

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTUDIO DE VIDA ÚTIL Y DETERMINACIÓN DE VITAMINA A EN LECHE ULTRA
PASTEURIZADA SEMIDESCREMADA

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado
en Ciencia de Alimentos para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencia
de Alimentos

IRIS ROCÍO CHAVES SALAZAR

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2021

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso,
Padre bueno y amoroso,
a Él honor y gloria.

A Dios todo mi agradecimiento.

A Miguel, mi esposo, por su amor,
paciencia, comprensión y apoyo
incondicional.

A mi papás, Sara y Román, que están junto
a mí siempre.

A mis hermanos, Sarita y Sergio, mis
compañeros de viaje.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por apoyarme en todo momento, por comprender mis tiempos de estudio, por su amor incondicional. A ustedes, Sara, Román, Miguel, Sari y Sergio, mi eterna gratitud.

A la Dra. María Lourdes Pineda por su disposición, dedicación, paciencia y guía. Su ejemplo y confianza me impulsó a seguir adelante a cada momento. Dios la bendiga grande y ricamente.

A mi gran amigo Humberto, por su apoyo incondicional en la presentación de este trabajo, es invaluable su aporte y dedicación.

A mis grandes amigas, hermanas de la vida, Lupe, Ñien, Rebeca y Silvia, siempre presentes, apoyándome en cada paso de la vida.

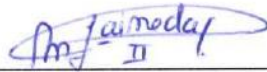
A mi amigo Javier por su apoyo emocional, siempre con su aporte positivo e incentivándome a seguir con gran cariño y amabilidad.

A Claudia Valentinuzzi, que desde que nos conocimos estuvo pendiente, por su impulso y sus comentarios positivos en la “máquina del café”. Me ayudaste mil con tu alegría y energía.


Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencia de Alimentos de la Universidad de Costa Rica como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencia de Alimentos.



Ph.D. Marianela Cortés Muñoz
Representante de la Decana
Sistema de Estudios de Posgrado



Dra. María Lourdes Pineda Castro
Directora de Tesis



MAE. Danna Bolaños Chaverri
Asesora



M.Sc. Alejandro Chacón Villalobos
Asesor



M.Sc. Carolina Cortés Herrera
Representante de la Directora
Programa de Posgrado en Ciencia de Alimentos



Iris Rocío Chaves Salazar
Postulante

TABLA DE CONTENIDOS

Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Hoja de aprobación	iv
Tabla de contenidos	v
Resumen	viii
Lista de cuadros	ix
Lista de figuras	xi
Lista de abreviaturas	xiii
1. Introducción	1
1.1. Justificación	1
1.2. Objetivos	5
1.2.1. Objetivo General	5
1.2.2. Objetivos Específicos	5
2. Marco Teórico	6
2.1. Vida útil	6
2.1.1. Método de vida útil acelerado	7
2.1.2. Modelo de Arrhenius o modelo Q_{10}	9
2.1.3. Tipos de reacción	11
2.1.3.1. Orden cero	11
2.1.3.2. Orden uno	12
2.2. La leche	12
2.2.1. Composición de la leche	13
2.2.2. Propiedades físicoquímicas de la leche	15
2.2.3. Aporte nutricional de la leche	16
2.2.4. Consumo y producción de leche	17
2.3. Tratamiento térmico a ultra alta temperatura	18
2.4. Consumo de productos lácteos asépticos	20
2.5. Fortificación de alimentos	21
2.5.1. Fortificación de leche	22

2.5.2. Legislación en Costa Rica	23
2.6. Parámetros evaluados	24
2.6.1. pH y acidez de la leche	24
2.6.2. Viscosidad	25
2.6.3. Color	25
2.6.4. Vitamina A	26
2.7. Panel sensorial	27
2.7.1. Tipos de pruebas sensoriales	28
2.7.2. Pruebas de agrado	29
2.8. El color en los alimentos	31
2.8.1. La teoría tricromática	32
2.8.2. La captura del color	32
2.8.3. Medición de color	34
3. Materiales y Métodos	37
3.1. Localización del proyecto	37
3.2. Características de la leche	37
3.3. Proceso	38
3.3.1. Recibo de materia prima	38
3.3.2. Precalentamiento	39
3.3.3. Homogenización	39
3.3.4. Esterilización	39
3.3.5. Traslado al tanque estéril	39
3.3.6. Esterilización del material de empaque	39
3.3.7. Envasado	39
3.3.8. Embalaje	40
3.3.9. Despacho de producto terminado	41
3.3.10. Cuarentena	41
3.3.11. Distribución	41
3.4. Metodología	41
3.4.1. Caracterización de la leche	41
3.4.2. Diseño experimental	41
3.4.3. Procedimiento experimental	41

3.4.4. Frecuencia de muestreo	42
3.4.5. Análisis de resultados	43
3.4.5.1. Prueba sensorial	43
3.4.5.2. Variables físicoquímicas	43
3.4.5.3. Gráfico de vida útil	44
3.5. Métodos de análisis	44
3.5.1. Análisis sensorial	44
3.5.2. Análisis físicoquímicos	45
3.5.2.1. Vitamina A (todo-trans y 13-cis retinol) por cromatografía HPLC	45
3.5.2.2. pH	45
3.5.2.3. Porcentaje de acidez por el método de valoración colorimétrica	46
3.5.2.4. Color	46
3.5.2.5. Viscosidad	46
4. Resultados y Discusión	47
4.1. Análisis sensorial	47
4.2. Análisis físicoquímicos	50
4.2.1. Orden de reacción	50
4.2.2. Efecto de la temperatura, el tiempo y el lote en los parámetros evaluados	52
4.2.3. Vitamina A	54
4.2.4. Acidez	56
4.2.5. pH	58
4.2.6. Viscosidad	59
4.2.7. Color	61
4.3. Determinación de la vida útil	67
4.3.1. Valor de Q_{10}	72
5. Conclusiones	73
6. Recomendaciones	75
7. Bibliografía	76
8. Anexos	83
8.1. Anexo A. Parámetros de las rectas de mejor ajuste de las variables analizadas	83
8.2. Anexo B. Análisis de Andeva comportamiento logarítmico	89
8.3. Anexo C. Determinación de la vida útil	93

RESUMEN

Chaves Salazar, Iris Rocío

Estudio de vida útil y determinación de vitamina A en leche ultra pasteurizada semidescremada.

Tesis Maestría Académica en Ciencia de Alimentos – San José, C.R.: I.R. Chaves S. 2021.

94h.: il - 101 refs.

Se realizó un estudio de vida útil en leche ultra pasteurizada semidescremada (2 %) utilizando cuatro temperaturas de almacenamiento: 4 °C, 24 °C, 32 °C y 40 °C, por periodos de almacenamiento de 10, 10, 6 y 3,3 meses, respectivamente. Se midieron los parámetros de color L^* , a^* , b^* , c^* y h^0 , la acidez, el pH y la viscosidad en cada una de las muestras. Además, a las muestras almacenadas a 24 °C se les hizo análisis de vitamina A y se evaluó sensorialmente la leche almacenada a 32 °C, utilizando como patrón la leche almacenada a 4 °C.

Entre los parámetros evaluados el más importante para la estimación de la vida útil es la acidez. La acidez tiene una velocidad de cambio mayor que las otras mediciones que se realizaron. Las variaciones del pH son lentas y la viscosidad en todo momento del estudio estuvo dentro de los parámetros normales para una leche (entre 1 cP y 3 cP). Con respecto al color, la variable L^* es la que presenta un factor de cambio mayor en relación con el tiempo. La luminosidad (L^*) de la leche va disminuyendo con el tiempo, siendo mayor la disminución al aumentar la temperatura de almacenamiento, y a 40 °C desciende de 95 a menos de 80. A esta temperatura el cambio de color es evidente a la vista en un corto tiempo.

La evaluación sensorial de la leche semidescremada UHT almacenada a 32 °C por 6 meses, no permitió establecer un momento en el que el producto pasara a ser más o menos desagradable en función del tiempo de almacenamiento. En el análisis de vitamina A realizado a muestras almacenadas a temperatura ambiente (24 °C) se obtuvo una disminución con el tiempo de almacenamiento. Los resultados antes de los 300 días de almacenamiento (10 meses) están dentro de la especificación (180 μg / 250 mL).

Finalmente, se calculó la vida útil del producto utilizando la acidez, parámetro con el que se obtienen la menor vida útil. La vida útil obtenida a 25 °C, 30 °C y 35 °C, es 224 días, 141 días y 71 días (8, 5 y 2 meses), respectivamente. A 24 °C para la leche 2 % es de 251 días (8,4 meses) con base en los análisis del % acidez.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 2.1. Composición química de la leche	13
Cuadro 2.2. Lípidos de la composición de la grasa de la leche	14
Cuadro 2.3. Vitaminas presentes en la leche	15
Cuadro 2.4. Iluminantes estándares establecidos por la CIE	33
Cuadro 3.1. Ficha técnica de la leche semidescremada (2 %) ultra pasteurizada y envasada en envase Tetra Brik	37
Cuadro 3.2. Información nutricional por porción de 250 mL (1 vaso) declarada en el envase en la leche 2 % grasa UHT	38
Cuadro 3.3. Condiciones de muestreo durante los 10 meses de almacenamiento de la leche UHT 2 % grasa	43
Cuadro 4.1. Probabilidades del análisis de varianza del panel sensorial de leche semidescremada almacenada a 32 °C, de los tres agrupamientos encontrados por el método de Ward	48
Cuadro 4.2. Promedios de agrado para cada momento en el tiempo de cada conglomerado y resultado de la prueba de comparación de medias de Tukey	49
Cuadro 4.3. Probabilidades calculadas por variable para la comparación de los coeficientes de correlación de los modelos lineal y logarítmico	51
Cuadro 4.4. Análisis de varianza para la evaluación de los parámetros estudiados en leche UHT 2 % en grasa almacenada a 4 °C, 24 °C, 32 °C y 40 °C	52
Cuadro 4.5. Promedios de los parámetros en los distintos lotes de muestras evaluados y resultado de la prueba de comparación de medias de Tukey	53
Cuadro 4.6. Valores de L*, a* y b* de distintos tipos de leche por diferentes investigaciones	67
Cuadro 4.7. Parámetros de las rectas de mejor ajuste para la acidez por temperatura de almacenamiento y lote	68
Cuadro 4.8. Parámetro de las rectas de mejor ajuste para el pH por temperatura de almacenamiento y lote	68
Cuadro 4.9. Parámetros de las rectas de mejor ajuste para el parámetro L* del color a temperatura de almacenamiento y lote	69
Cuadro 4.10. Resultados de la interpolación de la vida útil obtenida a partir de los gráficos 4.35 a 4.37 para los tres parámetros evaluados	71
Cuadro 4.11. Valores de Q10 obtenidos a partir de la estimación de vida útil de la leche 2 % grasa	72
Cuadro A.1. Parámetros de las rectas de ajuste del porcentaje de acidez en función del tiempo en leche UHT semidescremada	83
Cuadro A.2. Parámetros de las rectas de ajuste del pH en función del tiempo en leche UHT semidescremada	84

Cuadro A.3. Parámetros de las rectas de ajuste de la viscosidad en función del tiempo en leche UHT semidescremada	84
Cuadro A.4. Parámetros de las rectas de mejor ajuste de vitamina A en función del tiempo en leche UHT semidescremada	85
Cuadro A.5. Parámetros de las rectas de mejor ajuste de L* en función del tiempo en leche UHT semidescremada	85
Cuadro A.6. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del parámetro b* de color en leche UHT semidescremada	86
Cuadro A.7. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del parámetro a* de color en leche UHT semidescremada	87
Cuadro A.8. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del parámetro c* de color en leche UHT semidescremada	87
Cuadro A.9. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del parámetro hº de color en leche UHT semidescremada	88
Cuadro B.1. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logaritmo del porcentaje de acidez en función del tiempo en leche UHT semidescremada	89
Cuadro B.2. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logaritmo del pH en función del tiempo en leche UHT semidescremada	89
Cuadro B.3. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logaritmo de la viscosidad en función del tiempo en leche UHT semidescremada	90
Cuadro B.4. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logaritmo del parámetro L* de color en función del tiempo en leche UHT semidescremada	91
Cuadro B.5. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logarítmico del parámetro b* de color en función del tiempo en leche UHT semidescremada	91
Cuadro B.6. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logarítmico del parámetro c* de color en función del tiempo en leche UHT semidescremada	92
Cuadro B.7. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logarítmico del parámetro hº de color en función del tiempo en leche UHT semidescremada	93
Cuadro C.1. Tiempo en el que se alcanza el valor de acidez (0,165 %), pH (6,40) y L* (86) a cada temperatura de almacenamiento por lote	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Centroamérica: consumo de leche blanca por país en millones de litros. Previsión de bajo crecimiento hacia 2014	20
Figura 2.2. Espacio de Color CIE L*a*b* y CIE L*c*h ⁰	35
Figura 3.1 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de leche semidescremada UHT a partir de leche pasteurizada y fortificada con vitamina A, hierro y ácido fólico (materia prima)	40
Figura 3.2. Escala hedónica híbrida de Villanueva (2005) utilizada para evaluar el agrado de una muestra de leche semidescremada ultra pasteurizada	45
Figura 4.1. Conglomerados obtenidos por el Método de Ward en el panel sensorial de leche 2 % UHT almacenada a 32 °C durante 6 meses	47
Figura 4.2. Resultados de vitamina A en leche UHT de todos los lotes evaluados a temperatura de almacenamiento de 24 °C	55
Figura 4.3. Comportamiento del % acidez a temperatura de almacenamiento de 4 °C	57
Figura 4.4 Comportamiento del % acidez a temperatura de almacenamiento de 24 °C	57
Figura 4.5 Comportamiento del % acidez a temperatura de almacenamiento de 32 °C	57
Figura 4.6. Comportamiento del % acidez a temperatura de almacenamiento de 40 °C	57
Figura 4.7. Comportamiento del pH a una temperatura de almacenamiento de 4 °C	58
Figura 4.8. Comportamiento del pH a una temperatura de almacenamiento de 24 °C	58
Figura 4.9. Comportamiento del pH a una temperatura de almacenamiento de 32 °C	58
Figura 4.10. Comportamiento del pH a una temperatura de almacenamiento de 40 °C	58
Figura 4.11. Comportamiento de viscosidad a temperatura de almacenamiento de 4 °C	60
Figura 4.12. Comportamiento de viscosidad a temperatura de almacenamiento de 24 °C	60
Figura 4.13. Comportamiento de viscosidad a temperatura de almacenamiento de 32 °C	60
Figura 4.14. Comportamiento de viscosidad a temperatura de almacenamiento de 40 °C	60
Figura 4.15. Comportamiento de L* a una temperatura de almacenamiento de 4 °C	61
Figura 4.16. Comportamiento de L* a una temperatura de almacenamiento de 24 °C	61
Figura 4.17. Comportamiento de L* a una temperatura de almacenamiento de 32 °C	61
Figura 4.18. Comportamiento de L* a una temperatura de almacenamiento de 40 °C	61
Figura 4.19. Comportamiento de a* a una temperatura de almacenamiento de 4 °C	63
Figura 4.20. Comportamiento de a* a una temperatura de almacenamiento de 24 °C	63
Figura 4.21. Comportamiento de a* a una temperatura de almacenamiento de 32 °C	63
Figura 4.22. Comportamiento de a* a una temperatura de almacenamiento de 40 °C	63

Figura 4.23. Comportamiento de b^* a una temperatura de almacenamiento de 4 °C	64
Figura 4.24. Comportamiento de b^* a una temperatura de almacenamiento de 24 °C	64
Figura 4.25. Comportamiento de b^* a una temperatura de almacenamiento de 32 °C	64
Figura 4.26. Comportamiento de b^* a una temperatura de almacenamiento de 40 °C	64
Figura 4.27. Comportamiento de c^* a una temperatura de almacenamiento de 4 °C	65
Figura 4.28. Comportamiento de c^* a una temperatura de almacenamiento de 24 °C	65
Figura 4.29. Comportamiento de c^* a una temperatura de almacenamiento de 32 °C	65
Figura 4.30. Comportamiento de c^* a una temperatura de almacenamiento de 40 °C	65
Figura 4.31. Comportamiento de h^0 a una temperatura de almacenamiento de 4 °C	66
Figura 4.32. Comportamiento de h^0 a una temperatura de almacenamiento de 24 °C	66
Figura 4.33. Comportamiento de h^0 a una temperatura de almacenamiento de 32 °C	66
Figura 4.34. Comportamiento de h^0 a una temperatura de almacenamiento de 40 °C	66
Figura 4.35. Gráfico de vida útil de la leche semidescremada UHT con base en el % acidez	70
Figura 4.36. Gráfico de vida útil de la leche semidescremada UHT con base en el pH	70
Figura 4.37. Gráfico de vida útil de la leche semidescremada UHT con base en L^*	70
Figura C.1. Gráfico de vida útil de leche UHT 2 % grasa con base en acidez, pH y L^*	94

LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
ASLT	Acelerated Shelf – Life Testing, pruebas de almacenamiento aceleradas por sus siglas en inglés
a_w	actividad de agua
CIE	Commission Internationale d'Eclairage, Comisión Internacional de la Iluminación
CNPL	Cámara Nacional de Productores de Leche
CODEX Alimentarius	Código Alimentario de la FAO
DSM	DSM Productos Nutricionales, es una multinacional holandesa activa en los campos de la salud, la nutrición y los materiales
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos, Food and Drug Administration
FSC	Forest Stewardship Council (Consejo de Administración Forestal)
g.l.	grados de libertad
HDPE	Polietileno de alta densidad, por sus siglas en inglés High Density Polyethylen
HMF	hidroxi-metil-furfural
HPLC	siglas en inglés de cromatografía líquida de alto desempeño
OMS	Organización Mundial de la Salud
PET	tereftalato de polietileno o politereftalato de etileno, más conocido por sus siglas en inglés polyethylene terephthalate
PMO	del inglés Pasteuriced Milk Ordinance, Ordenanzas de la Leche Pasteurizada
RTCR	Reglamento técnico de la legislación de Costa Rica
SL	del inglés shelf life, vida útil
T	temperatura
t	tiempo
UHT	ultra alta temperatura, Ultra High Temperature
UV	ultravioleta-visible
VU	vida útil



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Gris Rocío Chaves Salazar, con cédula de identidad 1-736-848, en mi condición de autor del TFG titulado Estudio de vida útil y determinación de vitamínicos A en leche ultra pasteurizada semi descremada.

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI NO *

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: _____ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. JUSTIFICACIÓN

La necesidad de conservar los alimentos y la importancia de establecer la vida útil de éstos puede verse de dos maneras: desde el punto de vista del consumidor y desde el punto de vista del fabricante. Para el consumidor, el tiempo de vida útil debe garantizar un nivel de calidad del producto al momento de su compra y/o consumo, mientras que, para el fabricante, es una manera de garantizar satisfacción del consumidor hacia su producto (Anzueto, 1991), así como de disminuir las pérdidas por devolución de producto deteriorado y mejorar la rotación de los inventarios (Kooper, 1994).

Según Labuza (1997), la vida útil puede ser determinada y subsecuentemente controlada para cada alimento en forma individual si la principal causa de deterioro es conocida y manipulada. Por lo tanto, el establecimiento de la vida útil de un alimento debe contemplar tanto al producto en sí, como el sistema de empaque establecido, debido a que el envase constituye una barrera entre el alimento y el medio ambiente que se opone a la transmisión de la luz, el calor, la humedad, los gases y la eventual contaminación por microorganismos o insectos, los cuales son los principales factores de deterioro de un alimento (Fellows, 1994).

Se han desarrollado una gran variedad de tecnologías en la fabricación de empaques para proveer a los consumidores un producto con alta calidad y una vida útil larga. Estas tecnologías pueden ser usadas para productos procesados en donde se necesite una barrera para disminuir la transferencia de humedad entre los ingredientes de diferente actividad de agua, disminuir la entrada del oxígeno, evitando la oxidación de los lípidos, y disminuir la salida de dióxido de carbono o la entrada de malos olores (Labuza, 1996). Se ha demostrado que la permeabilidad al oxígeno y la transmisibilidad de la luz a través del material de empaque efectivamente influyen en gran medida en la calidad nutricional de los productos durante su almacenamiento (Kooper, 1996).

Actualmente, el consumidor ha reflejado una necesidad imperante por conocer y tener la mayor información posible acerca de los productos que se le ofrecen en el mercado. Un ejemplo claro es el conocimiento de la fecha de vencimiento de los productos, que va estrechamente unida a la vida útil. La fecha de vencimiento indicada en productos alimenticios es un atributo crítico de gran importancia

que no sólo previene su mal uso, sino que permite entregar al consumidor un producto de calidad y evitar pérdidas generadas por falta de rotación en el punto de venta (Charm, 2007).

Los consumidores exigen alimentos lo más frescos posible, con buenas propiedades sensoriales (sobre todo el sabor), además de ser seguros y tener una vida útil considerable, pero sin aplicación de aditivos. Debido a su alto valor nutricional, la leche de vaca (*Bos taurus*) es un excelente medio para la proliferación microbiana. En consecuencia, la leche fresca requiere un tratamiento térmico para garantizar un producto seguro y de larga duración; la técnica más común para lograr este objetivo es el tratamiento térmico a ultra alta temperatura (UHT, por sus siglas en inglés) (Datta & Deeth, 2007).

Los tratamientos térmicos UHT que se aplican para destruir los microorganismos patógenos desencadenan reacciones fisicoquímicas que generalmente son indeseables. Al aumentar la temperatura de tratamiento, estas reacciones se aceleran, pero el coeficiente de destrucción bacteriana es considerablemente más elevado que la velocidad de las reacciones químicas. Es decir, que la tasa de destrucción de microorganismos es proporcional a la temperatura, mientras que la velocidad de las reacciones químicas está relacionada principalmente con la duración del tratamiento (Chavan *et al.*, 2011).

Uno de los objetivos principales de los métodos de conservación de leche que utilizan un tratamiento de corto tiempo a temperaturas elevadas es la obtención de un grado deseado de destrucción de los microorganismos y la inactivación de las enzimas y, al mismo tiempo, introducir la menor cantidad de cambios posibles en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales, así como la preservación de su valor nutricional (Jovanka *et al.*, 2008). El tratamiento térmico genera dos tipos de reacciones químicas: las que implican la desnaturalización, la degradación e inactivación de las proteínas del suero, enzimas y vitaminas, y las reacciones que incluyen la formación de lactulosa, hidroxi-metil-furfural (HMF), furosina y otros, que no son detectados en la leche cruda (Morales *et al.*, 2000).

El tratamiento de la leche a ultra alta temperatura se conoce desde hace más de un siglo. El tratamiento UHT consiste en el calentamiento de la leche en continuo a una temperatura mínima de 132 °C durante algunos segundos, su enfriado a temperatura ambiente y su envasado aséptico. El tratamiento térmico se puede aplicar de dos formas: el tratamiento directo, que consiste en la inyección de vapor en la leche o la dispersión de la leche en una cámara de vapor, y el tratamiento indirecto, que se suministra en un sistema de placas, un sistema tubular o la combinación de ambos

(Alais, 2003). La leche UHT tiene su propia legislación para Centroamérica, RTCA 67.04.73:17 Reglamento técnico centroamericano (La Gaceta 234, 2018).

En el tratamiento UHT directo, el vapor se inyecta durante poco tiempo en el producto, proceso seguido de una refrigeración instantánea. El poco tiempo que dura el tratamiento permite lograr una muy buena calidad de productos; no obstante, el proceso requiere un consumo de energía relativamente alto en comparación con el tratamiento UHT indirecto. Con el calentamiento indirecto, el producto no entra en contacto directo con la fuente de calor, sino que se calienta mediante intercambiadores de calor. La gran rentabilidad de este método se debe a la posibilidad de recuperar la mayor parte de la energía térmica (Amiot, 1991).

Los atributos físicos no deseados asociados con la leche UHT son el color marrón, la sedimentación, la desestabilización de la proteína y la separación de la grasa (Hsu, 1970). El calentamiento directo, por inyección de vapor después de la homogenización, parece causar reaglomeración de los pequeños glóbulos de grasa con la formación de una capa de grasa sólida durante el almacenamiento. La producción de ácidos grasos libres durante el almacenamiento es más notable en la leche con mayor contenido de grasa y es mayor en la leche producida en directo en lugar de sistemas indirectos (Schmidt & Renner, 1978). Las proteínas de la leche cambian más que cualquier otro componente de la leche debido al proceso UHT, lo que contribuye a la pérdida de color, sabor y calidad nutricional, así como a la gelificación y la sedimentación. Las proteínas desnaturalizadas del suero forman complejos con otras proteínas del suero, caseínas y los glóbulos de grasa (Dunkley y Stevenson, 1987). La asociación con las micelas de caseína es dependiente del pH y disminuye a medida que aumenta el pH en el rango de 6,3 a 7,3. El tamaño de la micela muestra una dependencia similar en el rango de pH de 6,5 a 6,7 (Skelte & Yuming, 2003).

La lactosa es el disacárido de la leche que se conoce como el azúcar de la leche. Esta sufre cambios con mayor facilidad en la leche fluida que en estado seco. Además, pasa por una serie de reacciones con el tratamiento térmico entre los grupos amino de las proteínas y los grupos aldehídos de la lactosa, conocidas como reacciones de Maillard. Esta reacción es más rápida a temperaturas superiores a 100 °C, las cuales dan como resultado cambios en el color y sabor, así como pérdidas de aminoácidos esenciales, especialmente de lisina y arginina (Siddique *et al.*, 2010).

La intensidad del color de la leche UHT se relaciona con los cambios físicoquímicos sufridos en la leche. Los productos lácteos con mayor cantidad de azúcares reductores presentan más problemas con el color dorado; estas reacciones aumentan con la severidad del proceso y la temperatura de

almacenamiento (Dunkley & Stevenson, 1987). Las reacciones de Maillard consisten en una serie de cambios cuya consecuencia es la formación de los pigmentos de color marrón, polímeros como la lactulosa-lisina o fructosa-lisina, así como ácidos de bajo peso molecular. La lactulosa, una molécula derivada de la isomerización de la lactosa, es un indicador para la evaluación de la severidad del tratamiento térmico aplicado a la leche, ya que es mínimamente afectada por las condiciones de almacenamiento (Elliott *et al.*, 2003). Cuando la lactulosa se combina con furosina, también permite evaluar la autenticidad de este tipo de leche líquida (Cattaneo *et al.*, 2008). El sedimento es más frecuente en los productos que son más severamente procesados, que tienen un pH específico menor de 6,6 y que han sufrido el proceso directamente en lugar de un procesamiento UHT indirecto (Holdsworth, 1992). Otros factores que afectan la sedimentación son la presión de homogenización, que se utiliza para el control de separación de la grasa, el tiempo y el perfil de temperatura, que se utiliza para garantizar la esterilidad del producto, y las formulaciones que pueden aumentar la variabilidad del producto. Por ejemplo, el citrato de sodio inhibe la sedimentación mientras que las sales de calcio la aumentan (Hsu, 1970).

La acidez es un parámetro constante en la leche y su aumento indica una anomalía. El pH (acidez activa) de una leche normal varía entre 6,2 y 6,8, pero la mayoría de las leches tienen un pH entre 6,4 y 6,6. Todos los componentes capaces de combinarse con iones básicos contribuyen a la acidez de la leche. La acidez expresada en porcentaje de ácido láctico puede variar entre 0,10 y 0,30 (Alais, 2003). La mayor parte de las leches tienen una acidez del 0,14 a 0,17. Los componentes naturales de la leche que contribuyen a la acidez son los fosfatos, las caseínas, el resto de las proteínas, los citratos y el dióxido de carbono. En la industria láctea hay un especial interés en los cambios de acidez que se producen en el curso de los tratamientos, ya que pueden influir sobre la estabilidad de los componentes de la leche (Alais, 2003).

El pH es altamente dependiente de la temperatura, ya que causa muchos cambios en el sistema buffer de la leche; principalmente se ve afectada la solubilidad del fosfato de calcio. Tratamientos térmicos severos, superiores a 100 °C, producen una disminución del pH debido a la degradación de la lactosa a varios ácidos orgánicos, especialmente a ácido fórmico (Negri, L., 2005).

Debido a la gran importancia de la leche como un alimento altamente nutritivo y parte de la dieta diaria del ser humano, esta investigación se dedicará al estudio de la vida útil de la leche semidescremada (2 % grasa) procesada por la tecnología de ultra pasteurización (UHT) y envasada asépticamente en empaque Tetra Brik.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Estimar la vida útil, utilizando métodos físicos, químicos y sensoriales, y analizar el contenido de vitamina A de la leche semidescremada (2 % grasa), ultra pasteurizada, envasada en empaque Tetra Brik.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.2.2.1. Evaluar el efecto del almacenamiento a cuatro temperaturas diferentes (4 °C, 24 °C, 32 °C y 40 °C) sobre las variables fisicoquímicas (acidez, pH, viscosidad, color) de la leche semidescremada (2 % grasa), ultra pasteurizada, envasada asépticamente en empaque Tetra Brik.

1.2.2.2. Evaluar el cambio sensorial de la leche semidescremada UHT envasada en empaque Tetra Brik durante un tiempo de almacenamiento de 6 meses a una temperatura de 32 °C.

1.2.2.3. Realizar el análisis de vitamina A en la leche semidescremada (2 % grasa), ultra pasteurizada, envasada en empaque Tetra Brik, durante su almacenamiento a temperatura ambiente (24 °C) por 10 meses.

1.2.2.4. Estimar la vida útil a temperatura ambiente (24 °C) de la leche semidescremada (2 % grasa), ultra pasteurizada, envasada asépticamente en empaque Tetra Brik con base en los parámetros fisicoquímicos y sensoriales.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. VIDA ÚTIL

La vida útil de un alimento es el periodo de tiempo que transcurre entre la producción o envasado del producto alimenticio y el punto en el cual el alimento pierde sus cualidades fisicoquímicas y sensoriales. Esto sucede cuando el alimento alcanza un estado indeseable, llegando a ser inaceptable para el consumidor (Elika, 2018). Esta pérdida de calidad de los productos durante el tiempo es un evento sustancialmente inevitable, en donde la vida útil esperada de un producto depende de las condiciones a las que el producto puede ser expuesto y de cuánto se pueden perder las cualidades iniciales después de que el producto es vendido al consumidor, al producirse cambios como la pérdida de valor nutritivo o la aparición de sabores, colores, olores o textura indeseables (Nicoli, 2012). La vida útil de un producto alimenticio es establecida por cada empresa fabricante (Elika, 2018).

La vida útil se define como el tiempo durante el cual el alimento: - permanecerá seguro para el consumidor; - conservará las características sensoriales, químicas, físicas y microbiológicas deseadas; - y cumple con cualquier declaración de etiqueta de datos nutricionales, cuando se almacena en las condiciones recomendadas (Lazar *et al.*, 2015). Los estudios de vida útil requieren la identificación de un atributo crítico, es decir, el atributo que tiene el mayor impacto en la calidad de la leche o muestra o el mayor cambio en el periodo de tiempo más corto (Richards *et al.*, 2014). Esta es una decisión muy difícil de tomar, especialmente cuando se incluyen variables sensoriales en el estudio (Richards *et al.*, 2014).

Un producto lácteo es inherentemente perecedero y, dependiendo de sus propiedades físicas y químicas, la calidad microbiológica y las condiciones de almacenamiento, llegará un momento en el que su calidad será inaceptable o será perjudicial para el consumidor, alcanzando el final de su vida útil (Laza *et al.*, 2015). La capacidad de predecir esto es de gran valor para la industria láctea al definir las condiciones, límites de almacenamiento y distribución, formular productos, evaluar procesos de fabricación y realizar evaluaciones cuantitativas de riesgo (Lazar *et al.*, 2015).

Uno de los mayores factores ambientales que permiten una pérdida sustancial en la calidad y el valor nutritivo en la mayoría de los alimentos es la exposición a altas temperaturas (Nicoli, 2012). Por lo tanto, para predecir la pérdida de la calidad y ser capaz de determinar un dato de vida útil en un

producto, es necesario conocer la velocidad de deterioro en función de las condiciones ambientales (Nicoli, 2012).

Los fabricantes de alimentos realizan estudios para determinar la vida útil de su producto por medio de métodos directos e indirectos (Mizrahi, 2004). El método directo consiste en almacenar el producto en condiciones preseleccionadas durante un período de tiempo (más largo que el tiempo de conservación esperado) y revisar el producto a intervalos regulares para ver cuándo comienza a deteriorarse. El método indirecto utiliza pruebas de vida útil acelerada o modelado predictivo (Mizrahi, 2004). La prueba de vida útil acelerada ofrece una manera de estimar la vida útil sin tener que esperar mucho tiempo para obtener la respuesta (Mizrahi, 2004). Ambos requieren un conocimiento profundo de los componentes del alimento, el proceso, los factores de seguridad microbiológicos, los principales modos de determinación de la calidad y las condiciones de almacenamiento previstas (Mizrahi, 2004).

La leche procesada en UHT tiene una vida útil de 6 a 9 meses a temperatura ambiente (25 °C). La calidad sensorial y la vida útil de la leche UHT es determinada por la progresión de diversos cambios fisicoquímicos y bioquímicos después del procesamiento (Datta & Decth, 2003). Los principales cambios se deben a reacciones proteolíticas, lipolíticas, oxidativas y de tipo Maillard (Datta & Decth, 2003). Aunque el procesamiento de UHT desactiva la mayoría de las bacterias, algunas enzimas termoestables de origen nativo y bacteriano pueden sobrevivir causando defectos limitantes en la vida útil. La proteólisis está asociada con la liberación de tirosina que contribuye al desarrollo de sabores desagradables (Datta & Decth, 2003). Los complejos de B-lactoglobulina-K-caseína durante el tratamiento térmico aumentan la viscosidad de la leche (Datta & Decth, 2003).

2.1.1. Método de vida útil acelerado

Los métodos o pruebas de vida útil aceleradas (ASLT, por sus siglas en inglés) surgen de la necesidad de obtener, en un tiempo relativamente corto, la información necesaria para determinar la vida útil de los alimentos fundamentalmente de larga duración (Nuñez *et al.*, 2015). Los resultados de toda prueba de almacenamiento acelerado deben ser validados una vez que el producto esté en el mercado (Nuñez *et al.*, 2017).

Las ASLT son aplicables a cualquier proceso de deterioro que tenga un modelo cinético válido, puede ser químico, físico, bioquímico, microbiológico e incluso sensorial (Nicoli, 2012). Existen varias aproximaciones a las ASLT pero el método más común es la aproximación por el modelo cinético de Arrhenius, que relaciona la velocidad de deterioro con los cambios de temperatura y cuya popularidad lo ha hecho sinónimo de las ASLT (Nicoli, 2012).

El método de vida útil acelerada se basa en la aplicación de los principios de la cinética química sobre el efecto que las condiciones ambientales como temperatura, presión, humedad y luz tienen sobre la velocidad de la reacción de deterioro (Vidal, 2015). Lo anterior, al someter el producto a condiciones de almacenamiento que aceleran las reacciones de deterioro, las cuales se denominan condiciones de abuso, que pueden ser temperaturas, presiones parciales de oxígeno o contenidos de humedad altos (Vidal, 2015). Se aplica a productos no perecederos cuya vida útil es mayor a 6 meses o cuando los resultados del estudio se requieren en poco tiempo (Vidal, 2015).

Los estudios acelerados de vida útil permiten predecir el comportamiento de los productos y anticiparse, por lo tanto, a su evolución en las condiciones habituales de almacenamiento y distribución (Vidal, 2015). Este tipo de estudios ayudan a minimizar los costos, es decir, se reduce el retorno de producto alterado, pérdida de la imagen de la compañía, etc. Además, permite saber con antelación qué puntos débiles presenta el producto y poder modificarlo para alargar su vida comercial (Vidal, 2015).

La precisión de la estimación de la vida útil se incrementa con el número de temperaturas ensayadas, que no deben ser menos de tres. Taoukis *et al.* (1997) comentan que cinco o seis temperaturas es el óptimo práctico para obtener la mayor exactitud con el menor costo posible.

Según Steele (2004), el uso de estudios acelerados de vida útil ofrece multitud de ventajas a la empresa alimentaria. Ayuda a ganar tiempo porque permite predecir el comportamiento de los productos y conocer la evolución de las características asociadas a la calidad de estos (Steele, 2004). Permite anticiparse a la evolución del producto en las condiciones habituales de almacenamiento y distribución (Steele, 2004). Evita reclamaciones y costosas retiradas de producto, con sus consecuentes pérdidas económicas y de imagen de marca frente al consumidor y a la distribución (Steele, 2004). Permite adelantarse a la competencia sacando más rápido los nuevos productos desarrollos al mercado (Steele, 2004).

Para conseguir predecir y obtener el “mejor modelo” predictivo para la estimación de la vida útil mediante estos estudios, es importante tomar en cuenta los siguientes puntos sobre la degradación del producto: - la selección de los métodos para la monitorización del avance de las reacciones asociadas a la degradación; - una adecuada selección de las condiciones del estudio, especialmente la temperatura empleada para acelerar la degradación; - y el análisis de datos resultantes del estudio y la generación del “mejor modelo” (Steele, 2004).

Durante los estudios acelerados de vida útil pueden existir un sin número de problemas prácticos y errores teóricos. Aumentos de temperatura pueden provocar cambios de fases (ej. el cambio de grasa sólida a líquida) y acelerar una reacción; por lo que, la vida útil a altas temperaturas puede ser menor que la que se predijo. Carbohidratos en estado amorfo pueden cristalizar a altas temperaturas dando como resultado una mala predicción de la vida útil. Si dos reacciones con diferentes valores de Q_{10} causan una pérdida de calidad, la que tenga un Q_{10} más alto puede predominar a mayor temperatura, pero con un mecanismo diferente puede predominar en un almacenamiento en condiciones normales, confundiendo la predicción. La actividad de agua (a_w) de los productos secos puede incrementarse cuando la temperatura aumenta; esto causa un incremento en la velocidad de reacción para productos empacados de a_w bajos y puede resultar en una sobre predicción de la verdadera vida útil a bajas temperaturas. La solubilidad de los gases, especialmente el oxígeno en grasas o disoluciones acuosas decrece casi un 25 % por cada 10 °C que suba la temperatura. La reacción de oxidación (pérdida de vitaminas E, A, C o ácido linoleico) puede decrecer en velocidad si el oxígeno disponible es el factor limitante; por lo tanto, a altas temperaturas la velocidad puede ser menor teóricamente y esto da como resultado una baja predicción de la verdadera vida útil a una temperatura normal de almacenamiento. Si se utiliza una temperatura lo suficientemente alta, las proteínas pueden ser desnaturalizadas; esto puede producir un incremento o un descenso de la velocidad de reacción, produciendo una alta o baja predicción de la vida útil. Adicionalmente, pueden ocurrir errores en la evaluación sensorial (Mizrahi, 2004).

Tomando en cuenta estos problemas potenciales en la predicción de la vida útil, se debe tomar el método como una guía, o bien, tratar de definir cuál es la reacción de deterioro más crítica que puede darse y establecer una herramienta analítica para su medición con el fin de poder monitorear la verdadera vida útil (Mizrahi, 2004).

2.1.2. Modelo de Arrhenius o modelo Q_{10}

El efecto de la temperatura sobre la velocidad de la reacción de deterioro puede expresarse mediante la ecuación de Arrhenius, que relaciona la constante de velocidad de la reacción a la temperatura absoluta mediante la siguiente ecuación (Taoukis *et al.*, 1997):

$$k = k_0 \exp(-E_a/RT)$$

donde:

k es la constante de velocidad de la reacción de deterioro

k_0 es una constante conocida como factor pre exponencial

E_a es la energía de activación (J/mol)

R es la constante de los gases ideales (8,3143 J/K mol)

T es la temperatura absoluta en K

El modelo de Arrhenius puede ser usado para describir qué tan rápida es la reacción de deterioro si el producto es expuesto a varias temperaturas, incluyendo abusos de alta temperatura (Nuñez *et al.*, 2017). Si el factor de variación de la reacción de deterioro con la temperatura se conoce, se pueden realizar extrapolaciones a otras temperaturas, incluso a aquellas en las que se puede encontrar un alimento durante su distribución; por lo tanto, puede ser usado para predecir la vida útil de un producto (Nuñez *et al.*, 2017).

La relación entre la vida útil y la temperatura ha sido tradicionalmente expresada como Q_{10} (Nuñez *et al.*, 2017), que es la relación de las constantes de velocidad de reacción a temperaturas que difieren 10 °C, o el cambio de vida útil cuando la temperatura del alimento se eleva 10 °C (Laza *et al.*, 2015). Este factor de aceleración o factor Q_{10} es definido así:

$$Q_{10} = \frac{\text{velocidad a temperatura}_{(T+10\text{ }^{\circ}\text{C})}}{\text{velocidad a temperatura}_{(T)}}$$

$$Q_{10} = \frac{\text{vida útil a la temperatura}_{(T)}}{\text{vida útil a la temperatura}_{(T+10\text{ }^{\circ}\text{C})}} = \frac{\phi_S(T)}{\phi_S(T+10\text{ }^{\circ}\text{C})}$$

donde:

T es la temperatura en °C

ϕ_s es la vida útil a la temperatura T

Para cualquier diferencial de temperatura (Δ) distinto de 10 °C, el Q_{10} se puede obtener de:

$$Q_{10}^{(T_2-T_1)/10} = \frac{VU_{(T_1)}}{VU_{(T_2)}}$$

donde:

VU = vida útil a las temperaturas T1 y T2, siendo T2 mayor que T1.

En muchos casos, el Q_{10} no se conoce, así que se debe de establecer una relación matemática. Según Mizrahi (2004), muchas de las reacciones se ajustan a un orden cero o un orden uno de la siguiente manera:

$$\frac{dA}{d\phi} = kA^n$$

donde:

A = el factor de calidad medido

\emptyset = tiempo

k = constante de velocidad de reacción, que depende de la temperatura y de la actividad del agua

n = factor de poder llamado orden de la reacción, el cual puede tomar valores de 0 a 3

$\frac{dA}{d\emptyset}$ = velocidad de cambio de A con el tiempo

Técnicamente, el mayor problema en los estudios de vida útil es determinar el orden de la cinética de la reacción que sufre un alimento (Mizrahi, 2004). Debido a que existen otros órdenes de reacción aparte de los de orden cero y de primer orden, por ejemplo, aquellas producidas en la degradación de la vitamina C en comida empacada, donde el oxígeno es limitado. Sin embargo, la mayoría de las reacciones de calidad pueden ser ajustadas a orden cero o a primer orden (Mizrahi, 2004).

La vida útil de un alimento puede ser determinada con ayuda del método acelerado, el cual permite elaborar gráficas de vida útil a un corto plazo, sin necesidad de esperar el tiempo real de conservación del alimento (Nuñez *et al.*, 2017). La gráfica que se obtiene mediante ese método relaciona la vida útil y la temperatura, lo que permite obtener la vida útil para un amplio rango de temperaturas y el valor de Q_{10} para la reacción característica en estudio (Nuñez *et al.*, 2017). Este método acelerado se basa en la velocidad con que se pierde un atributo, o bien con que se produce un producto indeseable. La pérdida de un atributo puede ser constante (orden de reacción 0) o variable (orden de reacción 1 y 2); por lo tanto, es necesario definir una reacción predominante de deterioro y programar el estudio con base en esta (Nuñez *et al.*, 2017).

Al estimar la vida útil por un método acelerado, es necesario definir una característica que determina la vida útil y una medición analítica para cuantificarla. De la adecuada selección de la característica que limita la vida útil dependerá cuán correcta sea la fecha y la satisfacción tanto del productor como del consumidor. Desafortunadamente, las reacciones que intervienen en la pérdida de calidad de los alimentos no son seguidas durante suficiente tiempo como para permitir la determinación exacta de la constante de velocidad y el orden de la reacción (Kopper *et al.*, 1996).

2.1.3. Tipos de reacción

2.1.3.1. Orden cero

En las reacciones de orden cero la velocidad de la reacción es independiente de la concentración inicial del atributo de calidad o formación de un atributo indeseable, por ejemplo, pérdida de coloración (Mizrahi, 2004). De esta forma, para la reacción de orden cero, la rapidez de desaparición de A es:

$$-\frac{dA}{dt} = k[A]^0$$

Por lo tanto, la velocidad de reacción será igual al valor de la constante k. La integración de la ecuación entre los límites $A = 0$ a $t = 0$ y $A = A$, en cierto tiempo t, da $A = tk$. Por consiguiente, en una reacción de orden cero el factor de calidad (A) aumenta en relación directa con el tiempo (Mizrahi, 2004). Para datos de orden cero, se obtiene la representación gráfica de una línea recta usando coordenadas lineales (Mizrahi, 2004).

Los modos de deterioro más aplicables a este tipo de reacciones son: degradación enzimática (frutas y vegetales frescos, algunos alimentos congelados, algunas pastas refrigeradas) (Labuza & Taoukis, 1997); oscurecimiento no enzimático (cereales secos, productos deshidratados, pérdida nutricional de proteína) y oxidación lipídica (desarrollo de rancidez en snacks, productos secos y congelados) (Schanberg & Labuza, 2006).

2.1.3.2. Orden uno

Muchos de los alimentos que no se deterioran por reacciones de orden cero siguen un modelo donde $n = 1$, lo cual resulta en una disminución de calidad a una velocidad exponencial (Mizrahi, 2004). Esto no significa que la vida útil de los alimentos que siguen este esquema es mayor que aquellas que son constantes; sin embargo, el valor de la constante k es diferente. Para datos de orden uno, se necesita una ordenada logarítmica para producir una representación lineal (Mizrahi, 2004). Matemáticamente se puede expresar como:

$$-\frac{dA}{d\theta} = kA$$

Los tipos de deterioro que siguen esta reacción son: rancidez (vegetales secos y aceites de ensaladas), crecimiento microbiano (carne y pescado fresco), producción microbiana de sabores (en la carne, pescado y cerdo), pérdida de vitaminas (alimentos empacados y secos), y pérdida de la calidad de la proteína (alimentos secos) (Labuza & Taoukis, 1997).

2.2. LA LECHE

La leche es un alimento rico en nutrientes, contiene proteínas de alta calidad y grasa, y constituye una buena fuente energética. Además, aporta a la ingesta diaria de nutrientes necesarios como el calcio, magnesio, selenio, riboflavina, vitamina B₁₂ y ácido pantoténico. El contenido de estos nutrientes

puede variar según la raza lechera, la alimentación del animal, la estación del año y el número de ordeños, entre otros factores (FAO, 2018^a).

La leche es la secreción mamaria normal de animales bovinos sanos, obtenido mediante el ordeño, sin ningún tipo de adición o extracción, destinado al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior, debiéndose establecer su origen si se trata de otra especie animal (RTCR: 401-2006, 2007).

2.2.1. Composición de la leche

La leche está compuesta, en general, de un 87 % de agua y el resto es materia seca. La materia seca está suspendida o disuelta en el agua. Dependiendo del tipo sólido de que se trate, existen diferentes sistemas de distribución de los sólidos en la fase acuosa (Bylund, 1996). En el Cuadro 2.1 se muestra la composición aproximada de la leche.

Cuadro 2.1. Composición química de la leche.

Constituyentes	Porcentaje promedio (%) en base húmeda
Agua	87,2
Proteína	3,5
Grasa	3,7
Lactosa	4,9
Cenizas	0,7

Fuente: Guetouache *et al.*, 2014.

La grasa láctea está compuesta por 95 % a 96 % de triacilgliceroles. Es típico el contenido relativamente alto de ácidos grasos de bajo peso molecular, especialmente del ácido butírico. El contenido de ácidos grasos insaturados varía con la época del año y la alimentación del ganado (Belitz *et al.*, 2009). Además, entre los principales ácidos grasos, están los fosfolípidos que se hallan en cantidades del 1 % y los esteroides, principalmente colesterol, en cantidades del 0,4 % como se muestra en el Cuadro 2.2 (Belitz *et al.*, 2009).

La lactosa es el azúcar de la leche, 4-O-β-D-galactopiranosil-D-glucopirasona. Su forma más estable es la monohidratada. La capacidad edulcorante de la lactosa es inferior a la de la fructuosa, glucosa y sacarosa (Belitz *et al.*, 2009).

Cuadro 2.2. Lípidos de la composición de la grasa de la leche.

Fracción lipídica	Participación en % en los lípidos totales
Triacilgliceroles	95 - 96
Diacilgliceroles	1,3 - 1,6
Monoacilgliceroles	0,02 - 0,04
Cetoacidogliceroles	0,9 - 1,3
Hidroxiacidogliceroles	0,6 - 0,8
Ácidos grasos libres	0,1 - 0,4
Fosfolípidos	0,8 - 1,0
Esfingolípidos	0,06
Esteroles	0,2 - 0,4

Fuente: Belitz *et al.*, 2009.

La proteína de la leche está dividida en dos grandes grupos, caseína (80 %) y proteínas del suero (20 %). La fracción caseínica es la más importante. Los componentes principales de las proteínas del lactosuero son las β -lactoglobulinas y las α -lactoalbúminas (Belitz *et al.*, 2009).

La leche contiene todas las vitaminas en cantidades diversas; en el Cuadro 2.3 se muestran las cantidades promedio de vitaminas. Durante su procesado, las vitaminas liposolubles se separan con la grasa (crema, nata o mantequilla), mientras que las hidrosolubles permanecen en la leche descremada o el suero (Belitz *et al.*, 2009).

Los carotenos y la riboflavina influyen sobre el color de la leche y los productos lácteos. Los carotenos o provitaminas A dan a la grasa su color amarillo (Alais, 2003). Sin embargo, no se puede juzgar la riqueza en vitamina A de una leche por el color de su grasa, ya que la proporción de vitamina A (incolora) en forma de caroteno varía con la alimentación y la raza del animal (Alais, 2003).

Las vitaminas que resultarán más afectadas durante el almacenamiento de los productos lácteos son la vitamina C, la vitamina A y la vitamina E (Alais, 2003). La C es particularmente sensible a cualquier condición oxidante y no es de extrañar que su presencia disminuya gradualmente con el almacenamiento (Alais, 2003). La vitamina A es muy estable al calor, pero es susceptible a la oxidación, especialmente cuando hay formación de peróxidos. En las cremas y mantequillas de buena calidad, la vitamina A permanece estable (Alais, 2003). Los problemas de oxidación aparecen a veces en las leches en polvo enriquecidas con vitamina A. La oxidación de la vitamina A se asocia al desarrollo del gusto a

“heno” que aparece con frecuencia en las leches en polvo descremadas que han sido fortificadas con esta vitamina sin la protección de un antioxidante (Alais, 2003).

Cuadro 2.3. Vitaminas presentes en la leche.

Vitamina	mg/L	Vitamina	mg/L
A (retinol)	0,4	B ₁₂ (cianocobalimina)	0,005
D (calciferol)	0,001	Nicotinamida	1
E (tocoferol)	1,0	Ác. pantoténico	3,5
B ₁ (tiamina)	0,4	C (ác. AOsorbico)	201
B ₂ (riboflavina)	1,7	Biotina	0,03
B ₆ (piridoxina)	0,6	Ácido fólico	0,05

Fuente: Belitz *et al.*, 2009.

La luz afecta también a las vitaminas A, E, K y C. La protección de la leche y los productos lácteos se realiza controlando la luminosidad y utilizando envases adecuados. Esto tiene la doble finalidad de evitar los sabores de oxidación y las pérdidas vitamínicas (Alais, 2003).

2.2.2. Propiedades fisicoquímicas de la leche

Desde un punto de vista fisicoquímico, la leche es un producto muy complejo. La leche es una combinación de diferentes suspensiones: contiene coloides de pequeñas partículas sólidas de caseína, más conocidas como micelas; una emulsión de glóbulos de grasa y de vitaminas liposolubles en suspensión; y una disolución de lactosa, proteínas solubles en agua, sales minerales y otras sustancias. Pero son las micelas y los glóbulos de grasa los que otorgan a la leche la mayor parte de sus características físicas. Existe una relación directa entre la cantidad de grasa y la de proteína; cuanto mayor cantidad de grasa existe, habrá también mayor cantidad de proteínas. Las proteínas constituyen entre el 3 % y 4 % del peso total de la leche y se clasifican en dos grandes grupos: caseína y proteínas séricas (o no caseína). La caseína constituye el 80 % de la proteína de la leche y se libera de las células secretorias dentro de la leche como “micelas”, complejos o grupos de varias moléculas de caseína unidas entre sí por fosfato de calcio u otras sales (Wong, 2012).

La leche es un líquido opaco, de color blanco o blanco amarillento, color que está determinado por la dispersión y absorción de la luz por las gotitas de grasa y las micelas de proteína. La densidad de la leche disminuye al aumentar el contenido de grasa y aumenta al hacerlo el contenido en proteína,

lactosa y sales (Belitz *et al.*, 2009). Este valor es de 1,029 a 1,034 (15 °C). El punto de congelación de la leche es de - 0,53 °C a - 0,55 °C; debido a su gran constancia, se utiliza para determinar el aguado de la leche. El valor de pH de la leche fresca es 6,50 a 6,75 y el índice de refracción es de 1,3410 a 1,3480 (Belitz *et al.*, 2009).

La leche cruda o sometida a una pasteurización suave tiene un gusto suave y no obstante característico (Belitz *et al.*, 2009). Se han detectado unos 400 compuestos volátiles que contribuyen al aroma en distinta medida. El aroma de la leche UHT está determinado por 2-alcanonas, lactonas y compuestos azufrados (Belitz *et al.*, 2009).

2.2.3. Aporte nutricional de la leche

Tratada industrialmente, la leche ha supuesto un gran avance en nutrición humana y su consumo generalizado ha contribuido a mejorar notablemente el nivel de salud de la población. Tradicionalmente, se ha considerado como un alimento completo y equilibrado, proporcionando un elevado contenido de nutrientes en relación con el contenido calórico: aporta proteínas de alto valor biológico, hidratos de carbono (fundamentalmente en forma de lactosa), grasas, vitaminas liposolubles, vitaminas del complejo B y minerales, especialmente calcio y fósforo (Fernández *et al.*, 2015). El valor nutricional de la leche es superior al de la suma de todos sus componentes, lo que se explica por su particular equilibrio o balance nutritivo (Fernández *et al.*, 2015). Desde ese concepto debe señalarse que el agua es cuantitativamente su principal nutriente, ya que su contribución a la composición de la leche de vaca es cercana al 90 %. Por tanto, su carácter de bebida nutritiva debe de ser destacado. En todo caso, es reconocido por las principales guías alimentarias como fundamental en la idea de dieta variada y saludable, aconsejándose su consumo diario al mismo nivel en la pirámide de los alimentos que el aceite de oliva (Fernández *et al.*, 2015).

La leche proporciona una gran cantidad de proteínas fácilmente digeribles y de alto valor biológico, ya que aportan los aminoácidos para cubrir los requerimientos humanos, incluidos los esenciales. En los últimos años, se han descrito fragmentos de proteínas de la leche formados a partir de la digestión parcial de todas estas proteínas y que, aparte de su valor nutricional, pueden ser absorbidos a través de la mucosa intestinal. Parecen tener una actividad específica a nivel gastrointestinal y sistémico como inmunomoduladores y mediante sus propiedades antimicrobianas, antihipertensivas y antitrombóticas (Fernández *et al.*, 2015).

La leche contiene las principales vitaminas liposolubles (A, D, E y K) pero, desde el punto de vista nutritivo, la mayor importancia se debe a su contenido en vitamina A, aportando aproximadamente el

13 % de las necesidades (Belitz *et al.*,2009). La vitamina A o retinol interviene en la transmisión de la luz por la retina del ojo, en la síntesis de la progesterona y en la protección de las células del epitelio cutáneo (Belitz *et al.*,2009).

2.2.4. Consumo y producción de leche

El valor nutricional que presenta la leche justifica un consumo de leche de más de 150 kg (productos lácteos equivalentes a kg de leche) per cápita al año en regiones como América del Norte, Argentina, Armenia, Australia, Costa Rica, Europa, Israel, Kirguistán y Pakistán (FAO, 2018b). En la India, Japón, Kenia, México, Mongolia, Nueva Zelanda, la República Islámica de Irán, África Septentrional y Meridional, la mayoría del Oriente Próximo y la mayor parte América Latina y el Caribe, el consumo se encuentra entre 30 kg a 150 kg per cápita al año. Por otro lado, consumos menores de 30 kg se registran en China, Etiopía, la mayoría de África Central y la mayor parte de Asia Oriental y Sudoriental (FAO, 2018b).

Considerando el volumen, la leche líquida es el producto lácteo más consumido en todo el mundo en desarrollo. Más de 6.000 millones de personas en el mundo consumen leche y productos lácteos; la mayoría de ellas vive en los países en desarrollo (FAO, 2018b). Tradicionalmente, la demanda de leche líquida es mayor en los centros urbanos y la de leche fermentada en las zonas rurales, pero los productos lácteos procesados están adquiriendo una creciente importancia en muchos países (FAO, 2018b).

De los países de Centroamérica, Costa Rica es el que tiene el mayor consumo de productos lácteos per cápita, siendo de 217,1 kg de lácteos en el 2016. La Cámara Nacional de Productores de Leche reporta una producción anual en el 2016 de 1.151.721.581 kg de productos lácteos (CNPL, 2018). Costa Rica ocupa el puesto 38 entre los países exportadores de leche procesada (Barboza, 2017). En 2016, el país exportó una cantidad aproximada de 12.600 toneladas de ese producto, con un aumento de 31 % en la tasa de crecimiento anual en valor entre 2015 - 2016; Centroamérica continúa siendo el principal destino de las exportaciones (Barboza, 2017).

La producción, el procesamiento y el consumo sostenibles de la leche y de los productos lácteos benefician a la gente y al planeta, además de ayudar a lograr los Objetivos de Desarrollo Sostenible. La leche es uno de los productos agrícolas más producidos y valiosos del mundo (FAO, 2018c). En 2013, la leche, con una producción total de 770.000 millones de litros valuada en 328.000 millones de dólares estadounidenses, ocupó el tercer lugar por tonelaje de producción y fue el producto agrícola más

importante en términos de valor en el mundo. La leche forma parte del 27 % del valor agregado global del ganado y el 10 % del de la agricultura (FAO, 2018c).

El sector lechero está creciendo rápidamente, se prevé que la producción de leche aumentará 177 millones de toneladas para 2025, con una tasa de crecimiento promedio del 1,8 % por año, en los próximos 10 años (FAO, 2018c). Durante el mismo periodo, se prevé que el consumo per cápita de productos lácteos aumentará entre 0,8 % y 1,7 % por año en los países en desarrollo, y entre 0,5 % y 1,1 % en los países desarrollados (FAO, 2018c). Debido al gran tamaño de la industria lechera, estas tasas de crecimiento pueden producir importantes beneficios de desarrollo para el sustento de las personas, así como también para el ambiente y la salud pública (FAO, 2018c).

2.3. TRATAMIENTO TÉRMICO A ULTRA ALTA TEMPERATURA

El tratamiento a altas temperaturas (UHT, por sus siglas en inglés) se utiliza para la esterilización de alimentos que contienen niveles bajos de acidez y consiste en calentar el producto a más de 135 °C. Destruye todos los microorganismos, lo que hace que el producto final sea apto para la distribución a temperatura ambiente (Chavan, 2011). El primer sistema de tratamiento térmico a altas temperaturas de la leche fue fabricado en 1893 y consistió en el calentamiento indirecto con un flujo continuo (125 °C durante 6 minutos). En 1912 fue patentado el método de flujo continuo de vapor directo de calefacción; el vapor era mezclado con leche para alcanzar temperaturas de 130 °C a 140 °C (Chavan, 2011).

El desarrollo del proceso UHT se vio obstaculizado debido a la posible contaminación, ya que no contaba con los sistemas comerciales de asepsia (Datta & Deeth, 2007). En 1953, se envasó leche UHT asépticamente en latas después del tratamiento térmico con un procesador Uperiser®; luego, en 1961, se utilizaron cajas de cartón tetraédricas (Datta & Deeth, 2007). El desarrollo del procesamiento aséptico en los Estados Unidos comenzó con los esfuerzos de C. Olin Ball y su proceso de llenado caliente - frío que comercializó en 1938 con una bebida de chocolate con leche (Datta & Deeth, 2007). En 1948, el proceso aséptico de Dole, desarrollado por William McKinley Martin, fue utilizado para la sopa de guisantes y leche esterilizada. Real Fresh Inc. se convirtió en 1952 en la segunda industria láctea en los Estados Unidos con el uso de envases UHT y asépticos (AP). En 1981, fue el precursor en el uso de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) para esterilizar el material de embalaje (Datta & Deeth, 2007).

En la década de 1960, a partir de esta primera tecnología de conservación de alimentos, Tetra Pak, empresa de origen suizo, introdujo su propio proceso UHT continuo y sus sistemas de envasado aséptico. Así, se impulsó el crecimiento del segmento de la leche UHT (Wong, 2012).

El tratamiento UHT consiste en el calentamiento de la leche en continuo a una temperatura mínima de 132 °C durante algunos segundos, su enfriamiento a temperatura ambiente y su posterior envasado aséptico (Wong, 2012). Los fines que se persiguen son los siguientes: - Asegurar la estabilidad del producto y su larga conservación para satisfacer las exigencias comerciales. - Eliminar los microorganismos patógenos y sus toxinas que puedan afectar la salud del consumidor. - Destruir todos los microorganismos capaces de proliferar durante el almacenamiento (Wong, 2012).

En el tratamiento a temperaturas ultra - altas, el objetivo primordial es maximizar la destrucción de microorganismos mientras se minimizan los cambios químicos en el producto (Wong, 2012). Esto implica encontrar la combinación ideal de temperatura y tiempo de procesado para los diferentes tipos de alimentos (Wong, 2012).

El tratamiento térmico en la producción de alimentos de larga vida se llama "esterilización". En estos procesos, el producto tratado está expuesto a un tratamiento de calor de gran alcance, con el cual los microorganismos y la mayoría de las enzimas se inactivan (Datta & Deeth, 2007). El producto procesado tiene una excelente capacidad de conservación y se puede almacenar por varios meses en condiciones ambientales (Datta & Deeth, 2007). Las características del producto, tales como el pH, la actividad del agua, la viscosidad, la composición y el oxígeno disuelto, indican las condiciones de procesamiento necesarias para lograr la esterilidad comercial (Datta & Deeth, 2007).

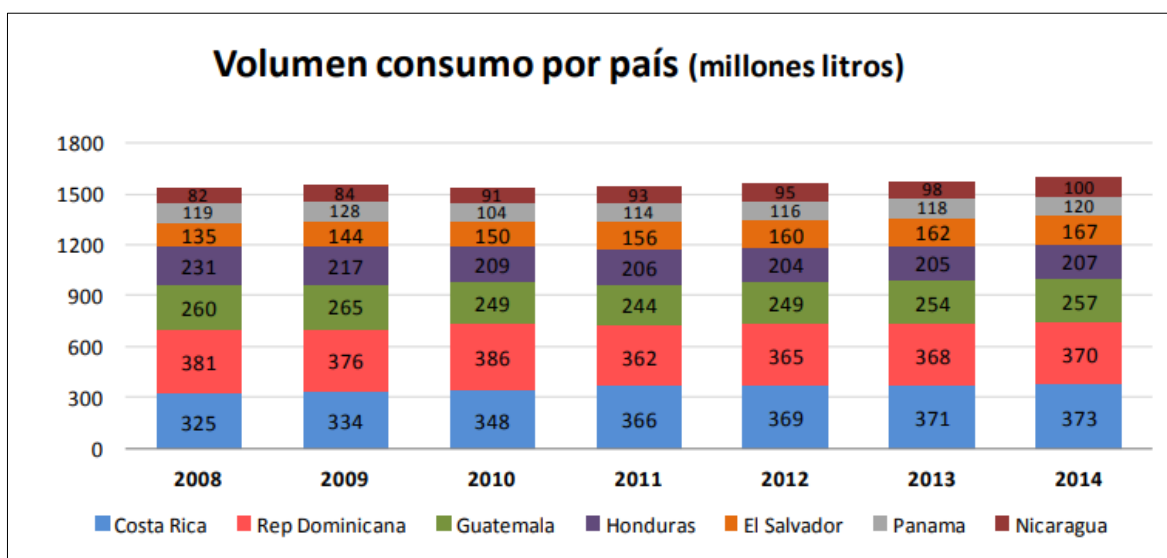
A pesar de las mejoras que supone el tratamiento térmico UHT para destruir las bacterias, produce la desnaturalización de la β -lactoglobulina, lo que implica una liberación de grupos sulfhidrilos (SH-), que tienen un efecto determinante sobre el sabor del producto (Belitz, 2009). Estos grupos son los responsables del pronunciado sabor a cocido de la leche recién tratada. Sin embargo, las propiedades reductoras de estos grupos retrasan las reacciones de oxidación de la leche durante el almacenamiento (Belitz, 2009).

El tratamiento UHT se considera como la revolución más importante en tecnología lechera desde la pasteurización (Wong, 2012). Este procedimiento ofrece la doble ventaja de una larga conservación de la leche de consumo sin necesidad de refrigeración (Wong, 2012). De esta forma, la distribución resulta más económica porque se puede llevar a cabo, por ejemplo, semanalmente y sin límite de

recorrido. Debido a su larga conservación, las devoluciones son muy escasas y se producen principalmente por la incorrecta manipulación del producto (Wong, 2012).

2.4. CONSUMO DE PRODUCTOS LÁCTEOS ASÉPTICOS

La evolución del consumo de productos lácteos asépticos ha demostrado una mayor demanda de estos productos y se prevé que el mercado mundial aumentará considerablemente en 2020, tanto en términos de número de empaques como de volumen (Carvalho, 2011). En Centroamérica y República Dominicana, según la información de Carvalho (2011), el consumo de leche va a aumentar con un bajo crecimiento. La Figura 2.1 muestra el consumo de leche en millones de litros por país del 2008 al 2014.



Fuente: Carvalho, 2011.

Figura 2.1. Centroamérica: consumo de leche blanca por país en millones de litros. Previsión de bajo crecimiento hacia 2014.

Basado en el trabajo sensorial, Oupadissakoon (2007) se informó de presencia de sabores desagradables como atributos negativos en la leche UHT. La calidad de la leche UHT depende más del proceso de fabricación que del país de origen o el contenido de grasa. La aceptación de la leche UHT se correlaciona directamente con los hábitos de consumo de los clientes (Oupadissakoon, 2007). El procesamiento aséptico tiene un gran potencial de aumentar el consumo de productos lácteos en los

países tropicales, ya que existe una tendencia de bajo consumo de leche debido a las altas temperaturas ambientales y la distribución limitada por el transporte refrigerado (Goff, 2008). Hedrick *et al.* (1981) predijeron que la leche UHT con los atributos de sabor comparable a la leche pasteurizada reduciría los costos de energía, ya que la plataforma estable de leche no requiere refrigeración a través de la distribución.

Los criterios de selección de los sistemas de envasado aséptico UHT reflejan las preferencias de los clientes. Estos procesos están diseñados para garantizar la esterilidad comercial y aceptables atributos sensoriales de la leche a lo largo de su vida útil (Datta & Deeth, 2007). Las ventajas del proceso UHT son prolongar la vida útil y menores costos de energía, al eliminar la refrigeración necesaria durante el almacenamiento y la distribución. Los cambios deseables que tienen lugar durante el procesamiento de la leche UHT, como la destrucción de los microorganismos y la inactivación de las enzimas, se producen, aunque los efectos no deseados tales como oscurecimiento, pérdida de nutrientes, sedimentación, separación de la grasa y el sabor a cocido, también se presentan (Harrington, 2009).

2.5 FORTIFICACIÓN DE ALIMENTOS

La adición de nutrientes esenciales a los alimentos, de acuerdo con el Codex Alimentarius (CAC/GL 9-1987, 2015), tanto si están como si no están contenidos normalmente en el alimento, se realiza con el fin de prevenir o corregir una deficiencia demostrada de uno o más nutrientes en la población o en grupos específicos de la población. El estado nutricional es uno de los factores importantes para determinar el desarrollo y la productividad de la población. Las deficiencias de vitaminas y minerales afectan especialmente a madres y niños en áreas rurales y marginales, debido al consumo insuficiente de alimentos ricos en estos nutrientes, a infecciones recurrentes y a síndromes de mala absorción. Se consideran tres grandes deficiencias nutricionales como problemas de salud pública: los trastornos por carencia de yodo, la deficiencia de vitamina A y la deficiencia de hierro. Estas deficiencias se presentan en todo el mundo debido a la estructura de la alimentación moderna, con un gran consumo de calorías vacías (grasa y azúcar) que limita el consumo de uno o varios nutrientes esenciales de la dieta (Ramírez *et al.*, 2011).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que más de 254 millones de niños sufren de deficiencia clínica y marginal de vitamina A. Actualmente, la fortificación de la leche con vitaminas A

y/o D es obligatoria en varios países: Brasil, Guatemala, Honduras, Costa Rica, Malasia, México, Filipinas, EE. UU. y Venezuela, entre otros (Ramírez *et al.*, 2011).

El Codex Alimentarius señala que es competencia de las autoridades de cada país definir los niveles de fortificación de los alimentos (CAC/GL 9-1987, 2015). La fortificación de alimentos es diferente a otros programas que involucran la adición de nutrientes (Ramírez *et al.*, 2011). Es un programa de intervención nutricional con una meta definida, que espera ayudar a prevenir la deficiencia nutricional en poblaciones en riesgo, aumentando la ingesta de vitaminas y minerales de importancia para la salud pública y mejorando el estado nutricional de las personas, de forma continua y autosostenida (Ramírez *et al.*, 2011).

La fortificación de la leche comenzó durante la primera mitad del siglo XX. En el Reino Unido se comenzó a fortificar la leche con vitamina D en 1923 y, actualmente, la fortificación de la leche con vitaminas A y D se realiza en forma voluntaria. Estados Unidos decretó la adición de no más de 400 UI de vitamina D por cuarto de galón (DSM, s.f.). La disminución del raquitismo, un trastorno causado por la deficiencia de vitamina D, es atribuida a esta fortificación. Argentina ha tenido éxito en la fortificación de leche líquida con hierro, usando sulfato ferroso micro encapsulado con fosfolípidos, sin que se observen efectos perjudiciales en la vida útil o las propiedades sensoriales de la leche (DSM, s.f.). Varios países han establecido la fortificación obligatoria de la leche desde principios del siglo anterior. La fortificación de la leche con vitaminas A y D es obligatoria en Argentina, Brasil, Guatemala, Honduras, Malasia, México, Filipinas, Estados Unidos y Venezuela (DSM, s.f.).

2.5.1. Fortificación de leche

La tecnología para enriquecer la leche es muy sencilla. Todas las vitaminas y minerales que pueden ser añadidos a la leche están disponibles en forma de polvo. Las vitaminas liposolubles se encuentran disponibles en forma líquida (oleosa) (Ramírez *et al.*, 2011). Debido a que generalmente se agrega más de un nutriente a la leche, estos habitualmente se añaden en forma de premezcla, que es una mezcla homogénea de la cantidad deseada de fortificantes (vitaminas y minerales) concentrados en una pequeña cantidad del alimento a ser fortificado (Ramírez *et al.*, 2011). Las premezclas aseguran la adición de las cantidades correctas y la distribución uniforme de los micronutrientes en el producto final (Ramírez *et al.*, 2011).

Las vitaminas presentan diferentes grados de sensibilidad al calor, la luz y la humedad, como también, a los agentes oxidantes y reductores (DSM, s.f.). Los avances recientes en la tecnología han permitido producir formas comerciales de vitaminas con mayor estabilidad y compatibilidad con otras

formas de nutrientes (DSM, s.f.). En general, los minerales son menos sensibles que las vitaminas a los factores físicos y químicos. Sin embargo, son de naturaleza reactiva y deben ser seleccionados después de considerar posibles interacciones con las proteínas de la leche, potenciales efectos adversos sobre las propiedades sensoriales de la leche y la biodisponibilidad de la forma mineral (DSM, s.f.).

La leche líquida se fortifica justo antes de su pasteurización o tratamiento ultratérmico y es fundamental asegurarse que haya una buena distribución de los nutrientes en la leche antes de efectuar cualquier tratamiento de calor (DSM, s.f.). La homogenización es especialmente importante al usar las formas oleosas de vitaminas (DSM, s.f.).

La vitamina A puede ser añadida a la leche semidescremada y descremada en forma de acetato, palmitato o propionato de vitamina A (DSM, s.f.). La estabilidad de los ésteres de vitamina A depende del largo de la cadena, la naturaleza del medio y las condiciones de almacenamiento (König, s.f.). Existen diversas casas comerciales que proveen a la industria alimentaria las premezclas vitamínicas a la medida de las necesidades de la industria (DSM, s.f.).

Los niveles a los cuales se agregan los nutrientes a la leche dependen de muchos factores, incluidos los niveles de consumo de leche y los requerimientos nutricionales de la población objetivo; el efecto de los nutrientes que se agregan sobre las propiedades sensoriales (olor, sabor y color) de la leche; y la estabilidad de los nutrientes durante el procesamiento y almacenamiento de la leche (DSM, s.f.). La leche líquida, especialmente la leche descremada, debería ser fortificada por lo menos con las vitaminas A y D (DSM, s.f.).

2.5.2. Legislación en Costa Rica

En Costa Rica, existe un programa de fortificación de alimentos, el cual se realiza con el fin de controlar un déficit de micronutrientes presente en el país. La Encuesta Nacional de Nutrición de 1996 reveló que en la población había una serie de deficiencias en micronutrientes; para corregirlas, el Ministerio de Salud elaboró una serie de decretos para la fortificación de alimentos (Alfaro *et al.*, 2006). Entre ellos se encuentran la modificación de la fortificación de la harina de trigo, a la cual se le adicionó ácido fólico y se aumentó la cantidad de hierro, la fortificación de la harina de maíz con hierro aminoquelado y ácido fólico, a la leche se le agregó hierro aminoquelado, ácido fólico y vitamina A, y al azúcar se le agregó vitamina A (Alfaro *et al.*, 2006). Por lo tanto, se ha implementado un sistema de control de la fortificación de los alimentos ya mencionados. Control que se realiza para garantizar a la población que está recibiendo la cantidad y calidad de los micronutrientes que requiere (Alfaro *et al.*, 2006).

Como se mencionó, por decreto es obligatorio la fortificación de la leche con vitamina A, hierro y ácido fólico. En el caso más preciso de la vitamina A en la leche, existe un riguroso control por parte del Ministerio de Salud, el cual es el ente que da seguimiento al programa de salud y, a su vez, determina la cantidad del nutriente que será adicionada en el alimento por medio del Decreto Ejecutivo 29629-S (Reglamento de Enriquecimiento de la leche de ganado vacuno) (La Gaceta, 2001). Dicho reglamento estipula que las leches que se comercialicen para el consumo humano se deben fortificar con vitamina A en una concentración de 600 UI / 250 mL (unidades internacionales) o 180 µg / 250 mL (La Gaceta, 2001).

2.6. PARÁMETROS EVALUADOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE LA LECHE

2.6.1. pH y acidez de la leche

La valoración de la acidez es la determinación analítica más frecuente en tecnología lechera. La acidez es un parámetro bastante constante en la leche y su aumento indica una anomalía (Alais, 2003). El pH (acidez activa) de una leche normal varía entre 6,2 y 6,8 pero la mayoría de las leches tienen un pH comprendido entre 6,4 y 6,6. Todos los componentes capaces de combinarse con iones básicos contribuyen a la acidez de la leche. Este equilibrio entre los constituyentes básicos (sodio, potasio, magnesio, calcio e hidrógeno) y los ácidos (fosfatos, citratos, cloruros, carbonatos, hidroxilos y proteínas) determinan la acidez de la leche (Alais, 2003). Estos dos grupos de constituyentes pueden presentarse en diferentes combinaciones que varían en su grado de ionización, la constante de disociación y el producto de solubilidad. La acidez de valoración global de la leche expresada en porcentaje de ácido láctico, en general, presenta valores entre 0,14 % y 0,17 %. Los constituyentes naturales de la leche que contribuyen a la acidez son los fosfatos, las caseínas y el resto de las proteínas, los citratos y el dióxido de carbono (Alais, 2003).

En la industria láctea se tiene un especial interés en los cambios de acidez que se producen en el curso de los tratamientos, ya que puede influir sobre la estabilidad de los componentes de la leche (Alais, 2003). El calentamiento origina la pérdida de gas carbónico, las temperaturas elevadas hacen que el fosfato tricálcico pueda precipitar y produce un aumento de acidez debido a la disociación de los radicales "fosfato" (Alais, 2003). El calor también puede descomponer la lactosa en diversos ácidos orgánicos o neutralizar los grupos aminos de las proteínas (Alais, 2003).

El desarrollo de bacterias lácticas en la leche transforma la lactosa, principalmente, en ácido láctico. Esta nueva acidez se llama acidez desarrollada y origina la desestabilización de las proteínas (Negri, 2005).

2.6.2. Viscosidad

La viscosidad de un líquido es su resistencia para fluir debida a la fricción entre las partículas que lo componen. En la leche, es función del número y tamaño de sus partículas y también de la temperatura (Alais, 2003). Sobre la viscosidad influyen principalmente las proteínas y la grasa; el efecto de la lactosa y las sales es menos importante. Considerando que el agua a 20 °C tiene una viscosidad de 1 centipoise (cP), la viscosidad de la leche entera a la misma temperatura es de 2,1 y la de la leche desnatada de 1,8 (Alais, 2003). El grado de hidratación de las proteínas juega un papel importante en la viscosidad. Se ha demostrado que la viscosidad de la leche descremada disminuye inversamente con los tratamientos térmicos hasta 62 °C, temperatura a partir de la cual los tratamientos térmicos tienen el efecto de aumentar la viscosidad (Alais, 2003). Este comportamiento se explica por la hidratación de las proteínas que sigue una curva parecida (Alais, 2003).

El tamaño y el número de los glóbulos de grasa también influyen en la viscosidad. La homogenización aumenta la viscosidad de la leche por el fenómeno de adsorción a la superficie de los glóbulos (Amiot, 1991). Cuando un glóbulo de 8 μm se divide en glóbulos de 1 μm , la superficie globular aumenta por un factor de 64. Las posibilidades de adsorción superficial aumentan considerablemente el volumen de partículas en suspensión. Además, la aglomeración de los glóbulos o de las partículas en racimos, permite la retención de un gran volumen de agua en el interior de los espacios intercelulares; en consecuencia, aumenta todavía más el volumen efectivo del material en suspensión (Amiot, 1991).

2.6.3. Color

El color de la leche tiene una importancia particular en la industria láctea porque se considera indicativo de su riqueza en grasa. La reflexión de la luz sobre las partículas opacas en suspensión (micelas de caseína, glóbulos grasos, fosfatos y citratos de calcio) da a la leche su color blanco (Wong, 2012). El grado de blancura varía con el número y el tamaño de las partículas en suspensión. Cuando hay pocas partículas de gran tamaño, las longitudes de onda elevadas son menos interceptadas y el color de la leche tiende a ser azulado (Wong, 2012). La reducción del tamaño de las micelas por disminución del contenido en calcio o por la acción del frío, puede modificar el grado de blancura de la leche (Wong, 2012). Los glóbulos grasos son muy efectivos en la reflexión de las ondas luminosas largas.

La homogenización de la leche reduce el tamaño de los glóbulos de grasa y aumenta su cantidad. Por esta razón, la homogenización aumenta el color blanco de la leche (Wong, 2012).

El suero de la leche es el ejemplo típico de un sistema en el que las partículas en suspensión ni tienen el tamaño ni se encuentran en la concentración suficiente como para reflejar eficazmente los rayos de luz (Alais, 2003). Las albúminas y las globulinas son partículas demasiado pequeñas para contribuir al color de la leche (Alais, 2003). Además, el suero contiene una elevada cantidad de riboflavina, que le da una característica tonalidad amarillo-verdosa. La materia grasa de la leche contiene pigmentos amarillos que enmascaran su color azul. El contenido de la leche en carotenos y xantofilas varía con la alimentación y la raza de las vacas (Alais, 2003).

2.6.4. Vitamina A

La vitamina A y los carotenoides sufren pérdidas que, según las condiciones de preparación y conservación de los alimentos, se sitúan entre el 5 % y el 40 % (Belitz *et al.*, 2009). En ausencia de oxígeno a temperaturas elevadas, cocción y esterilización, se producen principalmente isomerizaciones y fragmentaciones (Belitz *et al.*, 2009). En presencia de oxígeno ocurren oxidaciones que dan lugar a una serie de productos que en parte son volátiles. La oxidación transcurre a menudo paralela a la oxidación de las grasas (co-oxidación). La velocidad de oxidación depende, entre otros factores, de la presión parcial de oxígeno (O₂), la actividad del agua y la temperatura (Belitz *et al.*, 2009).

En las últimas décadas ha crecido la preocupación con respecto a la salud humana por la deficiencia de micronutrientes observada en la población, además de que este problema aqueja a un porcentaje importante de la humanidad (FAO, 2014; Bonilla, 2016). Según datos de la FAO derivados de la Segunda Conferencia Internacional sobre Nutrición celebrada en 2014 y de la Organización Mundial de la Salud, más de 2 000 millones de personas sufren carencias de micronutrientes sobre todo de vitamina A, yodo, hierro, ácido fólico y zinc (FAO, 2014; Bonilla, 2016).

La carencia de vitamina A produce la xeroftalmia (término utilizado para describir las afecciones oculares) y la ceguera nutricional, los cuales son estados endémicos de algunas partes de África y Asia (Allen *et al.*, 2006; FAO, 1991). En la forma de retinaldehído, la vitamina A actúa entre el grupo de los pigmentos visuales que absorben luz, por lo que, una deficiencia de esta vitamina impide la formación de la rodopsina, pigmento que interviene en la visión de baja intensidad (Allen *et al.*, 2006; FAO, 1991).

Según el Banco Interamericano de Desarrollo, los datos más recientes de finales de la década de los 2000 muestran que la prevalencia de la deficiencia de Vitamina A en niños menores de 5 años es del 5 % o menos para Costa Rica (2,8 %), Guatemala, Nicaragua, Panamá y El Salvador, mientras que

Honduras y Belice presentan los valores más alto de la región (Nieves, 2012). Con respecto a los datos de las mujeres embarazadas y en edad reproductiva se tiene poca información de la prevalencia de esta deficiencia en los países de Centroamérica (Nieves, 2012).

2.7. PANEL SENSORIAL

La evaluación sensorial existió desde comienzos de la humanidad, considerando que el hombre eligió sus alimentos buscando una alimentación estable y agradable (Ibañez *et al.*, 2001). Sin embargo, la evaluación sensorial como ciencia es reciente, siendo establecida y aceptada como tal en la actualidad. La evaluación sensorial es el análisis de alimentos u otros materiales por medio de los sentidos (Ibañez *et al.*, 2001). La palabra sensorial se deriva del latín “sensus”, que quiere decir, sentido. La evaluación sensorial es una técnica de medición y análisis tan importante como los métodos químicos, físicos y microbiológicos. Este tipo de análisis tiene la ventaja de que la persona que efectúa las mediciones lleva consigo sus propios instrumentos de análisis, o sea, sus cinco sentidos (Ibañez *et al.*, 2001). Las pruebas sensoriales son utilizadas en diversos tipos de industrias, tales como la industria alimentaria, la perfumera, la farmacéutica, y la industria de pinturas y tintes, entre otras (Ibañez *et al.*, 2001).

Los olores, los colores, los sabores y las texturas son propiedades que influyen marcadamente en la aceptación o rechazo de los alimentos por parte de los consumidores (Chamorro & Losada, 2002). En un mercado cada vez más competitivo, estos atributos deben ser diseñados y controlados cuidadosamente, por lo que la industria alimentaria moderna aprovecha la información obtenida mediante el análisis sensorial para el diseño y desarrollo de nuevos productos, reformulación de los ya existentes y como una herramienta poderosa dentro de su control de calidad (Chamorro & Losada, 2002).

La evaluación sensorial se define como el método mediante el cual los jueces perciben y califican, caracterizando y/o midiendo, las propiedades sensoriales de muestras adecuadamente presentadas, bajo condiciones ambientales preestablecidas y bajo un patrón de evaluación acorde al posterior análisis estadístico (Ramírez, 2010). Las propiedades sensoriales (olor, aroma, gusto, sabor, apariencia, textura, color) tienen su importancia según el objetivo que se pretende evaluar (Ramírez, 2010).

El análisis sensorial abarca un conjunto de técnicas que, aplicadas de una manera científica, permiten obtener resultados fiables sobre las respuestas que dan los sentidos a los alimentos (Stone &

Sidel, 2004). Para ello se acude a la experiencia de panelistas entrenados o no, quienes trabajan como si se tratara de instrumentos, al ser capaces de establecer diferencias objetivamente (Stone & Sidel, 2004).

2.7.1. Tipos de pruebas sensoriales

Al ser utilizadas para un fin específico, las pruebas sensoriales se clasifican de acuerdo con su propósito principal, siendo tres las clasificaciones comúnmente utilizadas: discriminación, descriptivas y afectivas, cada una de ellas con diferentes metas y cada una usando participantes seleccionados empleando diferentes criterios (Lawless & Heymann, 2013).

Los métodos de discriminación son de tipo analítico y sirven para saber si dos o más productos son diferentes entre sí. Los métodos descriptivos también son analíticos, pero determinan cómo los productos son diferentes en una característica sensorial específica (Lawless & Heymann, 2013). En las pruebas descriptivas se trata de definir las propiedades del alimento y medirlas de la manera más objetiva posible (Ibañez *et al.*, 2001). En este tipo de prueba no son importantes las preferencias o aversiones de los jueces ni si las diferencias entre las muestras son detectadas, sino cuál es la magnitud o intensidad de los atributos (Ibañez *et al.*, 2001).

Las pruebas afectivas son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, o si lo prefiere a otro (Lawless & Heymann, 1999). Son las pruebas de mayor variabilidad y las más difíciles de interpretar. Los métodos afectivos son de tipo hedónico y pretenden determinar cuánto gusta un producto o cuáles productos son preferidos por los panelistas (Lawless & Heymann, 1999).

Para cada una de las clasificaciones se hace uso de diferentes técnicas para obtener los resultados requeridos. Por ejemplo, en el método descriptivo se puede hacer uso de una escala, la cual es la prueba más antigua de todos los sistemas de rangos y es usada extensivamente por su diversidad, simplicidad y la fácil aplicación estadística (Pangborn, 1984). Este método envuelve la aplicación de la cuantificación numérica de una experiencia sensorial, mediante el uso de tres posibles métodos. El más usado y antiguo es el uso de categoría de rangos donde los panelistas asignan un valor numérico a la sensación percibida basada en una respuesta específica y limitada (Lawless & Heymann, 2013). El otro extremo es el método de magnitudes, en donde los panelistas asignan cualquier número que deseen para reflejar la proporción entre sensaciones. El tercero y más popular es el método de líneas de marcado, donde los panelistas hacen una marca a lo largo de una línea para estimar la intensidad de una característica (Lawless & Heymann, 2013).

Según Pangborn (1984), estas escalas no numéricas o escalas gráficas, en donde se usa una línea, permiten minimizar el error psicológico de tendencia central. Además, este tipo de escala ofrece múltiples ventajas sobre los rangos numéricos al ser menos susceptibles a la preferencia de números y al posible efecto de memoria cuando el estímulo es repetido (Pangborn, 1984). En estas pruebas gráficas es altamente recomendado presentar estímulos o anclas junto con las muestras experimentales para ilustrar al juez la intensidad máxima y mínima dentro de la prueba (Pangborn, 1984).

Dentro de la evaluación sensorial no solo se hace uso de escalas numéricas, sino también de escalas hedónicas, las cuales son útiles en los métodos afectivos, especialmente en las pruebas de aceptación, en donde comúnmente se emplea la escala hedónica de 9 puntos para que los consumidores determinen qué tanto gusta un producto. La escala hedónica de 9 puntos asume que la preferencia del consumidor existe en forma continua y que esta preferencia puede ser categorizada por respuestas basadas en agrado o desagrado. Esta escala es muy simple de usar y fácil de implementar, ha sido altamente estudiada y ha mostrado ser útil en evaluaciones de alimentos, bebidas y productos no alimenticios (Lawless & Heymann, 2013).

2.7.2. Pruebas de agrado

Las pruebas de aceptación también se conocen como de nivel de agrado (hedónicas) y son un componente valioso y necesario de todos los programas sensoriales (Stone & Sidel, 2004).

La prueba sensorial de agrado es de tipo afectiva y permite determinar el nivel de agrado de los consumidores en cuanto a un producto. Ese grado de aceptación permite medir cuánto agrada o desagrade determinado producto. No se necesita de jueces entrenados ya que se busca conocer el efecto real en la compra y consumo de personas que generalmente ingieren el producto (Stone & Sidel, 2004).

Para determinar la aceptabilidad de un producto se pueden usar pruebas de ordenamiento, escalas categorizadas y pruebas de comparación pareada. En las pruebas de aceptabilidad por ordenamiento se solicita a los panelistas que ordenen las muestras codificadas con base a su aceptabilidad. Se entregan tres o más muestras en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de tres dígitos. Todas las muestras se presentan simultáneamente, en un orden balanceado y aleatorio. Los datos se analizan sumando el total de los valores de posición asignados a cada una de las muestras y determinando las diferencias significativas entre muestras comparando los totales de

los valores de posición de todos los posibles pares de muestras utilizando la prueba de Friedman (Ramírez, 2012).

La escala más utilizada es la escala hedónica de 9 puntos (Drake, 2007), aunque también existen variantes de ésta, como son las de 7, 5 y 3 puntos o la escala gráfica de cara sonriente que se utiliza generalmente con niños (Stone & Sidel, 2004). La escala de 9 puntos es una escala bipolar, utilizada extensamente en una amplia variedad de productos (Ramírez, 2012). A los panelistas se les pide evaluar muestras codificadas de varios productos, indicando cuánto les agrada cada muestra, marcando una de las categorías en la escala, que va desde me gusta extremadamente hasta me disgusta extremadamente (Clark *et al.*, 2009). Cabe resaltar que la escala puede ser presentada gráfica, numérica o textualmente, horizontal o verticalmente y se utiliza para indicar las diferencias en gusto del consumidor de los productos (Clark *et al.*, 2009). En esta escala es permitido asignar la misma categoría a más de una muestra. Las muestras se presentan en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de tres dígitos. El orden de presentación de las muestras puede ser aleatorizado para cada panelista o, de ser posible, balanceado. En un orden de presentación balanceado, cada muestra se sirve en cada una de las posibles posiciones que puede ocupar un número igual de veces (Ramírez, 2012).

Para el análisis de datos, los puntajes numéricos para cada muestra se tabulan y analizan utilizando análisis de varianza (ANDEVA) con la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$), para determinar si existen diferencias significativas en el promedio de los puntajes asignados a las muestras (Ramírez, 2012).

En la escala híbrida, se mezclan beneficios de la escala hedónica como la escala lineal numérica. La escala hedónica puede presentar problemas ya que los panelistas evaden las categorías de los extremos, acción que podría producir errores de tendencia central, al mismo tiempo que los espaciamientos categóricos de la escala no son equivalentes psicológicamente (Dunezka, 2013). No obstante, al usar la escala híbrida, estas problemáticas disminuyen y se vuelve más rápida y sencilla para los consumidores. Los datos obtenidos se analizan por medio del análisis estadístico paramétrico (Dunezka, 2013).

Según Villanueva (2005), la escala hedónica híbrida es superior a las tradicionales escala hedónica y escalas autoajustables, en su poder discriminativo, así como en conformidad con los supuestos de normalidad y homocedasticidad para los modelos de ANDEVA (Espinosa, 2007). Estas pruebas son muy útiles y de sencilla interpretación, por lo que, mediante su aplicación, se puede conocer fácilmente cuál es la muestra más gustada, así como obtener conclusiones a partir de los datos

extraídos para las diversas muestras analizadas (Espinosa, 2007). En las pruebas orientadas al consumidor, se escogen entre 70 y 500 personas, todas consumidoras del producto a analizar (Solís, 2016). A cada una se le presentan las diferentes muestras de las cuales se desea obtener información y se les entregan los diferentes productos de manera aleatorizada y balanceada, de acuerdo con un código de tres dígitos en cada muestra (Ramírez, 2012).

Para el análisis de resultados de este tipo de pruebas, muchas veces se realiza un análisis de conglomerados, ya que logra una clasificación de grupos según asociaciones no evidentes entre los jueces (Pedroza & Dicovskyi, 2007). Mediante el uso de análisis de conglomerados se puede identificar subgrupos de consumidores con preferencias diferentes (Ramírez, 2012). Lo que pretende es agrupar elementos con la máxima homogeneidad que se pueda obtener y la mayor diferencia posible entre cada grupo. Estos conglomerados permitirán un mejor entendimiento de los grados de aceptación de las diferentes muestras según cada uno de estos (Pedroza & Dicovskyi, 2007). La clasificación jerárquica de clusters se puede representar en forma gráfica utilizando un dendograma. Esta representación resume el proceso de agrupación de los objetos según igualdad o diferencia, los cuales se conectan mediante enlaces de acuerdo con la posición en el diagrama (Rodríguez & Mora, 2001). En un gráfico como el descrito, el eje de coordenadas representa los distintos niveles de disimilitud en torno a la agrupación de las unidades analizadas (Rodríguez & Mora, 2001).

2.8. EL COLOR EN LOS ALIMENTOS

Los alimentos, tanto en su forma natural como procesada, presentan un color característico y bien definido mediante el cual el consumidor los identifica (Mathías & Ah-Hen, 2014). El color frecuentemente se utiliza para determinar el contenido de pigmentos de un producto, que a su vez es un índice de calidad. También puede proporcionar cierta información sobre la calidad de comestible de un alimento, sobre su identidad o sobre la intensidad de sabor (Mathías & Ah-Hen, 2014).

El color es la propiedad que se aprecia por el sentido de la vista, cuando le estimula la luz reflejada por el alimento que contiene sustancias con grupos cromóforos, capaces de absorber parte de las radiaciones luminosas dentro de una determinada longitud de onda (Mathías & Ah-Hen, 2014). El color de los alimentos influye de manera importante en la aceptabilidad de estos por el consumidor, ya que es el primer estímulo recibido (Lewis & Heppell, 2000). Su calidad depende del grado de estabilidad de los pigmentos presentes en ellos y de los posibles cambios químicos, tales como la

caramelización y el oscurecimiento que pueden haberse desarrollado durante el procesamiento y almacenamiento (DeMan, 1999).

El color puede ser considerado como el atributo sensorial más importante en alimentos (Steet & Tong, 1996). Esta propiedad logra afectar positiva o negativamente el juicio de un consumidor en relación con los atributos de un producto dado, por lo que es responsable de un posible rechazo por la apariencia visual a pesar de cumplir con otras características de calidad (Padua, 1998). Dado que el color es una percepción e interpretación personal de cada individuo, existe una gran variedad de formas de expresar un mismo color y describirlo con exactitud es difícil (Minolta, 1993).

2.8.1. La teoría tricromática

Thomas Young propuso que el ojo detecta diferentes colores porque contiene tres tipos de receptores, cada uno de ellos sensible a una única tonalidad del color. Para los observadores humanos cualquier color puede ser reproducido mezclando tres colores en cantidades variables, acertadamente seleccionadas de distintos puntos del espectro. Las células sensoriales o fotorreceptores de la retina que reaccionan en respuesta a la luz son de dos tipos: conos y bastones. Los bastones se activan en la oscuridad y sólo permiten distinguir el negro, el blanco y los distintos matices del gris; por lo tanto, permiten la percepción del contraste. Los conos funcionan de día y en ambientes iluminados y hacen posible la visión de colores. Existen tres tipos de conos, uno sensible a luz roja (700 nm a 770 nm), otro a la luz verde (495 nm a 570 nm) y un tercero a la luz azul (400 nm a 475 nm) (Mathías & Ah-Hen, 2014).

El ojo humano puede distinguir aproximadamente 200 tonalidades diferentes, 20 a 25 grados de saturación y alrededor de 500 grados de luminosidad (Figura & Teixeira, 2007). Cuando un observador ve un determinado color, puede discriminar: (1) la claridad, la cual es un atributo del color que hace corresponder a cada uno de ellos una equivalencia con una escala de grises; (2) el tono, atributo que adjudica al color una cualidad que se define como rojo (R), verde (G) y azul (B) o cualquier combinación de ellos; y (3) la saturación, atributo que, fijado al tono, describe el color por su similitud con un color espectral puro; cuanto más parecido a éste, resulta más saturado. El resultado implica una integración de los tres parámetros y el observador sólo lo aprecia (Mathías & Ah-Hen, 2014).

2.8.2. La captura del color

El color es la única propiedad sensorial que puede ser medida en forma instrumental más efectivamente que en forma visual (González & Vicente, 2007). Los colorímetros son capaces de expresar el color numéricamente de acuerdo con estándares internacionales y manteniendo constantes variables tales como la iluminación, el contraste, la sensibilidad, etc. Estos equipos

caracterizan el color basándose en la medición de la luz reflejada del objeto, usando tres sensores filtrados para obtener la misma sensibilidad del ojo humano (Steet & Tong, 1996; Minolta, 2018).

Un espacio de color puede ser descrito como un método para expresar el color de un objeto usando algún tipo de anotación, como pueden ser los números. La Commission Internationale d'Éclairage (CIE), una organización sin fines de lucro, es considerada como la autoridad en la ciencia de la luz y el color. (Minolta, 2018).

Para medir el color se requiere conocer con exactitud la composición espectral de la luz incidente, lo que se soluciona disponiendo de iluminantes normalizados. La CIE definió las series de iluminantes A, B, C y, más recientemente, las D y F (ver Cuadro 2.4). Estos iluminantes responden a la necesidad de simular instrumentalmente y de manera normalizada las condiciones naturales bajo las cuales se observa el color (González & Vicente, 2007). Cada iluminante tiene un comportamiento diferencial en cuanto a la emisión de energía a lo largo del espectro de luz visible. Los iluminantes de la serie D (D50, D55, D65, D75) son los más representativos de la distribución espectral de la luz blanca y son los más utilizados en la actualidad, aunque el iluminante C sigue siendo un estándar de comparación (Mathías & Ah-Hen, 2014).

Cuadro 2.4. Iluminantes estándares establecidos por la CIE.

Iluminante	Simula a	Temperatura K
A	Lámpara de filamento incandescente	2854
B	Luz del medio día	4870
C	Luz diurna promedio	6750
D ₆₅	Luz natural de día (iluminante C + UV)	6500
F ₂	Lámpara fluorescente blanca	4200
F ₇	Lámpara fluorescente luz de día	6500

Fuente: González & Vicente, 2007.

La percepción del color comienza por el observador. Cuando el ojo humano mira un objeto expuesto a la luz incidente, la intensidad energética de la luz que percibe no es la reflejada por el objeto sino la que resulta de multiplicar, para cada longitud de onda, la energía del espectro de reflexión del objeto por el valor de la visibilidad relativa a la misma longitud de onda (Albertí, 2000). Luego, la intensidad luminosa de un objeto, tal como la percibe el ojo humano, se llama claridad. En la práctica,

el problema es aún más complejo, pues el ojo percibe al mismo tiempo la luz incidente y la reflejada (Albertí, 2000). Debido a que aún en muchas industrias se realiza un elevado número de evaluaciones visuales, resulta conveniente normalizar la medida visual del color. En 1931, la CIE estableció el observador estándar, cuya visión del color es representativa del promedio de la población humana con una visión normal del color. Posteriormente, en 1964 se estableció el observador estándar suplementario (Mathías & Ah-Hen, 2014). Al primero se lo denomina observador estándar 2° u observador patrón de colorimetría para un campo “foveal”, y al suplementario, observador 10° u observador para un campo visual amplio. La utilidad de estos observadores reside en evaluar la luminancia de una determinada luz desde el punto de vista perceptivo no fotométrico. El observador 10° es el más ampliamente utilizado, ya que presenta una mejor concordancia con el promedio de la estimación visual (Mathías & Ah-Hen, 2014).

2.8.3. Medición de color

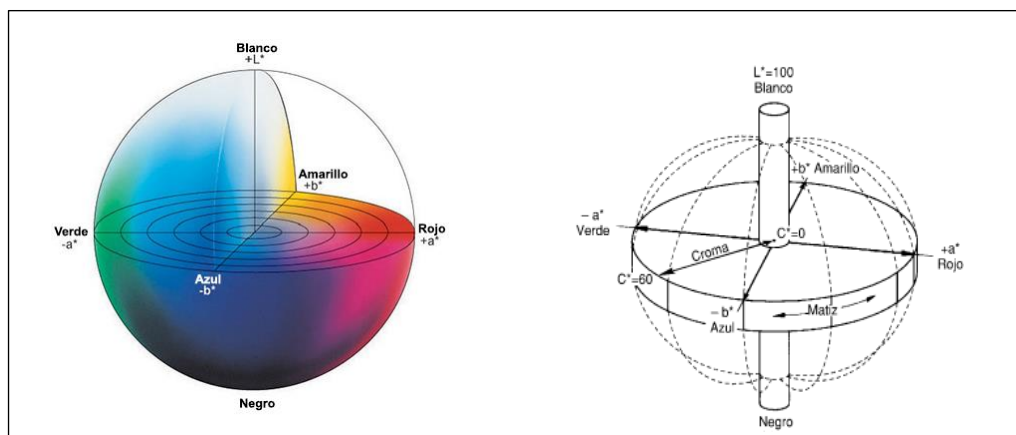
Uno de los métodos desarrollados para cuantificar el color es por localización en un espacio tridimensional, el cual está descrito por tres variables dispuestas en un sistema de coordenadas cilíndrico (Padua, 1998; Gnanasekharan *et al.*, 1992).

Tomando como base la teoría de los colores oponentes de Hering, que dice que la respuesta de los conos rojos, verdes y azules se mezclan en sus codificadores opuestos a medida que se desplazan a lo largo del nervio óptico hasta el cerebro, Hunter desarrolló en 1948 el sistema L, a, b (Calvo y Durán, 1997) (Mathías & Ah-Hen, 2014). Este nuevo sólido de color denominado Hunter Lab tiene una superficie uniforme de color definida por tres coordenadas rectangulares: L (luminosidad), donde 0 es el negro y 100 es el blanco; a (rojo-verde), donde los valores positivos son para rojo, los negativos para verde y 0 es el neutro; y b (eje amarillo-azul), donde valores positivos son para amarillo, los negativos para azul y 0 es el neutro (Figura 2.2) (Mathías & Ah-Hen, 2014). La economía y rapidez de respuesta que supuso la aparición en el mercado de los colorímetros triestímulo (colorímetros Hunter Lab) frente a los espectrofotómetros convencionales, ayudaron a la gran difusión del sistema L, a, b. Contribuyó también lo intuitivo de la representación gráfica, la cual se basa en la teoría de los colores oponentes (Mathías & Ah-Hen, 2014).

La CIE ha desarrollado los sistemas más importantes y utilizados en la actualidad para la descripción y medición del color, los cuales se basan en la utilización de fuentes de iluminación y observadores estándares (Mathías & Ah-Hen, 2014). Los sistemas CIE usan tres coordenadas para ubicar un color en un espacio de color. Estos espacios de color incluyen: 1) CIE XYZ, 2) CIE L*a*b* y 3)

CIE $L^*C^*h^\circ$. El espacio de color $L^*a^*b^*$, también referido como CIELAB, es actualmente uno de los espacios de color más populares y uniformes usados para evaluar el color de un objeto (Minolta, 2018). Este espacio de color es ampliamente usado porque correlaciona los valores numéricos de color consistentemente con la percepción visual humana. Investigadores y fabricantes lo usan para evaluar los atributos de color, identificar inconsistencias y expresar precisamente sus resultados a otros en términos numéricos (Minolta, 2018).

El espacio de color $L^*a^*b^*$ fue modelado con base en una teoría de color oponente que establece que dos colores no pueden ser rojo y verde al mismo tiempo, o amarillo y azul al mismo tiempo (Minolta, 2018). Como se muestra en la Figura 2.2, L^* indica la luminosidad, a^* y b^* son las coordenadas cromáticas, donde: $+a^*$ indica rojo, $-a^*$ indica verde, $+b^*$ es amarillo y $-b^*$ indica azul (Minolta, 2018).



Fuente: Minolta, 2018.

Figura 2.2. Espacio de Color CIE $L^*a^*b^*$ (izquierda) y CIE $L^*c^*h^\circ$ (derecha).

Los instrumentos de medición de color, incluyendo espectrofotómetros y colorímetros, pueden cuantificar estos atributos de color fácilmente (Minolta, 2018). Ellos determinan el color de un objeto dentro del espacio de color y muestran los valores para cada coordenada L^* , a^* y b^* (Minolta, 2018).

Mientras CIELAB utiliza coordenadas cartesianas para calcular el color en un espacio, el CIELCH emplea coordenadas polares (Minolta, 2018). Esta expresión de color se puede derivar de CIELAB. La L^* define la claridad, C especifica el croma y la h° denota el ángulo en una medición polar. El valor de L^* se representa en el eje central. Los ejes a^* y b^* aparecen sobre el plano horizontal (Minolta, 2018). La expresión $L^*c^*h^\circ$ ofrece una ventaja sobre CIELAB, ya que es fácil de correlacionar con los sistemas anteriores basados en muestras físicas como, por ejemplo, la Escala de Color Munsell (Minolta, 2018).

Considerando estos valores, para expresar adecuadamente el color, se emplean los términos de luminosidad, ángulo de tono y saturación (Minolta, 2018; Gnanasekharan *et al.*, 1992; Mastrocola & Lericci, 1991). La luminosidad se indica por el parámetro “L*”, que denota cuán brillante o luminoso es el color en una escala de blanco a negro. Al aumentar “L*” el color resultante es más blanco. Se refiere a la relación entre la luz reflejada y absorbida, independientemente de la longitud de onda (Minolta, 2018).

El tono es la característica asociada con el nombre convencional del color (rojo, verde, amarillo, etc.). Es el resultado de las diferencias en absorción de energía radiante a varias longitudes de onda. Se expresa como un ángulo, donde 0° es rojo, 90° es amarillo, 180° es verde y 270° es azul. Se obtiene resolviendo la siguiente razón trigonométrica (Minolta, 2018):

$$h^{\circ} = \tan^{-1} (b/a)$$

donde:

h°: tono

b*: valor en la coordenada b*

a*: valor en la coordenada a*

La saturación, también llamada factor chroma o pureza, es la proporción de contenido en la percepción total del color. La vivacidad del color aumenta a medida que a* y b* aumentan y el punto se aleja del centro acromático. Se refiere a la reflexión a una determinada longitud de onda. Se utilizan coordenadas cilíndricas en lugar de coordenadas rectangulares y está definida por la ecuación:

$$c^* = ((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$$

donde:

c*: factor chroma o saturación

b: valor en la coordenada b*

a: valor en la coordenada a* (Minolta, 2018).

Aún si dos colores parecen los mismos a una persona, se pueden encontrar diferencias ínfimas cuando son evaluados con un instrumento de color (Minolta, 2018; Mastrocola & Lericci, 1991). Si el color de una muestra no cumple con el estándar, la satisfacción del consumidor se ve comprometida, aumentando la cantidad de trabajo y costos. Identificar diferencias de color entre una muestra y el estándar antes de la salida al mercado de un producto es sumamente importante para la industria (Minolta, 2018; Mastrocola & Lericci, 1991).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN DEL PROYECTO

El estudio se realizó en las instalaciones de una empresa productora de lácteos. La determinación de color y el panel sensorial se realizaron en la Escuela de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, Sede Rodrigo Facio, San Pedro, San José.

3.2. CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE

Se analizó leche de vaca (*Bos taurus*) homogenizada, parcialmente descremada (2 % grasa), fortificada con vitamina A, hierro y ácido fólico, sometida al proceso de ultra pasteurización y envasada asépticamente en empaque Tetra Brik de 250 mL. El contenido de la ficha técnica del producto se detalla en el Cuadro 3.1 y la información nutricional declarada en el empaque se muestra en el Cuadro 3.2.

Cuadro 3.1. Ficha técnica de la leche semidescremada (2 %) ultra pasteurizada y envasada en envase Tetra Brik.

Nombre del Producto	Leche Semidescremada
Descripción	Leche 100 % de vaca con 2 % de grasa y adición de vitaminas A, ácido fólico y hierro, sin preservantes, fluida, homogenizada y esterilizada, procesada bajo tecnología de UHT.
Envase	Tetra Brik, cuarto de litro (250 mL).
Almacenamiento y Vida Útil	El producto se puede almacenar a temperatura ambiente. La vida útil declarada en el empaque es de 8 meses mientras se encuentre cerrado.
Población Meta	Consumidor sin problemas de intolerancia a la lactosa.
Forma de consumo	Directa.
Indicaciones en etiqueta	Nombre del producto, número de lote, fecha de vencimiento, lista de ingredientes, información nutricional.

...Fuente: elaboración propia.

Cuadro 3.2. Información nutricional por porción de 250 mL (1 vaso) declarada en el envase en la leche 2 % grasa UHT.

Parámetro	Cantidad por porción	% RDD*
Energía	525 kJ (125 kcal)	
Grasa	5 g	
Carbohidratos	12 g	
Proteína	8 g	16 %
Vitamina A	180 µg (600 UI)	22 %
Ácido fólico	40 µg	20 %
Calcio	300 mg	37 %
Hierro	1,4 mg	10 %

* Porcentaje de la recomendación dietética diaria según FAO/OMS (Codex Alimentarius 2013).

Fuente: etiqueta del producto.

La leche cruda se pasa por un sistema de placas a 60 °C y se estandariza la grasa a un 2 %. Luego, la leche es homogenizada y se le agrega la pre-mezcla de vitamina A, hierro y ácido fólico para fortificarla. Se pasteuriza la leche y se envía al área de producción encargada de la ultra pasteurización; por último, se envasa en esterilidad.

3.3. PROCESO

El diagrama de flujo del proceso de elaboración de la leche UHT semidescremada se describe en la Figura 3.1, detallándose en los apartados 3.3.1 a 3.3.11 las diferentes etapas. La materia prima se recibe como leche fluida fresca, homogenizada, pasteurizada, estandarizada al 2 % grasa y que ha sido fortificada con vitamina A, hierro y ácido fólico, la cual inicia el proceso de ultra pasteurización.

3.3.1. Recibo de materia prima

La leche se recibe en los tanques de almacenamiento del área de envasado aséptico proveniente del área de pasteurizados, estandarizada al 2 % de grasa, homogenizada y pasteurizada, una vez que se le realizan los análisis químicos y microbiológicos en el Laboratorio de Calidad, ubicado en El Coyol de Alajuela. La cantidad de leche trasladada y los resultados de los análisis químicos se anotan en sus registros correspondientes. Cuando el producto, por cualquier falla en el sistema, no pueda ser envasado después de 6 horas de haber sido trasladado, se le da un seguimiento continuo enviando muestras al laboratorio para análisis de pH y acidez. Si el producto sale de especificaciones se debe reprocesar en otras áreas de producción.

3.3.2. Pre calentamiento

La leche se precalienta a una temperatura de (80 ± 2) °C. Este proceso se lleva a cabo por regeneración, en un equipo marca STORK, empleando el tiempo necesario para alcanzar la temperatura.

3.3.3. Homogenización

Se homogeniza la leche a una presión de 200 bar y a una temperatura de (80 ± 2) °C.

3.3.4. Esterilización

La leche es esterilizada a una temperatura de (140 ± 1) °C por 2 segundos. Luego, es enfriada a una temperatura de (28 ± 5) °C para, posteriormente, ser enviada a las máquinas envasadoras o al tanque estéril.

3.3.5. Traslado al tanque estéril

Luego de la esterilización, se traslada el producto al tanque estéril y de ahí a las máquinas envasadoras. Este es un paso opcional, ya que el equipo esterilizador puede enviar el producto directamente a las máquinas envasadoras de acuerdo con la selección hecha en el programa y a la conexión de los equipos.

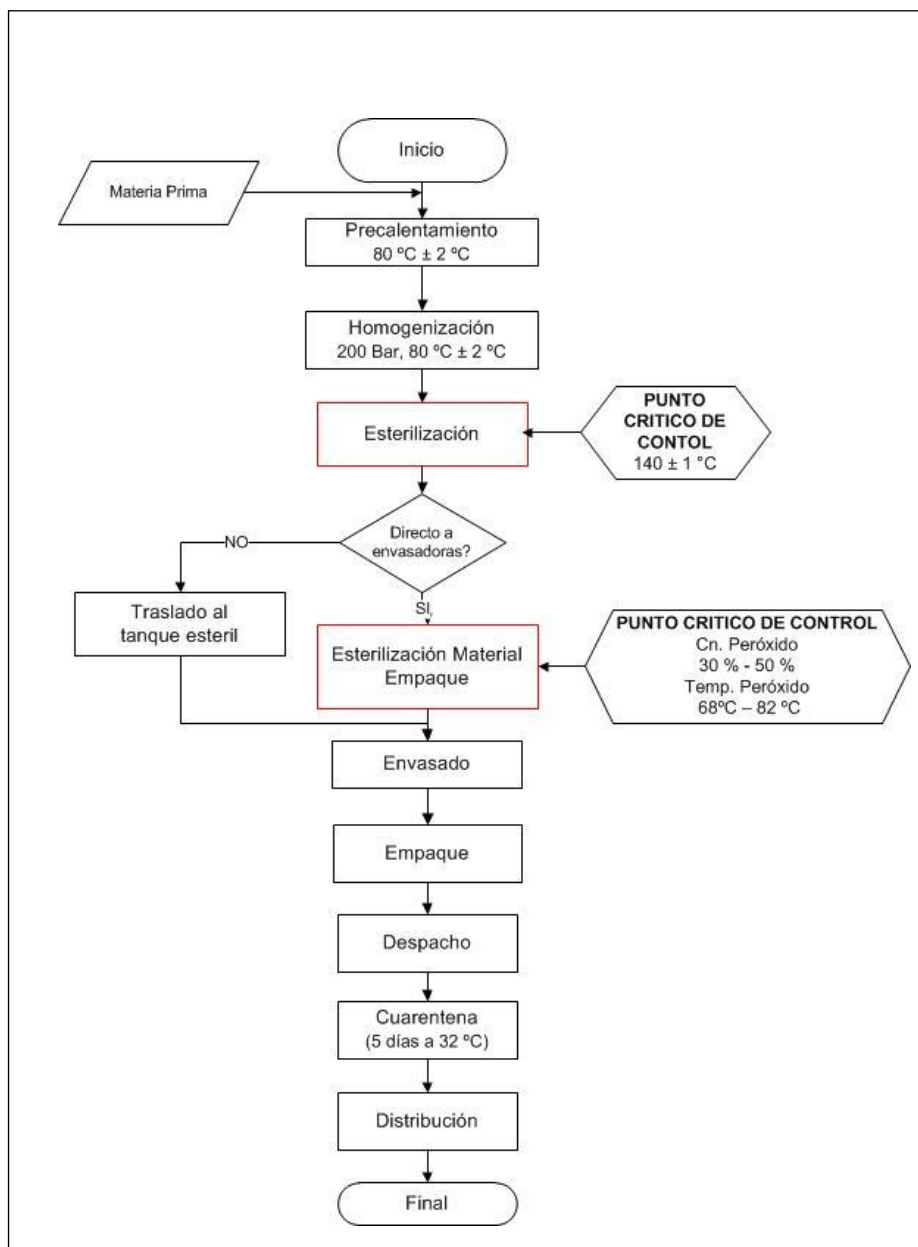
3.3.6. Esterilización del material de empaque

El material de envase se hace pasar por un baño de peróxido de hidrógeno a una concentración entre 30 % y 50 %, a una temperatura de 68 °C a 74 °C para máquinas envasadoras TBA/8 (envasa litros), TBA/9 (envasa ¼ litro) y de 76 °C a 82 °C para máquinas A3 Flex (envasa ¼ L, litros y 200 mL). El exceso de peróxido es eliminado por evaporación y con rodillos escurridores a una presión de 1,7 bar a 3,5 bar. El papel es esterilizado al pasar por la cuchilla de aire a una temperatura de 125 °C a 140 °C para máquinas TBA/8 y TBA/9, y de 190 °C a 210 °C para máquinas A3 Flex.

3.3.7. Envasado

En ambas presentaciones (1 litro o 250 mL) la formación del envase se lleva a cabo en el tubo de llenado. La exactitud del llenado, la controla el operador. La máquina posee en cada mandíbula una cavidad ajustable donde se regula la cantidad de líquido necesario de acuerdo con el peso y volumen declarados. Para la impresión de los códigos, la máquina cuenta con un codificador de inyección de tinta, el cual es controlado manualmente por el operador de la máquina. El acabado de la forma del envase se realiza en la salida de la máquina, en la sección llamada plegadora final.

El operador de la máquina llenadora pesa cuatro muestras cada 15 minutos y llena el gráfico de control de peso correspondiente.



Fuente: elaboración propia.

Figura 3.1 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de leche semidescremada UHT a partir de leche pasteurizada y fortificada con vitamina A, hierro y ácido fólico (materia prima).

3.3.8. Embalaje

En la sección de embalaje, para el caso de la presentación de 250 mL, el producto se hace pasar por máquinas pajilleras, las cuales pegan la pajilla plástica al envase. El producto sigue la línea hacia las

emplasticadoras (TFW 67), de manera que se formen paquetes de 9 envases envueltos en polietileno termoencogible. Los paquetes se emban en tarimas de madera compuestas por 8 camas de 48 paquetes de 9 envases cada uno, para un total por tarima de 3456 unidades. Los ayudantes de proceso deben llenar el registro para la trazabilidad de producto en la sección de embalaje.

3.3.9. Despacho de producto terminado

Se despacha el producto al Centro de Distribución, el que se encarga de almacenarlo de acuerdo con la fecha de vencimiento.

3.3.10. Cuarentena

El producto permanece en el Centro de Distribución por un mínimo de 5 días a temperatura ambiente hasta que es liberado por el departamento de Calidad en Proceso. Durante esos 5 días, las muestras del laboratorio se mantienen en un cuarto de incubación a 32 °C. Luego, son analizadas todas las muestras realizando la determinación de pH. Si los resultados son satisfactorios, el producto es liberado.

3.3.11. Distribución

El Departamento de Ventas se encarga de la distribución del producto a los diferentes puntos de venta y el Centro de Distribución lo envía a Sucursales y Subsidiarias.

3.4. METODOLOGÍA

3.4.1. Caracterización de la leche

A cada lote de leche pasteurizada y fortificada que se utilizó se le determinó el pH, % acidez y viscosidad. La metodología para estos procedimientos se detalla en el apartado 3.5.

3.4.2. Diseño experimental

Para evaluar la vida útil de la leche UHT semidescremada se utilizó un diseño de bloques completos aleatorizados con cuatro tratamientos, cuatro temperaturas de almacenamiento, a saber: 4 °C, 24 °C, 32 °C y 40 °C. Los resultados obtenidos se evaluaron por medio de un análisis de varianza, utilizando el tiempo como variable continua para analizar la tendencia. El estudio se realizó a 4 lotes diferentes de producción.

3.4.3. Procedimiento experimental

Se analizaron 4 lotes de producción. El número de lote corresponde al día del año juliano y los dos últimos dígitos del año calendario. Las muestras se almacenaron a cuatro temperaturas, 4 °C, 24

°C, 32 °C y 40 °C. La temperatura control elegida es la de refrigeración, 4 °C, dado que corresponde a temperatura de almacenamiento recomendada para la leche cruda.

De cada uno de los 4 lotes de producción, se tomaron 270 envases de 250 mL (embalaje de 9 unidades X 30) de leche, que se almacenaron a cada una de las cuatro temperaturas seleccionadas. En el Cuadro 3.3 se muestra la cantidad de envases por temperatura, considerando las unidades para el panel sensorial y los análisis físico - químicos. Para un total de 1080 envases de 250 mL de leche UHT 2 % grasa.

Se evaluó el comportamiento de las muestras almacenadas a temperatura ambiente en un periodo de 10 meses; la vida útil establecida para el producto evaluado es de 8 meses.

Los análisis que se le realizaron a las muestras de leche son: pH, % acidez, viscosidad y color. Se midió el contenido de vitamina A en las muestras almacenadas a temperatura ambiente (24 °C), para evaluar si sufre un deterioro con el tiempo.

A las muestras almacenadas a 32 °C se les hizo una prueba sensorial con consumidores con el fin de determinar si durante el almacenamiento ocurrieron cambios en el agrado. Para esto, las muestras de cada tiempo de muestreo se almacenaron a 4 °C para detener el deterioro hasta el momento del análisis (ver sección 3.5.1).

3.4.4. Frecuencia de muestreo

Se analizó en el tiempo cero una muestra de cada lote. Luego, dependiendo de la temperatura de almacenamiento se analizaron las muestras con diferente frecuencia.

Se asume un valor de Q_{10} igual a 2 y un tiempo de vida útil a 24 °C de 10 meses y aplicando la fórmula:

$$Q_{10}^{(T_2-T_1)/10} = \frac{VU_1}{VU_2}$$

A 32 °C:

$$2^{(32-24)/10} = \frac{10}{VU_2}$$

$$VU_2 = \frac{10}{2^{8/10}} = \frac{10}{1,74} = 5,74 \text{ meses}$$

A 40 °C:

$$2^{(40-24)/10} = \frac{10}{VU_2}$$

$$VU_2 = \frac{10}{2^{16/10}} = \frac{10}{3,03} = 3,30 \text{ meses}$$

Como se muestra en el Cuadro 3.3, una vez al mes se analizaron las muestras almacenadas a temperatura de refrigeración (4 °C) y ambiente (24 °C). Las muestras de leche almacenadas a 32 °C se analizaron cada 3 semanas los primeros dos meses y luego, cada 2 semanas hasta completar las muestras. Por último, las leches almacenadas a 40 °C se analizaron cada 10 días.

Cuadro 3.3. Condiciones de muestreo durante los 10 meses de almacenamiento de la leche UHT 2 % grasa.

TEMPERATURA	PERIODICIDAD	TIEMPO MÁXIMO DE ALMACENAMIENTO	CANTIDAD DE ENVASES / LOTE	ANÁLISIS
4 °C	1 c/mes	10 meses	50	pH, acidez, viscosidad, color, control panel
24 °C	1 c/mes	10 meses	40	pH, acidez, viscosidad, color, vitamina A
32 °C	1 c/3 semanas, los primeros 2 meses 1 c/2 semanas, los siguientes meses	6 meses	130	pH, acidez, viscosidad, color, panel sensorial
40 °C	1 c/10 días	3,3 meses	30	pH, acidez, viscosidad, color

3.4.5. Análisis de resultados

3.4.5.1. Prueba sensorial

Se realizó una prueba sensorial de agrado, la cual ayuda a establecer en qué momento son perceptibles por los consumidores los cambios que ocurren en el producto durante el almacenamiento. Se trató de correlacionar estos resultados con los demás parámetros evaluados, con el fin de establecer valores límite tolerables. A los resultados de la prueba se les aplicó análisis de varianza y regresiones lineales en función del tiempo.

3.4.5.2. Variables fisicoquímicas

Para cada variable y temperatura, se realizaron gráficas en función del tiempo y se calcularon las rectas de mejor ajuste en escala lineal y logarítmica. Estas se compararon para determinar el orden de

reacción que mejor explica su comportamiento. Una vez determinado el orden de reacción de cada variable, se realizó un análisis de varianza para conocer el efecto del tiempo y la temperatura.

3.4.5.3. Gráfico de vida útil

Se eligieron las variables que presentaron una mejor tendencia en el tiempo y con ellas se construyeron las gráficas de vida útil (logaritmo de la vida útil en función de la temperatura), con las cuales se calculó la vida útil de la leche semidescremada UHT a la temperatura de 25 °C. Para estas variables se calculó también el valor de Q_{10} para la leche semidescremada UHT.

3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.5.1. Análisis sensorial

Las pruebas sensoriales se realizaron a las muestras de leche de cada tiempo de muestreo almacenadas a 32 °C y a las muestras del mismo tiempo de muestreo almacenadas a 4 °C. Las muestras de 4 °C se utilizaron como control en el estudio. Las muestras de 32 °C se trasladaron a una cámara a 4 °C para detener el deterioro de la leche. Se realizó una prueba de agrado al final de los 6 meses del estudio, con 110 consumidores no entrenados, en cubículos con luz normal. Las muestras se sirvieron en vasitos de plástico transparente, se presentaron de manera aleatorizada y balanceada (un número similar de veces en cada posición), codificadas con un número de 3 dígitos.

Se utilizó la escala hedónica híbrida de Villanueva (2005) de 10 cm (Figura 3.2), en donde 0 significa “me disgusta muchísimo”, 5 “ni me gusta ni me disgusta” y 10 “me gusta muchísimo”. El panelista indicó el valor de agrado de la muestra; cada muestra fue evaluada en una escala independiente. Las personas probaron la leche en el orden en que se les presentó, de izquierda a derecha, enjuagándose con agua entre muestras para limpiar el paladar, según lo recomienda O’Mahony (1986).

Para la aplicación y evaluación de las pruebas sensoriales se utilizó el programa Solutions for Sensory Analysis and Consumer Tests (FIZZ, Francia).

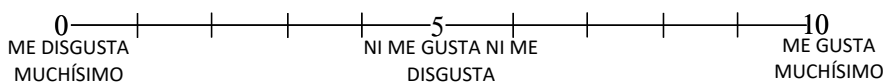


Figura 3.2. Escala hedónica híbrida de Villanueva (2005) utilizada para evaluar el agrado de las muestras de leche semidescremada ultra pasteurizada.

3.5.2. Análisis fisicoquímicos

3.5.2.1. Vitamina A (todo-trans y 13-cis retinol) por cromatografía HPLC

Se aplicó el método descrito en el Official Methods of Analysis of AOAC International (2016), número 992.04. A cada una de las muestras de leche, el análisis se realizó por triplicado. La leche se digiere con hidróxido de potasio etanólico (10 %) y pirogalol etanólico (2 %) por un periodo de tiempo superior de 18 horas a temperatura ambiente. Luego de transcurrido el tiempo de digestión, la vitamina A es extraída utilizando una disolución de hexano/éter etílico (85:15).

Para dicha extracción, se toma una alícuota (20 mL) de la disolución digerida y se coloca en un embudo separador, con la disolución extractora (hexano/éter etílico). Luego de varios minutos en reposo, se retira la fase acuosa, dejando en el embudo separador la disolución extractora que contiene la vitamina A. Se deposita la disolución en un matraz volumétrico y se evapora bajo un flujo de nitrógeno.

El residuo se disuelve en hexano y los isómeros de la vitamina A (todo-trans-retinol y 13-cis-retinol) se determinan por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución, utilizando un módulo separador de la marca Waters (modelo 2695) con una columna de sílica. Para su determinación, se utilizó un detector de UV con arreglo de diodos de la marca Waters (modelo 2996). Las condiciones de trabajo para el equipo HPLC fueron: fase móvil hexano / isopropanol (96:4) micro filtrada y desgasificada, flujo 1,000 mL/min, temperatura de columna y detector 30 °C, volumen de inyección 20 µL, y tiempo de corrida para cada muestra y estándar 15 min.

3.5.2.2. pH

El análisis de pH se realizó con un peachímetro marca Metrohm, modelo 827 pH lab, con sonda de temperatura Metrohm 6.1110.100 (-50 °C a 180 °C) y un electrodo específico Metrohm 6.0235.200 para la determinación de pH en leche. Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente (24 °C).

3.5.2.3. Porcentaje de acidez por el método de valoración colorimétrica

El porcentaje de acidez en la leche se determinó con una valoración colorimétrica ácido - base, utilizando una disolución de fenolftaleína como indicador del punto final. Se toma una alícuota de 10 mL y se valora con una disolución de hidróxido de sodio 0,1000 mol/L (947.05, A.O.A.C., 2016). La acidez en la leche se expresa como porcentaje de ácido láctico; la mayor parte de las leches tienen una acidez del 0,14 % a 0,17 % (Alais, 2003).

3.5.2.4. Color

El color de las muestras de leche se determinó utilizando un Colorímetro Color Flex, marca Hunter Lab, con lámpara de halógeno de 8 a 10 voltios. Para medir el color se coloca la leche en un porta-muestras y se toman los valores dados por el equipo. El valor que se utilizó para los análisis estadísticos es el promedio de tres mediciones. Se utilizó una fuente de luz D65, con un ángulo del observador de 10 ° y un ángulo de incidencia de 45 °. El color se determinó en las escalas CieLab y CieLch.

3.5.2.5. Viscosidad

La viscosidad de la leche se determinó con un viscosímetro Brookfield LV DV II+ Pro, serie RPT74011, con el adaptador 304 UL, el husillo (pin) S00 y el sensor de temperatura. El funcionamiento del viscosímetro Brookfield se basa en el principio de la viscosidad rotacional; el cual mide la viscosidad captando el par de torsión necesario para hacer girar a velocidad constante un husillo (pin) inmerso en la muestra de fluido a estudiar. El par de torsión es proporcional a la resistencia viscosa sobre el eje sumergido, en consecuencia, a la viscosidad del fluido.

La viscosidad de la leche es menor de 5 cPs, por lo que se requiere el adaptador para muestras de baja viscosidad. La temperatura de medición fue 20 °C para todas las muestras. Se vierte aproximadamente 16 mL de leche en el adaptador, se coloca el husillo (pin) S00 en el equipo. Se baja la cabeza del viscosímetro hasta que la muestra llegue a la marca de inmersión del pin y se realiza la medición.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ANÁLISIS SENSORIAL

En general, el final de una vida útil aceptable es definida en el momento cuando las muestras almacenadas son percibidas de una forma diferente. Esta percepción puede ser dada por un panel sensorial o por la medición de un factor de calidad determinado por un modo específico de degradación, que puede ser medido en un tiempo establecido bajo ciertas condiciones (Mizrahi, 2004).

En el análisis de resultados del panel sensorial primero se corroboró si había diferencia entre los lotes al día 0. En el análisis de varianza de los resultados se determinó que no existe una diferencia significativa entre los lotes ($p = 0,9209$). Como no hay diferencia significativa, se decidió que los datos se podían analizar como si todos los lotes fueran iguales. Luego, se evaluó si había diferentes grupos de consumidores (conglomerados) por el método de Ward y se encontraron 3 grupos con características diferentes (Figura 4.1).

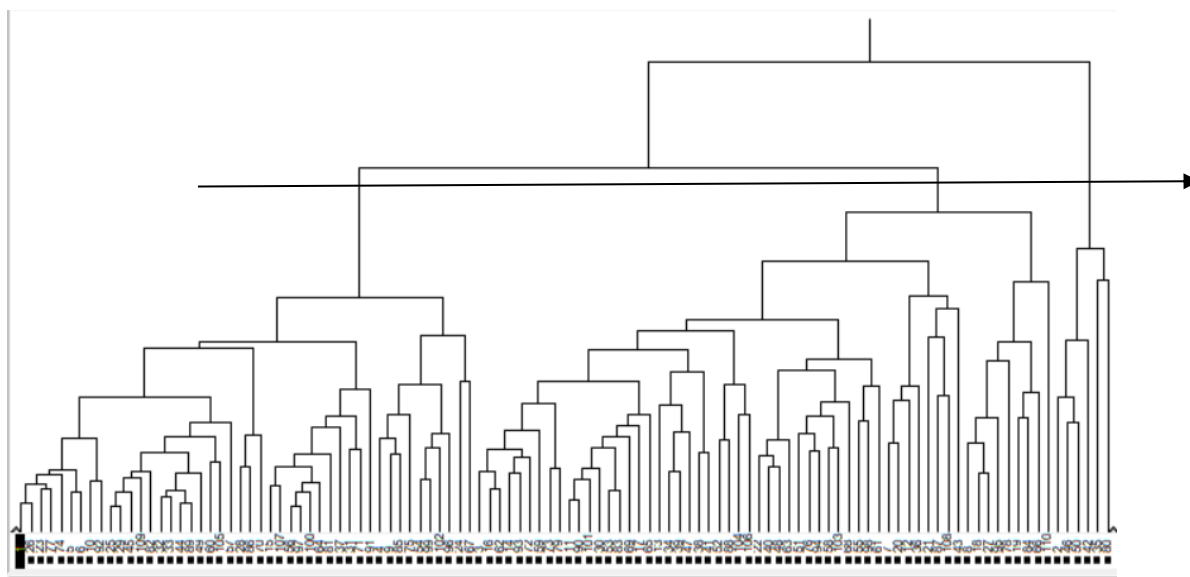


Figura 4.1. Conglomerados obtenidos por el Método de Ward en el panel sensorial de leche 2 % UHT almacenada a 32 °C durante 6 meses.

A continuación, se evaluó para cada conglomerado (grupo), si había diferencia entre los productos analizados en el tiempo. Como había al menos un lapso que no era igual en todos los lotes,

los tiempos se numeraron del 1 al 11 (no se utilizó el número de días). En el Cuadro 4.1 se observan las probabilidades para cada conglomerado. Los grupos 1 y 3 tienen la mayor cantidad de jueces, mientras que el grupo 2 es pequeño y sus resultados no se pueden considerar un reflejo del comportamiento de la población.

Cuadro 4.1. Resultados del análisis de varianza del panel sensorial de leche semidescremada almacenada a 32 °C, de los tres agrupamientos encontrados por el método de Ward.

Efectos	Grados de libertad g. l.	Probabilidad asociada
Conglomerado 1		
Tiempo	11	0,5902
Juez	53	< 0,0001
Conglomerado 2		
Tiempo	11	< 0,0001
Juez	5	0,0728
Conglomerado 3		
Tiempo	11	< 0,0001
Juez	49	< 0,0001

Los grupos 2 y 3 presentaron diferencias significativas en el agrado en función del tiempo de almacenamiento. Sin embargo, para ninguno de los grupos hubo una tendencia evidente a disminuir o aumentar el agrado en función del tiempo de almacenamiento (ver Cuadro 4.2).

Por lo tanto, la evaluación sensorial realizada a la leche UHT semidescremada a diferentes tiempos de almacenamiento por 6 meses con muestras a temperatura de almacenamiento 32 °C no evidenció un momento en que el producto pasara a ser más o menos desagradable en el periodo de tiempo evaluado. Estos resultados confirman que la leche UHT tiene una vida útil larga desde el punto de vista sensorial, ya que los panelistas no pudieron identificar cambios consistentes a esas condiciones.

Tanto la vida útil como la aceptabilidad de la leche UHT están determinadas por sus propiedades sensoriales (Richards *et al.*, 2014). La calidad sensorial y la vida útil de la leche UHT se rigen por la progresión de diversos cambios fisicoquímicos y bioquímicos después del procesamiento. Los principales cambios al almacenar la leche UHT se deben a reacciones proteolíticas, lipolíticas, oxidativas y de tipo reacción de Maillard (Datta & Deeth; 2003).

Cuadro 4.2. Promedios de agrado para cada momento en el tiempo de cada conglomerado y resultado de la prueba de comparación de medias de Tukey.

Conglomerado 1		Conglomerado 2		Conglomerado 3	
Tiempo	Agrado	Tiempo	Agrado	Tiempo	Agrado
0	8,0759	0	4,9667 ^{ab}	0	5,9400 ^{ab}
1	7,8870	1	7,5833 ^a	1	5,4800 ^{abc}
2	7,9796	2	3,8500 ^{ab}	2	5,7460 ^{ab}
3	7,7185	3	1,3833 ^b	3	5,4040 ^{abc}
4	7,8574	4	0,7500 ^b	4	4,4340 ^c
5	7,5481	5	1,5167 ^b	5	5,4960 ^{abc}
6	7,7351	6	3,3000 ^{ab}	6	5,3660 ^{abc}
7	7,8130	7	2,3000 ^b	7	5,1980 ^{bc}
8	7,7426	8	4,5333 ^{ab}	8	5,4560 ^{abc}
9	8,0093	9	2,6333 ^{ab}	9	5,9320 ^{ab}
10	7,6444	10	1,6833 ^b	10	6,3020 ^{ab}
11	7,9148	11	3,3167 ^{ab}	11	6,4560 ^a

Nota: en una misma columna, entre promedios con diferente letra existe diferencia significativa ($p < 0,05$).

La proteólisis de la leche ultrapasteurizada se asocia con la liberación de tirosina en la leche que puede contribuir al desarrollo de sabores desagradables. Las lipasas pueden hidrolizar triacilgliceroles con la liberación de ácidos grasos de cadena media y corta que dan lugar a sabores jabonosos y amargos, respectivamente (Richards *et al.*, 2014). Los ácidos grasos libres liberados durante la lipólisis también son precursores de otros compuestos de sabor responsables de la formación de sabores desagradables como los oxidados, el cartón, el amargo, el rancio, el jabón, los impuros y los metálicos. Las reacciones oxidativas y de Maillard pueden resultar en una cascada de reacciones responsables de la pérdida de nutrientes y aminoácidos, la decoloración de la leche y el desarrollo de sabores desagradables (Hedegaard *et al.*, 2006).

En el estudio de Richards *et al.* (2014), se determinaron 18 atributos diferentes para describir el aroma, el sabor, la apariencia, la textura y el sobregusto de leche UHT 1,6 % grasa, con un panel sensorial entrenado. Ese panel sensorial determinó aroma a cocido, aroma general a leche fresca, sabor cremoso, sabor general a lácteos, sabor dulce, sabor desagradable (falta de frescura), sabor cocido, regusto (graso, metálico, dulce y seco-tiza) entre otras características. Los autores concluyeron que el

aroma a leche fresca, el sabor a cocido y el sabor desagradable son atributos que pueden usarse como predictores para el final de la vida útil de la leche UHT baja en grasa (1,6 %) en botellas de HDPE (Richards *et al.*, 2014).

En el presente estudio, los posibles cambios en el análisis sensorial no llevaron a una tendencia en el agrado general por el producto, a pesar de que la temperatura de almacenamiento de las muestras fue de 32 °C durante 6 meses. Los cambios esperados están principalmente asociados a sabor a cocido de la leche, el color marrón y la falta de frescura, como se comentó anteriormente.

La vida útil de la leche usada en este estudio está reportada en su envase como 8 meses a partir de la fecha de empaque. La vida útil depende de la calidad microbiológica de la materia prima y de otros factores como la temperatura usada en el proceso, el tipo de envase, la temperatura de almacenamiento y las características utilizadas para la determinación de la vida útil (Perkins, D'Arcy, Lisle, & Deeth, 2005). Se encontraron en la literatura resultados de vida útil de leche UHT de 7 meses a 25 °C y 2,7 meses a 35 °C (Lazar *et al.*, 2015), entre otros (Richards *et al.*, 2014).

4.2. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

4.2.1. ORDEN DE REACCIÓN

Para cada parámetro físico - químico evaluado (acidez, pH y viscosidad) y de color (L^* , a^* , b^* , c^* y h^0), se calcularon las rectas de mejor ajuste para los datos por temperatura y lote, obteniéndose en cada caso los parámetros de pendiente, intercepto y coeficiente de determinación (r^2) para las funciones lineal y exponencial (ver Anexos A y B). Luego, se compararon estadísticamente los coeficientes de determinación de las ecuaciones obtenidas (ver Cuadro 4.3).

Los resultados obtenidos a la temperatura control de 4 °C no se consideraron en la evaluación dado que hubo muy pocos cambios en las variables evaluadas. A esta temperatura la leche se conserva microbiológicamente y los parámetros evaluados mantienen sus valores, razón por la cual, se escogió como temperatura de control.

Para la variable a^* de la medición de color, el comportamiento es errático en el tiempo. Esto no permite ni siquiera calcular una diferencia de a^* con respecto al primer día, porque su valor aumenta y disminuye. Algunos de los valores de a^* son negativos, por lo que las ecuaciones logarítmicas no se pueden calcular, esto conduce a utilizar únicamente las ecuaciones lineales.

Las probabilidades se observan en el Cuadro 4.3 para cada parámetro evaluado. Al comparar los coeficientes de correlación lineal y logarítmico de cada una de las variables evaluadas no hubo diferencia significativa entre ambos modelos, por lo que se utilizó el modelo lineal para todas las variables (ver Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3. Probabilidades calculadas por variable para la comparación de los coeficientes de correlación de los modelos lineal y logarítmico.

Parámetro	t Student
Acidez	0,9582
pH	0,9986
Viscosidad	0,9860
L*	0,9654
b*	0,9488
c*	0,9887
h°	0,9717

El modelo lineal cumple con un orden de reacción cero. Según Steele (2004), en una reacción de orden cero el factor de calidad aumenta en relación directa con el tiempo. Los modos de deterioro más aplicables a este tipo de reacciones son: la degradación enzimática, el oscurecimiento no enzimático y la oxidación lipídica. En el caso de la leche se relaciona con un oscurecimiento no enzimático debido a la reacción de Maillard entre lactosa y proteína provocando sabores y colores indeseables, al mismo tiempo que reduce el contenido de lisina en las proteínas de la leche (Villafuerte, 2018).

Teóricamente, los estudios de cinética se realizan hasta que desaparezca por completo la característica evaluada. En los estudios de vida útil como éste, se hace hasta que se incumplan las especificaciones de los parámetros evaluados. Puede ser que la reacción sea de orden 1 pero, como solo se evalúa una parte pequeña de la curva, ésta se comporta de manera lineal (Villafuerte, 2018). Las condiciones normales de pasteurización no tienen efecto significativo en la lactosa. Pero las altas temperaturas utilizadas para el tratamiento UHT y el secado por atomización pueden conducir al pardeamiento y a reacciones de isomerización de la lactosa (Villafuerte, 2018).

4.2.2. EFECTO DE LA TEMPERATURA, EL TIEMPO Y EL LOTE EN LOS PARÁMETROS EVALUADOS

En el ANDEVA de todos los parámetros evaluados, con excepción de la vitamina A, se obtuvo efecto significativo de la temperatura, el tiempo y el lote utilizado (Cuadro 4.4), lo cual indica que el lote de producción, la temperatura de almacenamiento y la cantidad de días afectan los resultados de cada uno de los parámetros evaluados. Además, se obtuvo una interacción significativa entre la temperatura y el tiempo, lo que significa que el efecto del tiempo depende de la temperatura utilizada.

En el caso de vitamina A, hubo diferencias en el tiempo, pero no entre lotes, por lo que, se analizaron todos los datos como si fueran un mismo lote (ver Figura 4.2). No se evaluó el efecto de la temperatura porque fue una condición constante en el estudio de vitamina A. Las ecuaciones lineales por lote se encuentran en el Anexo A, Cuadro A.4.

Cuadro 4.4. Análisis de varianza de los parámetros estudiados en leche UHT 2 % en grasa almacenada a diferentes temperaturas.

PARÁMETRO	EFEECTO	GRADOS DE LIBERTAD	Probabilidad asociada Prob > F
Acidez	TEMPERATURA (T)	3	< 0,0001 [†]
	TIEMPO (t)	1	< 0,0001 [†]
	T x t	3	< 0,0001 [†]
	LOTE	3	< 0,0001 [†]
pH	TEMPERATURA (T)	3	< 0,0001 [†]
	TIEMPO (t)	1	< 0,0001 [†]
	T x t	3	< 0,0001 [†]
	LOTE	3	0,0185 [†]
Viscosidad	TEMPERATURA (T)	3	< 0,0001 [†]
	TIEMPO (t)	1	< 0,0001 [†]
	T x t	3	< 0,0001 [†]
	LOTE	3	< 0,0001 [†]
L*	TEMPERATURA (T)	3	< 0,0001 [†]
	TIEMPO (t)	1	< 0,0001 [†]
	T x t	3	< 0,0001 [†]
	LOTE	3	0,0009 [†]
b*	TEMPERATURA (T)	3	< 0,0001 [†]
	TIEMPO (t)	1	< 0,0001 [†]
	T x t	3	< 0,0001 [†]
	LOTE	3	< 0,0001 [†]

PARÁMETRO	EFEECTO	GRADOS DE LIBERTAD	Probabilidad asociada Prob > F
a*	TEMPERATURA (T)	3	< 0,0001 [†]
	TIEMPO (t)	1	< 0,0001 [†]
	T x t	3	< 0,0001 [†]
	LOTE	3	0,0216 [†]
c*	TEMPERATURA (T)	3	< 0,0001 [†]
	TIEMPO (t)	1	< 0,0001 [†]
	T x t	3	< 0,0001 [†]
	LOTE	3	< 0,0001 [†]
h°	TEMPERATURA (T)	3	< 0,0001 [†]
	TIEMPO (t)	1	< 0,0001 [†]
	T x t	3	< 0,0001 [†]
	LOTE	3	0,0042 [†]
Vitamina A	TIEMPO	1	0,0050 [†]
	LOTE	3	0,1654

[†]Efecto significativo: $p < 0,05$.

En el Cuadro 4.5 se muestran los promedios por lote de los parámetros evaluados. Hay diferencia del lote 4 para acidez, viscosidad, L* y c*, con respecto a los otros tres lotes evaluados, y para pH, a*, b* y h° con respecto al lote 1. Las diferencias entre lotes son comunes en los estudios de alimentos y es importante haber tomado en cuenta este efecto en el diseño experimental.

Cuadro 4.5. Promedios de los parámetros en los distintos lotes de muestras evaluados y resultado de la prueba de comparación de medias de Tukey.

PARÁMETRO	LOTE	PROMEDIO (1)	PARÁMETRO	LOTE	PROMEDIO (1)
Acidez	2	0,16960574 ^A	pH	4	6,6228777 ^A
	3	0,16838170 ^A		1	6,5622242 ^{AB}
	1	0,16712700 ^A		3	6,4914971 ^{AB}
	4	0,16043729 ^B		2	6,1622308 ^B
Viscosidad	3	2,0992533 ^A	L*	1	87,435496 ^A
	1	2,0902449 ^A		2	87,111604 ^A
	2	2,0772959 ^A		3	87,099468 ^A
	4	1,8926348 ^B		4	86,288305 ^B

PARÁMETRO	LOTE	PROMEDIO (1)	PARÁMETRO	LOTE	PROMEDIO (1)
b*	1	14,847413 ^A	a*	1	-2,300217 ^A
	3	14,824605 ^A		2	-2,687431 ^{AB}
	2	14,368083 ^{AB}		3	-2,758317 ^{AB}
	4	13,850031 ^B		4	-3,142128 ^B
c*	3	15,448698 ^A	h°	4	105,71580 ^A
	1	15,344773 ^A		2	103,78273 ^{AB}
	2	15,047911 ^A		3	103,46771 ^{AB}
	4	14,554249 ^B		1	101,15003 ^B

(1) Para un mismo parámetro, diferentes letras indican que los promedios son estadísticamente diferentes.

4.2.3. VITAMINA A

En muchos países, la materia grasa de la leche disponible en el comercio es removida en parte o en su totalidad para producir leches parcial o totalmente descremadas. Las vitaminas liposolubles, tales como la A y D, se pierden al remover la materia grasa, pero pueden ser restauradas a través del enriquecimiento. La fortificación de la leche líquida con vitaminas A y/o D es obligatoria en varios países (DSM, s.f.). En Costa Rica según el Reglamento para el enriquecimiento de la leche de ganado vacuno (La Gaceta No. 131, 2001), la especificación de vitamina A para la leche es de 180 µg en la porción de 250 mL.

Como puede observarse en la Figura 4.2, hay mucha variabilidad en los valores iniciales de vitamina A; además, los valores tienden a disminuir lentamente con el tiempo como es esperado. El análisis de varianza indica que no hay diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los cuatro lotes evaluados. En el periodo de tiempo entre los 200 y 500 días hay pocos resultados de análisis debido a que no fueron determinados por una falla en la columna del cromatógrafo. Las muestras de ese tiempo fueron almacenadas a temperatura ambiente (aproximadamente 24 °C) y analizadas posteriormente.

La recta de mejor ajuste tiene una pendiente negativa y un intercepto de 234,13. Lo cual indica disminución en el contenido de vitamina A y un valor promedio inicial de 234 µg / 250 mL. El coeficiente de determinación (R^2) es muy bajo (0,162) y alejado del ideal 1,000 para un comportamiento lineal perfecto. La vida útil declarada del producto es de 240 días (8 meses) y el análisis se prolongó hasta los 600 días (20 meses), un año después de su fecha de vencimiento.

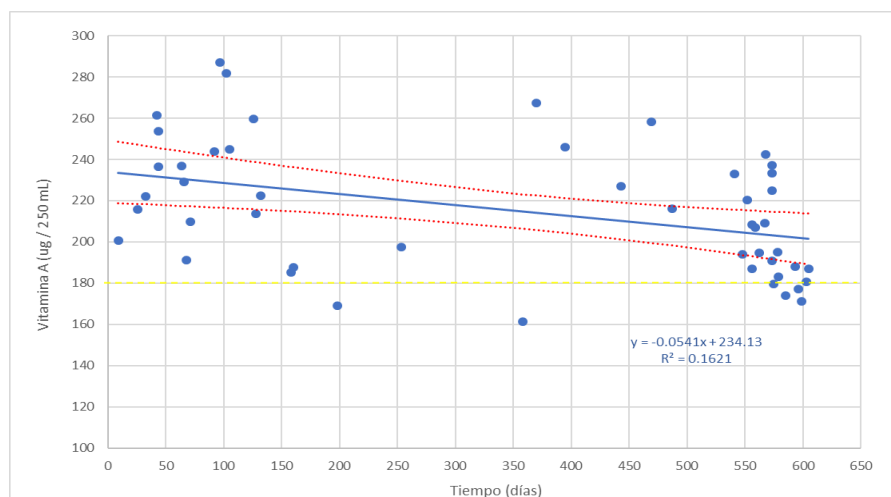


Figura 4.2. Comportamiento de la vitamina A en leche UHT a una temperatura de almacenamiento de 24 °C.

El gráfico puede dividirse en dos partes, dado que hubo un tiempo de 100 días sin análisis (del día 253 al 358). Del tiempo cero a los 253 días (8,4 meses) los resultados obtenidos están por arriba del valor de la especificación, tiempo de evaluación propuesto en los objetivos, con excepción de un punto (198 días, 161 µg). En el siguiente lapso evaluado (del día 358 al 605, 20,2 meses en total) los resultados están por arriba de la especificación (180 µg vitamina A / 250 mL), con tres excepciones a (585, 596 y 599) días, (174, 177 y 171) µg vit. A, respectivamente.

La vitamina A es añadida en el proceso como parte de una premezcla junto con hierro y ácido fólico, siendo protegida de la oxidación con vitamina E (DL-alfatocoferol). Además, la vitamina A es liposoluble, por lo que la grasa de la leche (2 %) la mantiene disuelta y protegida. Esto justifica el comportamiento de la vitamina A en el tiempo.

Los nutrientes presentes en forma natural o agregados a la leche líquida son bastante estables durante el procesamiento. La mayoría de las vitaminas y de los minerales presentan una retención de entre 70 % y 100 % después de un único tratamiento térmico industrial común. Sin embargo, la repetición de los tratamientos con calor puede producir una pérdida considerable (DSM, s.f.). Normalmente, se añade un exceso de premezcla para prevenir las pérdidas por los procesos térmicos por los que pasa la leche (pasteurización y ultrapasteurización). Para compensar estas pérdidas durante el tratamiento térmico y el almacenamiento de la leche, se recomienda una sobredosis del 70 % en leche UHT semidescremada (DSM^b, s.f.).

Cada lote de producción analizado es distinto en su contenido inicial de vitamina A, a pesar de que por formulación deberían ser iguales. Las variaciones entre lotes de vitamina A pueden deberse a varios factores, en dos direcciones: proceso industrial y método de análisis. Con respecto al proceso, las variaciones se pueden deber a: - la cantidad de premezcla añadida al volumen final de leche en el tanque, - incertidumbre en el peso de la premezcla, - poca homogeneidad de la premezcla en sus componentes, - pérdidas debidas al tratamiento térmico que dependen del ultrapasteurizador utilizado, - momento del proceso donde es añadida la premezcla, - disolución incompleta de la premezcla, - variaciones en el flujo de adición de la premezcla concentrada, entre otras. Con respecto a la metodología de análisis: - complejidad del método, como en el análisis de la mayoría de las vitaminas, - pérdidas en la preparación de la muestra, - variaciones en la preparación de estándares para la curva de calibración.

4.2.4. ACIDEZ

Lo que habitualmente se denomina acidez de la leche involucra la acidez actual y la potencial. La acidez actual representa los grupos H^+ libres, mientras que la acidez potencial incluye todos aquellos componentes de la leche que, por medio de la titulación, liberan grupos H^+ al medio. Para su determinación se agrega a la leche el volumen necesario de una disolución alcalina valorada (NaOH) hasta alcanzar el pH donde cambia el color de un indicador, generalmente fenolftaleína, que cambia de incoloro a rosado a pH 8,3 (Singh *et al.*, 1997).

La acidez titulable incluye la acidez natural de la leche y también la desarrollada. La acidez titulable o de valoración es la suma de cuatro reacciones. Las tres primeras representan la acidez natural de la leche: - acidez debida a la caseína: representa 2/5 de la acidez natural, - acidez debida a sustancias minerales y a los indicios de ácidos orgánicos: también 2/5 de la acidez natural, - reacciones secundarias debidas a los fosfatos "over run": 1/5 de la acidez natural. La acidez desarrollada es debida al ácido láctico y a otros ácidos procedentes de la degradación microbiana de la lactosa y, eventualmente, de los lípidos, en leches en vías de alteración. Como se ha descrito, la acidez titulable constituye una medida de la concentración de proteínas y de fosfatos en leches de buena calidad (Negri, 2005).

Si bien la medición de la acidez de la leche es muy sencilla, puede haber cierta imprecisión debida a: - la cantidad de indicador utilizado (debe utilizarse siempre 4 gotas), y - el punto final de la titulación, que no es claro porque depende de la agudeza visual del operador (Negri, 2005).

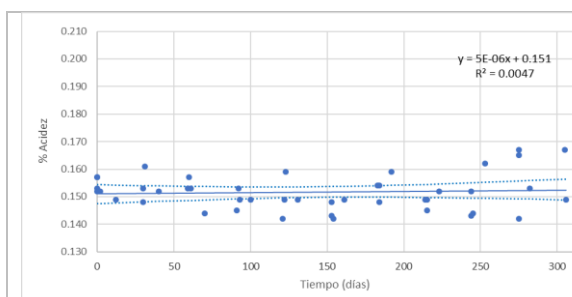


Figura 4.3. Comportamiento del % acidez a temperatura de almacenamiento de 4 °C.

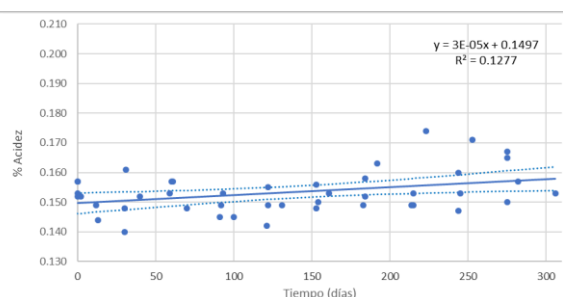


Figura 4.4. Comportamiento del % acidez a temperatura de almacenamiento de 24 °C.

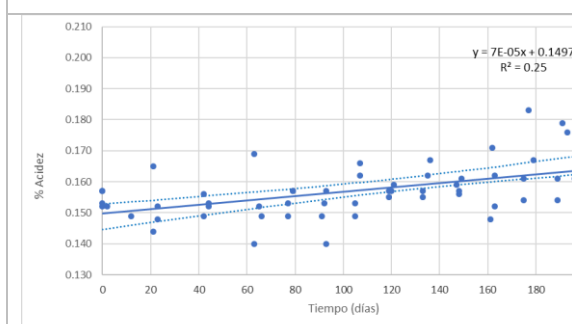


Figura 4.5. Comportamiento del % acidez a temperatura de almacenamiento de 32°C.

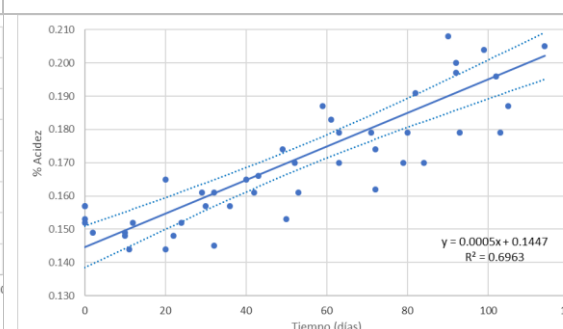


Figura 4.6 Comportamiento del % acidez a temperatura de almacenamiento de 40 °C.

La especificación del fabricante para % (peso/peso) de acidez titulable en leche UHT es de 0,130 a 0,165, expresado como ácido láctico. El Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.73:17 “Leche Ultra Alta Temperatura (UAT o UHT). Especificaciones” (La Gaceta 234, 2018), hace una indicación del porcentaje de acidez de 0,13 a 0,17, ligeramente superior a la considerada. En el Anexo A, Cuadro A.1, se tabulan los parámetros de las curvas de acidez por temperatura y lote obtenidos. Los valores de pendiente de las rectas están muy cercanos a cero, esto quiere decir que las rectas son muy horizontales. El intercepto es pequeño y los valores de R^2 son bajos pero aumentan a mayor temperatura. A 4 °C y 24 °C la acidez, en general, se mantiene dentro de los límites de la especificación, como se puede observar en las Figuras 4.3. y 4.4. A 32 °C los valores aumentan con el tiempo y algunos de los valores llegan a sobrepasar el límite superior de la especificación (0,165 %) (Figura 4.5).

Los mayores valores de acidez final se alcanzan, claro está, a la mayor temperatura (40 °C). Como se observa en la Figura 4.6., a partir de los 50 días se pasa el límite superior de la acidez y ésta empieza a crecer rápidamente. Este aumento de la acidez titulable se debe a la degradación de la lactosa a ácido láctico y eventualmente a la hidrólisis de los lípidos, como se explicó anteriormente.

4.2.5. pH

En el Anexo A, Cuadro A.2, se observa los parámetros de las rectas de mejor ajuste de los resultados de pH obtenidos para los 4 lotes a las 4 temperaturas evaluadas. A 4 °C y 24 °C el pH se mantiene dentro de los límites de la especificación (Figuras 4.7 y 4.8). A 32 °C y 40 °C los valores de pH con el tiempo llegan a ser menores de 6,4 (límite inferior). En la Figura 4.9 se observan unos pocos valores cercanos a 6,4 a 190 días (6,3 meses) de almacenamiento a 32 °C, pero a 40 °C (Figura 4.10) se presentan una gran cantidad de puntos por debajo de 6,4 a partir de los 42 días (1,4 meses) de almacenamiento.

El pH es una medida relacionada con la acidez, lo que se confirma con su comportamiento durante el almacenamiento; sin embargo, pH y acidez no miden lo mismo. Aunque por su naturaleza, al aumentar la acidez disminuye el pH, el coeficiente de determinación obtenido en cada caso no es el mismo. Sin embargo, en ambos casos los coeficientes de determinación “ r^2 ” obtenidos fueron bajos pero aumentaron a mayor temperatura; esto es, a la temperatura de 40 °C el comportamiento se ajustó mejor a un comportamiento lineal que a temperaturas menores.

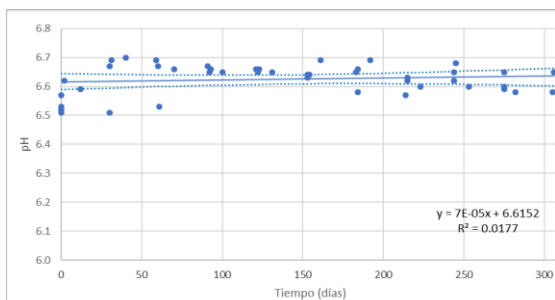


Figura 4.7. Comportamiento del pH a una temperatura de almacenamiento de 4 °C.

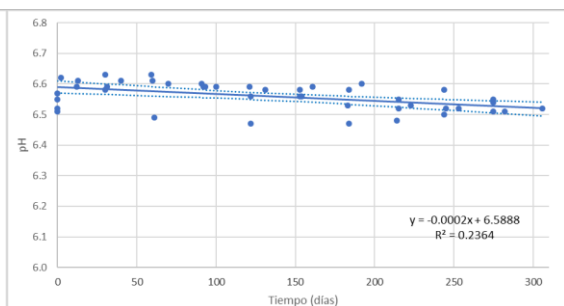


Figura 4.8. Comportamiento del pH a una temperatura de almacenamiento de 24 °C.

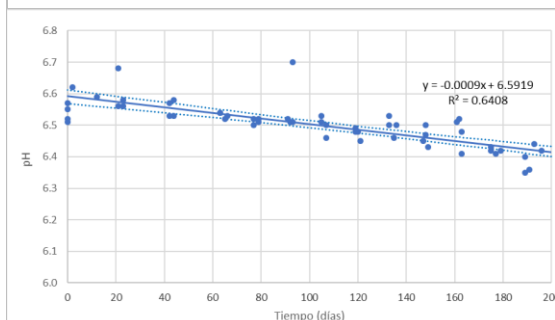


Figura 4.9. Comportamiento del pH a una temperatura de almacenamiento de 32 °C.

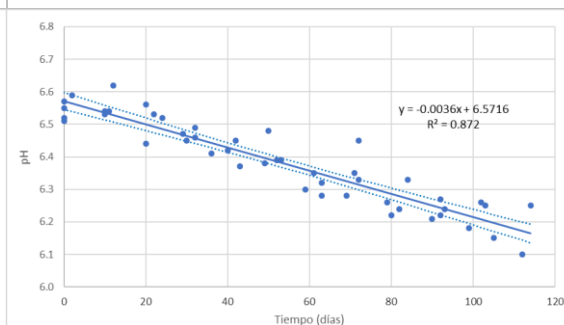


Figura 4.10. Comportamiento del pH a una temperatura de almacenamiento de 40 °C.

La especificación técnica de pH para la leche semidescremada UHT es 6,4 a 6,8. La leche es ligeramente ácida, presentando comúnmente un pH entre 6,5 y 6,8 como consecuencia de la presencia de caseínas y aniones fosfórico y cítrico, principalmente (Fox & McSweeney, 1998). Además, el equilibrio ácido - base en la leche es influenciado por las operaciones de procesamiento. De esta manera, la pasteurización causa algunos cambios en el pH debido a la pérdida de CO₂ y a la precipitación de fosfato de calcio. Tratamientos térmicos severos (superiores a 100 °C) como el UHT, producen una disminución del pH debido a la degradación de la lactosa a varios ácidos orgánicos, especialmente a ácido fórmico. La concentración de la leche por evaporación de agua también causa una disminución en el pH cuando la solubilidad del fosfato de calcio es excedida, resultando en una mayor formación de fosfato de calcio coloidal (Fox & McSweeney, 1998).

4.2.6. VISCOSIDAD

Como se observa en las Figuras 4.11 a 4.14, la viscosidad tendió a disminuir durante el almacenamiento, a la mayoría de las temperaturas utilizadas, y ese efecto es más pronunciado al aumentar la temperatura de almacenamiento. En el Anexo A, Cuadro A.3 se muestran los valores de pendiente, intercepto y R² para cada una de las rectas de mejor ajuste de este parámetro.

Los resultados de viscosidad obtenidos en este estudio se mantienen entre 1,5 cP y 3,1 cP, independientemente del lote y la temperatura de almacenamiento. Lo cual cumple con lo reportado en la literatura de que la viscosidad en la leche es menor de 5 cP, incluso a temperaturas de 40 °C.

A temperatura de 4 °C, conforme pasa el tiempo de almacenamiento, se observa un leve aumento de la viscosidad (ver Figura 4.11), con un valor promedio 2,20 cP. A temperatura ambiente (Figura 4.12), prácticamente la viscosidad se mantiene constante incluso hasta los 200 días de almacenamiento, con un valor promedio de 2,05 cP.

En la Figura 4.13 se muestra el comportamiento de la viscosidad a 32 °C, a la cual tiende a disminuir al avanzar el tiempo, mostrando un promedio de 2,03 cP. Finalmente, a 40 °C la pendiente negativa es más pronunciada, y su valor promedio es de 2,01 cP. Se concluye que la viscosidad es una medición que no cambia suficientemente de forma que pueda utilizarse como un parámetro de indicación para la vida útil de la leche.

La viscosidad de un líquido es su resistencia para fluir debida a la fricción entre las partículas que la componen. En la leche, la viscosidad es función de sus partículas y de la temperatura. La leche es más viscosa (1,6 a 2,2 cP a 20 °C) que el agua (1 cP a 20 °C), ello se debe al contenido de grasa en emulsión

y a las proteínas que contiene en su fase coloidal, mientras que las sustancias disueltas (como la lactosa y las sales) influyen solo en pequeña parte (Amiot, 1991).

El tamaño y número de glóbulos grasos también afecta la viscosidad. La homogenización aumenta la viscosidad de la leche; esto por la adsorción a la superficie de los glóbulos. Cuando un glóbulo de grasa de 8 μm se divide en glóbulos de 1 μm , la superficie globular aumenta; y las posibilidades de adsorción superficial aumentan considerablemente el volumen de partículas en suspensión. La viscosidad de la leche y sus productos es un dato importante en ingeniería para el cálculo de las bombas que se requieren en el proceso, pero también es importante en la comercialización, dado que el consumidor relaciona la viscosidad con el contenido graso de la leche (Alais, 2003).

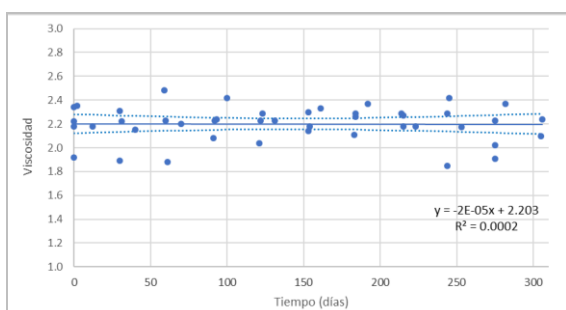


Figura 4.11. Comportamiento de la viscosidad a temperatura de almacenamiento de 4 °C.

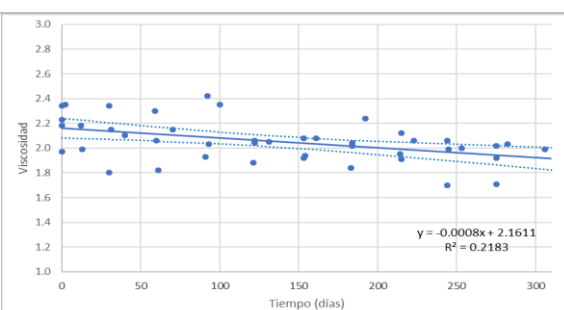


Figura 4.12. Comportamiento de la viscosidad a temperatura de almacenamiento de 24 °C.

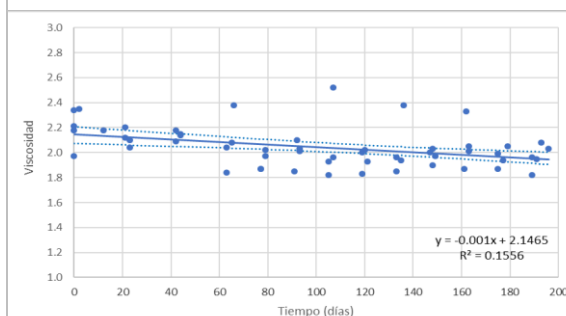


Figura 4.13. Comportamiento de la viscosidad a temperatura de almacenamiento de 32 °C.

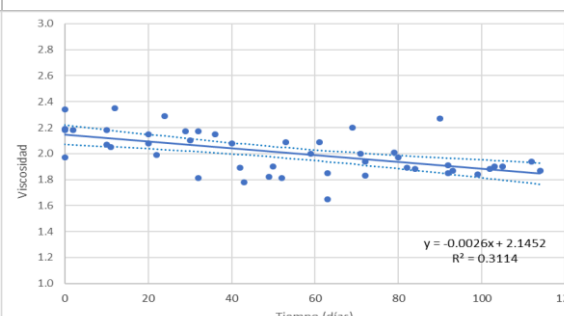


Figura 4.14. Comportamiento de la viscosidad a temperatura de almacenamiento de 40 °C.

La proteólisis en el almacenamiento es un factor importante que limita la vida útil de la leche UHT por los cambios de sabor y viscosidad. Esta última se caracteriza por aumentos que conducen en algunos casos a la formación de gel (Datta & Deeth, 2003). Las enzimas responsables de la proteólisis son la proteinasa alcalina de la leche, la plasmina y las proteinasas bacterianas extracelulares

termoestables, producidas por contaminantes bacterianos psicrotróficos en la leche antes del procesamiento térmico. Estas proteinasas reaccionan de manera diferente con las proteínas de la leche y producen diferentes péptidos en la leche UHT (Datta & Deeth, 2003). Dado que los valores de viscosidad se mantuvieron casi invariables y en el análisis sensorial no hubo cambios detectados de sabor, podría decirse que no se dieron las condiciones requeridas para que se produjera una proteólisis importante (Datta & Deeth, 2003).

4.2.7. COLOR

En las Figuras 4.15 a 4.26 se grafican los valores L^* , b^* , a^* , c^* y h^0 obtenidos en este estudio para la variable color en las cuatro temperaturas de almacenamiento. El color en la leche es una característica que no se encuentra en las regulaciones gubernamentales; tal es el caso del Reglamento Técnico Centroamericano Leche pasteurizada RTCA 67.04.66:12, Reglamento Técnico RTCR: 401-2006 Leche cruda y Leche Higienizada, Codex Alimentarius, Regulaciones del FDA, Regulación Europea, Regulación de la Unión Aduanera Centroamericana ni en el MercoSur.

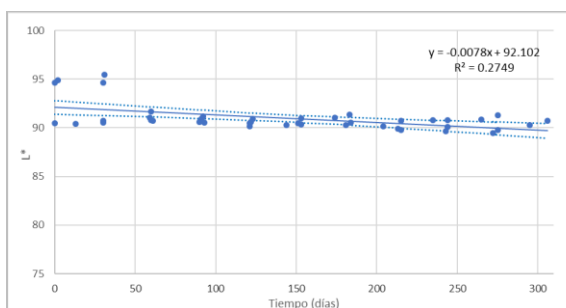


Figura 4.15. Comportamiento de L^* a una temperatura de almacenamiento de 4 °C.

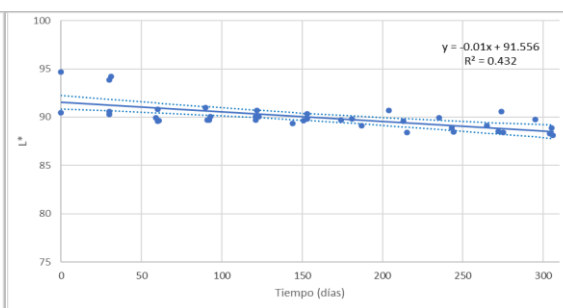


Figura 4.16. Comportamiento de L^* a una temperatura de almacenamiento de 24 °C.

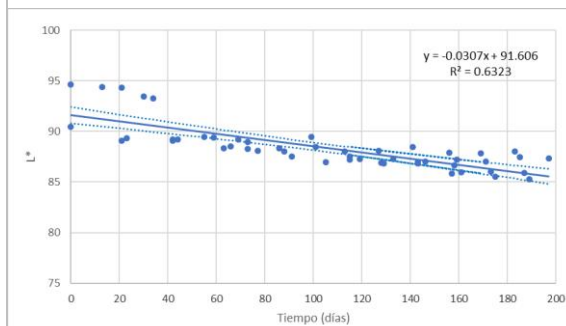


Figura 4.17. Comportamiento de L^* a una temperatura de almacenamiento de 32 °C.

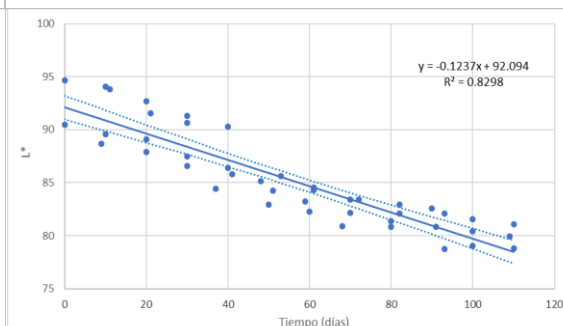


Figura 4.18. Comportamiento de L^* a una temperatura de almacenamiento de 40 °C.

La vitamina A y los β -carotenos que se encuentran en la grasa de la leche le brindan la posibilidad de presentar una amplia gama de colores que van del blanco crema al amarillo. Los carotenos son el principal pigmento en la leche (Ramírez, 2010). Los animales no sintetizan los carotenos, los absorben del material vegetal de su dieta. El ganado bovino transfiere los carotenos al tejido adiposo y a la leche (Ramírez, 2010).

El tamaño del glóbulo de grasa también influye en el color de la leche, ya que los glóbulos generan un efecto de dispersión de la luz (Ramírez, 2010). Lo mismo sucede con las micelas de caseína y fosfato de calcio coloidal. Mientras menor sea el tamaño de los glóbulos de grasa, mayor será el color blanco de la leche. Por esto, la homogenización aumenta el color blanco de la leche, de ahí que, al ser obtenida en el ordeño (leche cruda), es blanca amarillenta y luego de homogeneizada es blanca (Ramírez, 2010).

El factor L^* de color es la luminosidad de la leche, la cual va disminuyendo con el tiempo en todas las temperaturas de almacenamiento, por lo que se ve menos blanca. Como se aprecia en la Figura 4.15, a 4 °C la luminosidad de la leche se mantiene en L^* mayor de 90 los primeros 200 días. Para la temperatura de 24 °C a menos de 50 días de almacenamiento (Figura 4.16), el valor L^* disminuye de 90. En las otras dos temperaturas el comportamiento es más pronunciado. A 32 °C, L^* baja a valores cercanos a 85 en los 200 días de almacenamiento (Figura 4.17). A 40 °C se nota que la luminosidad desciende abruptamente durante el tiempo de almacenamiento, lo que se evidencia visualmente en un oscurecimiento de la leche. En la Figura 4.18 se puede observar como a los 100 días de almacenamiento a 40 °C, el parámetro L^* es cercano a un valor de 80 y continúa bajando.

El valor a^* representa la intensidad del color verde (-a) al rojo (+a), y tuvo un comportamiento errático (Figuras 4.19 a 4.22). A temperaturas de almacenamiento 4 °C y 24 °C, a^* disminuyó en los primeros 50 días, luego aumentó hasta los 120 días y se mantuvo constante el resto del tiempo. A 32 °C y 40 °C, el comportamiento inicial es de aumento y disminución de a^* en los primeros 50 días para algunos de los lotes, seguido de una tendencia al aumento el resto del tiempo de almacenamiento, lo cual fue la tendencia general en estas dos temperaturas, aunque con un valor bajo de R^2 a 32 °C.

Un valor negativo de a^* indica un mayor componente de color verde en la definición del color inicial de la leche y durante el almacenamiento para la mayoría de las temperaturas evaluadas. Sin embargo, en la Figura 4.22 se muestra cómo el valor de a^* aumenta a 40 °C hasta alcanzar valores positivos, indicando mayor presencia de rojo en el color final de la leche; lo que se manifiesta como un color “cafesuzco”.

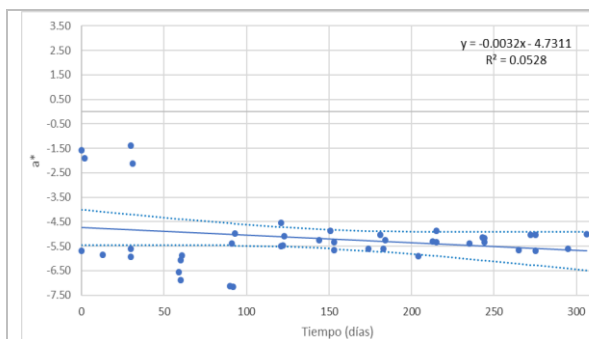


Figura 4.19. Comportamiento de a^* a una temperatura de almacenamiento de 4 °C.

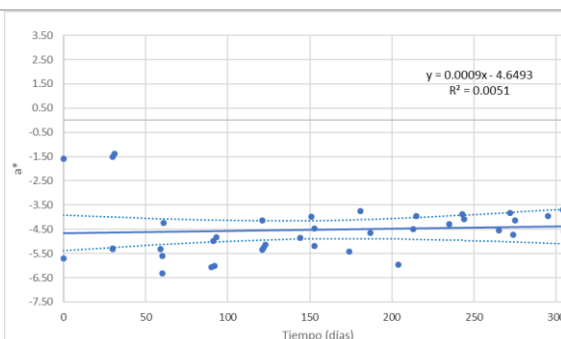


Figura 4.20. Comportamiento de a^* a una temperatura de almacenamiento de 24 °C.

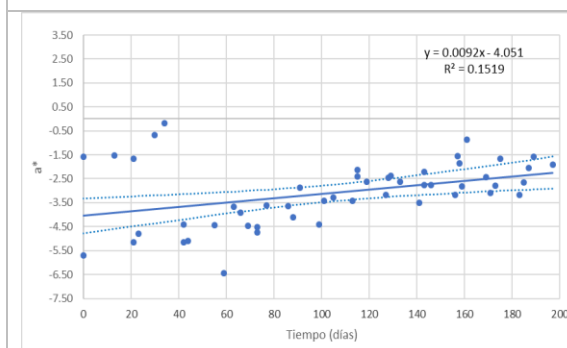


Figura 4.21. Comportamiento de a^* a una temperatura de almacenamiento de 32 °C.

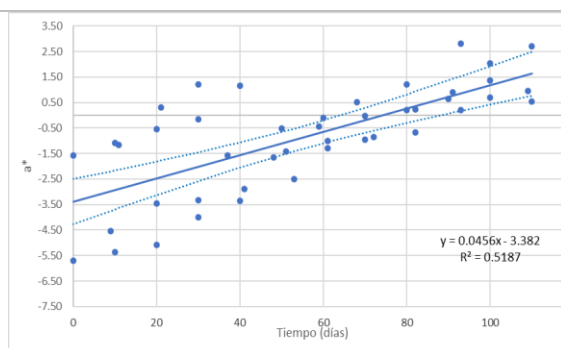


Figura 4.22. Comportamiento de a^* a una temperatura de almacenamiento de 40 °C.

El pardeamiento de la leche durante el almacenamiento se debe a la reacción entre el grupo aldehído de la lactosa y el grupo amino de las proteínas (reacción de Maillard). La reacción de Maillard disminuye el valor nutritivo de las proteínas, ya que el grupo amino libre de la lisina está directamente implicado en la reacción (Alais, 2003).

El valor b^* define la intensidad de color amarillo ($+b^*$) a azul ($-b^*$). En las Figuras 4.23 a 4.24 se puede observar valores de b^* positivos durante todo el almacenamiento, indicando una importante participación del amarillo en el color de la leche. El valor de b^* se mantiene en el tiempo a 4 °C y 24 °C, pero a temperaturas mayores aumenta durante el almacenamiento (Figuras 4.25 y 4.26). Esto indica que, con el incremento de la temperatura, aumenta el componente de amarillo en la leche. Éste es un comportamiento similar al que sucede con a^* , lo que implica que, a temperatura de 40 °C, el color café que se observa está explicado por mayores valores de intensidad de rojo y amarillo.

El espacio de color CIELch, derivado del CIELab, es preferido por algunos profesionales de las industrias porque su sistema se correlaciona bien con la forma en que el ser humano percibe el color. Tiene el mismo diagrama que el espacio de color $L^*a^*b^*$ pero usa coordenadas cilíndricas en vez de

usar coordenadas rectangulares. En este espacio de color, L^* indica luminosidad, c^* representa croma o saturación, y h° es el ángulo de matiz. El valor de color c^* es la distancia desde el eje de luminosidad (L^*) y comienza en 0 en el centro. El ángulo de matiz comienza en el eje $+a^*$ y es expresado en grados (e.j. 0° es $+a^*$ o rojo y 90° es $+b^*$ o amarillo). Los instrumentos de medición de color facilitan la cuantificación de estos valores. Ellos determinan el color de un objeto dentro del espacio de color y muestran los valores para cada coordenada L^* , c^* y h° (Minolta, 2018).

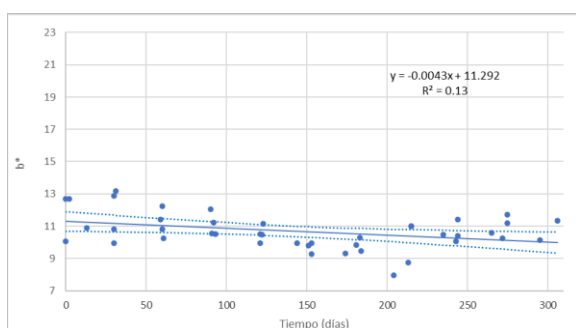


Figura 4.23. Comportamiento de b^* a una temperatura de almacenamiento de 4°C .

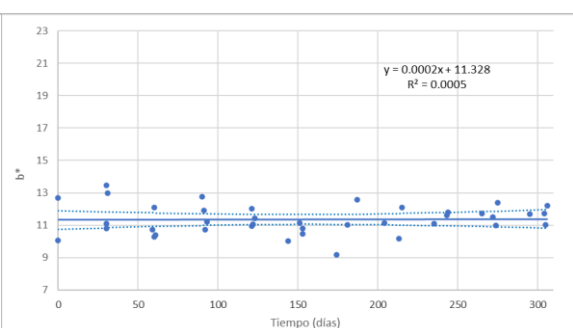


Figura 4.24. Comportamiento de b^* a una temperatura de almacenamiento de 24°C .

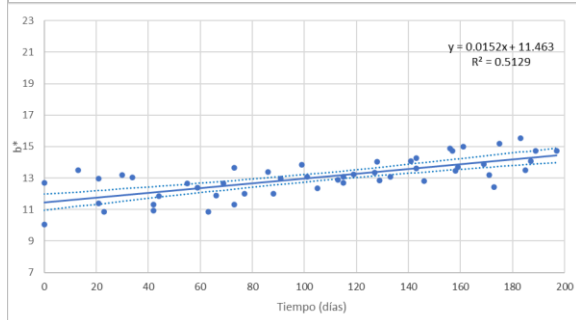


Figura 4.25. Comportamiento de b^* a una temperatura de almacenamiento de 32°C .

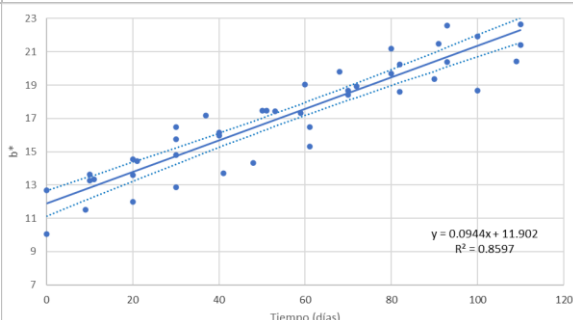


Figura 4.26. Comportamiento de b^* a una temperatura de almacenamiento de 40°C .

En las Figuras 4.27 a 4.30 se muestra el comportamiento mostrado para c^* de la leche al 2 % de grasa almacenada a diferentes temperaturas. Conforme aumenta la temperatura de almacenamiento, la pendiente de la recta de mejor ajuste también aumenta en valores absolutos, pasa de $-0,0034$ a $0,0893$, indicando un mayor aumento de este parámetro con la elevación de la temperatura. Además, a 40°C el valor de c^* aumenta a mayor velocidad, desde valores cercanos a 11, hasta valores de 23.

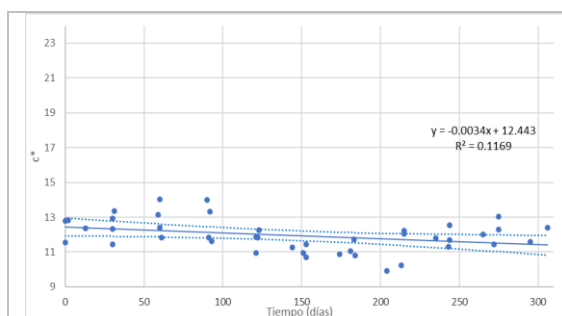


Figura 4.27. Comportamiento de c^* a una temperatura de almacenamiento de 4 °C.

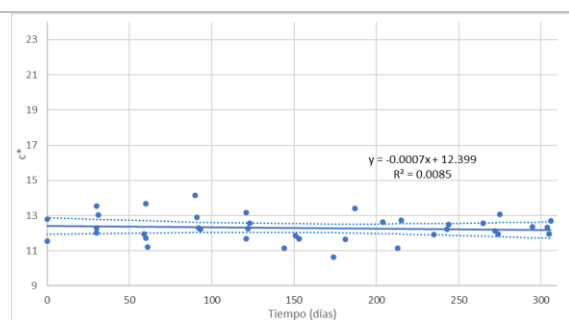


Figura 4.28. Comportamiento de c^* a una temperatura de almacenamiento de 24 °C.

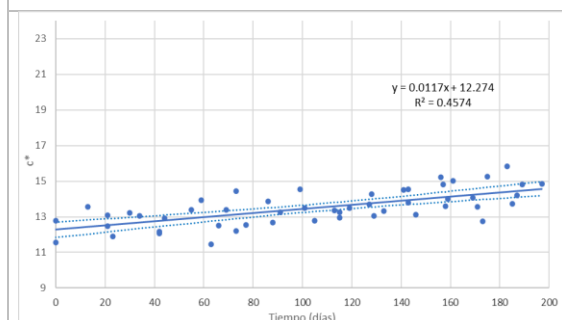


Figura 4.29. Comportamiento de c^* a una temperatura de almacenamiento de 32 °C.

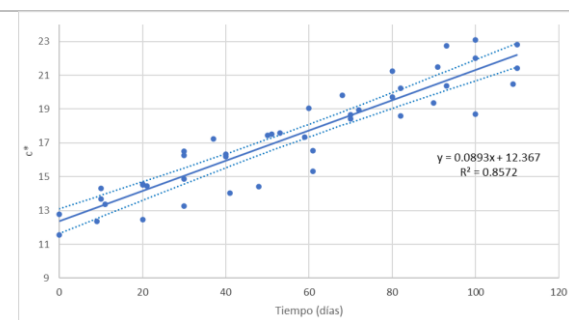


Figura 4.30. Comportamiento de c^* a una temperatura de almacenamiento de 40 °C.

El comportamiento de h° se muestra en las Figuras 4.31 a 4.34. En las rectas de mejor ajuste el valor de la pendiente pasa de ser positiva a 4 °C a valores negativos para las otras tres temperaturas. Durante el almacenamiento a 40 °C, el tono pasa desde valores entre 95° y 120° hasta valores alrededor de 85°, lo que implica un cambio en la coloración desde amarillo verdoso hasta amarillo naranja.

Según Álvarez (2012), los valores de color medidos para leche son $L^* = 90$, $a^* = 2$ y $b^* = 11,2$. Si se comparan con el rango de valores obtenidos a 4 °C y 24 °C, esos resultados están dentro de los obtenidos en este estudio. Tal es, L^* de 96 a 89, a^* entre -1 y -6 y b^* entre 10 y 14, al tiempo cero; sin embargo, la variabilidad de L^* , a^* y b^* es alta en leche proveniente de una misma especie animal.

En el Cuadro 4.4 se presentan los valores de los parámetros de color reportados por varios autores. Los valores de L^* , a^* y b^* son similares entre sí; sin embargo, es evidente que la cantidad de grasa afecta el color de la leche, generando valores mayores de b^* . Además, los valores de L^* son muy bajos en comparación con los obtenidos en el presente estudio, aún luego de 300 días de almacenamiento a 24 °C (ver Figura 4.16); lo cual indica que la leche es más luminosa que la leche de los estudios mencionados.

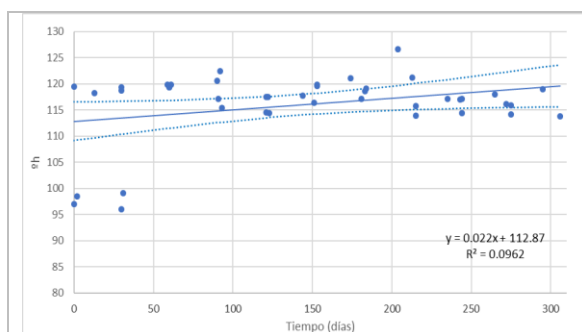


Figura 4.31. Comportamiento de h° a una temperatura de almacenamiento de 4 °C.

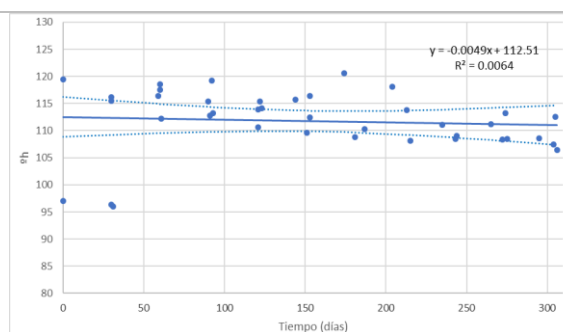


Figura 4.32. Comportamiento de h° a una temperatura de almacenamiento de 24 °C.

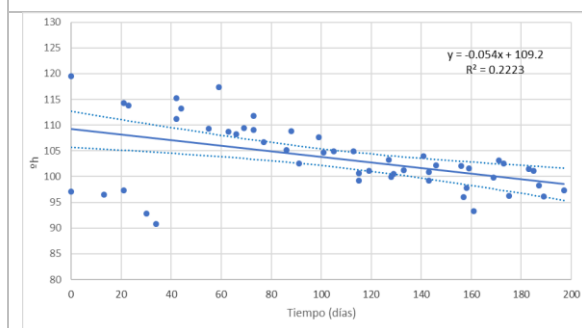


Figura 4.33. Comportamiento de h° por lote a T de almacenamiento de 32 °C.

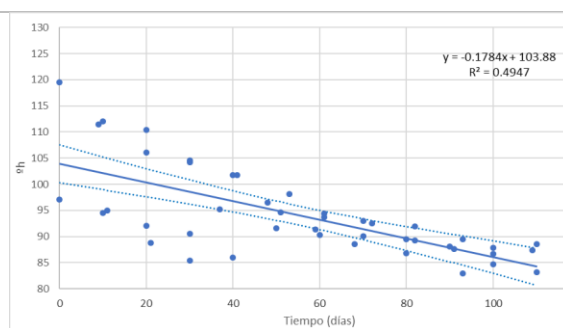


Figura 4.34. Comportamiento de h° a una temperatura de almacenamiento de 40 °C.

En el caso del estudio de Scarso y colaboradores (2017), reportan valores de L^* , a^* y b^* de leche de 590 vacas y mencionan que varios factores pueden afectar los parámetros de color, como la raza, la etapa de lactancia, la paridad, el tiempo de ordeño, el estado de salud de la ubre, el pastoreo, la alimentación y el parto estacional.

El color de la leche es una de las propiedades sensoriales que pueden influir en la elección del consumidor de un producto sobre otro e influye en la calidad de los productos lácteos procesados. Scarso y colaboradores (2017) en su estudio sugieren que se podrían implementar estrategias para mejorar los rasgos del color de la leche en las poblaciones de ganado lechero. Tales estrategias, junto con el conocimiento de la variación de las características del color de la leche debido a factores no genéticos, pueden representar una herramienta que los procesadores pueden utilizar durante la fabricación de determinados productos lácteos.

Cuadro 4.6. Valores de L*, a* y b* de distintos tipos de leche por diferentes investigaciones.

Leche	% Grasa	Temperatura	Fuente	L*	a*	b*
Leche de 590 vacas	4,6	N.D.	Scarso <i>et al.</i> (2017)	81,60	-3,88	8,04
Entera	4,5	24 °C	Álvarez (2012)	90,31	-2,20	11,24
Semidescremada	2	20 °C	Cheng <i>et al.</i> (2017)	85,51	-0,53	3,84
Descremada	0	24 °C	Álvarez (2012)	84,54	-6,17	3,86

4.3. DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL

Para la determinación de la vida útil se utilizan los parámetros de acidez, pH y la variable L* del color, los cuales tuvieron un cambio estadísticamente significativo durante el estudio, a todas las temperaturas evaluadas. Para el valor de corte de la acidez y del pH se utilizan los valores límite de la especificación, 0,165 % y 6,40, respectivamente.

En el caso de la variable L* de la medición de color, no se dispone de un valor de corte por especificación ni por alguna norma o reglamento nacional o internacional, ni derivado del panel sensorial realizado. Así que se utilizó el valor arbitrario de 86, que es el valor al que a los 50 días a 40 °C empieza a notarse un cambio de color en la leche y, además, es el valor que se mantiene después de 150 días (5 meses) de almacenamiento a 32 °C; también es un valor que no se alcanzó a 4 °C ni a 24 °C en el tiempo que la leche estuvo almacenada. Adicionalmente, es un valor superior al reportado por la mayoría de las referencias incluidas en el Cuadro 4.6.

En los Cuadros 4.7 a 4.9 se observan los resultados de las rectas de mejor ajuste para L*, acidez y pH en función del tiempo, a todas las temperaturas y en todos los lotes. A partir de estas ecuaciones y, considerando los valores límite mencionados anteriormente, se estimaron los tiempos de vida útil de la leche de cada lote a cada temperatura. Estos datos se presentan en el Anexo C y están graficados sus logaritmos en función de la temperatura en las Figuras 4.35 a 4.37, conocidas como las gráficas de vida útil. Debido a que, en la mayoría de los casos, las rectas de mejor ajuste no fueron estadísticamente significativas a 4°C, esta temperatura no se utilizó en la determinación de la vida útil de la leche.

Cuadro 4.7. Parámetros de las rectas de mejor ajuste para la acidez por temperatura de almacenamiento y lote.

T (°C)	LOTE	INTERCEPTO	PENDIENTE	Prob> t
4	1	0,149706	0,000018	0,0849
	2	0,1526241	0,000009	0,6101
	3	0,1504376	0,000017	0,1200
	4	0,1482948	-0,0000005	0,9478
24	1	0,1489114	0,000051	0,0425*
	2	0,1524263	0,000016	0,1570
	3	0,1493646	0,000046	0,0015*
	4	0,1463824	0,000014	0,1586
32	1	0,1460056	0,000128	< 0,0001*
	2	0,1427612	0,000176	0,0019*
	3	0,1474311	0,000123	0,0004*
	4	0,1434352	0,000074	0,0004*
40	1	0,1491488	0,000337	0,0002*
	2	0,1529425	0,000439	0,0084*
	3	0,1390809	0,000629	< 0,0001*
	4	0,1250618	0,000695	< 0,0001*

Cuadro 4.8. Parámetros de las rectas de mejor ajuste para el pH por temperatura de almacenamiento y lote.

T (°C)	LOTE	INTERCEPTO	PENDIENTE	Prob> t
4	1	6,6399596	-0,000128	0,3324
	2	6,6410709	-0,000081	0,4721
	3	6,6371002	-0,000104	0,2029
	4	6,6146899	-0,000126	0,9478
24	1	6,5950837	-0,000237	0,0505
	2	6,5690655	-0,000183	0,0472*
	3	6,5878427	-0,000215	0,0076*
	4	6,5909142	-0,000201	0,0097*
32	1	6,5835788	-0,000797	0,0002*
	2	6,5669335	-0,00075	< 0,0001*
	3	6,6088222	-0,001187	< 0,0001*
	4	6,6007349	-0,000754	< 0,0001*

T (°C)	LOTE	INTERCEPTO	PENDIENTE	Prob> t
40	1	6,5601735	-0,003213	< 0,0001*
	2	6,5412644	-0,003604	< 0,0001*
	3	6,5852441	-0,003758	< 0,0001*
	4	6,5925718	-0,003274	< 0,0001*

Cuadro 4.9. Parámetros de las rectas de mejor ajuste para el parámetro L* del color por temperatura de almacenamiento y lote.

T (°C)	LOTE	INTERCEPTO	DIA	Prob> t
4	1	92,910241	-0,010702	0,0039*
	2	92,997812	-0,008382	0,0253*
	3	92,348922	-0,006151	0,0454*
	4	90,454710	0,000608	0,5354
24	1	93,018166	-0,017389	< 0,0001*
	2	91,961942	-0,007828	0,0115*
	3	91,459817	-0,005507	0,0279*
	4	90,166638	-0,005089	< 0,0001*
32	1	93,441952	-0,044239	< 0,0001*
	2	91,607960	-0,025337	< 0,0001*
	3	91,355893	-0,022377	0,0006*
	4	89,762876	-0,020025	< 0,0001*
40	1	94,648218	-0,138810	< 0,0001*
	2	93,056555	-0,140221	< 0,0001*
	3	90,308351	-0,097716	< 0,0001*
	4	89,541722	-0,081616	< 0,0001*

La vida útil del producto a cualquier temperatura dentro del ámbito evaluado se puede estimar a partir de la recta de mejor ajuste del gráfico de vida útil. Los valores de R^2 de las ecuaciones de mejor ajuste son 0,9708, 0,8208 y 0,9744, para L*, acidez y pH, respectivamente, los que se pueden considerar bastante altos. Sin embargo, se estimaron los límites inferior y superior de las rectas, porque dan una idea de la variabilidad de los datos, y debido a que con el límite inferior se puede realizar una estimación más conservadora (valores de la vida útil más bajos), lo que brinda un factor de seguridad extra el establecimiento de la vida útil del producto. Esto se realiza interpolando manualmente la temperatura

deseada en la curva del límite de confianza inferior. La vida útil estimada para 25 °C, 30 °C y 35 °C se muestran en el Cuadro 4.10 para cada parámetro elegido.

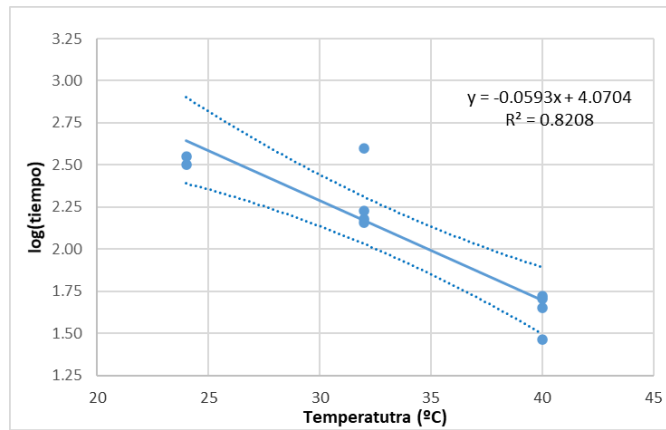


Figura 4.35. Gráfico de vida útil de la leche semidescremada UHT con base en % acidez.

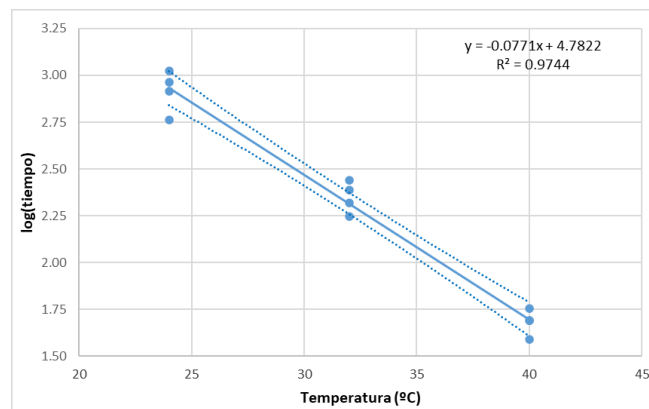


Figura 4.36. Gráfico de vida útil de la leche semidescremada UHT con base en el pH.

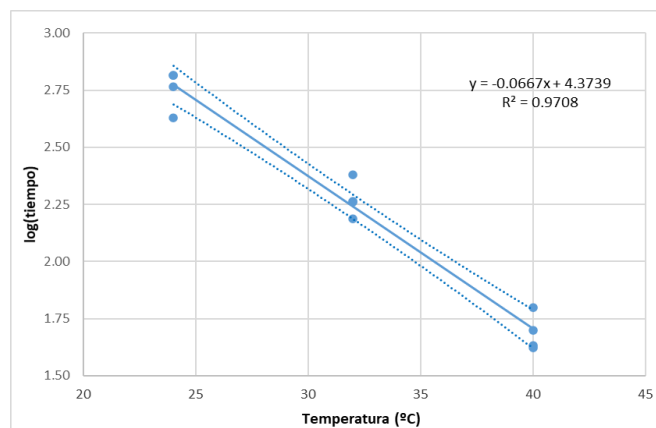


Figura 4.37. Gráfico de vida útil de la leche semidescremada UHT con base en L*.

Cuadro 4.10. Resultados de la interpolación de la vida útil obtenida a partir de las Figuras 4.35 a 4.37 para los tres parámetros evaluados.

T _{ALMACENA} MIENTO (°C)	TIEMPO DE VIDA ÚTIL					
	ACIDEZ		pH		L*	
	DIAS	MESES	DIAS	MESES	DIAS	MESES
25	224	7.5	603	20.1	427	14.2
30	141	4.7	251	8.4	204	6.8
35	71	2.4	100	3.3	93	3.1

Entre todos los parámetros evaluados, se debe utilizar la curva de acidez como base para establecer la vida útil de la leche ultrapasteurizada en presentación de 250 ml, debido a que los tiempos de vida útil son menores para este parámetro, permitiendo obtener un margen de seguridad mayor para evitar que ocurran cambios en la calidad del producto durante el almacenamiento.

Como se muestra en el Cuadro 4.10, la vida útil a 25 °C es 224 días (8 meses). La vida útil obtenida a 24 °C para la leche 2 % es de 251 días (8,4 meses) con base en los análisis del % acidez. Al comparar con el dato de especificación del producto (8 meses), éste resulta prácticamente idéntico al tiempo estimado en el presente estudio. Además, coincide con lo reportado en la literatura, de que la leche procesada a temperatura ultra - alta (UHT) tiene una vida útil de entre 6 y 9 meses a temperatura ambiente (Perkins, D'Arcy, Lisle, & Deeth, 2005).

En su estudio de vida útil acelerado para leche UHT, con 1,8 % de grasa, Lazar *et al.* (2015) utilizaron el contenido de hexanal como única característica a evaluar. El hexanal es el compuesto de degradación volátil más importante del mecanismo químico de rancidez oxidativa. Ellos reportan datos similares a los obtenidos en el presente trabajo, 217 días a 25 °C, 81 días a 35 °C y 35 días a 45 °C.

Richards *et al.* (2014) reportan una vida útil de la leche UHT 1,6 % grasa, envasada en botellas de polietileno de alta densidad, de 211 ± 7 días a 25 °C, 73 ± 3 días a 35 °C y 27 ± 1 días a 45 °C, datos también similares a los obtenidos en el presente estudio. Estos autores aplicaron una prueba de vida útil multivariada acelerada (MASLT, por sus siglas en inglés) que emplea los atributos sensoriales que muestran cambios a lo largo del tiempo, en este caso con los datos obtenidos de un panel capacitado (n = 11) que evaluó 18 atributos sensoriales.

4.3.1 VALOR DE Q_{10}

El valor de Q_{10} puede estimarse para cada parámetro a partir de la recta de mejor ajuste en el gráfico de log vida útil versus temperatura. El valor de Q_{10} se estima por rango de temperatura debido a que puede variar dependiendo de las temperaturas de medición. Los valores de Q_{10} se muestran en el cuadro 4.11, en el rango de temperatura estudiado. Un valor de 2,0 se obtiene para 24 °C y 6,7 a 32 °C, ambos con el parámetro de acidez. Esto indica claramente que al aumentar la temperatura el factor Q_{10} aumenta, lo que implica que la aceleración de la reacción de deterioro aumenta drásticamente al elevarse la temperatura. Este comportamiento también indica que Q_{10} depende del rango de temperatura evaluado y que puede ser diferente para un mismo producto, dependiendo del parámetro considerado.

Cuadro 4.11. Valores de Q_{10} obtenidos a partir de la estimación de vida útil de la leche 2 % grasa.

$T_{\text{ALMACENAMIENTO}}$ (°C)	Q_{10}		
	ACIDEZ	pH	L*
24 – 32	2,0	5,1	4,0
32 – 40	6,7	6,8	5,4

La suposición inicial para el cálculo de la frecuencia de medición fue, de un valor de Q_{10} de 2, el cual coincide con el obtenido para la variable acidez a temperatura ambiente. Sin embargo, los otros valores obtenidos para las otras variables (pH y L*) son muy altos en comparación. Incluso, al aumentar la temperatura solo 8 °C, los valores de Q_{10} aumentan considerablemente. Además, los resultados obtenidos son altos en comparación con lo reportado en las referencias bibliográficas.

Lazar *et al.* (2015), en su estudio de vida útil de leche UHT 1,8 % grasa, utilizó un valor Q_{10} de 2. Este valor se encuentra generalmente para los cambios inducidos enzimáticamente o la degradación de los pigmentos y sabores en los alimentos. Un promedio de los valores reportados por Richards *et al.* (2014) para leche semidescremada (1,6 %) UHT es Q_{10} de 2,8. En su estudio estos autores obtienen valores de 2,89 y 2,71 cuando las temperaturas de almacenamiento aumentaron de 25 °C a 35 °C y de 35 °C a 45 °C, respectivamente. Por lo tanto, la tasa de deterioro sensorial de la leche a 35 °C será 2,89 veces más rápida y la tasa a 45 °C será 7,83 veces más rápida que la tasa a 25 °C.

5. CONCLUSIONES

- La prueba de agrado no permitió establecer el tiempo de vida útil de la leche del estudio, debido a que no hubo una tendencia significativa a disminuir o aumentar el agrado en función del tiempo de almacenamiento de la leche por 6 meses a 32 °C.
- En el análisis de Vitamina A realizado a muestras almacenadas a temperatura ambiente (24 °C) se obtuvo una disminución leve con el tiempo. Todos los resultados de vitamina A antes de los 550 días (18,3 meses) de almacenamiento estuvieron por arriba de la especificación (al menos 180 µg / 250 mL).
- Se obtuvo un efecto significativo de la temperatura, el tiempo y el lote utilizado, en todos los parámetros evaluados en la leche UHT.
- Se obtuvo una interacción significativa entre la temperatura y el tiempo en todos los parámetros evaluados, lo que significa que el efecto del tiempo depende de la temperatura utilizada.
- La viscosidad de la leche tendió a disminuir con el tiempo; sin embargo, no puede utilizarse como un parámetro para establecer la vida útil, ya que todos los resultados se encuentran dentro de la especificación (< 5 cP).
- La acidez y el pH tuvieron resultados opuestos; mientras la acidez aumenta con el tiempo, el pH disminuye, a las temperaturas de 24 °C, 32 °C y 40 °C.
- Con respecto a los parámetros de color, L* y h⁰ tendieron a disminuir con el tiempo, mientras que a*, b* y c* tendieron a aumentar, efectos que fueron más evidente a las temperaturas más altas.
- Los cambios en las variables de color revelan disminución de la luminosidad y aumento de la saturación y matiz, resultando en oscurecimiento de la leche UHT 2 % de grasa durante el almacenamiento, que se reporta como efecto de la reacción de Maillard.

- La leche UHT con 2 % de grasa recién procesada presentó valores de luminosidad más altos que los encontrados en la literatura consultada.
- El aumento en la temperatura de almacenamiento de la leche semidescremada UHT produce un aumento acelerado en la acidez, una disminución rápida de pH y una variación en el color de la leche, principalmente una disminución en la variable L* (luminosidad). Estas tres variables pueden usarse para la determinación de la vida útil del producto, pues se observaron cambios significativos en el tiempo a las temperaturas de 24 °C, 32 °C y 40 °C.
- La vida útil obtenida a 24 °C para la leche UHT al 2 % de grasa en envase de 250 mL es de 251 días (8,4 meses) con base en el análisis del % acidez.

6. RECOMENDACIONES

- Se podría monitorear los valores de temperatura en bodegas de almacenamiento y durante el transporte del producto terminado para calcular una vida útil acorde con la temperatura real que va a sufrir la leche dependiendo también del destino final (nacional o internacional).
- Se puede considerar el uso de un contenedor refrigerado durante el transporte internacional para aumentar la vida útil del producto, aunque eso elevaría los costos sustancialmente.
- La cantidad de lisina (aminoácido esencial) no se determinó en este estudio; sin embargo, se recomienda corroborar su valor durante la vida útil de la leche UHT para verificar el valor nutricional del producto durante el tiempo.
- Realizar un estudio específico de vitamina A en distintas temperaturas de almacenamiento para demostrar con mayor certeza su estabilidad térmica y su contenido al final de la vida útil.
- Utilizar los parámetros pH, acidez y color (parámetro L*), para evaluar la vida útil de leche descremada, semidescremada y entera ultrapasteurizadas en estudios posteriores.
- Caracterizar, en otros estudios, el color de la leche por contenido de grasa (entera, semidescremada y descremada), producida en Costa Rica, en busca de establecer parámetros de color de la leche que se procesa en el país.

BIBLIOGRAFÍA

- Alais, Ch. 2003. Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos: Principios de técnica lechera. 2 ed. Reverté, Barcelona.
- Albertí, P. 2000. Medición de color: metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Monografías INIA. Ganadera N° 1, Madrid.
- Alfaro, T.; Salas, M.T. & Ascencio, M. 2006. Tabla de composición de alimentos de Costa Rica: Alimentos fortificados. INCIENSA, Tres Ríos, Costa Rica.
- Allen, L., De Benoist, B., Dary, O. & Hurrell, R. 2006. Guidelines on Food Fortification with Micronutrients. World Health Organization, Suiza.
- Álvarez, M.L. 2012. Comparación de las características fisicoquímicas y sensoriales de la leche de cabra entera, descremada y desalactosada (entera y descremada) con las respectivas leches análogas de vaca, y de natilla ambas elaboradas con ambos tipos de leche. Proyecto final de graduación de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. Universidad de Costa Rica.
- Amiot, J. 1991. Ciencia y tecnología de la leche, Principios y aplicaciones. Acribia, Zaragoza.
- Anzueto, C. 1991. Vida útil de alimentos procesados. CINDE, San José.
- A.O.A.C. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. N° 992.04 Vitamin A (Retinol Isomers) in milk and milk based Infant fórmula. 20^{va} ed. Maryland.
- A.O.A.C. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. N° 947.05. Acidity of milk. Titrimetric method. 20^{va} ed. 33.2.06. Maryland.
- Barboza, L. 2017. Costa Rica y el comercio mundial de leche. El Financiero del 10 de junio, 2017.
- Belitz, H.D.; Grosch, W. & Schieberle, P. 2009. Química de los alimentos. 3^{ra} Ed. Acribia, Zaragoza.
- Bonilla, A.I. 2016. Fortificación de alimentos en Centroamérica y el Caribe. Monografía. Universidad de Costa Rica.
- Bylund, G. 1996. Manual de Industrias Lácteas. Tetra Pak Processing Systems AB, Suecia.
- Calvo, C. & Durán, L. 1997. Propiedades físicas II: Ópticas y color. Editado por J.M. Aguilera. Instituto Politécnico Nacional, México.
- Cámara Nacional de Productores de Leche. 2018. Consumo de productos lácteos. Proleche. <http://proleche.com/consumo-de-productos-lacteos/>

- Carvalho, A. 2011. Tendencias para el Mercado lácteo mundial en 2020. Internet: http://www.proleche.com/recursos/documentos/congreso2011/15.Tendencias_mecado_lacteo_2020.pdf Consultado: 11-12-2018.
- Cattaneo, S.; Masotti, F. & Pellegrino, L. 2008. Effects of overprocessing on heat damage of UHT milk. *European Food Research and Technology* 226:1099-1106.
- Chamorro, C. & Losada, M. 2002. *Tecnología de alimentos: El análisis sensorial de los quesos*. Mundi-Prensa. España.
- Charm, S.E. 2007. Food engineering applied to accommodate food regulations, quality and testing. *Alimentos Ciencia e Ingeniería* 16(1): 5-8.
- Chavan, R.; Rupesh, S.; Khedkar, C. & Jana, A. 2011. UHT Milk processing and effect of plasmin activity on shelf life: A review. *Institute of Food Technologists* 10:251-268.
- Clark, S.; Costello, M.; Drake, M. & Bodyfelt, F.W. 2009. *The sensory evaluation of dairy products*. 2^{da} ed. New York: Springer. XV.
- CODEX ALIMENTARIUS. 2013. Directrices para el uso de declaraciones nutricionales y saludables. CAC/GL 23-1997. Última enmienda 2013.
- CODEX ALIMENTARIUS. 2015. Principios generales para la adición de nutrientes esenciales a los alimentos CAC/GL 09-1987, Enmienda 1989-1991, Revisión 2015. Roma.
- Cheng, N.; Barbano, D. & Drake, M.A. 2017. Hunter versus CIE color measurement systems for analysis of milk-based beverages. *Journal Dairy Science*. 101(6):1-15.
- Datta, N. & Deeth, H.C. 2007. *Advances in thermal and non-thermal food preservation*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa.
- Datta, N. & Deeth, H.C. 2003. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. *Food Science and Technology* 36(2): 173-182.
- DeMan, J. 1999. *Principles of food chemistry*. 3 ed. Aspen Publication, Maryland, USA.
- Drake, M. A. 2007. Sensory analysis of dairy foods. *Journal of Dairy Science*. 90(11): 4925-4937.
- DSM Nutritional Products. S.f. *Fortification Basics Leche*. USAID from the American People.
- DSM^b Nutritional Products. S.f. *Vitamin application in beverage and dairy products*. USAID from the American People.
- Dunkley, W.L. & Stevenson, K.E. 1987. Ultra-high-temperature processing and aseptic packaging of dairy products. *Journal of Dairy Science* 70:2192-2202.

- Dunezka, C. 2013. Comparación de la escala hedónica de nueve puntos con la escala hedónica general de magnitud (gLMS) utilizada por personas de dos regiones de América Latina. Proyecto final de graduación de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Elika. 2018. La vida útil de los alimentos. Elika. http://ciudadania.elika.eus/etiquetado_vida_util.asp
- Elliot, A.J.; Dhakal, A.; Datta, N. & Deeth, H.C. 2003. Heat-induced changes in UHT milks. Part 1. Aust. Journal Dairy Technology. 58:3-10.
- Espinosa, J. 2007. Análisis sensorial de los alimentos. Ed. Universitaria, La Habana.
- FAO. 1991. Necesidades de vitamina A, hierro, folato y vitamina B₁₂. Informe de una consulta mixta. FAO/OMS de expertos. Roma.
- FAO. 2014. Conferencia Internacional sobre Nutrición 2° Roma. Documento final de la Conferencia: Declaración de Roma sobre la Nutrición, Roma.
- FAO. 2018a. Composición de la leche. <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/composicion-de-la-leche/es/>
- FAO. 2018b. Leche y productos lácteos. <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/es/>
- FAO. 2018c. El sector lechero mundial: Datos. Dairy declaration. <http://www.dairydeclaration.org/Portals/153/FAO-Global-Facts-SPANISH-F.PDF?v=1>
- Fellows, P. 1994. Tecnología del procesado de los alimentos: Principios y prácticas. Acribia, Zaragoza.
- Fernández, E.; Martínez, J.A.; Martínez, V.; Moreno, J.M.; Collado, L.R.; Hernández, M. & Morán, F. 2015. Documento de Consenso: Importancia nutricional y metabólica de la leche. Nutr. Hosp. 31(1):92-101.
- Figura, O. & Teixeira, A. 2007. Food Physics: Physical Properties, Measurement and Applications. Springer-Verlag, Berlin.
- Fox, P.F.; McSweeney, P.L.H. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. Blackie Academic & Professional, Londres.
- Gnanasekharan, V, Shewfelt, R.L, & Chinnan, M.S. 1992. Detection of color changes in green vegetables. Journal of Food Science 57(1):149-154.
- Goff, D. 2008. Dairy Chemistry and Physics. University of Guelph, Canada. www.foddsi.uoguelph.ca/dairyedu
- González, A. & Vicente, I. 2007. El color en la industria de los alimentos. Ed. Universitaria. La Habana.

- Guetouache, M.; Guessas, B. & Medjekal, S. 2014. Composition and nutritional value of raw milk. *Biological Sciences and Pharmaceutical Research* 10(2):115-122.
- Harrington, R. 2009. Asia and UHT milk to lead strong growth in aseptic packaging. *Dood Production Daily*. www.foodproductiondaily.com/content/view/print/250203.
- Hedegaard, R.V.; Kristensen, D.; Nielsen, J.H.; Frost, M.B.; Ostdal, H.; Hermansen, J.E.; Kröger-Ohlsen, M. & Skibsted, L.H. 2006. Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk. *Journal Dairy Science* 89(2):495-504.
- Hedrick, T.I.; Harmon, L.G.; Chandan, R.C.; Seiberling, D. 1981. Dairy products industry in 2006. *Journal Dairy Science* 6:959-70.
- Holdsworth, S.D. 1992. *Aseptic processing and packaging of food products*. Elsevier Science Publishing, New York.
- Hsu, D.S. 1970. *Ultra-high-temperature (U.H.T.) processing and aseptic packaging (A.P.) of dairy products*. Damana Tech, New York.
- Ibañez, F. & Barcina, Y. 2001. *Análisis sensorial de alimentos. Métodos y Aplicaciones*. Springer-Verlag Ibérica. Barcelona.
- Jovanka, V.P.; Nada, S.L.; Jovanka, G.L.; Miroljub, B.B. & Visnja, M.S. 2008. Color changes of UHT milk during store. *Sensors* 8:5961-74.
- König, S. S.f. *Vitamina A in milk: acetate or palmitate?* F. Hoffmann-La Roche Ltd. Suiza.
- Kopper, G.; Zúñiga, C. & Calderón, S. 1996. *Vida útil y empaque de alimentos*. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA). Universidad de Costa Rica, San José.
- Kopper, G. 1994. *Como determinar la vida útil de un alimento*. Taller regional sobre pequeña y mediana empresa alimentaria. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA). Universidad de Costa Rica, San José.
- Labuza, T, & Taoukis, P. 1997. *Química de los Alimentos*. Resumen: integración conceptual.
- La Gaceta N° 131. 9 de julio del 2001. N° 29629-S Reglamento para el Enriquecimiento de la leche de ganado vacuno. Presidencia de la República y Ministerio de Salud.
- Lawless, H. & Heymann, H. 2013. *Sensory evaluation of food principles and practices*. Springer: New York.
- Lazar, D.; Gavan, C. & Motorga, V. 2015. Study on accelerated shelf-life testing of UHT cow milk. Faculty of Agriculture. *Annals of the University of Craiova, Cadatre Series*. Vol XLV.

- Lewis, M & Heppell, N. 2000. Continuous thermal processing of foods: pasteurization and UHT sterilization. Food Engineering Series. Aspen Publishers. Maryland, USA.
- Mastrocola, D. & Lerici, C.R. 1991. Colorimetric measurements of enzymatic and non-enzymatic browning in apple purees. *International Journal of Food Science* (3):219-229.
- Mathías, K. & Ah-Hen, K. 2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur* 42(2):39-48.
- Minolta Camera CO. 1993. Precise color communication: color control from feeling to instrumentation. Japón.
- Minolta. 2018. Entendiendo el espacio del color Cie Lab. <http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>
- Morales, F.J.; Romero, C.; Jimenez, S. 2000. Characterization of industrial processed milk by analysis of heat-induced changes. *Int. Journal Food Science Technology* 35:193-200.
- Mizrahi, S. 2004. Accelerated shelf-life in understanding and measuring the shelf-life of food. Woodhead publishing limited, Cambridge.
- Negri, L.M. 2005. El pH y la acidez de la leche. Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. INTA, Argentina.
- Nicoli, M.C. 2012. Shelf Life Assessment of Food. Barboza-Cánovas G.V. (Ed.). Taylor & Francis Group, LLC. CRC Press, NW, EUA.
- Nieves, I.; Ramírez, N. & Monroy, A. 2012. Bienes públicos regionales para la fortificación de alimentos con micronutrientes en Centroamérica. Estados Unidos, Banco Interamericano de Desarrollo.
- Nuñez, M.; Hernández, R.; Rodríguez, I.; Rodríguez, J.L. & Torres, Y. 2017. Metodología para la estimación de la vida útil de los alimentos. II. Métodos de estimación. *Ciencia y Tecnología de Alimentos* 27(2):75-82.
- O'Mahony, M. 1986. Sensory adaptation. *Journal of Sensory Studies*. 1:237-258.
- Oupadissakoon, G. 2007 countries. Comparison of the sensory properties of ultra-high-temperature (UHT) milk from different and preference mapping of UHT milk between U.S. and Thai consumers. Tesis de Maestría. Kansas State University, EUA.
- Padua, H. 1998. Curso "Técnicas instrumentales aplicadas al análisis de alimentos: Evaluación del color en productos alimenticios". Fundación CIEPE, Venezuela.
- Pangborn, R.M. 1984. Sensory Techniques of Food Analysis. Department of Food Science and Technology. California, Estados Unidos.

- Pedroza, H. & Dicovsky, L. 2007. Sistema de análisis estadístico con SPSS. IICA-INTA, Managua.
- Perkins, M. L.; D'Arcy, B. R.; Lisle, A. T. & Deeth, H. C. 2005. Solid phase microextraction of stale flavour volatiles from the headspace of UHT milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85:2421-2428.
- Ramírez, J.S. 2010. Espectrocolorimetría en caracterización de leche y quesos. *Tecnología Láctea Latinoamericana* 61:52-58.
- Ramírez, J.S.; Rodríguez, A. 2011. Fortificación de leche y derivados lácteos. *Tecnología Láctea Latinoamericana* 67:46-55.
- Ramírez, J.S. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. *ReCiTela*. 12(1):84-101.
- Reglamento Técnico DE 33812 RTCR: 401-2006. Publicada en La Gaceta N° 112, del 12 de junio. 2007. Leche cruda y Leche Higienizada. Especificaciones. San José, Costa Rica: Imprenta Nacional.
- Reglamento Técnico Centroamericano RCTA 67.04.73:17. Publicada en La Gaceta N° 234, del 17 de diciembre. 2018. Productos Lácteos. Leche Ultra Alta Temperatura (UAT o UHT). Especificaciones. San José, Costa Rica: Imprenta Nacional.
- Richards, M.; De Kock, H. & Buys, E. 2014. Multivariate accelerated shelf-life test of low fat UHT milk. *International Dairy Journal* 36:38-45.
- Rodríguez, M. & Mora, R. 2001. Estadística informática: Caos y ejemplos. Universidad de Alicante, Alicante.
- Scarso, S.; McParland, S.; Visentin, G.; Berry, D. P.; McDermott, A. & De Marchi, M. 2017. Genetic and nongenetic factors associated with milk color in dairy cows. *Journal Dairy Science* 100:7345-361.
- Schamberg, G.P. & Labuza, T.P. 2006. Evaluation of front-face fluorescence for assessing thermal processing of milk. *Journal Food Science* 71:69-74.
- Schmidt, R. & Renner, E. 1978. Sensoric and chemical changes during the storage of sterilized milk kinds. II. Chemical changes. *Lebensm Wiss Technology* 11:244-248.
- Siddique, F.; Anjum, F.M.; Huma, N. & Jamil, A. 2010. Effect of different UHT processing temperatures on ash and lactose content of milk during storage at different temperatures. *International Journal of Agriculture and Biology* 12:439-442.
- Singh, H.; McCarthy, O.J.; Lucey, J.A. 1997. Physico-chemical properties of milk. En Fox P.F., *Advanced dairy chemistry Volume 3. Lactose, water, salts and vitamins*. Ed. Chapman & Hall, Londres.
- Skelte, G.A. & Yuming, Li. 2003. Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and its effect on casein micelle size. *Journal of Dairy Research* 70:73-83.

- Solís, A. 2016. Descripción de la situación actual sobre el uso y consumo, perfil sensorial y grado de aceptación del queso seco tradicional elaborado en la Región Huetar Norte y Región Chorotega de Costa Rica. Proyecto final de graduación. Universidad de Costa Rica.
- Steele, R. 2004. Understanding and measuring the shelf-life of food. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Steeet, J. & Tong, C. 1996. Quantification of color change resulting from pheophytinization and nonenzymatic browning reactions in thermally processed green peas. Food Chemistry 44:1531-1337.
- Stone, H. & Sidel, J. 2004. Sensory Evaluation Practices. 3 ed. Elsevier Academic Press, California.
- Taoukis, P.S.; Labuza, T.P. & Saguy, I.S. 1997. Kinetics of food deterioration and shelf-life prediction. Eds. CRC Press, Boca Ratón, Florida.
- Vidal, N. 2015. AINIA. www.ainia.es/tecnoalimentalia/tecnologia/3-metodos-para-estimar-la-vida-util-de-un-producto-de-alimentacion/
- Villafuerte, P.; Características de la leche. Academia.edu. www.academia.edu/8367776/Capítulo_1_Características_de_la_leche
- Villanueva, N.; Petenate, A. & Da Silva, M. 2005. Performance of the hybrid scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. Food Quality and Preference. 16:691-703.
- Wong, N.P. 2012. Fundamentals of Dairy Chemistry. 3th ed. Van Nostrand Reinhold Company, New York.

ANEXOS

ANEXO A. Parámetros de las rectas de mejor ajuste de las variables analizadas

Cuadro A.1. Parámetros de las rectas de ajuste del porcentaje de acidez en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	0,0000195	0,1496115	0,169071	0,1842
4	2	0,0000050489	0,1530462	0,003809	0,8569
4	3	0,000025258	0,1498359	0,188958	0,1815
4	4	-0,00002427	0,1511588	0,244335	0,1222
24	1	0,000050654	0,1489114	0,350579	0,0425*
24	2	-0,000002877	0,1545961	0,002256	0,8963
24	3	0,000042727	0,1498331	0,667459	0,0021*
24	4	0,00001116	0,1465098	0,057345	0,4535
32	1	0,0001217	0,14652	0,534438	0,0013*
32	2	0,0000637	0,1542627	0,316755	0,0150*
32	3	0,0001227	0,1474311	0,608839	0,0004*
32	4	0,000048643	0,1455915	0,380042	0,0084*
40	1	0,00037	0,1482173	0,747306	0,0003*
40	2	0,0005764	0,1485223	0,689597	0,0016*
40	3	0,0005844	0,13413924	0,787545	0,0001*
40	4	0,0005205	0,1384551	0,791972	0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro A.2. Parámetros de las rectas de ajuste del pH en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	-0,00002649	6,6297585	0,002472	0,8780
4	2	0,000065467	6,6317262	0,000157	0,9708
4	3	-0,00006448	6,6326235	0,018586	0,6894
4	4	0,0003049	6,5680117	0,318912	0,0703
24	1	-0,000237	6,5950837	0,330606	0,0505
24	2	-0,00016	6,5690476	0,095245	0,3856
24	3	-0,000347	6,5997586	0,482603	0,0177*
24	4	-0,000211	6,5931267	0,261535	0,0892
32	1	-0,000616	6,5701587	0,365447	0,0131*
32	2	-0,000845	6,5764742	0,724084	< 0,0001*
32	3	-0,001187	6,6088222	0,923035	< 0,0001*
32	4	-0,000864	6,6106679	0,777086	< 0,0001*
40	1	-0,003408	6,5657289	0,931888	< 0,0001*
40	2	-0,0037	6,544386	0,968981	< 0,0001*
40	3	-0,004445	6,6162542	0,955969	< 0,0001*
40	4	-0,002966	6,5703498	0,813704	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro A.3. Parámetros de las rectas de ajuste de la viscosidad en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	0,0002608	2,2125181	0,086916	0,3522
4	2	0,000048826	2,2298068	0,004109	0,8515
4	3	-0,000727	2,3801808	0,42028	0,0310*
4	4	0,0005544	1,9371956	0,168735	0,2095
24	1	-0,000664	2,2108707	0,383118	0,0319*
24	2	-0,00095	2,2147787	0,358288	0,0675
24	3	-0,001377	2,3196745	0,74188	0,0007*
24	4	-0,000312	1,9156229	0,107577	0,2980

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
32	1	-0,000517	2,1540025	0,079387	0,2904
32	2	-0,000572	2,1126981	0,126608	0,1473
32	3	-0,001682	2,2592313	0,416169	0,0070*
32	4	-0,000766	1,9987824	0,282483	0,0281*
40	1	-0,002769	2,1697785	0,808051	< 0,0001*
40	2	-0,001718	2,1734323	0,142474	0,2524
40	3	-0,00407	2,2673081	0,560912	0,0051*
40	4	-0,001173	1,9386124	0,171386	0,1809

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro A.4. Parámetros de las rectas de mejor ajuste de vitamina A en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	LOTE	m	b	r ²	Prob
24	1	-0,118508	252,62882	0,5215	0,0184*
	2	-0,040731	220,37324	0,1114	0,2889*
	3	-0,047154	246,19198	0,0864	0,1836*
	4	-0,000297	2,237278	0,0497	0,4244*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro A.5. Parámetros de las rectas de mejor ajuste de L* en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	-0,015547	93,136613	0,673057	0,3367*
	2	-0,010059	92,76958	0,326261	0,0846
	3	-0,008602	92,629159	0,328546	0,0514
	4	-0,002073	90,750317	0,150779	0,2380
24	1	-0,015533	92,623883	0,788368	0,0006*
	2	-0,008674	91,681298	0,267785	0,1255
	3	-0,008887	91,789846	0,328905	0,1372
	4	-0,007665	90,460934	0,910783	< 0,0001*

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
32	1	-0,049995	93,714214	0,895786	< 0,0001*
	2	-0,031207	91,69013	0,610805	0,0027*
	3	-0,022294	91,345811	0,555515	0,0054*
	4	-0,02082	89,820964	0,908398	< 0,0001*
40	1	-0,142474	94,91891	0,932591	< 0,0001*
	2	-0,136103	92,741663	0,816356	0,0001*
	3	-0,136534	91,93463	0,94045	< 0,0001*
	4	-0,084515	89,575579	0,973388	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro A.6. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del parámetro b* de color en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	-0,012993	12,610328	0,60765	0,0133*
	2	-0,008319	11,762041	0,299572	0,1015
	3	-0,002814	11,514014	0,080328	0,3702
	4	-0,0020436	10,19887	0,216293	0,1495
24	1	-0,005528	12,566432	0,291161	0,1074
	2	0,000095685	10,974146	0,000065	0,9824
	3	-0,002707	11,557578	0,199779	0,2669
	4	0,0066112	10,534849	0,594171	0,0055*
32	1	0,0123633	12,530847	0,695439	0,0002*
	2	0,0111493	11,473319	0,454601	0,0162*
	3	0,0184943	11,340649	0,737779	0,0003*
	4	0,0173726	10,570072	0,769417	< 0,0001*
40	1	0,0769454	13,173085	0,937873	< 0,0001*
	2	0,0877409	12,888674	0,900505	< 0,0001*
	3	0,1006878	12,306557	0,970466	< 0,0001*
	4	0,0965331	10,147296	0,951907	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro A.7 Parámetros de las rectas de mejor ajuste del parámetro a* de color en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	-0,003368	-4,529981	0,029163	0,6605
	2	-0,004551	-4,683484	0,098252	0,3778
	3	-0,00645	-3,874831	0,208434	0,1357
	4	0,0020589	-5,794268	0,628212	0,0036*
24	1	0,0015827	-4,433192	0,011906	0,7641
	2	-0,00203	-4,397397	0,017134	0,7185
	3	-0,003382	-4,143639	0,089944	0,4705
	4	0,0054705	-5,427895	0,694065	0,0014*
32	1	0,0033013	-2,676966	0,016932	0,6575
	2	0,0130471	-4,723797	0,218422	0,1255
	3	0,0061719	-4,060377	0,136125	0,2379
	4	0,0169014	-5,124789	0,855626	< 0,0001*
40	1	0,0069738	-0,917538	0,049022	0,5387
	2	0,0168369	-0,865955	0,341765	0,0589
	3	0,0723994	-4,984667	0,790675	0,0001*
	4	0,0634205	-5,168306	0,973686	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro A.8. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del parámetro c* de color en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	-0,011928	13,680055	0,491933	0,0353*
	2	-0,006531	12,888214	0,302515	0,0995
	3	-0,001148	12,366642	0,023288	0,6359
	4	0,0008786	11,725343	0,06775	0,4395
24	1	-0,006595	13,528989	0,370212	0,0620
	2	-0,000223	12,090563	0,000737	0,9406
	3	-0,00194	12,425952	0,350188	0,1223
	4	0,0040432	11,831944	0,323127	0,0681

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
32	1	0,0109619	12,948894	0,713785	0,0001*
	2	0,0063926	12,499226	0,289193	0,0713
	3	0,015885	12,103471	0,731291	0,0004*
	4	0,0113565	11,708217	0,636424	0,0011*
40	1	0,0766657	13,225113	0,938462	< 0,0001*
	2	0,0875156	12,926272	0,899274	< 0,0001*
	3	0,0949983	12,906889	0,968143	< 0,0001*
	4	0,0845251	11,089789	0,931283	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro A.9. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del parámetro h° de color en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	0,0421022	109,01536	0,214702	0,2090
	2	0,0361226	111,93198	0,195797	0,2003
	3	0,0322234	108,86999	0,199197	0,1458
	4	-0,013241	119,56067	0,516228	0,0127*
24	1	0,0017981	109,3522	0,000826	0,9372
	2	0,0067124	112,36662	0,006553	0,8241
	3	0,018767	109,86496	0,10691	0,4292
	4	-0,035272	117,14731	0,867236	< 0,0001*
32	1	-0,018995	101,57395	0,03048	0,5505
	2	-0,067655	112,04467	0,263309	0,0880
	3	-0,044314	109,26489	0,271223	0,0826
	4	-0,096222	115,49567	0,855306	< 0,0001*
40	1	-0,026871	93,338386	0,065384	0,4758
	2	-0,049632	92,735514	0,26866	0,1024
	3	-0,250625	108,61765	0,772704	0,0002*
	4	-0,299585	114,25894	0,941149	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

ANEXO B. Análisis de Andeva comportamiento Logarítmico

Cuadro B.1. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logaritmo del porcentaje de acidez en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	0,0001277	-1,900012	0,170176	0,1826
4	2	0,000024144	-1,876991	0,002075	0,8942
4	3	0,000159	-1,897836	0,184288	0,1876
4	4	-0,000164	-1,889793	0,242719	0,1237
24	1	0,0003202	-1,904193	0,355043	0,0409*
24	2	-0,000021360	-1,867151	0,003027	0,8800
24	3	0,0002719	-1,897675	0,67119	0,0020*
24	4	0,000078335	-1,921525	0,062006	0,4351
32	1	0,0007389	-1,916872	0,532856	0,0013*
32	2	0,0003871	-1,868258	0,315933	0,0152*
32	3	0,0007504	-1,911522	0,618628	0,0003*
32	4	0,0003198	-1,926649	0,380547	0,0083*
40	1	0,0022336	-1,907012	0,75041	0,0003*
40	2	0,0032258	-1,898417	0,7050028	0,0012*
40	3	0,0032303	-1,936689	0,835459	< 0,0001*
40	4	0,0030355	-1,96339	0,796741	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro B.2. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logaritmo del pH en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	-0,000003811	1,891507	0,002238	0,8839
4	2	0,0000011626	1,8918092	0,000216	0,9658
4	3	0,00000957	1,8919588	0,017899	0,6949
4	4	0,000046333	1,8821676	0,319951	0,0697
24	1	-0,00003614	1,8863255	0,330688	0,0505

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
24	2	-0,00002441	1,8823439	0,094638	0,3872
24	3	0,00005288	1,8870306	0,482114	0,0178*
24	4	0,00003215	1,8860112	0,260371	0,0901
32	1	-0,00009479	1,8825356	0,370163	0,0124*
32	2	-0,000131	1,8836179	0,72288	< 0,0001*
32	3	-0,000183	1,8885362	0,922354	< 0,0001*
32	4	-0,000133	1,8887301	0,779161	< 0,0001*
40	1	-0,000532	1,8820164	0,932957	< 0,0001*
40	2	-0,000582	1,8788529	0,969521	< 0,0001*
40	3	-0,0007	1,8900554	0,955877	< 0,0001*
40	4	-0,000463	1,8828303	0,812974	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro B.3. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logaritmo de la viscosidad en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	0,0001163	0,7934267	0,089765	0,3441
4	2	0,000015984	0,8022801	0,002254	0,8898
4	3	-0,000326	0,8679785	0,420499	0,0309
4	4	0,000266	0,6613217	0,159732	0,2233
24	1	-0,000319	0,7937891	0,402053	0,0268*
24	2	-0,000449	0,7939755	0,375021	0,0598
24	3	-0,000637	0,8415561	0,740216	0,0007*
24	4	-0,000173	0,6498754	0,112493	0,2865
32	1	-0,000245	0,7658383	0,088106	0,2643
32	2	-0,000274	0,7462965	0,126845	0,1469
32	3	-0,000802	0,8141959	0,431126	0,0057*
32	4	-0,000385	0,6901589	0,280517	0,0288*
40	1	-0,001373	0,7759422	0,806199	< 0,0001*
40	2	-0,000865	0,7767361	0,148007	0,2427
40	3	-0,00192	0,8159224	0,543542	0,0062*
40	4	-0,000605	0,6599244	0,156057	0,2038

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro B.4. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logaritmo del parámetro L* de color en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	-0,00017	4,5340311	0,679839	0,0062*
	2	-0,000108	4,5298348	0,327274	0,0840
	3	-0,00009264	4,5283498	0,327448	0,0519
	4	-0,000023	4,5081164	0,152365	0,2353
24	1	-0,000171	4,5286363	0,795787	0,0005*
	2	-0,00009443	4,5180519	0,267067	0,1261
	3	-0,000097	4,5192852	0,33164	0,1352
	4	-0,00008587	4,5049694	0,910649	<,0001*
32	1	-0,00056	4,5408333	0,903391	<,0001*
	2	-0,000348	4,5182696	0,619466	0,0024*
	3	-0,000246	4,5143412	0,563337	0,0049*
	4	-0,000237	4,4979247	0,909814	<,0001*
40	1	-0,001634	4,5553404	0,937622	<,0001*
	2	-0,001582	4,5310486	0,826812	0,0001*
	3	-0,001605	4,5224892	0,949743	<,0001*
	4	-0,000987	4,4956201	0,976529	<,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro B.5. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logarítmico del parámetro b* de color en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	-0,001178	2,5358985	0,586058	0,0162*
	2	-0,00076	2,4587909	0,267246	0,1260
	3	-0,00024	2,4381009	0,069655	0,4072
	4	0,0001932	2,3221442	0,214591	0,1513
24	1	-0,000454	2,5276834	0,273465	0,1209
	2	0,000030954	2,3878447	0,000816	0,9376
	3	-0,00023	2,4448016	0,193708	0,2751
	4	0,0005868	2,3539202	0,596286	0,0054*

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
32	1	0,0008871	2,5317879	0,688066	0,0002*
	2	0,0008983	2,4405958	0,443993	0,0180*
	3	0,0014052	2,4337388	0,731952	0,0004*
	4	0,0014448	2,3614096	0,767467	< 0,0001*
40	1	0,0044119	2,6041385	0,929751	< 0,0001*
	2	0,0049734	2,5870775	0,898568	< 0,0001*
	3	0,0057679	2,5440792	0,967127	< 0,0001*
	4	0,0066006	2,3534259	0,957358	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro B.6. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logarítmico del parámetro c* de color en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	-0,000971	2,6152933	0,487353	0,0365*
	2	-0,000539	2,5543227	0,28053	0,1154
	3	-0,00009532	2,5132246	0,022552	0,6413
	4	0,000074438	2,4614346	0,068799	0,4359
24	1	-0,000512	2,6026137	0,35744	0,0679
	2	-0,00001467	2,4901394	0,000443	0,9540
	3	-0,000158	2,5194598	0,348562	0,1234
	4	0,0003322	2,4693759	0,329157	0,0650
32	1	0,0007764	2,5633009	0,710683	0,0002*
	2	0,0004941	2,5250353	0,291726	0,0699
	3	0,0011587	2,4974326	0,738228	0,0003*
	4	0,0008886	2,4620235	0,633819	0,0011*
40	1	0,004391	2,6074833	0,929618	< 0,0001*
	2	0,0049513	2,5898282	0,897867	< 0,0001*
	3	0,0053289	2,5871157	0,966677	< 0,0001*
	4	0,005541	2,4352821	0,946957	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

Cuadro B.7. Parámetros de las rectas de mejor ajuste del logarítmico del parámetro h° de color en función del tiempo en leche UHT semidescremada.

TEMP. (°C)	No. LOTE	m	b	r ²	Prob
4	1	0,0003998	4,6856884	0,223727	0,1985
	2	0,0003324	4,7131889	0,204462	0,1895
	3	0,000309	4,6852474	0,212635	0,1313
	4	-0,000113	4,7839119	0,516824	0,0127*
24	1	0,0000345	4,6902719	0,003458	0,8718
	2	0,000083749	4,7158349	0,011924	0,7640
	3	0,0001833	4,6958838	0,114638	0,4120
	4	-0,000314	4,7638007	0,872898	< 0,0001*
32	1	-0,000174	4,6174007	0,025888	0,5827
	2	-0,000623	4,7167901	0,254596	0,0943
	3	-0,000412	4,6922198	0,259997	0,0903
	4	-0,000892	4,7498927	0,862805	< 0,0001*
40	1	-0,00029	4,5356142	0,064475	0,4790
	2	-0,000543	4,5291354	0,263516	0,1063
	3	-0,002637	4,6918243	0,793468	0,0001*
	4	-0,002979	4,7420848	0,957794	< 0,0001*

*Prob < 0,05 es significativa

ANEXO C. Determinación de la vida útil

Cuadro C.1. Tiempo en el que se alcanza el valor de acidez (0,165 %), pH (6,40) y L* (86) a cada temperatura de almacenamiento por lote.

T _{ALMACENA} MIENTO (°C)	TIEMPO EN DÍAS			
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4
Acidez				
24	318	-3616	355	1657
32	152	169	143	399
40	45	29	53	51

TALMACENA MIENTO (°C)	TIEMPO EN DÍAS			
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4
pH				
24	823	1057	576	915
32	276	209	176	244
40	49	39	49	57
L*				
24	426	655	651	582
32	154	182	240	184
40	63	50	43	42

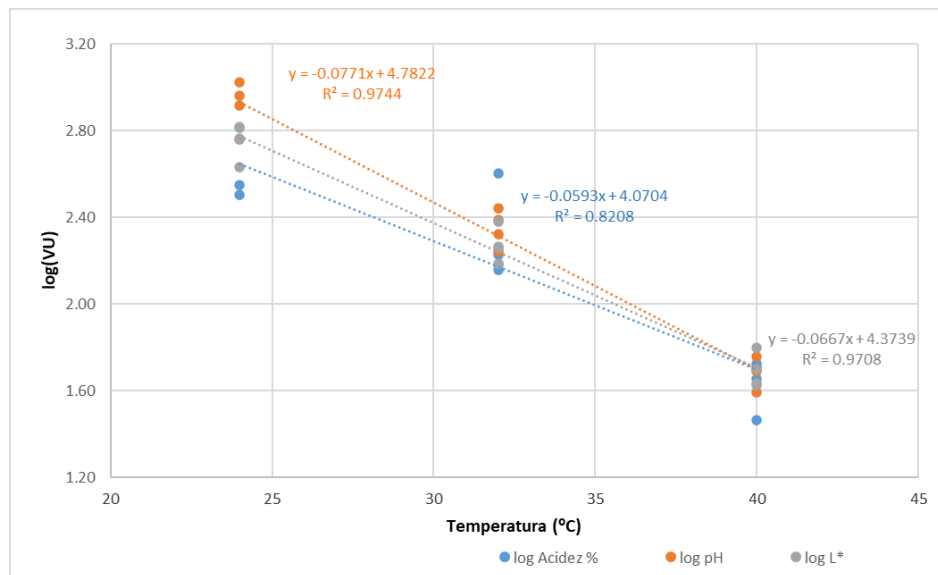


Figura C.1. Gráfico de vida útil de leche UHT 2 % grasa con base en acidez, pH y L*.