabla ANOVA para psicrotróficos según TIEMPO

Análisis de la Varianza						
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor	
Entre grupos	1,6	4	0,4	2,00	0,1705	
Intra grupos	2,0	10	0,2			
Total (Corr.)	3,6	14				

Análisis microbiológico psicrotróficos tratamiento B en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para psicrotróficos según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD						
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos			
0	3	0,0	X			
3	3	2,03633	X			
7	3	5,53	X			
15	3	6,95667	X			
30	3	8,92067	X			
Contraste			Diferencias	+/-	Límites	
0 - 3			* -2,03633	1,83829		
0 - 7			* -5,53	1,83829		
0 - 15			* -6,95667	1,83829		
0 - 30			* -8,92067	1,83829		
3 - 7			* -3,49367	1,83829		
3 - 15			* -4,92033	1,83829		
3 - 30			* -6,88433	1,83829		
7 - 15			-1,42667	1,83829		
7 - 30			* -3,39067	1,83829		
15 - 30			* -1,964	1,83829		

* indica una diferencia significativa.

Análisis microbiológico psicrotróficos tratamiento C en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para psicrotróficos según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos

0	3	2,02933	X
3	3	4,756	X
7	3	5,756	X
15	3	8,26033	X
30	3	8,84967	X

Contraste		Diferencias	+/- Límites

0 - 3		*-2,72667	1,51047
0 - 7		*-3,72667	1,51047
0 - 15		*-6,231	1,51047
0 - 30		*-6,82033	1,51047
3 - 7		-1,0	1,51047
3 - 15		*-3,50433	1,51047
3 - 30		*-4,09367	1,51047
7 - 15		*-2,50433	1,51047
7 - 30		*-3,09367	1,51047
15 - 30		-0,589333	1,51047

* indica una diferencia significativa.			

ANEXO 8

Comparación de resultados microbiológicos psicrotróficos entre tratamientos para cada tiempo

Tiempo 0

Tabla ANOVA para psicrotróficos según TRATAMIENTOS

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	8,23639	2	4,11819	3,97	0,0796
Intra grupos	6,21992	6	1,03665		
Total (Corr.)	14,4563	8			

Tiempo 3

Contraste Múltiple de Rango para psicrotróficos según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	0,0	X
B	3	2,03633	X
C	3	4,756	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
A - B	-2,03633		2,0618
A - C	*-4,756		2,0618
B - C	*-2,71967		2,0618

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 7

Contraste Múltiple de Rango para psicrotróficos según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	0,666667	X
B	3	5,53	X
C	3	5,756	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
A - B	*-4,86333		0,804604
A - C	*-5,08933		0,804604
B - C	-0,226		0,804604

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 15

Contraste Múltiple de Rango para psicrotróficos según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	0,666667	X
B	3	6,95667	X
C	3	8,26033	X
Contraste		Diferencias	+/- Límites
A - B		* -6,29	1,72998
A - C		* -7,59367	1,72998
B - C		-1,30367	1,72998
* indica una diferencia significativa.			

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 30

Contraste Múltiple de Rango para psicrotróficos según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	0,666667	X
C	3	8,84967	X
B	3	8,92067	X

Contraste	Diferencias		+/- Límites

A - B	*-8,254		0,82453
A - C	*-8,183		0,82453
B - C	0,071		0,82453

* indica una diferencia significativa.			

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 9

Análisis químico pH tratamiento A en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para pH según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos

30	3	6,61	X
3	3	6,67	X
0	3	6,67	X
15	3	6,68	X
7	3	6,7	X

Contraste	Diferencias		+/- Límites

0 - 3	0,0		0,0508095
0 - 7	-0,03		0,0508095
0 - 15	-0,01		0,0508095
0 - 30	*0,06		0,0508095
3 - 7	-0,03		0,0508095
3 - 15	-0,01		0,0508095
3 - 30	*0,06		0,0508095
7 - 15	0,02		0,0508095
7 - 30	*0,09		0,0508095
15 - 30	*0,07		0,0508095

* indica una diferencia significativa.

Análisis químico pH tratamiento B en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para pH según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos
30	3	6,27667	X
15	3	6,5	X
3	3	6,75	X
7	3	6,75667	X
0	3	6,76333	X
Contraste			Diferencias +/- Límites
0 - 3			0,0133333 0,240116
0 - 7			0,00666667 0,240116
0 - 15			*0,263333 0,240116
0 - 30			*0,486667 0,240116
3 - 7			-0,00666667 0,240116
3 - 15			*0,25 0,240116
3 - 30			*0,473333 0,240116
7 - 15			*0,256667 0,240116
7 - 30			*0,48 0,240116
15 - 30			0,223333 0,240116

* indica una diferencia significativa.

Análisis químico pH tratamiento C en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para pH según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD

TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos
--------	-------	-------	-------------------

30	3	5,70333	X
15	3	6,48	X
7	3	6,71667	X
0	3	6,79333	X
3	3	6,81667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
-----------	-------------	-------------

0 - 3	-0,0233333	0,64646
0 - 7	0,0766667	0,64646
0 - 15	0,313333	0,64646
0 - 30	*1,09	0,64646
3 - 7	0,1	0,64646
3 - 15	0,336667	0,64646
3 - 30	*1,11333	0,64646
7 - 15	0,236667	0,64646
7 - 30	*1,01333	0,64646
15 - 30	*0,776667	0,64646

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 10

Comparación de resultados químicos pH entre tratamientos para cada tiempo

Tiempo 0

Tabla ANOVA para pH según TRATAMIENTOS

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,0248222	2	0,0124111	2,79	0,1394
Intra grupos	0,0267333	6	0,00445556		
Total (Corr.)	0,0515556	8			

Tiempo 3

Contraste Múltiple de Rango para pH según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	6,67	X
B	3	6,75	X
C	3	6,81667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*-0,08	0,0507185
A - C	*-0,146667	0,0507185
B - C	*-0,0666667	0,0507185

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 7

Contraste Múltiple de Rango para pH según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	6,7	X
C	3	6,71667	X
B	3	6,75667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*-0,0566667	0,0358634
A - C	-0,0166667	0,0358634
B - C	*0,04	0,0358634

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 15

Tabla ANOVA para pH según TRATAMIENTOS

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,0728	2	0,0364	2,13	0,2001
Intra grupos	0,1026	6	0,0171		
Total (Corr.)	0,1754	8			

Tiempo 30

Tabla ANOVA para pH según TRATAMIENTOS

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,26187	2	0,630933	2,89	0,1321
Intra grupos	1,30953	6	0,218256		
Total (Corr.)	2,5714	8			

ANEXO 11

Análisis químico acidez titulable tratamiento A en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para acidez titulable según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos

0	3	17,35	X
3	3	18,1	X
7	3	18,3667	X
15	3	18,7	X
30	3	21,1667	X

Contraste		Diferencias	+/- Límites

0 - 3		-0,75	1,4207
0 - 7		-1,01667	1,4207
0 - 15		-1,35	1,4207
0 - 30		*-3,81667	1,4207
3 - 7		-0,266667	1,4207
3 - 15		-0,6	1,4207
3 - 30		*-3,06667	1,4207
7 - 15		-0,333333	1,4207
7 - 30		*-2,8	1,4207
15 - 30		*-2,46667	1,4207

* indica una diferencia significativa.

Análisis químico acidez titulable tratamiento B en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para acidez titulable según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos

0	3	16,1667	X
3	3	16,5333	X
7	3	16,7	X
15	3	23,3667	X
30	3	36,1667	X

Contraste	Diferencias		+/- Límites

0 - 3	-0,366667		10,565
0 - 7	-0,533333		10,565
0 - 15	-7,2		10,565
0 - 30	*-20,0		10,565
3 - 7	-0,166667		10,565
3 - 15	-6,83333		10,565
3 - 30	*-19,6333		10,565
7 - 15	-6,66667		10,565
7 - 30	*-19,4667		10,565
15 - 30	*-12,8		10,565

* indica una diferencia significativa.

Análisis químico acidez titulable tratamiento C en el tiempo

Contraste Múltiple de Rango para acidez titulable según TIEMPO

Método: 95,0 porcentaje LSD

TIEMPO	Frec.	Media	Grupos homogéneos
0	3	13,2667	X
3	3	13,6	X
7	3	15,3333	X
15	3	20,9333	X
30	3	39,5	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
0 - 3	-0,333333		12,2214
0 - 7	-2,06667		12,2214
0 - 15	-7,66667		12,2214
0 - 30	*-26,2333		12,2214
3 - 7	-1,73333		12,2214
3 - 15	-7,33333		12,2214
3 - 30	*-25,9		12,2214
7 - 15	-5,6		12,2214
7 - 30	*-24,1667		12,2214
15 - 30	*-18,5667		12,2214

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 12

Comparación de resultados químicos acidez titulable entre tratamientos para cada tiempo

Tiempo 0

Contraste Múltiple de Rango para acidez titulable según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
C	3	13,2667	X
B	3	16,1667	X
A	3	17,35	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
A - B	*1,18333		1,08769
A - C	*4,08333		1,08769
B - C	*2,9		1,08769

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 3

Contraste Múltiple de Rango para acidez titulable según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD			
TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
C	3	13,6	X
B	3	16,5333	X
A	3	18,1	X

Contraste	Diferencias		+/- Límites

A - B	*1,56667		1,01437
A - C	*4,5		1,01437
B - C	*2,93333		1,01437

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 7

Contraste Múltiple de Rango para acidez titulable según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
C	3	15,3333	X
B	3	16,7	X
A	3	18,3667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*1,66667	0,837107
A - C	*3,03333	0,837107
B - C	*1,36667	0,837107

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 15

Contraste Múltiple de Rango para acidez titulable según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	3	18,7	X
C	3	20,9333	XX
B	3	23,3667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - B	*-4,66667	2,75553
A - C	-2,23333	2,75553
B - C	2,43333	2,75553

* indica una diferencia significativa.

Tiempo 30

Tabla ANOVA para acidez titulable según TRATAMIENTOS

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	572,222	2	286,111	2,20	0,1916
Intra grupos	778,833	6	129,806		
Total (Corr.)	1351,06	8			

ANEXO 13

Evaluación sensorial de Aceptación general en el tiempo

Día 5

Tabla ANOVA para aceptación general según tratamiento

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,554435	2	0,277218	0,90	0,4100
Intra grupos	20,5583	67	0,30684		
Total (Corr.)	21,1127	69			

Día 8

Contraste Múltiple de Rango para aceptación general según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	24	3,875	X
C	24	4,17917	XX
B	24	4,275	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
A - B	*-0,4		0,35412
A - C	-0,304167		0,35412
B - C	0,0958333		0,35412

* indica una diferencia significativa.

Día 14

Contraste Múltiple de Rango para aceptación según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
B	22	2,17727	X
C	22	2,27273	X
A	24	3,61667	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
A - B	*1,43939		0,546544
A - C	*1,34394		0,546544
B - C	-0,0954545		0,558299

* indica una diferencia significativa.

Día 28

Contraste Múltiple de Rango para Aceptacion general según Tratamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
B	24	1,0	X
C	24	1,0	X
A	24	3,5375	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
A - B	*2,5375		0,263782
A - C	*2,5375		0,263782
B - C	0,0		0,263782

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 14

Evaluación sensorial de Apariencia en el tiempo

Día 5

Tabla ANOVA para apariencia según tratamiento

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,0572692	2	0,0286346	0,15	0,8583
Intra grupos	12,5262	67	0,186958		
Total (Corr.)	12,5834	69			

Día 8

Tabla ANOVA para apariencia según tratamiento

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,01	2	0,005	0,03	0,9729
Intra grupos	12,53	69	0,181594		
Total (Corr.)	12,54	71			

Día 14

Contraste Múltiple de Rango para apariencia según tratamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos
C	22	3,37727	X
B	22	3,65	X
A	24	4,37083	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites
A - B	*0,720833		0,610261
A - C	*0,993561		0,610261
B - C	0,272727		0,623387

* indica una diferencia significativa.

Día 28

Contraste Múltiple de Rango para Apariencia según Tratamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD			
Tratamiento	Frec.	Media	Grupos homogéneos

B	24	1,20833	X
C	24	1,25	X
A	24	4,21667	X

Contraste	Diferencias		+/- Límites

A - B	*3,00833		0,287793
A - C	*2,96667		0,287793
B - C	-0,0416667		0,287793

* indica una diferencia significativa.			

ANEXO 15

CARTILLA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE LECHE FLUIDA

Juez.....

Fecha.....

PUNTOS	Nº	ACEPTACIÓN	CLAVE PRODUCTOS				
5		MUY BUENO Algo dulce, agradable					
4	11 12 13 14 15	BUENO Algo cocido Leve tiza Leve a forraje Insípido Leve quemado					
3	11 12 13 14 15	REGULAR Cocido A tiza A forraje Insípido Quemado					
2	16 17 18 19 20	MALO (Defectos evidentes) Otros defectos también permitidos hasta un cierto rango Amargo Oxidado Añejo Rancio Salado					
1	21 22 23	MUY MALO (Defectos muy fuertes) Entre otros Ácido Algo de sabor extraño Algo a reactivo químico					
OBSERVACIONES:							

ANEXO 16

CARTILLA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE LECHE FLUIDA APARIENCIA

Juez:.....

Fecha:.....

Apariencia de la leche fluida			CLAVE PRODUCTOS				
Puntos (categoría)	Nº del defecto	Observaciones					
5		MUY BUENA Blanco a leve crema					
4	1	BUENA Pequeños grumos de crema					
3	1	REGULAR (defectos leves) Pequeños grumos de crema					
	6	Partículas extrañas					
2		POBRE EN CALIDAD (defectos evidentes)					
	5	Leve pardo, color atípico					
	2	Granuloso					
	3	Sedimentación					
	6	Partículas Extrañas					
1		MUY POBRE EN CALIDAD (fuerte presencia de defectos)					
	2	Materia grasa adherida al vaso					
	5	Color atípico, color café					
	1	Grumos de crema					
	6	Partículas extrañas					
OBSERVACIONES:							

ANEXO 17

Resumen de defectos en la evaluación sensorial

TRATAMIENTO A (pasteurización en Baño María)				
Defectos	Tiempo 5	Tiempo 8	Tiempo 14	Tiempo 28
11=cocido	10	10	8	10
13=a forraje	9	8	4	6
16=amargo	-	-	1	3
17=oxidado	-	-	4	2
19=rancio	-	-	-	4
21=acido	7	4	4	4
TRATAMIENTO B (pasteurización HTST)				
Defectos	Tiempo 5	Tiempo 8	Tiempo 14	Tiempo 28
11=cocido	4	8	4	-
13=a forraje	8	10	4	-
14=insípido	6	-	-	-
16=amargo	-	-	4	-
19=rancio	-	-	4	-
21=acido	6	7	10	-
22= sabor a extraño	-	-	-	-
TRATAMIENTO C (pasteurización LTLT)				
Defectos	Tiempo 5	Tiempo 8	Tiempo 14	Tiempo 28
11=cocido	8	10	-	-
12=a tiza		2	-	-
13=a forraje	6	9	-	-
16=amargo	-	-	8	6
18=añejo	-	-	4	
19=rancio	--	-	5	3
21=acido	6	8	12	10
22=sabor extraño	-	2	2	-