

## Tesis de Maestría

# Efecto de la combinación de luz ultravioleta y temperatura en el procesamiento de leche y derivados

Vásquez Mazo, Priscilla

2015-09-29

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Vásquez Mazo, Priscilla. (2015-09-29). Efecto de la combinación de luz ultravioleta y temperatura en el procesamiento de leche y derivados. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Vásquez Mazo, Priscilla. "Efecto de la combinación de luz ultravioleta y temperatura en el procesamiento de leche y derivados". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2015-09-29.

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**

Maestría en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de  
alimentos

**EFFECTO DE LA COMBINACION DE LUZ ULTRAVIOLETA Y TEMPERATURA  
EN EL PROCESAMIENTO DE LECHE Y DERIVADOS**

Tesis presentada para optar por el título de Magister de la Universidad de Buenos Aires  
en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de Alimentos.

**Autor: Priscilla Vásquez Mazo**

Directora: Dra. Sandra N. Guerrero

Codirectora: Dra. Analía B. García Loredo

Lugar de trabajo: Departamento de Industrias

Buenos Aires, 2015

## EFFECTO DE LA COMBINACION DE LUZ ULTRAVIOLETA Y TEMPERATURA EN EL PROCESAMIENTO DE LECHE Y DERIVADOS

En los últimos años se han implementado tecnologías emergentes de preservación como asistencia o mejora de tecnologías de preservación tradicionales, con el propósito de obtener productos de mejor calidad y reducir tiempos de tratamiento. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de Luz UV-C en combinación con calor y vacío, sobre el procesamiento de leche y el yogurt elaborado a partir de la misma, durante su almacenamiento. El equipo de luz UV-C consistió de dos lámparas conectadas en serie (254 nm, UV, Lux 50W/G50 TO, Phillips), cada una dentro de una camisa de vidrio de 0,87m de largo, con un espacio de flujo anular (0.22L) como cámara de irradiación, conectados a través de una bomba peristáltica a un baño termostático. En cada corrida, se procesaron 800mL de leche, los cuales pasaron por el reactor durante 20min a una temperatura de  $85^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Para la aplicación de luz UV-C asistido con vacío, primero se sometió el sistema durante 10min a una presión de -400mmHg y se mantuvo durante los siguientes 20min de proceso.

Se realizó un recuento de bacterias aerobias mesófilas y coliformes, medición de oxidación de lípidos (método TBARS) y análisis sensorial olfativo (triángulo) en la leche. El valor de TBARS en la leche T- UVC (0,38  $\mu\text{moles}$  de MDA Equivalente/L) fue mayor que en la leche T-UVC-vacío (0,29  $\mu\text{moles}$  de MDA Equivalente/L) y leche control (0,14  $\mu\text{moles}$  de MDA Equivalente/L). La leche tratada, se inoculó con un cultivo mixto de bacterias ácido-lácticas, y se fermentó a  $43^{\circ}\text{C}$ , hasta alcanzar un pH de 4,6 - 4,7 y obtener yogurt, el cual se almacenó a  $4^{\circ}\text{C}$  durante 21 días. Durante la fermentación de la leche se analizaron pH y acidez titulable (AT). En el almacenamiento del yogurt se analizaron: acidez titulable (AT), sólidos solubles, sinéresis, color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) y se realizó un perfil de textura. Además, se realizó un test de campo con 46 consumidores al yogurt procesado por la tecnología propuesta T-UVC-Vacío. Se encontró que el yogurt elaborado por la tecnología propuesta presentó una notable disminución de la sinéresis, cambios mínimos en acidez, pH, color y sólidos solubles, y leves aumentos en la cohesividad, elasticidad, masticabilidad y gomosidad respecto a las muestras de yogurt control y una aceptación global por parte de los consumidores satisfactoria. Estos resultados indican que la luz UV-C ofrecería una alternativa al procesamiento de leche destinada a la elaboración de yogurt.

**Palabras clave:** leche, luz UV-C, TBARS, yogurt, sinéresis, color, TPA, análisis sensorial.

## EFFECT OF THE COMBINATION OF ULTRAVIOLET LIGHT AND TEMPERATURE IN THE PROCESSING OF MILK AND DAIRY PRODUCTS

In recent years, emerging technologies have been implemented as assistance or improvement of traditional preservation technologies, to provide products of better quality and reduce treatment times. The objective of this study was to determine the effect of UV-C light treatment in combination with heat and vacuum, on milk process and yogurt made from the same during storage. The UV-C light device consisted of two serially connected (254 nm, UV, Lux 50W/G50 TO, Phillips), each one inside a 0.87m-long glass tube leaving an annular flow space as irradiation chamber (0.22L) connected through a peristaltic pump to a thermostated. In each run, 800 mL of milk was processed, which passed through the reactor for 20min at  $85^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . For UV-C light treatment assisted vacuum, first, the system was subjected during 10min at a pressure of -400mmHg and maintained for the following 20min of process.

Total mesophilic and coliforms counts, lipid oxidation (TBARS assay) and sensory olfactory analysis (Triangle) were quantified in milk. TBARS value in T- UVC milk (0.38  $\mu\text{moles}$  of MDA equivalent/L) was higher than in T-UVC-vacuum milk (0.29  $\mu\text{moles}$  of MDA equivalent/L) and control (0.14  $\mu\text{moles}$  of MDA equivalent/L). Treated milk samples were cooled, inoculated with a commercial symbiotic culture, incubated ( $43^{\circ}\text{C}$ ) until pH 4.6 - 4.7 and stored ( $4^{\circ}\text{C}$ , 21 days). During milk fermentation pH, titratable acidity were monitored and during yogurt storage titratable acidity, soluble solids, syneresis, colour ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), and Texture Profile Analysis were determined. A sensory field test with 46 consumers was also performed on T-UVC-vacuum yogurt. It was found that the yogurt made by proposed technology presented a significant decrease in syneresis, slight changes in acidity, pH, colour and soluble solids, and slight increases in cohesiveness, springiness, gumminess and chewiness relative to samples of yogurt control, and overall satisfactory acceptance by consumers. These results indicate that UV-C light offer an alternative to the processing of milk for manufacturing of yogurt.

**Keywords:** milk, UV-C light, TBARS, yogurt, syneresis, colour, TPA, sensory analysis.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la fortaleza para culminar este proyecto con éxito y lograr un nuevo triunfo en mi vida.

A mi mamá y mi hermana, que con su gran amor y su apoyo incondicional, han sido una gran motivación en mi vida.

A mi amado Luis, por su paciencia y por estar siempre presente brindándome su amor, apoyo, comprensión y amistad incondicional.

A la Dra. Sandra Guerrero por su dedicación y constante atención en la dirección de esta tesis y la Dra. Analía García Loredó por su interés y asistencia en todo este tiempo.

A Mariana y Gabriela por estar siempre dispuestas a ayudarme, por su amistad, por su solidaridad y por su compañerismo.

A mi amiga Alejandra, por ser mi familia en Argentina, con quien compartí alegrías y gratos momentos.

A mis amigos, familiares y compañeros de la maestría, por su apoyo y aliento durante todo este proyecto.

*Priscilla.*

*A mi familia*

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Leche.....</b>	<b>2</b>
1.1.1. Definición.....	2
1.1.2. Producción de leche en Argentina.....	2
1.1.3. Composición de la leche .....	5
1.1.3.1. Agua .....	6
1.1.3.2. Proteínas.....	6
1.1.3.3. Lípidos.....	8
1.1.3.4. Carbohidratos .....	8
1.1.3.5. Minerales .....	9
1.1.3.6. Vitaminas .....	9
1.1.3.7. Enzimas .....	9
1.1.4. Propiedades fisicoquímicas .....	10
1.1.5. Ecología microbiana.....	10
1.1.6. Valor nutritivo.....	11
1.1.7. Procesamiento de la leche.....	12
1.1.7.1. Tratamiento térmico .....	12
<b>1.2. Tecnologías emergentes.....</b>	<b>14</b>
1.2.1. Tecnologías combinadas de preservación.....	18
1.2.2. Luz Ultravioleta .....	19
1.2.2.1. Mecanismo de generación de luz UV-C.....	21
1.2.2.2. Efecto germicida de la luz UV-C.....	21
1.2.2.3. Susceptibilidad de los microorganismos a la luz UV-C.....	22
1.2.2.4. Medición de la dosis de UV-C.....	23
1.2.2.5. Fuentes de luz UV-C.....	24
1.2.2.6. La radiación UV-C en la preservación de los alimentos .....	25
1.2.2.7. Ventajas y limitaciones del uso de luz UV-C.....	26
1.2.2.8. Utilización de luz UV-C en el procesamiento de leche.....	27
<b>1.3. Oxidación de lípidos en leche .....</b>	<b>28</b>
1.3.1. Mecanismo de oxidación de lípidos .....	28
1.3.1.1. Fotooxidación .....	29
1.3.2. Factores que afectan la oxidación de los lípidos en la leche.....	30
1.3.3. Generación de productos de oxidación en la leche .....	31
1.3.4. Métodos de medida de la oxidación lipídica.....	31
1.3.4.1. Test de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	32
<b>1.4. Derivados lácteos.....</b>	<b>33</b>

## Índice

<b>1.5. Yogurt</b> .....	38
1.5.1. Origen del yogurt.....	38
1.5.2. Producción de yogurt en Argentina.....	39
1.5.3. Clasificación de yogurt.....	41
1.5.4. Proceso de elaboración del yogurt.....	42
1.5.4.1. Estandarización del contenido graso de la leche.....	42
1.5.4.2. Estandarización del contenido no graso de la leche.....	42
1.5.4.3. Homogenización.....	43
1.5.4.4. Tratamiento térmico.....	43
1.5.4.5. Primer enfriamiento.....	44
1.5.4.6. Envasado.....	44
1.5.4.7. Fermentación.....	44
1.5.4.8. Enfriamiento.....	45
1.5.4.9. Almacenamiento.....	45
1.5.5. Importancia nutricional del yogurt.....	46
1.5.6. Propiedades fisicoquímicas del yogurt.....	46
1.5.6.1. pH y acidez.....	46
1.5.6.2. Sinéresis.....	47
1.5.6.3. Color.....	47
1.5.7. Aspectos reológicos.....	52
1.5.7.1. Análisis de Perfil de Textura instrumental.....	52
<b>1.6. Análisis sensorial de alimentos</b> .....	54
1.6.1. Panel de evaluación sensorial.....	55
1.6.2. Selección del panel.....	56
1.6.3. Características de la sala de evaluación sensorial.....	56
1.6.4. Pruebas de evaluación sensorial.....	57
1.6.4.1. Test de triángulo.....	58
1.6.4.2. Test de diferencia contra control.....	58
1.6.4.3. Test de campo con consumidores.....	59
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>62</b>
2.1. <i>Hipótesis y objetivo general</i> .....	63
2.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	64
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>65</b>
3.1. <i>Materia Prima e insumos minoritarios</i> .....	66
3.2. <i>Reactivos</i> .....	66



## Índice

<b>3.3. Medios de cultivo</b> .....	67
<b>3.4. Esquema de trabajo</b> .....	68
<b>3.5. Tratamientos evaluados</b> .....	69
3.5.1. Descripción del equipo de irradiación con luz UV-C asistido por temperatura (T-UVC).....	69
3.5.2. Determinación de la dosis de radiación UV-C.....	72
3.5.3. Optimización del equipo de irradiación con luz UV-C asistido por temperatura (T-UVC).....	72
3.5.4. Tratamiento control.....	75
3.5.5. Tratamiento de irradiación con luz UV-C asistido por temperatura (T-UVC) ...	75
3.5.6. Tratamiento de irradiación con luz UVC asistido por temperatura y vacío (T-UVC-Vacío).....	76
<b>3.6. Evaluación de parámetros de calidad en la leche procesada por los tratamientos de estudio</b> .....	77
3.6.1. Análisis Microbiológico.....	77
3.6.1.1. Recuento de bacterias aerobias mesófilas (norma FIL 100B:1191).....	77
3.6.1.2. Recuento de bacterias Coliformes (Recuento en placa con medio ABRV).....	77
3.6.2. Determinación de compuestos de oxidación.....	78
3.6.3. Evaluación sensorial.....	80
3.6.3.1. Condiciones generales para el desarrollo de la prueba.....	81
3.6.3.2. Test de Triángulo olfatorio.....	82
<b>3.7. Elaboración de Yogurt</b> .....	85
3.7.1. Primer enfriamiento.....	85
3.7.2. Aditivos.....	86
3.7.3. Activación del inóculo.....	86
3.7.4. Envasado.....	87
3.7.5. Fermentación.....	87
3.7.6. Almacenamiento.....	88
<b>3.8. Evaluación de parámetros de calidad de yogurt</b> .....	88
3.8.1. Determinación de pH, acidez titulable y sólidos solubles.....	88
3.8.1.1. Determinación de pH.....	88
3.8.1.2. Determinación de acidez titulable.....	88
3.8.1.3. Determinación de sólidos solubles.....	89
3.8.2. Evolución de la sinéresis.....	89
3.8.3. Evolución del color.....	90
3.8.4. Medición instrumental del Perfil de Textura (TPA).....	91

## Índice

<b>3.9. Análisis Sensorial</b> .....	93
3.9.1. Test de Diferencia Contra Control .....	93
3.9.2. Test de Campo .....	96
<b>3.10. Análisis estadístico</b> .....	100
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>101</b>
<b>4.1. Determinación de la dosis de radiación UV-C</b> .....	102
<b>4.2. Efecto sobre los parámetros de calidad de la leche procesada por los     tratamientos de estudio</b> .....	102
4.2.1. Análisis Microbiológico .....	102
4.2.2. Determinación de compuestos de oxidación .....	106
4.2.2.1. Determinación de la curva de calibración .....	106
4.2.3. Evaluación Sensorial .....	109
<b>4.3. Efecto de los tratamientos propuestos sobre la elaboración del yogurt</b> .....	114
4.3.1. Evolución del pH y la acidez titulable durante la fermentación .....	114
<b>4.4. Efecto del procesamiento de la leche sobre de parámetros de calidad del     yogurt</b> .....	116
4.4.1. Determinación de la acidez titulable y los sólidos solubles del yogurt durante el almacenamiento .....	116
4.4.2. Evolución de la sinéresis del yogurt durante el almacenamiento .....	120
4.4.3. Evolución del color del yogurt durante el almacenamiento .....	122
4.4.4. Medición Instrumental del perfil de textura (TPA) del yogurt durante el almacenamiento .....	133
<b>4.5. Análisis sensorial</b> .....	140
4.5.1. Test de Diferencia Contra Control .....	141
4.5.2. Test de Campo .....	144
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>145</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>145</b>

# 1. INTRODUCCIÓN



## Introducción

### **1.1. Leche**

#### **1.1.1. Definición**

Leche se define como el líquido secretado de las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos en buen estado de salud y alimentación. Es de color blanco opaco, de sabor ligeramente dulce y pH casi neutro, posee una composición compleja y contiene casi todos los nutrientes necesarios para sostener la vida (Belitz, 2009). Proporciona nutrientes esenciales, es fuente de energía, proteínas de alta calidad y grasas; además que contribuye a la ingesta necesaria de calcio, magnesio, selenio, riboflavina, vitamina B12 y ácido pantoténico (FAO, 2013).

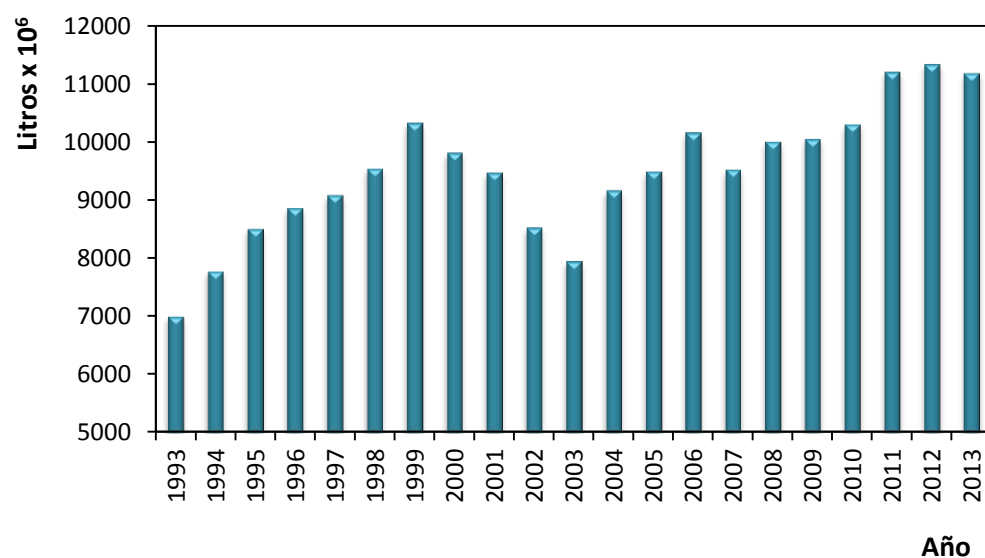
El Código Alimentario Argentino (CAA) en su artículo 554, define a la leche como “el producto obtenido por el ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene, de la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, proveniente de tambos inscriptos y habilitados por la autoridad sanitaria bromatológica jurisdiccional y sin aditivos de ninguna especie. La leche proveniente de otros animales, deberá denominarse con el nombre de la especie productora”.

#### **1.1.2. Producción de leche en Argentina**

La producción e industrialización de leche son actividades tradicionales de Argentina, responsables en gran medida del desarrollo económico y social de numerosas regiones del país (Taverna y Fariña, 2013). Argentina tiene una larga tradición en el consumo de productos lácteos y ostenta valores de ingesta promedio por habitante de 216 litros equivalentes/hab./año (año 2012) comparables con los de países desarrollados, lo que ha otorgado al mercado interno un papel preponderante en la evolución de la cadena en su conjunto (MAGyP, 2015). Así, por ejemplo, en el año 2012, la producción nacional de leche fue de 11.338 millones de litros (MAGyP, 2015), volumen que fue destinado en un 78% al consumo interno (8.918 millones de litros) y el restante a exportación (2.492 millones de litros) (Taverna y Fariña, 2013).

## Introducción

En la **Figura 1-1**, se muestra la evolución de la producción de leche de Argentina en el período 1993-2013. Considerando el período 2000-2013, se registra una tasa de crecimiento promedio anual de 1,21%, valor inferior al reportado durante las décadas 1980-1990 (2,7%) y 1990-2000 (5,8%). Puede observarse que en el año 2011, se produce una importante recuperación de la producción de leche, debido a la combinación de factores económicos y climáticos. Luego, a partir del año 2012, la producción de leche se estabilizó nuevamente y aunque no hay cifras oficiales aún, es probable que en el 2014 haya sido incluso inferior a la de 2011 (Galetto, 2015).

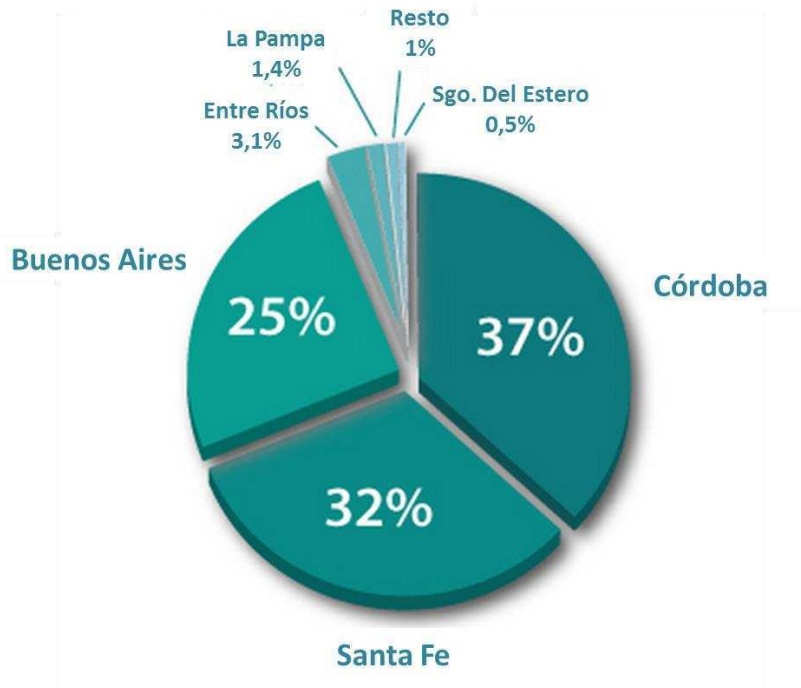


**Figura 1-1.** Evolución de la producción de leche en Argentina (1993 – 2013). MAGyP, (2015).

La producción láctea en Argentina se concentra en las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos y La Pampa. En la **Figura 1-2**, se puede observar la producción de leche por provincias en el año 2012. En éste año la producción fue liderada por Córdoba (37%), seguida por Santa Fe (32%) y Buenos Aires (25%). Las restantes provincias productoras aportan en su conjunto el 6% del total nacional (MAGyP, 2015).

## Introducción

En Argentina la producción de leche es continua, no existe una “estrategia de estacionalidad” como sucede en otros países. La industria, utiliza estímulos de tipo económico (base y excedente, mayor precio de la leche en el periodo invernal, etc.) e incentiva a los productores para que la producción remitida a fábrica resulte lo más estable posible a lo largo del año (Taverna y Fariña, 2013). En la etapa de industrialización se pueden distinguir dos vías de destino. Por un lado, la leche líquida, que representa el 17% del total producido a nivel primario, y que es procesada para la obtención de leche pasteurizada, esterilizada o chocolatada. Entre estos destinos, la leche pasteurizada es la que absorbe la mayoría (62,4%). Por otro lado, el grueso de la leche cruda es dirigido a la elaboración de productos lácteos (76%). Los quesos, el yogurt y la leche en polvo, absorben casi el 80% del total correspondiente; y de los restantes, el dulce de leche es el de mayor importancia (Castellano, 2014).



**Figura 1-2.** Producción de leche por provincias en Argentina (2012). MAGyP, (2015).

## Introducción

En los tres últimos decenios, la producción lechera mundial ha aumentado en más del 40%, pasando de 450 millones de toneladas en 1983 a 635 millones de toneladas en 2013. Los principales productores de leche en el mundo son los países de la comunidad Europea, seguidos de Estados Unidos (15%), India (7,1%), Rusia (6,5%), Brasil (4,6%) y Nueva Zelanda (FAO, 2015).

### **1.1.3. Composición de la leche**

La leche está constituida por agua, lípidos, proteínas, azúcares, vitaminas y minerales (**Tabla 1-1**), además de otras sustancias que están presentes en menor concentración y que en conjunto forman un sistema fisicoquímico estable; lo cual se debe a que todos sus ingredientes se encuentran en equilibrio, estableciendo diversos estados de dispersión. La mayor parte de los componentes de la leche no están presentes como moléculas en solución, en su lugar, se encuentran asociados en estructuras grandes y complejas. La composición de la leche varía considerablemente con la raza de la vaca, el estado de lactancia, alimento, época del año y muchos otros factores. Aun así, algunas de las relaciones entre los componentes son muy estables y pueden ser utilizados para indicar si ha ocurrido alguna adulteración en la composición de la leche.

**Tabla 1-1.** Composición y estado de dispersión de la leche (Fennema, 2010; Belitz, 2009).

<b>Componente</b>	<b>Composición promedio (%)</b>	<b>Tipo de dispersión</b>
Agua	86,6	-
Proteína	3,6	Solución coloidal
Lípidos	4,1	Emulsión Aceite/agua
Lactosa	5,0	Solución verdadera
Minerales	0,7	Solución verdadera

A continuación se realiza una breve descripción de los mismos.

## Introducción

### 1.1.3.1. Agua

El valor nutricional de la leche como un todo es mayor que el valor individual de los nutrientes que la componen debido a su balance nutricional único. La cantidad de agua en la leche refleja ese balance. En todos los animales, el agua es el nutriente requerido en mayor cantidad y la leche suministra una gran cantidad de agua, conteniendo aproximadamente 90% de la misma. La cantidad de agua en la leche es regulada por la lactosa que se sintetiza en las células secretoras de la glándula mamaria. El agua que va en la leche es transportada a la glándula mamaria por la corriente circulatoria. La producción de leche es afectada rápidamente por una disminución de agua y cae el mismo día que su suministro es limitado o no se encuentra disponible. Esta es una de las razones por las que la vaca debe tener libre acceso a una fuente de agua abundante todo el tiempo (Agrobit, 2014).

### 1.1.3.2. Proteínas

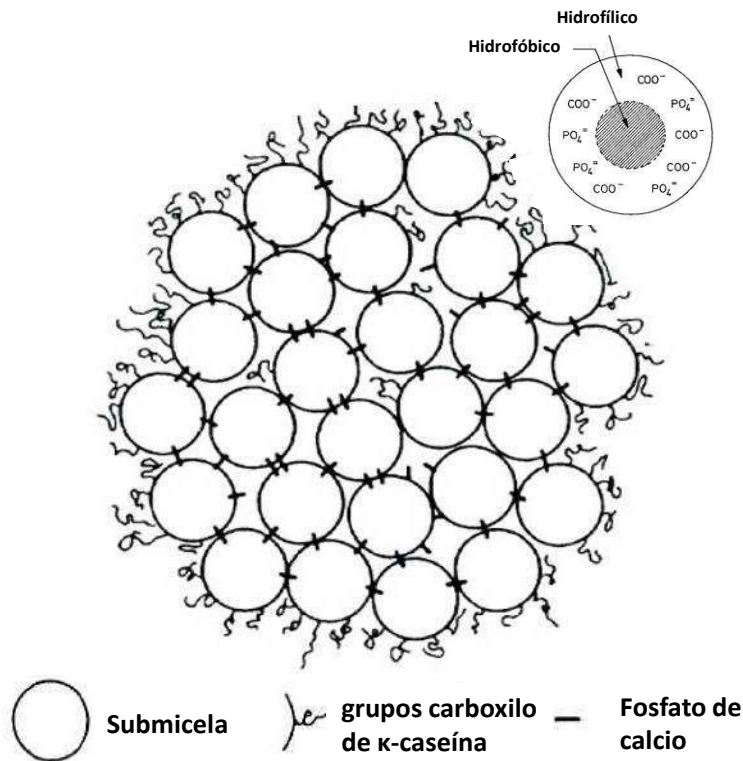
Las proteínas de la leche se pueden separar de acuerdo con su estado de dispersión en: caseínas, las cuales representan aproximadamente un 80% del total, y proteínas del suero o seroproteínas, con el 20% restante (O'Regan y col., 2009).

**A. Caseínas:** corresponden a fosfoglucoproteínas que precipitan a un pH de 4,6. Su estabilidad se debe a su fuerte carga electronegativa, que cuando se neutraliza en el punto isoeléctrico las hace inestables (Jensen, 1995; Baglio, 2014). Existen cuatro fracciones principales:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$  y  $\gamma$ . Las  $\alpha_s1$ ,  $\alpha_s2$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . Son llamadas “caseínas sensibles al calcio” por su baja solubilidad en presencia de altas concentraciones del mismo; contrario a la  $\kappa$ -caseína, la cual es insensible al calcio, otorgándole una función protectora y estabilizadora, que previene la precipitación de las caseínas  $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$  (Fox, 2001). Las caseínas interactúan entre sí formando una dispersión coloidal llamadas micelas. En la **Figura 1-3** se muestra la configuración de la micela descrita por Walstra y Jenness (1984). Las submicelas se enlazan entre sí mediante puentes salinos con el fosfato de calcio



## Introducción

coloidal e interacciones hidrofóbicas. Las moléculas de  $\kappa$ -caseína se orientan hacia el exterior de la micela con la parte hidrofílica constituyendo una “capa pilosa” que previene la agregación de la micela mediante un mecanismo de estabilización estérica y electrostática.



**Figura 1-3.** Modelo esquemático de una micela de caseína (Belitz, 2009; Walstra y Jenness, 1984).

**B. Proteínas del suero:** son compactas y globulares; solubles en un intervalo de pH muy amplio y en estado natural no se asocian con las caseínas. Sensibles al calor y en menor grado al pH ácido; contienen la mayoría de los aminoácidos y presentan un mejor balance de éstos que las propias caseínas (Walstra y col., 2006). Constan por lo menos de ocho fracciones diferentes, entre las cuales se destacan  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbúmina, las inmunoglobulinas, la seroalbúmina y las proteosa peptonas. La  $\beta$ -lactoglobulina influye en la estabilidad térmica de los productos lácteos (O'Regan y col., 2009). La  $\alpha$ -lactalbúmina es parte constitutiva del sistema enzimático requerido para la síntesis de la lactosa y se

## Introducción

desnaturaliza a 63°C (Fennema, 2010). Las inmunoglobulinas contribuyen a las propiedades antibacterianas naturales de la leche (Badui, 2006).

### 1.1.3.3. Lípidos

La leche contiene lípidos, de los cuales entre 97 a 98% son triglicéridos, por esto, sus propiedades físicas y químicas son un reflejo de los ácidos grasos (**Tabla 1-2**) que posee. Existe otros tipos de lípidos que se encuentran en menor concentración; entre los cuales se destacan los diacilglicéridos, monoacilglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos libres, esteroides y algunos hidrocarburos (Fagan y col., 2004).

**Tabla 1-2.** Principales ácidos grasos de la leche de vaca.

Ácidos grasos	% en peso	Ácidos grasos	% en peso
<b>Saturados</b>		<b>Monoinsaturados</b>	
Butírico	3,6	Miristoleico 14:1	1,3
Caproico 6:0	2,5	Palmitoleico 16:1	2,5
Caprílico 8:0	1,5	Oleico 18:1	15,2
Cáprico 10:0	3,6	<b>Poliinsaturados</b>	
Láurico 12:0	4,8	Linoleico 18:2	2,1
Mirístico 14:0	12,4	Linolénico 18:3	0,7
Pentadecanoico 15:0	1,4	<b>Ramificados, hidroxilados y otros</b>	
Palmítico 16:0	35,7	3,6	
Esteárico 18:0	9,1		

### 1.1.3.4. Carbohidratos

La lactosa es el principal carbohidrato en la leche. Sólo tiene aproximadamente el 15% del poder edulcorante de la sacarosa y contribuye junto con las sales, al sabor global de la leche. La lactosa se digiere un poco menos rápido que la mayoría de los azúcares,

## Introducción

pero en el tracto gastrointestinal parece ayudar a la absorción y asimilación del calcio, al igual que ayuda a mejorar la absorción del magnesio y del zinc (Fox y Mc Sweeney, 1998). También se han identificado pequeñas cantidades de glucosa, galactosa, sacarosa, cerebrósidos y aminoazúcares derivados de la hexosamina (Badui, 2006).

### *1.1.3.5. Minerales*

Son principalmente de cloruros, fosfatos, citratos y bicarbonatos de sodio, potasio, calcio y magnesio. Los complejos salinos de la leche poseen tamaños que oscilan desde los ultrafiltrables, incluyendo iones libres y complejos iónicos, hasta los que alcanzan tamaño coloidal, algunos de estos participan en la estructura de las micelas de caseína (Fennema, 2010).

### *1.1.3.6. Vitaminas*

En la leche se encuentran la mayoría de las vitaminas, aunque algunas de ellas están en concentraciones muy bajas. Las vitaminas liposolubles A, D, E y K se encuentran interaccionando con los glóbulos de grasa. Por su parte, las vitaminas hidrosolubles, tales como riboflavina, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, biotina, niacina, tiamina, folatos y ácido pantoténico, se encuentran en el suero. La vitamina C y la riboflavina son fotosensibles, y termolábil al igual que a la tiamina, mientras que el oxígeno afecta al ácido fólico. La vitamina A, y en menor grado la B<sub>6</sub>, son sensibles a la luz fluorescente (Badui, 2006).

### *1.1.3.7. Enzimas*

La leche contiene gran cantidad de enzimas, pero en pequeñas concentraciones. Se encuentran unidas a las micelas de caseínas o a la membrana del glóbulo de grasa, como en forma libre en el suero. Se han identificado más de 20, entre las cuales destacan: lipasas, fosfatasas alcalinas, catalasas, proteasas, y lactoperoxidasas.

## Introducción

### **1.1.4. Propiedades fisicoquímicas**

La leche es un líquido opaco de color blanco, el cual se atribuye a la reflexión de la luz por las micelas de caseína y el fosfato de calcio en suspensión coloidal y por los glóbulos de grasa en emulsión. Carotenoides y riboflavinas tienen influencia sobre el color, ya que le confieren tonalidades amarillas y verdes respectivamente (Belitz, 2009). La leche se comporta prácticamente como un fluido newtoniano, esta posee una viscosidad de 2 cP a 20 °C. El punto de congelación por efecto de los solutos (lactosa y sales), va desde - 0.53 a - 0.55°C, valor de referencia en los análisis crioscópicos para identificar adulteración de la leche. La acidez titulable normal es de 0,15 a 0,16 % ácido láctico, el pH es de 6,50 a 6,75 y cualquier cambio en estos valores indica una alteración del producto. La densidad específica oscila entre 1,029 y 1,039 g/mL (15°C), y ésta disminuye con aumento del contenido de grasa, y aumenta con el aumento de proteínas, lactosa y sales (Belitz, 2009; Badui, 2006).

### **1.1.5. Ecología microbiana**

La leche es un medio ideal para el crecimiento de microorganismos, a pesar de poseer varias sustancias antimicrobianas (lisozima, lactoferrina, lactoperoxidasa e inmunoglobulina), dado que las mismas se encuentran en muy baja concentración, como para tener un efecto sobre su calidad o seguridad. La leche de una vaca sana, normalmente posee una carga de  $10^2$  a  $10^3$  UFC/mL (Adams y Moss, 2008). Los grupos de bacterias más importantes que pueden encontrarse en la leche pueden dividirse en: bacterias fermentativas no esporoformadoras, esporoformadoras y psicrótrofas. Dentro de las bacterias fermentativas no esporoformadoras, se encuentran las bacterias lácticas y los coliformes.

Los géneros de bacterias ácido lácticas presentes más importantes son: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y su importancia radica al momento de la elaboración de productos lácteos. Las bacterias coliformes son los principales causantes de fermentaciones anormales durante los

## Introducción

procesos de elaboración de derivados lácteos, los géneros que comúnmente aparecen en la leche son: *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia* (Frazier y Westhoff, 1993). Las bacterias esporoformadoras en la leche son principalmente de los géneros *Bacillus* y *Clostridium* (presente en bajo nivel) y los defectos más comunes producidos por éstos son: coagulación dulce, sabor amargo y grumos en la crema (Adams y Moss, 2008). Las bacterias psicrótrofas, capaces de crecer a temperaturas de refrigeración, tienen como género más importante presente en la leche el de las *Pseudomonas*; éstas producen enzimas extracelulares, como proteasas y lipasas, produciendo defectos como: sabor amargo, pútrido, coagulación, rancidez y olor frutal. Dentro de las bacterias que pueden encontrarse en la leche de naturaleza patógena, se hallan *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella* spp., *Salmonella typhimorium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Escherichia coli* enteropatógena, *Listeria monocytogenes*; los cuales son causantes de graves enfermedades en los humanos, pero son destruidas durante el proceso de pasteurización (Frazier y Westhoff, 1993).

### **1.1.6. Valor nutritivo**

La leche proporciona un elevado contenido de nutrientes, aporta proteínas de alto valor biológico, lípidos, carbohidratos, vitaminas liposolubles y minerales. Sin embargo, no es un alimento totalmente completo, ya que su contenido de hierro y vitamina C es pobre. Presenta una composición equilibrada de aminoácidos, especialmente en esenciales; así pues, su valor biológico se encuentra alrededor del 80 – 90%. Contiene importantes cantidades de ácidos grasos de cadena corta y media, lo que facilita su digestibilidad; no obstante, posee un alto contenido en ácidos grasos saturados (mirístico, palmítico y esteárico) y colesterol, convirtiéndose en una desventaja para personas con problemas cardiovasculares y obesidad. La lactosa es el principal carbohidrato y tiene una función energética y un efecto beneficioso en la absorción intestinal de calcio. La leche es excelente fuente de calcio, además también es fuente de fósforo, zinc, sodio y potasio. Las vitaminas más destacables de la leche son la B12 y la riboflavina, seguidas de la vitamina A, la niacina y la piridoxina (FAO, 2013; Gil, 2010).

## Introducción

### **1.1.7. Procesamiento de la leche**

#### *1.1.7.1. Tratamiento térmico*

La aplicación de calor constituye uno de los procesos tecnológicos más simples y antiguos para la inactivación de microorganismos y de enzimas nativas que alteran el alimento. El tratamiento térmico tiene como objetivo principal la destrucción de microorganismos patógenos que puedan afectar seriamente la salud del consumidor. El tratamiento térmico de un alimento depende de: la termoresistencia de los microorganismos y enzimas presentes en el alimento, la carga microbiana inicial que contenga el alimento, el pH del alimento y el estado físico del alimento. Como resultado de esto, existen diversas tecnologías tradicionales de preservación que se viene aplicando desde antaño y entre las cuales se encuentran: escaldado, termización, pasteurización y esterilización, entre otros (Frazier y Westhoff, 1993; Tamime y Robinson, 2007; Adams y Moss, 2008).

En el caso de la leche, existen diferentes tratamientos, los cuales difieren en la temperatura y el tiempo de proceso empleados (**Tabla 1-3**). Los mismos se emplean de acuerdo con los requerimientos de las autoridades sanitarias de regulación, la industria y el consumidor. Antes del calentamiento, la leche cruda se somete a una centrifugación para eliminar partículas extrañas como células de las glándulas mamarias, leucocitos y otros posibles contaminantes; además, se somete a una estandarización del contenido de grasa (CAA, Capítulo VIII, Artículo 558).

La pasteurización es un tratamiento térmico que se utiliza desde comienzos del siglo XX, la cual se convirtió en una medida de seguridad imprescindible para eliminar los posibles microorganismos patógenos presentes en la leche, además de ayudar a prolongar su vida útil reduciendo la carga de microorganismos descomponedores. La pasteurización de la leche está calculada para la reducción de 12 ciclos logarítmicos de la *C. burnetii*, paralelamente a la destrucción de este patógeno también se eliminan microorganismos más termosensibles, como los coliformes, y se inactiva la fosfatasa alcalina, pero no así las esporas o la peroxidasa, ni las bacterias termoresistentes, como las lácticas.

## Introducción

**Tabla 1-3.** Tratamientos térmicos tradicionalmente utilizados en el procesamiento de leche (CAA, Capítulo VIII).

<b>Tipo de tratamiento</b>	<b>Temperatura - tiempo</b>	<b>Tipo de envasado</b>
Pasteurización (LTLT)	63°C por 30 min	No Aséptico
Pasteurización (HTST)	72°C por 15 s	No Aséptico
Ultrapasteurización (UHT)	138°C por 2 s	No Aséptico
Ultra Alta Temperatura (UAT)	130 - 150°C por 2 - 4 s	Aséptico
Esterilización	110°C por 20 min	No Aséptico

La pasteurización LTLT de sus siglas en inglés “Low Temperature Long Time” consiste en calentar la leche a temperaturas entre 62 y 64°C y mantenerla a esta temperatura durante 30 minutos, el uso de esta pasteurización lenta y discontinua es adecuada para procesar de modo artesanal pequeñas cantidades de leche hasta aproximadamente 2000 litros diarios, de lo contrario no es aconsejable ya que la leche se tiene que dejar enfriar lentamente y tiene que pasar por mucho tiempo para poder continuar con el proceso de envasado del producto, a veces más de 24 horas.

La pasteurización HTST, de sus siglas en inglés “High Temperature Short Time” consiste en someter a la leche una temperatura de 72 – 73°C por 15 a 20 segundos, generalmente en equipos que disponen de intercambiadores de calor donde la transferencia de calor tanto para el tratamiento térmico como para el proceso de enfriamiento es mucho más eficiente. Mediante este tratamiento se pueden procesar en forma continua grandes volúmenes de leche y por ser un sistema cerrado existe escasa probabilidad de contaminación del producto cuando se aplican buenas prácticas de procesamiento (Nasanovsky y col., 2009)

La ultrapasteurización o pasteurización UHT es un tratamiento a mayor temperatura, donde la leche se somete durante por lo menos 2 segundos a una temperatura de 138°C, mediante un proceso térmico de flujo continuo, y posteriormente es enfriada a menos de 5°C y envasada en forma no aséptica en envases estériles y

## Introducción

herméticamente cerrados. Con este tratamiento térmico se destruyen prácticamente todos los microorganismos, las toxinas y las enzimas más termorresistentes. Si bien no se consigue una completa esterilización (que es la ausencia total de microorganismos y de sus formas de resistencia), se consigue la denominada “esterilización comercial”.

En el tratamiento térmico de ultra alta temperatura (UAT) la leche homogeneizada, se somete a 130 - 150°C por pocos segundos (entre 2 y 4), utilizando flujo continuo, inmediatamente se enfría a menos de 32°C y se envasa bajo condiciones asépticas en envases estériles y herméticamente cerrados (CAA, Capítulo VIII, Artículo 560). El producto obtenido puede almacenarse cerrado sin refrigeración por periodos hasta de varios meses, siempre y cuando no se abra el envase. Por su parte, la esterilización elimina todos los microorganismos patógenos, incluyendo las formas esporuladas. Sin embargo, por el tiempo de exposición al calor y a las temperaturas altas, se alteran algunas propiedades organolépticas de la leche, como el color y sabor. También puede haber alteración en el valor nutritivo, por destrucción de algunas vitaminas, desnaturalizando proteínas, caramelizando azúcares de la leche (lactosa), etc. (Frazier y Westhoff, 1993; Adams y Moss, 2008).

En la pasteurización y en la ultrapasteurización, se desnaturalizan del 10 a 15% de las proteínas del suero (inmunoglobulinas y seroalbúminas) mientras que en la esterilización UAT, se desnaturalizan del 30 a 40% de las proteínas del suero (inmunoglobulinas, seroalbúminas y algo de  $\beta$ -lactoglobulina). La mayoría de los aminoácidos azufrados de la leche, se localizan en estas proteínas, responsables de la generación de ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) y de mercaptanos, típicos del olor y el sabor de las leches sobrecalentadas. Por otra parte, los tratamientos térmicos intensos en la leche favorecen la interacción entre la  $\beta$ -lactoglobulina y la  $\kappa$ -caseína, reacción deseable para la elaboración de yogurt (Tamime y Robinson, 2007).

### **1.2. Tecnologías emergentes**

Los métodos tradicionales de procesamiento térmico tales como la pasteurización y esterilización son utilizados con el propósito de eliminar microorganismos patógenos,



## Introducción

toxinas, inactivar enzimas de deterioro y generar productos seguros para el consumo humano. Sin embargo, es bien sabido que los mismos alteran severamente las características ideales de flavor, color y textura de los productos finales. Por otro lado, para satisfacer las tendencias modernas de consumo, la industria debe proveer productos de alta calidad organoléptica, nutricional y funcional con mayor apariencia de “naturales” o mejores características funcionales y por tanto estas operaciones enfrentarían objetivos contradictorios: por un lado una destrucción microbiana relevante y por otro el mantenimiento de la alta calidad en los aspectos mencionados. Para procesar y conservar alimentos que cumplan con esta demanda, deben efectuarse modificaciones en los procesos de conservación tradicionales, hecho que tiene implicancias desde el punto de vista microbiológico.

Actualmente, el desarrollo de tecnologías alternativas de preservación denominadas tecnologías emergentes; están destinadas a producir alimentos seguros, manteniendo sus cualidades nutricionales y sensoriales, debido a que la mayoría de las veces, entregan cantidades menores de energía y apuntan más específicamente a cambios bioquímicos (Lado y Yousef, 2002; Orłowska y col., 2013). Estos procesos incluyen métodos como la utilización de campos eléctricos, altas presiones, luz ultravioleta, campos magnéticos oscilantes, pulsos de luz, ultrasonido, radiaciones ionizantes, microondas y calentamiento óhmico (**Tabla 1-4**). Estas tecnologías tienen aplicaciones específicas en términos del tipo de alimento que puede ser procesado, algunas de las cuales se están implementando en la industria y otras están siendo investigadas. Además de la luz ultravioleta, algunas tecnologías mencionadas en la **Tabla 1-4**, han sido aplicadas al procesamiento de leche. Es el caso del Comité Asesor Nacional sobre Criterios Microbiológicos para Alimentos de los Estados Unidos, NACMCF (2006), que aprueba el

## Introducción

**Tabla 1-4.** Tecnologías emergentes más utilizadas para el procesamiento y conservación de alimentos (Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre, 2010).

<b>Tecnología</b>	<b>Principio Básico</b>	<b>Mecanismo de inactivación</b>	<b>Estado</b>	<b>Unidades</b>
<i>Altas presiones hidrostáticas</i>	Importante aumento de la presión con tratamiento corto	Quiebre en la pared celular, cambios en la morfología celular	Aprobado para pasteurización y esterilización de alimentos	MPa
<i>Irradiación</i>	Ionización, disociación, y excitación	Daño en el ADN	Utilizado en más de 50 países; en 240 productos	KGray
<i>Microondas</i>	Proceso electrotérmico	Calor	Aprobado por la FDA	°C
<i>Calentamiento óhmico</i>	Corrientes eléctricas se transmiten a través del alimentos	Calor	Aprobado para la pasteurización de huevos líquidos	°C/s
<i>Ozono</i>	Solución acuosa o fase gaseosa	Poder oxidativo y radicales libres	Aprobado para agua y otras aplicaciones bajo investigación	ppm
<i>Campos eléctricos pulsados</i>	Aplicación de campos eléctricos de alta intensidad en microsegundos	Electropermeabilización de células (reversible o irreversible)	Bajo investigación	kV/cm
<i>Ultrasonido</i>	Generación de ondas de sonido en un medio líquido, produciendo miles de burbujas	Permeabilidad de la membrana, ruptura de las células, generación de radicales libres	Bajo investigación	μm
<i>Luz Ultravioleta</i>	Exposición del producto a luz UV	Mutación del ADN de las células	Aprobado para agua y jugos, bajo investigación para otros productos	J/m <sup>2</sup>
<i>Pulsos de Luz</i>	Aplicación de pulsos de muy corta duración (ms) de un amplio espectro de luz, rico en luz UV-C	Daño en el ADN y ARN	Aprobado por la FDA	J/cm <sup>2</sup>

## Introducción

uso de microondas (71°C durante 10 min) para inactivación de *Listeria monocytogenes* en leche cruda, obteniendo como resultado la inactivación completa de dicha bacteria (8 -9 reducciones decimales), pero encontrando como desventaja la falta de uniformidad de la distribución de temperatura durante todo el proceso de microondas. Por otra parte, Sun y col. (2008), estudiaron la inactivación de *Streptococcus thermophilus* en leche descremada procesada por calentamiento óhmico a tres diferentes condiciones de proceso (70°C/30 min, 75°C/15 min y 80°C/1 min). Estos autores reportaron que *Streptococcus thermophilus* se inactivó más rápidamente en la leche procesada con calentamiento óhmico en comparación con el tratamiento térmico tradicional a las mismas condiciones de temperatura y tiempo.

En general, muchas de estas técnicas emergentes, aplicadas a niveles tales que no impacten significativamente en la calidad del alimento, sólo pueden pensarse en el marco de sistemas combinados o multifactoriales de conservación para lograr mayor reducción en la población microbiana y/o la inhibición del crecimiento de la flora resistente a alguno(s) de los factor(es) de inactivación (Guerrero y col., 2015).

La Administración Federal de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, 2000) realizó una evaluación crítica de la información científica disponible acerca de las tecnologías emergentes. Se analizaron los factores críticos de los procesos y se describieron los aspectos más relevantes a investigar para cada tecnología entre los que se destacaron la ausencia de protocolos experimentales estandarizados para obtener datos cinéticos confiables y el desconocimiento sobre los modos de acción de las distintas tecnologías y sobre la sinergia, aditividad o antagonismo de la combinación de procesos alternativos entre sí o con otros factores tradicionales antimicrobianos.

El Comité Asesor Nacional sobre Criterios Microbiológicos para Alimentos de los Estados Unidos (NACMCF, 2004), estableció además, una serie de requisitos para generar equivalencias de varios métodos alternativos con la pasteurización. En el mismo, se discuten para cada tecnología emergente: los criterios científicos necesarios para establecer las equivalencias; la investigación futura necesaria; los microorganismos de importancia pública más reconocidos; qué datos deben ser adquiridos y que modelos

## Introducción

deben ser utilizados para una correcta validación y que peligros biológicos involucraría su utilización.

### **1.2.1. Tecnologías combinadas de preservación**

La estabilidad microbiológica y la calidad sensorial de la mayoría de los alimentos, están basados en la combinación de factores de preservación. Esto es cierto, tanto para alimentos tradicionales con factores empíricos inherentes, como para productos nuevos para los cuales se han seleccionado racionalmente los factores de estrés y se han aplicado intencionalmente (Alzamora y col., 2000).

El objetivo de las tecnologías combinadas o de obstáculos, es seleccionar y combinar factores de preservación o barreras de forma tal que la estabilidad y seguridad microbiológica puedan ser garantizadas, reteniendo las características nutritivas y la aceptación sensorial (Leistner, 1992). Este método usa varias barreras que separadamente pueden no dar una adecuada preservación, pero que cuando se las combina pueden brindar la protección necesaria. Las barreras pueden incluir la disminución de la temperatura, pH o actividad de agua (por adición de por ejemplo NaCl o azúcares); el calentamiento mínimo; o la adición de antimicrobianos (Leistner, 1995). Para que este concepto sea aplicado exitosamente, es necesario cuantificar la influencia de los distintos factores sobre el crecimiento microbiano. La aplicación de este concepto ha sido muy exitosa en los últimos años, dentro del conjunto de tecnologías de preservación de mínimo procesamiento, y ello ha sido posible debido a los grandes avances ocurridos en el conocimiento del modo de acción de los distintos factores de preservación y de su interacción en los microorganismos (Alzamora y col., 2015).

La estabilidad u homeostasis del medio interno (composición y volumen de los fluidos) es vital para la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos. En los alimentos preservados por factores combinados, la homeostasis activa de los microorganismos vegetativos y la homeostasis refractaria pasiva de las esporas se interfieren en “un número de sitios” o de “manera cooperativa”, utilizando una combinación de factores de conservación, aplicando cada uno de ellos en forma no letal,

## Introducción

disminuyendo la severidad de los tratamientos. Por ejemplo, en el caso de células vegetativas, se reduce la disponibilidad de energía (removiendo O<sub>2</sub>, limitando nutrientes, reduciendo la temperatura) y/o se incrementa la demanda de energía (reduciendo a<sub>w</sub> y pH, añadiendo compuestos activos a nivel de membrana). Para esporas, la idea es dañar estructuras claves (por ataque químico, enzimático o físico sobre el cortex) o provocar la germinación de las mismas (con “falsos disparadores”, por aplicación de altas presiones, etc.) (Gould, 1995). Como se comentó antes, este concepto de combinación no sólo se aplica a la estabilidad microbiológica, sino que se hace extensivo a la calidad total. También desde el punto de vista microbiológico, el concepto se ha tornado más abarcativo y se refiere no sólo a la interferencia de la homeostasis por barreras sinérgicas o aditivas sobre un mismo microorganismo, sino a la aplicación selectiva de factores de conservación que puedan ser efectivos contra un organismo específico o un grupo de microorganismos solamente. Es así, que en los últimos años, un gran número de publicaciones en la literatura internacional se refiere a la utilización de este concepto con distintas finalidades: optimizar tecnologías tradicionales; desarrollar nuevos productos y como medida de seguridad o “back-up” para asegurar la calidad microbiológica de alimentos mínimamente procesados (Alzamora y col. 2015).

A continuación se describen los factores tradicionales y emergentes que se han utilizado en combinación en esta tesis para procesar leche.

### **1.2.2. Luz Ultravioleta**

Como radiación se define a la propagación y emisión de energía a través del espacio o la materia. El espectro electromagnético contiene diferentes tipos de radiación de distinto poder de penetración, frecuencia y longitud de onda. La luz visible constituye solamente una estrecha banda del espectro la cual incluye: las ondas de radio, rayos infrarrojos, luz ultravioleta, rayos X, radiación gamma y los rayos cósmicos (**Figura 1-4**). A excepción de las bacterias fotosintéticas, la mayoría de los microorganismos son susceptibles al daño por la radiación ultravioleta. La luz UV constituye parte de la radiación electromagnética en un rango de 100 a 400 nm del espectro (**Figura 1-4**) y se

## Introducción

aplicó inicialmente para la desinfección de agua potable, encontrándose que era eficaz contra muchos patógenos, virus, levaduras y protozoos.

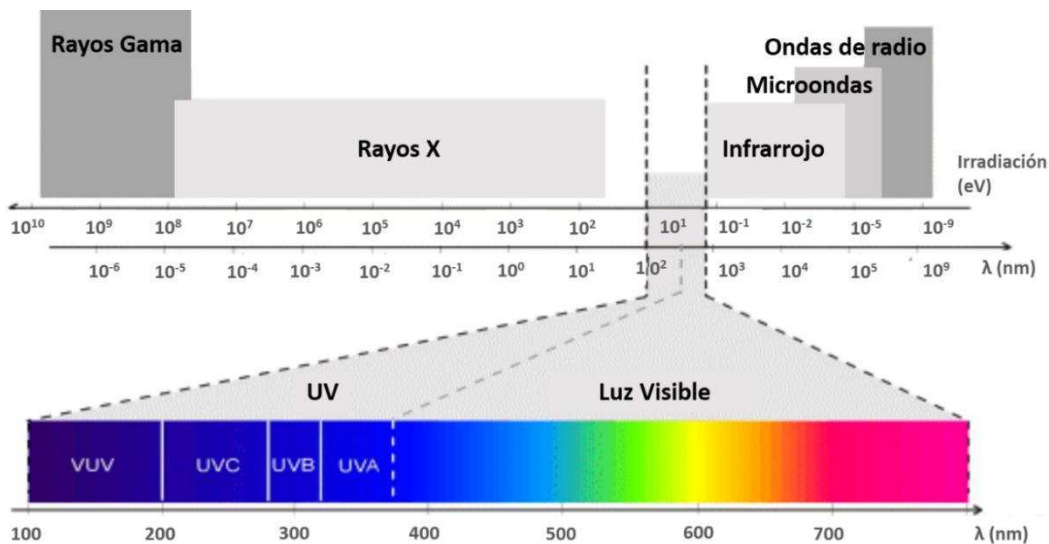
Por cuestiones prácticas el espectro de UV se subdivide en cuatro regiones (Bolton, 2004; Bolton y Cotton, 2011; Orłowska y col., 2013):

**UV de vacío (100-200 nm):** fuertemente absorbida por el agua o el oxígeno del aire. Se absorbe en unos pocos centímetros por el oxígeno del aire y conduce a la generación de ozono (O<sub>3</sub>).

**UV-C (200-280 nm):** es absorbida por el ADN y ARN de los microorganismos y conduce a su inactivación, es la radiación de mayor interés en la elaboración de alimentos, debido a su efecto germicida (Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre, 2010).

**UV-B (280-315 nm):** región perjudicial para el ser humano, debido a que puede causar quemaduras en la piel y daño directo al ADN de las células, sin embargo esta fracción de la luz UV es la que induce la formación de la vitamina D en la piel.

**UV-A (315-400 nm):** Constituye el 98,7% de la radiación proveniente del sol que alcanza la superficie de la tierra. Es capaz de provocar daño indirecto al ADN de las células.



**Figura 1-4.** Espectro de radiación electromagnética con una división del espectro de luz visible y luz UV (Koutchma y col., 2009).

## Introducción

### 1.2.2.1. Mecanismo de generación de luz UV-C

La luz es una radiación electromagnética que se desplaza en forma de longitudes de onda. Esta energía viaja en trayectorias rectilíneas y en todas las direcciones desde su fuente de emisión (López-Malo y Palou, 2004). Ésta puede ser considerada como una corriente de energía, y la cantidad de energía emitida ( $E$ ) por una corriente de luz es un factor de su frecuencia y longitud de onda, como se describe en la siguiente ecuación:

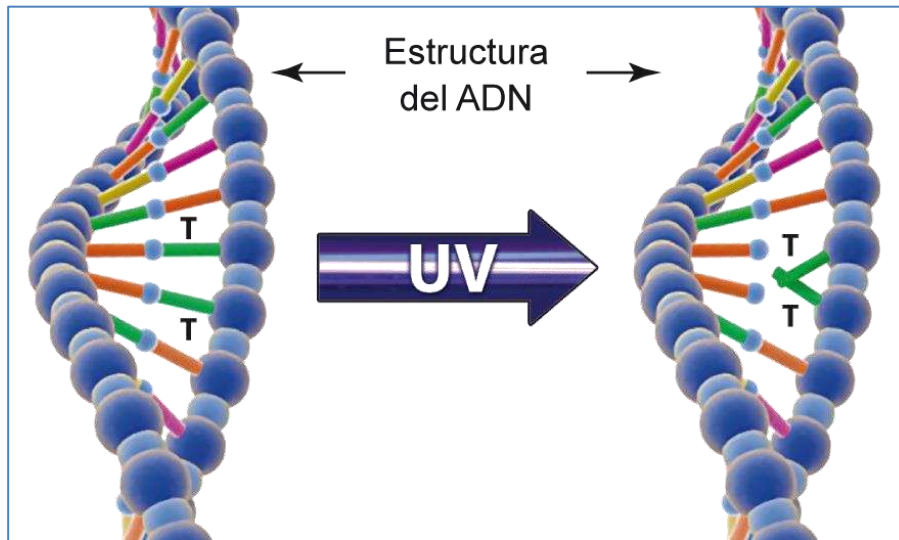
$$E = h.f = h.c/\lambda \quad (1.1)$$

Donde  $h$  es la constante de Planck ( $6,23 \times 10^{-34}$  J.s);  $f$  es la frecuencia,  $c$  la velocidad de la luz ( $2,998 \times 10^8$  m/s) y  $\lambda$  es la longitud de onda de la radiación (m).

Cuando la luz se absorbe en la materia, se produce cambios químicos o físicos, pero los átomos y las moléculas, solo absorben aquellas longitudes de onda que proporcionan la cantidad adecuada de energía para cambiar su estado (Bolton, 2004).

### 1.2.2.2. Efecto germicida de la luz UV-C

Los microorganismos son inactivados por la luz UV-C como resultado del daño fotoquímico a sus ácidos nucleicos (**Figura 1-5**). La radiación UV-C es absorbida por los nucleótidos, los bloques constitutivos del ADN y ARN de la célula, según la longitud de onda, con los valores más altos cerca de 200 y 260 nm (Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre, 2010; Wright y Cairns, 1998). La luz UV-C absorbida promueve la formación de enlaces entre nucleótidos adyacentes, con lo que se crean moléculas dobles o dímeros. La formación de un número suficiente de dímeros dentro de un microorganismo impide que éste replique su ADN y ARN, lo que impide su reproducción (Wright y Cairns, 1998; López-Malo y Palou, 2004; Adams y Moss, 2008). Como se explicó anteriormente, el daño principal que causa la radiación UV-C es en la molécula de ADN, pero también se puede afectar las proteínas, alterando así sus funciones básicas dentro de la célula (Matak, 2004).



**Figura 1-5.** Daño celular provocado por radiación UV-C.

### 1.2.2.3. Susceptibilidad de los microorganismos a la luz UV-C

Las variables más importantes que afectan la efectividad antimicrobiana de la luz UV-C incluyen: el tipo y densidad del microorganismo, los medios de crecimiento, el recuento inicial, el estado fisiológico del microorganismo y la composición del alimento (Schenk, 2010).

En estudios sobre la inactivación de microorganismos con luz UV-C, los más resistentes parece ser mohos y levaduras (Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre, 2010; Schenk, 2010), esto debido a los pigmentos protectores presentes. En general, la resistencia a la radiación UV-C sigue el patrón: Gram-negativos < Gram-positivos ≈ levaduras < bacterias esporoformadoras < esporas de moho < virus (López-Malo y Palou, 2004; Adams y Moss, 2008).

La mayoría de los microorganismos que tienen un sistema metabólico funcional poseen diversos mecanismos de reparación de los ácidos nucleicos dañados que se realiza mediante luz visible u oscuridad. La reparación que utiliza la luz se conoce bajo la denominación *fotoreparación* ó *fotoreactivación* y requiere exposición a la luz visible, concretamente al rango de 330-430 nm. Ocurre mediante la acción de la enzima fotoliasa,



## Introducción

la cual debe activarse en el UV cercano o en el azul-violeta de la región visible del espectro. Para alimentos, este mecanismo de reparación es importante dado que muchas veces se envasan en material transparente y están expuestos a la luz. Otro mecanismo, es el proceso de reparación en oscuridad. Se refiere a la capacidad de reparación del ADN de los microorganismos sin la participación de la enzima fotoliasa. Estos métodos no son exclusivos para la reparación del daño causado por radiación ultravioleta y pueden prevenir a la célula de mutaciones (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004).

### 1.2.2.4. Medición de la dosis de UV-C

Cuando se quiere evaluar la energía de irradiación recibida por la muestra generalmente se mide la irradiancia o la tasa de fluencia. La irradiancia es definida como la energía de radiación total incidente que llega en dirección perpendicular a un elemento infinitesimal de superficie de área  $dA$  que contiene el punto en consideración dividido por  $dA$ . Por otro lado, la tasa de fluencia se define como la energía de radiación total incidente que llega de todas direcciones a una esfera pequeña infinitesimal con un área de sección  $dA$ , dividido por  $dA$ . Este último término es más apropiado para la desinfección UV-C, ya que el microorganismo puede recibir la irradiación desde cualquier dirección (Bolton y Linden, 2003). La unidad de irradiancia y de tasa de fluencia en el Sistema Internacional es  $W/m^2$ .

El término *dosis de UV* es utilizado universalmente en la literatura y se obtiene multiplicando la irradiancia o la tasa de fluencia, si se mantienen constantes, por el tiempo de exposición a la radiación. Sin embargo, la dosis de UV es un término que en otros contextos es usado para describir la energía total absorbida. En el caso de los microorganismos casi toda la luz ultravioleta incidente pasa a través del organismo y sólo un porcentaje es absorbido. Por lo tanto, el concepto de fluencia es apropiado ya que se relaciona con la energía UV “incidente” en vez de la energía UV “absorbida” (Bolton, 2004).

La medición de la dosis de radiación UV-C puede llevarse a cabo por diferentes métodos. Uno de los ellos se basa en la medición con un radiómetro, que es un aparato

## Introducción

que consta de un dispositivo selectivo el cual permite separar la parte del espectro de emisión que se desea medir y un detector fotosensible que permite transformar la energía incidente en una medida de voltaje o corriente (Shama, 2007). Otra de las alternativas es la medición por actinometría, esta técnica se basa en la medición de la luz UV incidente a través de una reacción fotoquímica, para la cual la cantidad de moléculas de producto formado por fotones absorbidos está bien establecida. Por lo tanto, un actinómetro es una reacción fotoquímica o sistema químico donde la eficiencia cuántica (rendimiento cuántico) es conocida. La medición del rendimiento químico después de la exposición a la luz permite conocer el flujo de fotones incidentes (Bolton y Cotton, 2011). Uno de los actinómetros químicos comúnmente utilizados es el par ioduro-iodato (Rahn, 1997). La ventaja del uso del radiómetro es su fácil manejo y rápida obtención de los datos, mientras que las ventajas que posee el método actinométrico en relación a la radiometría es su bajo costo y además no requiere de calibraciones periódicas con respecto a un estándar ya que la eficiencia cuántica de los actinómetros no varía para un conjunto de condiciones (Bolton y Linden, 2003).

### *1.2.2.5. Fuentes de luz UV-C*

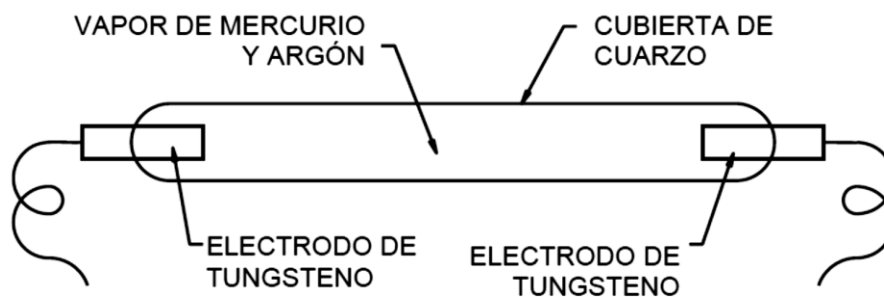
Si bien el sol es una fuente de luz ultravioleta, la absorción de la radiación de onda corta por parte de la capa de ozono de la tierra impide que cantidades significativas alcancen la superficie de la tierra. Es necesario recurrir a fuentes artificiales, las más comunes son lámparas de arco de mercurio de baja y mediana presión (**Figura 1-6**) (Bouslimi y col., 2012). Una lámpara típica de arco de mercurio (**Figura 1-7**) consiste de un tubo de sílice vítrea o cuarzo, ambos transmisores de UV, herméticamente cerrado y con electrodos a ambos extremos. El tubo se llena con una pequeña cantidad de mercurio y un gas inerte, usualmente argón. Los electrodos están compuestos usualmente de tungsteno con una mezcla de metales de alcalinos para facilitar la formación del arco dentro de la lámpara. Se logra una descarga de gas mediante la aplicación de un voltaje elevado a través de los electrodos. La lámpara emite luz UV cuando el vapor de mercurio, excitado por la descarga, retorna a un nivel menor de energía. El argón presente ayuda a encender

## Introducción

la lámpara, extender la vida del electrodo, y reducir las pérdidas térmicas, pero no contribuye en sí a la emisión de luz UV por parte de la lámpara (Wright y Cairns, 1998).



**Figura 1-6.** Lámparas de luz UV-C.



**Figura 1-7.** Componentes de una lámpara de arco de mercurio.

### *1.2.2.6. La radiación UV-C en la preservación de los alimentos*

La Luz UV-C se utiliza en diferentes sectores de la industria de alimentos, gracias a su efecto bactericida (López-Malo y Palou, 2004; Koutchma y col., 2009). El uso de la

## Introducción

misma como tecnología de preservación es relativamente nuevo. La utilización de luz UV-C como alternativa a la cloración del agua es muy popular en varios países europeos y en los EE.UU desde hace unas décadas (Bolton, 2004; Bolton y Cotton, 2011; Orłowska y col., 2013). La radiación UV-C se usa para la desinfección de grandes cantidades de microorganismos en aguas potables y residuales y también en piscicultura (Bolton, 2004). En la industria alimentaria, farmacéutica y hospitales se usa para esterilización de superficies, utensilios, aire y también material de empaque. En los EE.UU ya está aprobado el uso de la misma para el tratamiento establecido de 5 ciclos logarítmicos de reducción del patógeno más resistente en jugos frutales y vegetales con el requerimiento adicional de flujo turbulento (FDA, 2000). Actualmente, esta tecnología se emplea tanto para la preservación de alimentos líquidos como sólidos (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004; Koutchma y col., 2009; Schenk, 2010), pero la mayor cantidad de estudios se reportan para el tratamiento de alimentos líquidos tales como soluciones azucaradas (Fan y Geveke, 2007), huevo líquido (Ngadi y col., 2003) y jugos de frutas (Choi y Nielsen, 2005; Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas 2005; Koutchma y col., 2007; Mytilinaki, 2008; Char y col., 2010). En leche, su utilización como método de preservación ha sido más limitada (Matak y col., 2007; Cilliers y col., 2014).

La tecnología de luz UV-C, también se aplica como tratamiento postcosecha a frutas frescas, verduras y raíces en dosis más bajas (0,12 a 9 KJ/m<sup>2</sup>) que las utilizadas en la irradiación de alimentos con efectos germicidas (García Loredó, 2011). Con este tipo de tratamiento postcosecha, se busca reducir el recuento inicial de microorganismos en la superficie del producto y a su vez producir un fenómeno denominado “efecto hormético”, el cual se basa en mejorar la resistencia al ataque de ciertos microorganismos tales como mohos y levadura, ya que estimula la producción de fenilalanina amonio-liasa (PAL) (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004).

### *1.2.2.7. Ventajas y limitaciones del uso de luz UV-C*

Algunas de las ventajas importantes de la utilización de luz UV-C como método de preservación se describen a continuación: es una tecnología limpia, no genera residuos

## Introducción

químicos, ni radioactividad residual en el producto; es una opción económica para la desinfección, ya que tiene bajo consumo de energía, bajo costo de inversión, funcionamiento y mantenimiento. Además, es un proceso frío o de escasa elevación de la temperatura, que no causa daño térmico al producto (Koutchma y col., 2009).

En cuanto a las limitaciones de la utilización de luz ultravioleta, debe tenerse en cuenta que la inactivación de microorganismos por luz UV-C es dependiente de la dosis aplicada, la transmitancia, y la composición del alimento. El poder de penetración de la luz UV disminuye cuando se tratan líquidos opacos y/o tienen sólidos en suspensión. La baja transmitancia está asociada a la concentración inicial de microorganismos, partículas en suspensión, color y composición del producto (Koutchma y col., 2009; Orłowska y col., 2013). Además, la luz UV-C no es muy eficaz en alimentos de superficies porosas y rugosas, ya que sirven de escudo a los microorganismos frente a la luz UV. Los microorganismos pueden reparar los efectos destructivos de la radiación UV mediante un mecanismo de reparación, también conocido como fotoreactivación o, en ausencia de radiación, como reparación en oscuro (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004).

En cuanto a los cambios organolépticos que pudiera introducir el uso de la radiación ultravioleta, es conocido que promueve la oxidación de lípidos en carne y leche a través de reacciones fotoquímicas (Bolton, 2004). Koutchma y col. (2004) reportaron que no se observó diferencia entre sidra de manzana tratada con luz UV-C y un control, utilizando un panel de evaluación sensorial. Oteiza (2007), trabajando con dosis de luz UV-C de  $1,60 \text{ J/cm}^2$  para irradiar jugo de naranja concluyó que la calidad sensorial del jugo tratado fue similar a la del jugo exprimido fresco sin tratar que se utilizara como control.

### *1.2.2.8. Utilización de luz UV-C en el procesamiento de leche*

A pesar de que la luz UV-C se aplica más eficientemente para líquidos transparentes, algunos estudios demuestran la inactivación eficiente de algunos microorganismos de relevancia tales como *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* en leche (Milly y col., 2007; Matak y col., 2005).

## Introducción

Es sabido que el uso de dosis acumuladas para inactivar microorganismos puede generar cambios indeseables en la leche, tales como off-flavors, oxidación y rancidez hidrolítica (Matak y col., 2007). Debido a la opacidad de la leche, se limita la penetración de la luz UV-C, y por lo tanto, la mayoría de los microorganismos no pueden recibir la misma dosis, además, la presencia de proteínas y glóbulos de grasa en la leche puede comportarse como una sombra, protegiendo estos microorganismos de la radiación ultravioleta (Milly y col., 2007). La información relativa a los cambios fisicoquímicos es muy limitada, pero debido al principio de acción del tratamiento algunas reacciones de fotodegradación podrían ocurrir en la leche, ocasionando cambios en proteínas, aminoácidos, riboflavina, y vitaminas A y C (Matak, 2004; Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre, 2010).

### **1.3. Oxidación de lípidos en leche**

Es la principal causa de deterioro no microbiano en los alimentos y se ha considerado la causa más común del mal sabor en la leche (Matak, 2004; Smet y col., 2008). Ésta se produce por dos mecanismos principales; 1) autooxidación de radicales libres de los lípidos insaturados con oxígeno triplete, y 2) oxidación de lípidos de la leche con el oxígeno singulete (Matak, 2004; Schaich y col., 2013).

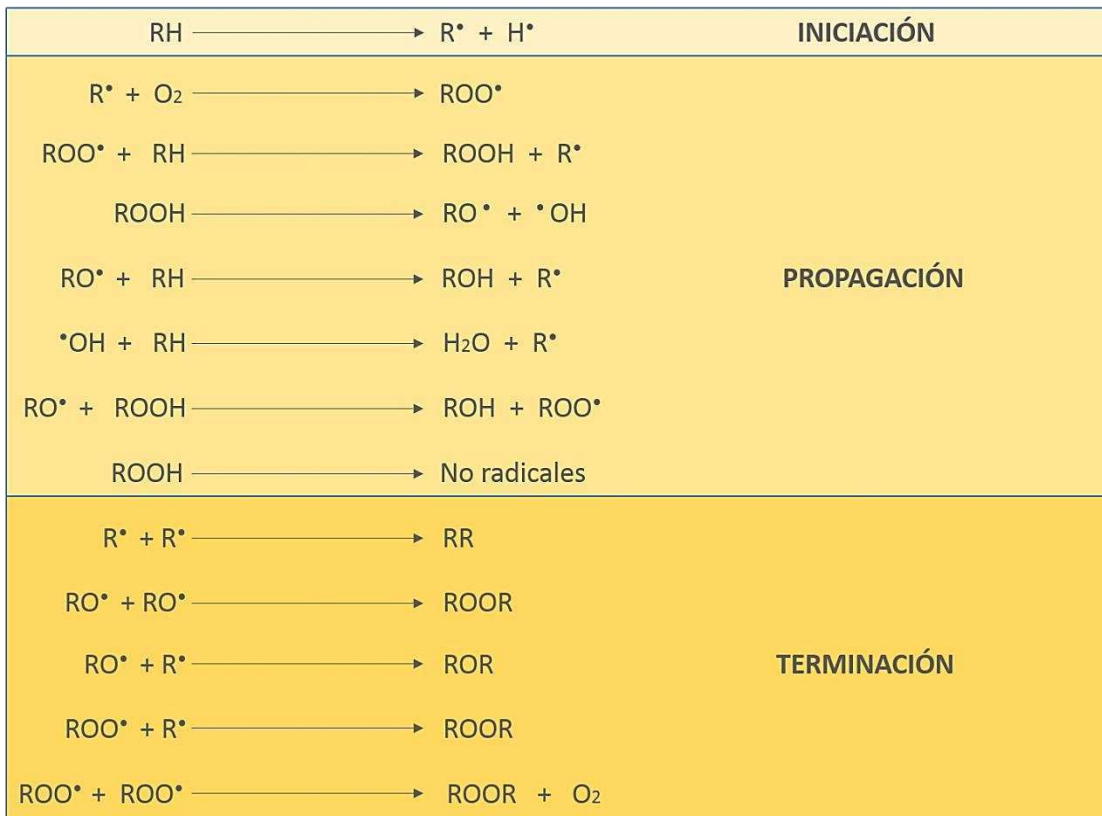
#### **1.3.1. Mecanismo de oxidación de lípidos**

Se cree que la “autooxidación” es la principal de las reacciones implicadas en el deterioro oxidativo de los lípidos (Fennema, 2010). Ha sido reconocida como una reacción en cadena de radicales libres que se produce en tres etapas: iniciación, propagación y terminación (**Figura 1-8**) (Matak, 2004; Badui, 2006; O’Brien y O’Connor, 2011; Schaich y col., 2013).

La reacción es iniciada por la presencia de luz, oxígeno, metales de transición, radiación, calor y otros radicales libres (Scheidegger y col., 2010; O’Brien y O’Connor, 2011; Schaich y col., 2013). Los hidroperóxidos producidos en la propagación, son relativamente

## Introducción

inestables y participan en numerosas y complejas reacciones de degradación (Fennema, 2010), su descomposición es comúnmente catalizada por pro-oxidantes (Laguerre y col., 2007; O'Brien y O'Connor, 2011). La reacción termina sí, se agota el suministro de moléculas de RH y el oxígeno se convierte en limitante, los radicales reaccionan entre sí para generar productos finales no radicales, o si los radicales reaccionan con moléculas antioxidantes (Laguerre y col., 2007).



**Figura 1-8.** Mecanismo de autooxidación lipídica.

### 1.3.1.1. Fotooxidación

Se produce cuando un fotosensibilizador, como por ejemplo riboflavina en presencia de luz, transfiere energía al oxígeno triplete ( $^3O_2$ ), excitándolo hacia un estado altamente reactivo, oxígeno singulete ( $^1O_2$ ). La formación de hidroperóxidos por el oxígeno singulete tiene lugar vía mecanismos distintos a los que transcurre en la autooxidación por

## Introducción

radicales libres. El más importante es la reacción “eno”, que implica la formación de un estado de transición hexagonal. Así se inserta oxígeno en los extremos del doble enlace, produciéndose desplazamientos que dan origen a un hidroperóxido alílico en la configuración trans. Una vez formados los hidroperóxidos, prevalece el mecanismo de reacción en cadena del proceso de autooxidación (**Figura 1-8**) (Matak, 2004; Fennema y col., 2010).

### **1.3.2. Factores que afectan la oxidación de los lípidos en la leche**

Muchos factores son responsables de la estabilidad oxidativa de la leche, entre los que se encuentra: el oxígeno, el grado de insaturación de los ácidos grasos, la presencia de antioxidantes y prooxidantes, la naturaleza del material de embalaje, la exposición a la luz y la temperatura de almacenamiento (Laguerre y col., 2007; Smet y col., 2008; O’Brien y O’Connor, 2011). Algunos de ellos se describen brevemente a continuación:

**Oxígeno:** indispensable para el deterioro oxidativo de los lípidos, se encuentra presente en la fase grasa de la leche. La eliminación de oxígeno a partir de tratamiento con vacío o su sustitución por un gas inerte, reduce el desarrollo de sabores oxidados (O’Brien y O’Connor, 2011).

**Temperatura:** la velocidad de oxidación aumenta con la temperatura, ya que ésta influye también en la relación entre la velocidad y la presión parcial de oxígeno (Laguerre y col., 2007).

**Luz:** el grado de oxidación, es una función de la longitud de onda, la intensidad y duración de dicha exposición (O’Brien y O’Connor, 2011). El rango del espectro electromagnético entre 280 nm y 780 nm, son consideradas las principales responsables de la oxidación inducida por la luz en la leche y productos lácteos (Matak, 2004; van Aardt y col., 2005b).



## Introducción

**Metales:** cobalto, cobre, hierro, manganeso y níquel, son prooxidantes muy eficaces y una amplia variedad de estos iones metálicos se encuentran en la leche (Hedegaard y col., 2006).

**Antioxidantes:** sustancias que pueden retardar o inhibir la oxidación de los lípidos, algunos ejemplos son: flavonoides, ácido ascórbico, tocoferoles, tioles y carotenoides (Laguerre y col., 2007).

### **1.3.3. Generación de productos de oxidación en la leche**

La leche se caracteriza por tener un agradable sabor ligeramente dulce. Sin embargo, esto hace que sea susceptible a una variedad de defectos de sabor. Muchos productos de carbonilo pueden producirse durante la autooxidación lipídica de la leche (van Aardt y col., 2005b; O'Brien y O'Connor, 2011). Por lo tanto, el sabor producido por la autooxidación lipídica es la combinación de muchos sabores, impartidos por compuestos volátiles como: n-pentanal, n-hexanal, 2-octenal, 2-nonenal, 2,4-heptadienal, y 2,4-nonadienal (Clark y col., 2009). Hedegaard y col. (2006), mostraron por medio de una correlación entre análisis sensorial y análisis químico (TBARS, ADV, ERS, etc.) que los descriptores típicos para los off-flavor producidos por la oxidación son cartón, sabor metálico y leche hervida. Entre tanto, otros autores han descrito estos off-flavor como quemado, pluma quemada, col, cabra, abono, apestoso, champiñón, césped y corral (van Aardt y col., 2005b; Matak y col., 2007; Clark y col., 2009; O'Brien y O'Connor, 2011).

### **1.3.4. Métodos de medida de la oxidación lipídica**

Existen numerosos métodos para su evaluación (Scheidegger y col., 2010), los cuales varían desde evaluaciones sensoriales sencillas, hasta análisis químicos o físicos más complejos (Pegg, 2001a). Algunos de estos métodos son por ejemplo, *índice de peróxido*, el cual se mide mediante técnicas basadas en la capacidad que tiene los peróxidos de oxidar el ion yoduro potásico (KI) y producir yodo ( $I_2$ ) ó mediante la capacidad

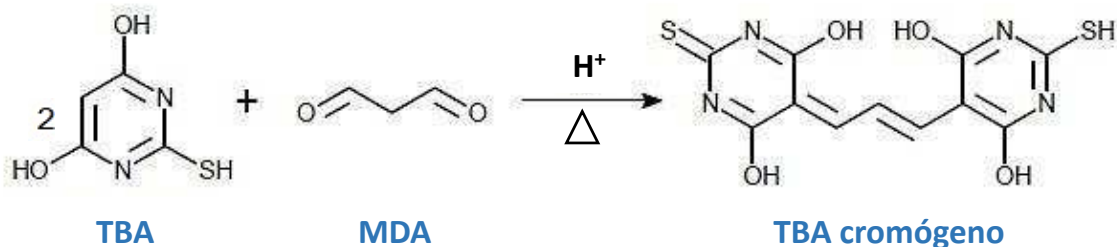
## Introducción

de los peróxidos de oxidar los iones ferrosos ( $\text{Fe}^{2+}$ ) a férricos ( $\text{Fe}^{+3}$ ). Este índice está limitado solamente a las primeras etapas de la oxidación, por lo tanto, no pueden correlacionarse bien con el nivel de mal sabor en los productos, en particular cuando la oxidación ha sido extensa (Pegg, 2001a; O'Brien y O'Connor, 2011). Existen otros métodos químicos, como la prueba de Kreis, que consiste en medir el color rojo producido por la reacción de los productos de la oxidación con el fluoroglucinol; prueba de carbonilos totales que mide las hidrazonas producidas por la reacción de aldehídos y cetonas con 2,4-dinitrofenilhidrazina y el del índice de anisidina, el cual usa la p-anisidina que reacciona con los aldehídos produciendo un color amarillo (Badui, 2006; Fennema y col., 2010; O'Brien y O'Connor, 2011). Entre los métodos físicos, los más importantes son: fluorescencia, espectroscopia ultravioleta y cromatografía, para medir el hexanal o el pentano (productos típicos de la autooxidación); sin embargo, algunos de estos métodos son muy elaborados y costosos, por lo que se emplean poco en la industria alimentaria para el control rutinario (Fennema y col., 2010). A continuación se describe brevemente el método utilizado en esta tesis:

### *1.3.4.1. Test de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)*

Este test es utilizado con frecuencia para valorar la oxidación lipídica en leche y sus derivados; ya que correlaciona bien con la intensidad de sabor oxidado en este tipo de productos (Spanier y Traylor, 1991; Fennema y col., 2010; O'Brien y O'Connor, 2011). Se basa en la reacción de dos moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA) con una de malondialdehído (MDA), a temperatura media y pH ácido, produciéndose un compuesto cromógeno rojo con una absorbancia máxima a 532 nm (**Figura 1-9**); definiéndose como la cantidad de malondialdehído (mg) presente en 1 kg de muestra. (Pegg, 2001b; Badui, 2006; Laguerre y col., 2007).

## Introducción



**Figura 1-9.** Reacción de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.

Las limitaciones que presenta refieren a que no siempre se encuentra malonaldehído en los sistemas oxidados, ya que sólo proviene de ácidos grasos que contienen al menos tres enlaces dobles (Laguerre y col., 2007; Fennema y col., 2010), y además, que el TBA no es solo específico para malondialdehído, puede reaccionar con otros compuestos, produciendo compuestos amarillos, los cuales pueden reducir su concentración para la determinación (Pegg, 2001b; Badui, 2006; Laguerre y col., 2007; Fennema y col., 2010). Algunas técnicas, ayudan a mejorar la especificidad del malondialdehído; como por ejemplo; purificar el complejo TBA/malondialdehído por medio de HPLC y luego cuantificar con un detector fluorimétrico (Laguerre y col., 2007).

### **1.4. Derivados lácteos**

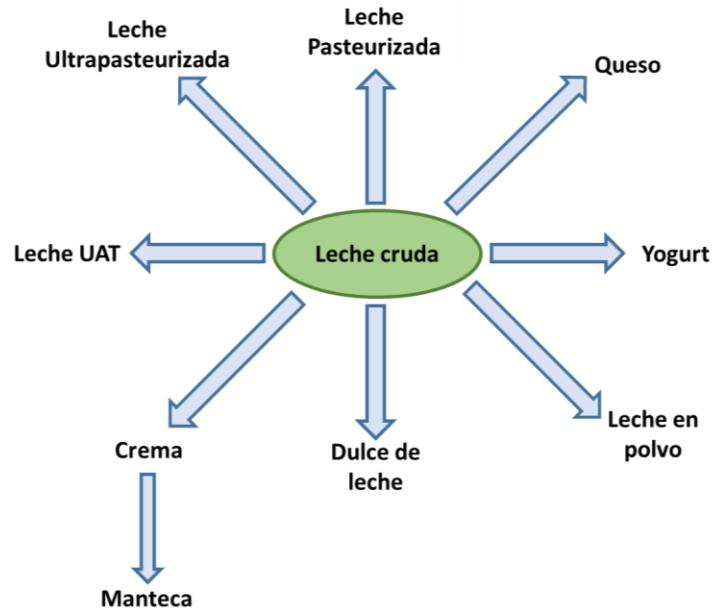
A partir de la leche se pueden elaborar distintos derivados (**Figura 1-10**); algunos de ellos, como los quesos, se conocen desde hace varios siglos y se elaboran desde entonces como un método de conservación, mientras que otros se han desarrollado en las últimas décadas gracias a los avances tecnológicos.

Actualmente en la Argentina, según el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGyP), se dispone en el mercado de una amplia gama de productos lácteos. A continuación se describen los más importantes junto con la estadística más reciente disponible de su producción:

**Quesos:** producto lácteo que se obtiene por la separación del suero, después de la coagulación de la proteína de la leche (caseína). En la Argentina la elaboración de quesos representa aproximadamente el 31% del total de leche cruda (**Figura 1-11**) destinada a la

## Introducción

elaboración de productos lácteos (CIL, 2013; MAGyP, 2015). En cuanto al consumo local, más allá de las bajas registradas entre 2003 y 2004, el mismo se ubica en un rango de 8,4-12,4 Kg/habitante (CIL, 2013; MAGyP, 2015). Entre las variedades de quesos, alrededor del 56% corresponde a consumo de pasta blanda, seguido por un 35% de los pasta semidura y un 9% de pasta dura (Castellano, 2014).



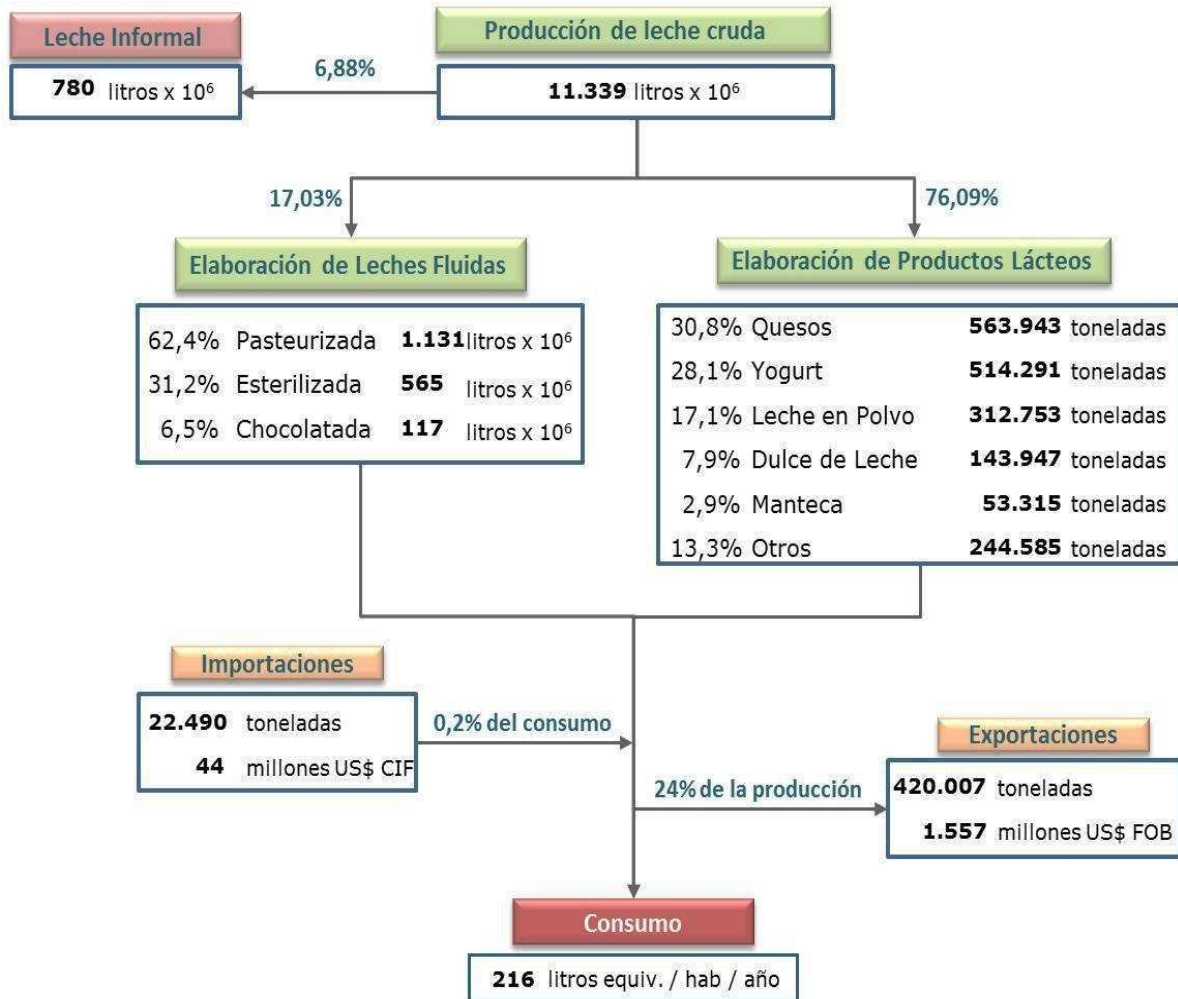
**Figura 1-10.** Derivados lácteos más comunes.

**Yogurt:** derivado lácteo, producto de la fermentación de la leche con una mezcla de microorganismos específicos. Su producción en el año 2012 en la Argentina representó el 28,1% del total de leche cruda (**Figura 1-11**) destinada a la elaboración de productos lácteos (CIL, 2013; MAGyP, 2015). En cuanto a su consumo en el país, si tomamos como referencia el año 2000, ha duplicado, pasando de 6,6 a 12,4 Kg/ habitante para el año 2012 (CIL, 2013; Castellano, 2014; MAGyP, 2015).

**Leche en polvo:** producto que se obtiene por deshidratación de la leche, entera, descremada o parcialmente descremada, mediante procesos tecnológicamente adecuados (CAA, Capítulo VIII, Artículo 567). La producción de leches en polvo (tanto la entera como la descremada) en la Argentina se incrementó de 228.891 toneladas en el

Introducción

año 2003 a 312.753 toneladas en el año 2012. Debido principalmente, al aumento en las exportaciones. Para el año 2012, su producción representó el 17,1% del total de leche cruda (**Figura 1-11**) destinada a la elaboración de productos lácteos (CIL, 2013; MAGyP, 2015). Su consumo en el país, es bajo en comparación con las leches fluidas, representando un consumo promedio por habitante en el año 2012 de 2,38 Kg (CIL, 2013; MAGyP, 2015).



**Figura 1-11.** Cadena láctea Argentina, registro año 2012 (CIL, 2013; MAGyP, 2015).

**Dulce de Leche:** producto obtenido por concentración y acción del calor a presión normal o reducida de la leche con adición de sacarosa. En la Argentina, su producción representó

## Introducción

en el año 2012 un 7,9% del total de leche cruda destinada a la elaboración de productos lácteos (**Figura 1-11**). Su consumo en el mismo año, se encontró entre 3,38 Kg/habitante/año (CIL, 2013; MAGyP, 2015).

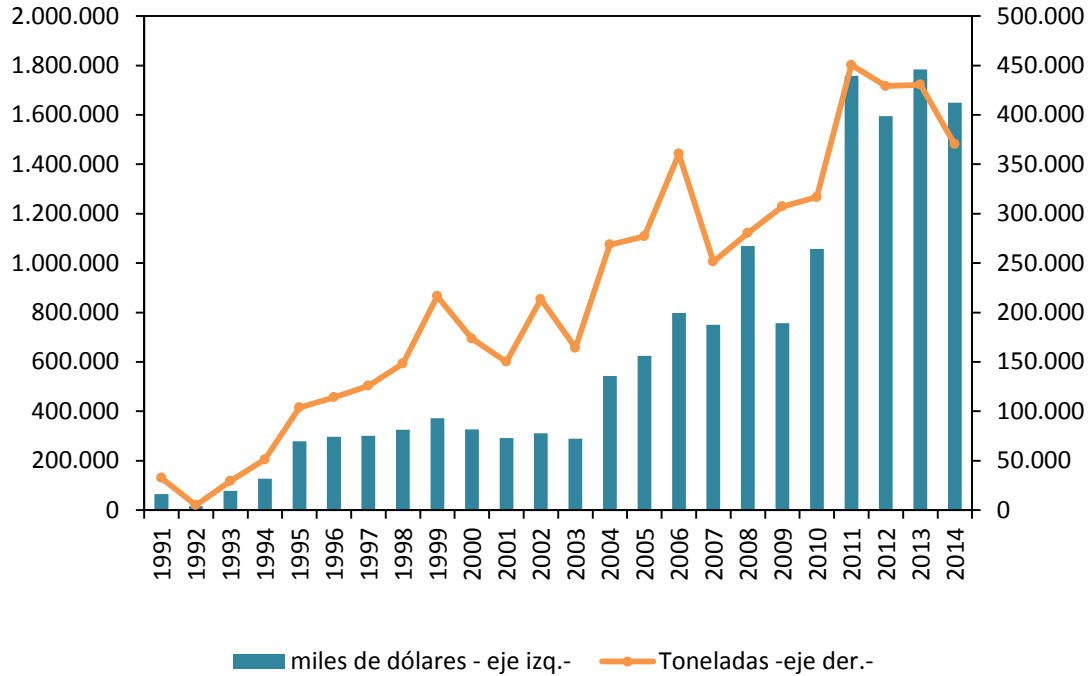
**Manteca:** producto graso obtenido por el batido y amasado de la crema de leche pasteurizada. Su producción representó en el año 2012 un 2,9% del total de leche cruda (**Figura 1-11**) destinada a la elaboración de productos lácteos en la Argentina (CIL, 2013; MAGyP, 2015).

**Otros derivados lácteos:** dentro de esta subdivisión podemos nombrar la crema de leche, los postres lácteos, el suero, la caseína y los caseinatos. Los cuales representaron un 13,3% de la producción de leche cruda (**Figura 1-11**) destinada a la elaboración de productos lácteos en la Argentina (CIL, 2013; MAGyP, 2015).

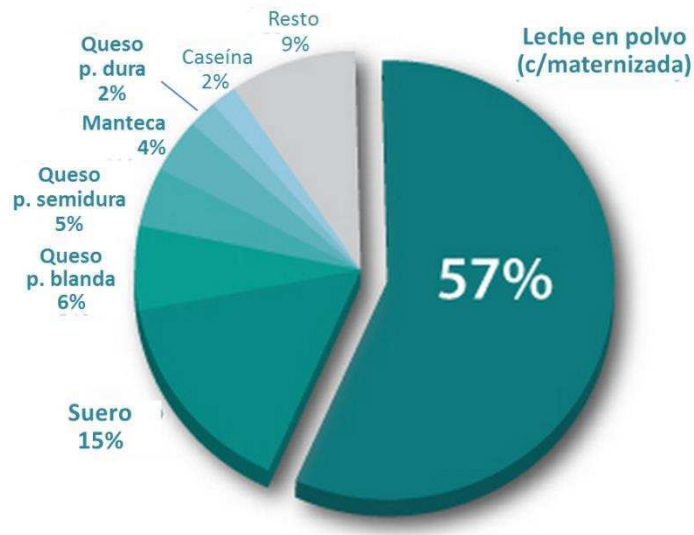
En la **Figura 1-12**, se puede observar la evolución de las exportaciones de lácteos en los últimos 20 años (1995 – 2014). Hasta el año 2003 hubo un crecimiento importante en volumen, pero el monto en dólares se mantuvo prácticamente estancado, lo cual demostró las condiciones deprimidas en las que se encontraba el mercado internacional en esos años. A partir del año 2004 en adelante comienza a crecer en forma sostenida, aunque con altibajos, tanto los volúmenes como los montos exportados, registrándose un máximo en el año 2013.

Los principales derivados lácteos exportados en el año 2012, fueron las leches en polvo y el suero, abarcando el 57% y 15% respectivamente, de la exportación total (**Figura 1-13**). Para este mismo año, los principales países demandantes de derivados lácteos argentinos fueron Brasil y Venezuela, con el 26% y 19% del volumen total, respectivamente. También son compradores de derivados lácteos argentinos: Argelia, China, Chile y Japón, entre otros (MAGyP, 2015).

Introducción



**Figura 1-12.** Evolución de las exportaciones de productos lácteos de Argentina, 1995-2014, (Galletto, 2015; MAGyP, 2015).



**Figura 1-13.** Exportaciones argentinas correspondientes a derivados lácteos, año 2012 (MAGyP, 2015).

## Introducción

### **1.5. Yogurt**

El yogurt es el producto obtenido de fermentar la leche previamente inoculada, con un cultivo mixto de bacterias ácido lácticas simbióticas (*Lactobacillus delbrueckii*, sub. *bulgaricus*, y *Streptococcus salivarius*, sub. *thermophilus*), produciendo ácido láctico y una serie de compuestos que le imparten al yogurt un sabor y aroma típicos. Durante la acidificación se forma un gel debido a la desestabilización de las micelas de caseína, las cuales se agregan para dar una estructura de red tridimensional, en el cual se retienen el suero y los glóbulos de grasa (Tamime y Robinson, 2007; Xu y col., 2008; Clark y col, 2009; Damin y col., 2009).

El Código Alimentario Argentino (CAA) en su artículo 576, define al yogurt como: “el producto obtenido por coagulación y disminución del pH de la leche o leche reconstituida, adicionada o no de otros productos lácteos, cuya fermentación se realiza con cultivos protosimbióticos de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a los que en forma complementaria pueden acompañar otras bacterias ácido lácticas que, por su actividad, contribuyen a la determinación de las características del producto terminado”.

#### **1.5.1. Origen del yogurt**

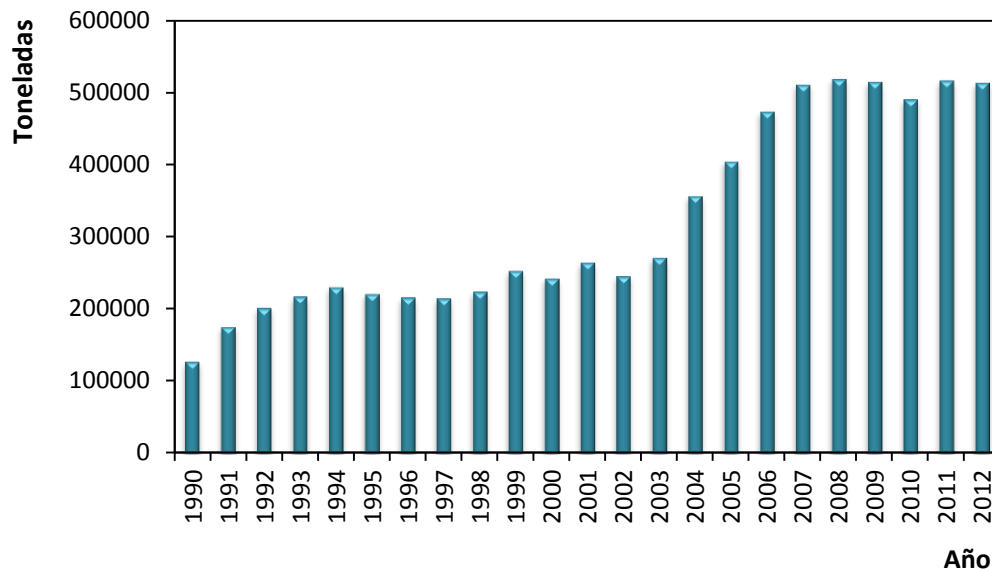
Se dice que el yogurt tuvo su origen en los países del medio oriente, alrededor de 5000 años A.C. (Clark y col, 2009), sin embargo a los productos a los que se refieren en esa época son en realidad varias leches fermentadas en forma empírica y espontánea (Hernández y col., 2003; Tamime y Robinson, 2007). Desde sus orígenes, las leches fermentadas han sido ingeridas por sus propiedades medicinales. Un dato curioso reporta que durante la primera mitad del siglo XX, el yogurt ganó gran importancia a nivel mundial, debido a que el bacteriólogo ruso *Ilya Metchnikov* relacionó la buena salud y longevidad de los campesinos de los Balcanes con el consumo de una leche fermentada, la cual llamaban *Yahourth* (Hernández y col., 2003; Clark y col, 2009).



### 1.5.2. Producción de yogurt en Argentina

La producción Argentina de yogurt creció más de un 100% durante los últimos 20 años (1991-2012) como se observa en la **Figura 1-14**. Esto se debe, en parte, a un cambio en los hábitos de consumo de la población mundial en busca de alimentos más saludables. La Argentina es, dentro de Sudamérica, el segundo productor de yogurt, siendo el principal productor Uruguay (FAO, 2015).

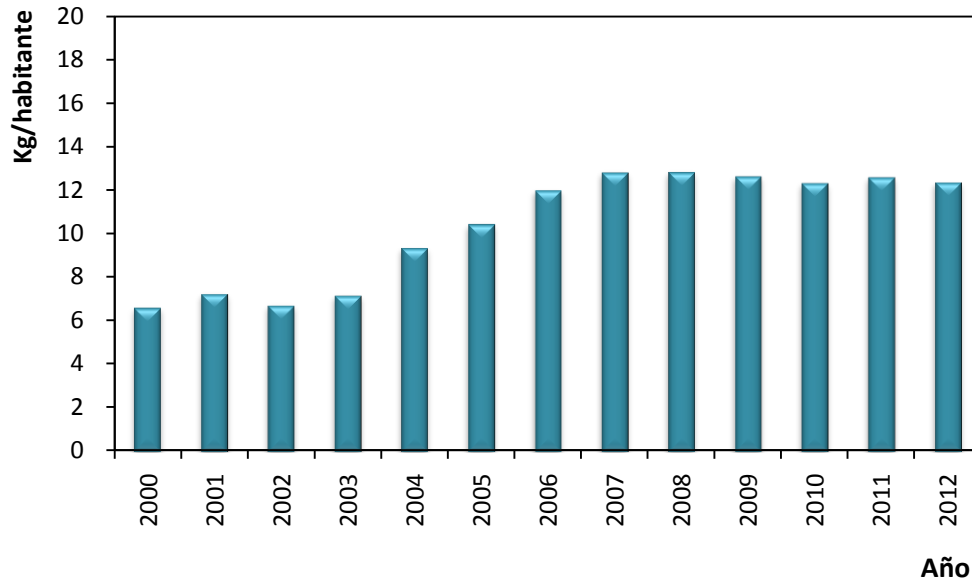
El mercado de yogurt en la Argentina, es uno de los más dinámicos del sector lácteo. La estrategia es la diferenciación constante y el lanzamiento de nuevos productos a través de la incorporación de agregados, de la variación e innovación de los envases y de la adaptación a las nuevas demandas del consumidor. Para ello los productos se diferencian por su consistencia (firmes, batidos y bebibles), por su contenido graso (con crema, enteros, parcialmente descremados o descremados) y por su sabor (naturales o saborizados). A esto hay que sumar una diversa gama de agregados: trozos o pulpa de fruta, jugos, cereales, crema, miel, organismos probióticos y simbióticos, ingredientes prebióticos, sulfato ferroso, calcio y vitaminas, entre otros (Schaller, 2008).



**Figura 1-14.** Evolución de la producción de yogurt en Argentina (1990 – 2012). MAGyP, (2015).

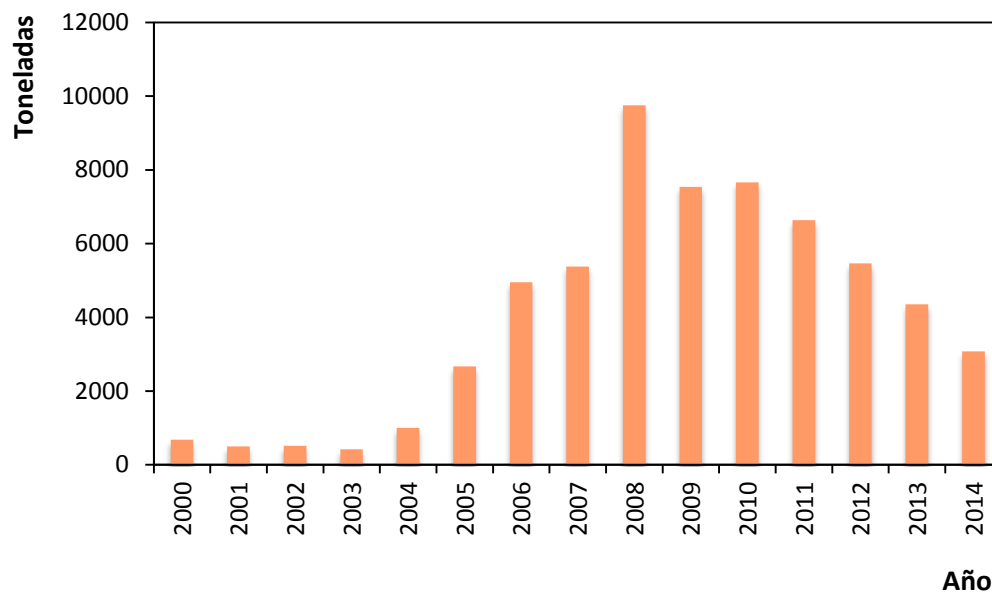
## Introducción

Para el año 2012 en la Argentina se consumían 12,36 Kg per cápita de yogurt, duplicando éste el consumo del año 2000, el cual era de 6,7 Kg /habitante (**Figura 1-15**). Esto convierte al país en el mayor consumidor de la región (Brasil o Chile sólo llegan a la mitad de esa cifra). En el mundo, el mayor demandante es Francia, con 45 kg per cápita anual, seguido de lejos por España, con 25 kg per cápita (Castellano, 2014).



**Figura 1-15.** Consumo per cápita de yogurt en Argentina (2001 – 2012). MAGyP, (2015).

Debido a la corta vida útil del yogurt y a las dificultades del transporte a grandes distancias, este producto se destina casi exclusivamente al mercado doméstico. En Argentina las exportaciones de yogurt mantuvieron un aumento acelerado en el periodo 2000 – 2008, pasando de 680 toneladas a 9749 toneladas exportadas (**Figura 1-16**), pero en el periodo de 2009 – 2014 estas presentaron una disminución del 60% (MAGyP, 2015).



**Figura 1-16.** Evolución de las exportaciones argentinas de yogurt (2000-2014), en toneladas. (MAGyP, 2015).

### 1.5.3. Clasificación de yogurt

Existe una gran variedad de yogures que difieren entre sí por varios factores, Tamime y Robinson (2007) han propuesto un esquema de clasificación del yogurt según los siguientes aspectos:

1. Composición química o contenido graso: entero, semidescremado o descremado.
2. Naturaleza física: firme, batido o bebible.
3. Sabor: natural, saborizado o con frutas. Los dos últimos normalmente son azucarados.
4. Procesamiento posterior a la fermentación: adición de vitaminas o tratamiento térmico.

En el yogurt firme, la fermentación se lleva a cabo en el mismo recipiente en el que será distribuido; diferente al yogurt batido, el cual es producido en tanques de fermentación. El yogurt bebible se puede describir como un yogurt batido de menor viscosidad (Hernández y col., 2003). El yogurt helado es un producto de baja acidez; el yogurt deshidratado se puede obtener por secado en spray o liofilización y tiene como

## Introducción

objetivo mantener la forma de un producto estable y fácilmente utilizable (Tamime y Robinson, 2007; Hill y Kethireddipalli; 2013).

### **1.5.4. Proceso de elaboración del yogurt**

Todos los tipos de yogurt poseen los siguientes pasos en común para su producción: estandarización de contenido graso y no graso, homogenización, tratamiento térmico de la leche, pre-enfriamiento, envasado, fermentación, enfriamiento y almacenamiento (Clark y col, 2009). A continuación se realiza una breve descripción de los mismos:

#### *1.5.4.1. Estandarización del contenido graso de la leche*

El contenido graso de los diferentes tipos de yogurt varia de 0,1 a 10%, siendo necesario estandarizar el contenido graso de la leche (Hill y Kethireddipalli; 2013). En Argentina, el contenido graso de la leche para la elaboración de yogurt, se encuentra entre 3,0 a 5,9% para yogures enteros, 0,6 a 2,9% para yogures parcialmente descremados y 0,5% máximo para yogures descremados (CAA, Capítulo VIII, Artículo 576). Para la estandarización se utiliza: remover parte del contenido graso; mezclar leche entera y descremada o adicionar crema de leche (Tamime y Robinson, 2007).

#### *1.5.4.2. Estandarización del contenido no graso de la leche*

El porcentaje de sólidos no grasos (SNG) de la leche, tiene gran importancia en la viscosidad y consistencia del yogurt (Tamime y Robinson, 2007). Wu y col. (2009) reportaron que cuanto mayor sea el nivel de sólidos en la mezcla, mayor es la viscosidad y mejor la consistencia del producto final. Tamime y Robinson (2007) establecieron que el nivel de sólidos en la leche (incluyendo el contenido de grasa) para la fabricación de los diferentes tipos de yogurt, va desde un mínimo de 9% para yogures bajo en grasa, hasta un máximo de 30% para los demás tipos de yogurt. Pero resaltan que la mejor calidad se

## Introducción

logra con leches que contengan entre 15 – 16% de sólidos totales. Para elevar el contenido de sólidos existen varias opciones: concentración via evaporación; adición de leche descremada en polvo u otros sólidos de la leche como caseína y suero; ultrafiltración y ósmosis inversa (Fox y Mc Sweeney, 1998; Hernández y col., 2003; Tamime y Robinson, 2007; Pang y col., 2015).

### *1.5.4.3. Homogenización*

Se somete la leche a altas presiones (15 – 20 MPa) con el fin de disminuir los globulos de grasa y otros constituyentes, para que se dispersen mejor. Se realiza con el fin de obtener mayor viscosidad, distribución uniforme de las vitaminas liposolubles, disminución de la sineresis, mayor estabilidad del producto y mejores características organolépticas (Hernández y col., 2003; Tamime y Robinson, 2007; Clark y col, 2009; Hill y Kethireddipalli; 2013).

### *1.5.4.4. Tratamiento térmico*

Como ya se dijo, el tratamiento térmico destruye todos los microorganismos patógenos, pero también la mayor parte de las células vegetativas de los microorganismos asociados a la leche cruda (Gösta, 1995; Tamime y Robinson, 2007), asegurando que la leche va ser un buen medio de crecimiento para las bacterias ácido lácticas, ya que van a estar libres de cualquier competencia. Descompone parcialmente las proteínas del suero a aminoácidos que estimulan la actividad del cultivo iniciador, además de expulsar oxígeno de la leche, lo cual también es benéfico para el crecimiento de las bacterias iniciadoras (Hernández y col., 2003). El mismo desnaturaliza las proteínas del suero (en especial la  $\beta$ -lactoglobulina) a temperaturas superiores a 80 °C, las cuales reaccionan con la  $\kappa$ -caseína de la superficie micelar, formando una micela más estable, mejorando así, la viscosidad del yogurt e impidiendo la sineresis (Harte y col., 2003; Sandoval-Castilla y col., 2004; Tamime y Robinson, 2007; Baglio, 2014).

## Introducción

### 1.5.4.5. Primer enfriamiento

Se debe realizar hasta alcanzar una temperatura de 43 °C, para tener las condiciones óptimas de crecimiento y desarrollo de las bacterias próximas a inocular. Esta temperatura es intermedia entre las temperaturas óptimas de las dos bacterias que usualmente intervienen en la fermentación, 45 °C para *Lactobacillus bulgaricus* y de 39 °C para *Streptococcus thermophilus* (Tamime y Robinson, 2007; Baglio, 2014).

### 1.5.4.6. Envasado

Para yogurt firme, la mezcla se pone en los envases de distribución inmediatamente después de que se inocula la leche y allí se realiza la fermentación. Los recipientes deben ser resistentes, impermeables y de un material que no reaccione con el producto para protegerlo de alteraciones físicas, químicas y de microorganismos (Hernández y col., 2003).

### 1.5.4.7. Fermentación

Se lleva a cabo por un inóculo, que se encuentra formado por los microorganismos *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* generalmente en una relación 1:1, la cuales actúan de un modo sinérgico, acelerando el descenso de pH. La razón de dicha combinación de bacterias ácido lácticas es alcanzar el flavor deseado característico del yogurt (Baglio, 2014). Estos microorganismos, influyen positivamente ya que biopreservan el producto debido a la fermentación y producción de bacteriocinas, aumentando la vida útil del mismo y disminuyendo la sinéresis y además, aumentan la viscosidad del yogurt, mejorando la textura y palatabilidad (Tamime y Robinson, 2007). La fermentación se realiza aproximadamente durante un tiempo de 3 a 9 horas, a una temperatura entre 40 y 45°C. Este proceso se detiene cuando se alcanza una concentración de ácido láctico entre 0,6 a 1,5%, en la cual el valor de pH se encuentra entre 4,6 y 3,7. Al comienzo de la fermentación, *S. thermophilus* crece más rápido debido a la actividad proteolítica de *L.*

## Introducción

*bulgaricus*, ya que produce aminoácidos a partir de la proteína de la leche. *S. thermophilus*, degrada la lactosa a ácido láctico hasta un pH aproximado de 5,0, liberando CO<sub>2</sub> y ácido fórmico que junto con la acidez, crean las condiciones ideales para el desarrollo de *L. bulgaricus*. Mientras el pH decrece, el crecimiento del *S. thermophilus* disminuye, por ser menos tolerante al ácido que *L. bulgaricus* (Vercet y col., 2002; Tamime y Robinson, 2007; Baglio, 2014; Mani-López y col., 2014). Gracias a la fermentación ácida se forma el gel del yogurt; debido a que el ácido láctico reduce la carga superficial de las micelas de caseína, desde una carga neta negativa alta a pH 6,7 a una carga neta cercana a cero a pH 4,6. Este cambio permite que las micelas de caseína formen agregados unidos a través de enlaces hidrófobos y electrostáticos. Un pH menor a 6,0, los fosfatos de calcio que estabilizan la caseína se solubilizan y éstas comienzan a formar agregados; una vez alcanzado un pH de 5,0 se finaliza la solubilización de los fosfatos de calcio, pero la producción de ácido sigue aumentando hasta un pH de 4,6, (punto isoeléctrico de la caseína), donde comienzan a agregarse debido a interacciones hidrófobas formando la red que constituye el gel (Tamime y Robinson, 2007).

### 1.5.4.8. Enfriamiento

Una vez que se alcanza el pH deseado (4,6), se debe detener el proceso de fermentación, con disminución de la temperatura lo mas rápido posible a 4°C para evitar que el yogurt siga acidificandose. Este enfriamiento a su vez tiene un efecto beneficioso, pues aumenta la firmeza del gel (Hernández y col., 2003; Tamime y Robinson, 2007; Clark y col, 2009; Hill y Kethireddipalli; 2013).

### 1.5.4.9. Almacenamiento

Se realiza a temperaturas menores de 10°C y su mantenimiento a ésta temperatura hasta el momento de su consumo, es esencial para retardar las reacciones bioquímicas (oxidación de lípidos, hidratación de proteínas, ligera deshidratación del

## Introducción

yogurt) y el deterioro microbiano que tienen lugar en este producto (Tamime y Robinson, 2007).

### **1.5.5. Importancia nutricional del yogurt**

El yogurt es una fuente importante de calcio, fósforo, magnesio y zinc. El pH ácido del yogurt ioniza el calcio y por lo tanto facilita su absorción a nivel intestinal (Singh y Muthukumarappan, 2008). Muchas personas no toleran la leche, debido a la ausencia en su organismo de lactasa, este problema no se presenta al consumir yogurt, debido a que la lactosa durante el desarrollo de la fermentación, es utilizada por los microorganismos como fuente de energía, lo que reduce su presencia en dicho producto (Hernández y col., 2003). La calidad nutricional del yogurt no solo proviene de la presencia de los compuestos de la leche, sino también de la transformación de estos como resultado de la actividad metabólica causada por la fermentación de los microorganismos. Entre los efectos beneficiosos del yogurt, se encuentran: prevención de la osteoporosis, protección contra la diarrea del viajero, prevención de la diarrea infantil, reducción de la diarrea inducida por antibióticos, mejora del estreñimiento, protección contra el cáncer de vejiga y colon y prevención de las infecciones urogenitales (Tamime y Robinson, 2007).

### **1.5.6. Propiedades fisicoquímicas del yogurt**

A continuación se describirán algunas de las propiedades fisicoquímicas más importantes del yogurt, las cuales fueron evaluadas en esta tesis:

#### *1.5.6.1. pH y acidez*

El pH y la acidez son unas de las propiedades más importantes del yogurt, ya que el primero nos indican en qué momento debe detenerse la fermentación y el segundo le confiere el olor, sabor y textura característico al yogurt. La acidez en los productos lácteos, se expresa como porcentaje de ácido láctico, y gracias a la producción de este en la



## Introducción

fermentación ácida de la leche, baja el pH y las micelas de caseína se desestabilizan formando el gel característico del yogurt. En el yogurt el porcentaje de ácido láctico oscila entre 0,6 a 1,5%, y el valor de pH se encuentra entre 4,6 y 3,7 (Tamime y Robinson, 2007; Fennema y col., 2010; CAA, Capítulo VIII, artículo 576).

### *1.5.6.2. Sinéresis*

La sinéresis consiste en la separación de la fase líquida (suero) del yogurt a partir del gel colapsado, ésta puede ser espontánea u ocurrir sólo cuando el gel se interrumpe mecánicamente mediante corte, agitación, o fuerza centrífuga (Mani-López y col., 2014). La misma, además de ser considerada en la industria del yogurt como un defecto de calidad relacionado con la estabilidad y aceptación del producto por parte del consumidor, también provoca problemas en las características reológicas del mismo (Xu y col., 2008). Altos valores de pH y baja acidez influyen en el aumento de la sinéresis (Ramírez-Sucre y Vélez-Ruiz, 2013).

### *1.5.6.3. Color*

El color es un atributo de calidad de gran importancia en los alimentos, ya que es una de las primeras características sensoriales que es percibida por el consumidor, y su importancia radica en la asociación que tiene la misma con la aceptación del alimento (Artigas y col., 2002; Zhu y col., 2009; Hutchings y col., 2012). El color en el yogurt es causado por la dispersión de la luz de los constituyentes de la leche, como los glóbulos de grasa, micelas de caseína, fosfato de calcio coloidal, algunos pigmentos y riboflavina (Belitz, 2009).

Para la percepción del color, se requiere que al menos interactúen tres factores: el proceso visual humano (observador), el efecto de la luz sobre los objetos (iluminante) y la naturaleza de los materiales observados (objeto) (MacDougall, 2002). La descripción cuantitativa de un color puede ser dada en los términos de tres atributos (Badui, 2006):

## Introducción

**Claridad:** atributo que hace corresponder a cada color una equivalencia a una escala de grises. A la cualidad psicológica claridad le corresponde la magnitud psicofísica luminosidad.

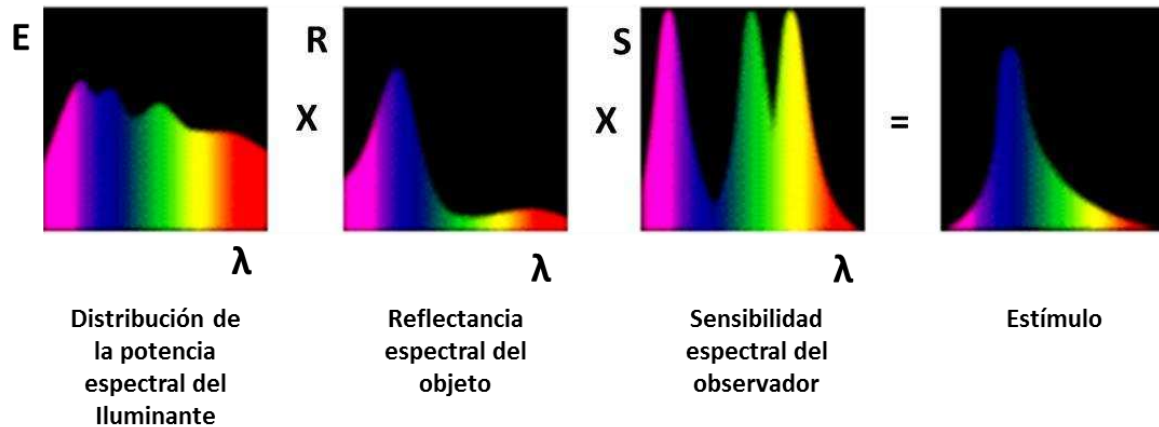
**Tono o matiz:** atributo que otorga al color una cualidad que se define como rojo, naranja, amarillo, verde, azul, púrpura o cualquier combinación de ellos. A la cualidad psicológica tono le corresponde la magnitud psicofísica longitud de onda dominante.

**Saturación:** atributo que, fijado el tono, describe al color por su similitud con un color espectral puro, cuanto más parecido a este, tanto más saturado. A la cualidad psicológica saturación le corresponde la magnitud psicofísica pureza.

La medida del color se obtiene del análisis de su espectro visible, por transmisión o reflexión, por medio de un espectrofotómetro. De los sistemas propuestos para la especificación del color el más difundido universalmente es el de la CIE (Comisión Internationale de l'Eclairage), en el cual el color es indicado por tres variables X, Y, Z, conocidas como los valores triestímulo y que representan a tres colores primarios imaginarios (MacDougall, 2002; Zhu y col., 2009). El cálculo para obtener los valores triestímulo CIE para un objeto se esquematiza en la **Figura 1-17**. El valor del estímulo visual es la resultante de una combinación del espectro de la luz incidente ( $E$  vs  $\lambda$ ) con el espectro de la muestra ( $R$  vs  $\lambda$ ) y con las funciones de distribución de la sensibilidad del ojo para cada uno de los tres primarios imaginarios ( $S$  vs  $\lambda$ ). El área bajo la curva resultante se integra en el espacio visible para obtener los valores numéricos de la contribución de cada uno de los tres primarios ideales (X, Y, Z) al color dado (Manresa González y Vicente, 2007).

En los espectrofotómetros actuales el cálculo se realiza automáticamente por un sistema de computación acoplado al instrumento. De esta manera el color queda determinado por un punto en un espacio tridimensional de coordenadas X, Y, Z.

## Introducción



**Figura 1-17.** Suma de radiaciones espectrales que conforman el estímulo.

Sin embargo, la forma habitual de representación es calcular las llamadas coordenadas cromáticas  $x$ ,  $y$  definidas por:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z} \quad (1.2)$$

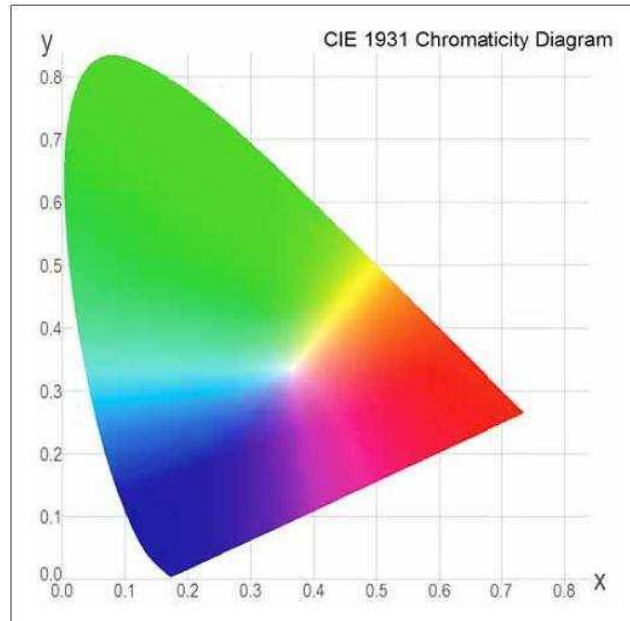
$$y = \frac{Y}{X + Y + Z} \quad (1.3)$$

El color definido por  $(x, y)$  se representa en el diagrama cromático CIE (**Figura 1-18**) donde sólo tiene lugar la cromaticidad del color en cuestión. Para que la especificación del color sea completa, se utiliza la luminosidad “ $Y$ ” como tercera coordenada, en un plano perpendicular que representa la propiedad de reflejar más o menos luz. El plano de las coordenadas cromáticas está delimitado por una línea recta que une los extremos del espectro visible, conocida como línea de púrpuras.

A pesar de que el espacio CIE es muy sencillo de manejar y se puede representar cualquier color en términos de coordenadas  $(x, y)$ , éste no es homogéneo (distancias geométricas iguales no suelen representar diferencias de color iguales en la percepción por el ojo humano). Por lo anterior, se han desarrollado una serie de transformaciones del espacio CIE que permiten obtener mejores resultados en la evaluación de la diferencia de color. Así surgen las transformaciones CIELuv, que es una transformación lineal del

## Introducción

espacio cromático CIE, y CIELab, que es un espacio de color rectangular de 3 dimensiones basado en la teoría de colores opuestos.

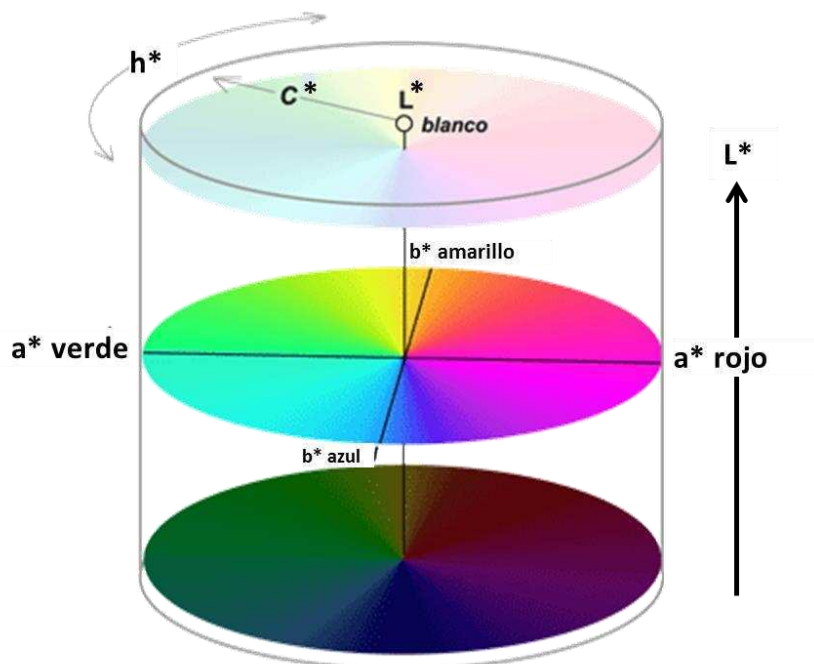


**Figura 1-18.** Diagrama de cromaticidad CIE 1931.

Existen dos escalas de color populares de este espacio, Hunter Lab y CIE  $L^*a^*b^*$ . Las mismas son similares en organización y ninguna de las dos es visualmente uniforme, pero un mismo color tendrá valores diferentes en estos dos espacios. Hunter Lab se concentra en la región azul del espacio de color y CIE  $L^*a^*b^*$  se expande en la región amarilla (**Figura 1-19**). La recomendación actual de la CIE es usar la escala CIE  $L^*a^*b^*$  (Fairchild y Berns, 1993). Las ecuaciones de transformación del espacio CIE a CIE  $L^*a^*b^*$  se indican más adelante en **Materiales y Métodos, Apartado 3.8.3**. El parámetro  $L^*$  es la luminosidad, el cual toma valores entre 0 (negro) y 100 (blanco);  $a^*$  es la coordenada cromática en el eje de las abscisas (rojo-verde);  $b^*$  es la coordenada cromática en el eje de las ordenadas (amarillo-azul). Dentro de este espacio es posible definir otras funciones que pueden ser indicativas de determinados atributos de color, como la saturación y el tono. Como se observa en la **Figura 1-19**, el centro es gris y para cualquier punto que represente un color en este modelo CIE  $L^*a^*b^*$ , el segmento que une el centro con el

## Introducción

punto, puede considerarse un vector que partiendo del gris apunta al color y la magnitud del mismo es considerada el croma ( $C^*$ ) del color, que representa la pureza de tono (saturación) y el ángulo entre ese vector y el eje horizontal de abscisas ( $a^*$ ) es el ángulo de tono ( $h^*$ ). Croma ( $C^*$ ) puede distribuirse en los cuatro cuadrantes del plano  $a^*b^*$ ; sus valores van desde 0 en el centro (gris neutro) hasta 100 en los bordes (más saturado). Por su parte, el ángulo de tono  $h^*$  se ubica en una circunferencia de  $360^\circ$  donde el valor  $0^\circ$  está definido por el rojo púrpura;  $90^\circ$ , por el color amarillo;  $180^\circ$ , por el color azul verdoso y finalmente;  $270^\circ$  con el color azul. A partir de los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  también puede calcularse el índice de blanco (HW) (Zhu y col., 2008). Es una medida de amplio uso en la industria del papel, pero actualmente, se ha extendido a la de alimentos, medicamentos, plásticos y cerámica. Una superficie blanca ideal debe tener un Índice de blanco (HW) igual a 100; por lo tanto, cuando la diferencia entre el blanco ideal y el de la superficie que se evalúa se incrementa, entonces HW disminuye (Montoya-López y col., 2012).



**Figura 1-19.** Espacio CIE  $L^*a^*b^*$ .

### 1.5.7. Aspectos reológicos

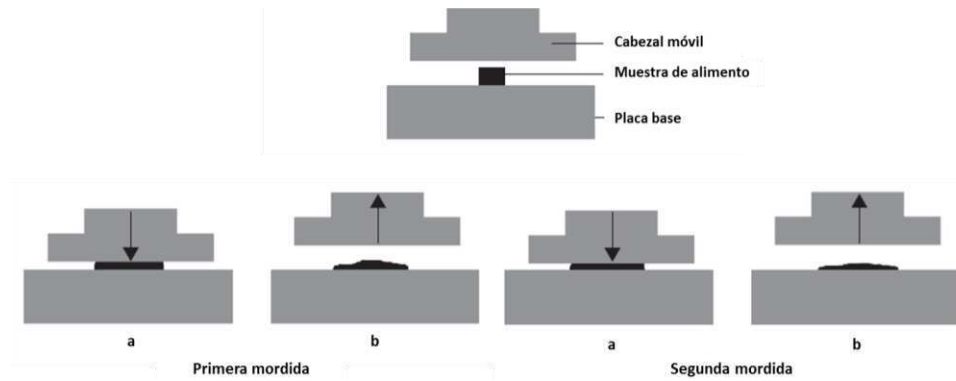
La reología puede definirse como la ciencia que estudia el flujo y las deformaciones de los materiales, bajo la influencia de fuerzas mecánicas. Esta se ocupa de la mecánica de fluidos newtonianos para los líquidos y la elasticidad de Hooke para los sólidos, sin embargo, la mayoría de los alimentos presentan un comportamiento comprendido entre ambos extremos (materiales pastosos y suspensiones) (Bourne, 2002; Ibarz-Rivas y Barbosa-Cánovas, 2005; Ramírez -Navas, 2006). Las propiedades reológicas de los alimentos son de gran importancia para el diseño de procesos y operaciones, formulación y desarrollo de productos, control de calidad, estudios de vida útil, evaluación de textura, entre otros (Shaker y col., 2000; Sharma y col., 2003; Ramírez - Navas, 2006).

#### 1.5.7.1. Análisis de Perfil de Textura instrumental

La textura es un parámetro muy importante que se utiliza como un indicador de la calidad de los alimentos. Su estudio sensorial es complejo, ya que se hace sobre la base de sensaciones percibidas por medio de receptores mecánicos, táctiles, visuales y auditivos (Clark y col, 2009). Por lo tanto, si se aplica un esfuerzo sobre un alimento, es factible medir los parámetros texturales de forma instrumental mediante el uso de un texturómetro (p.e. Máquina Universal Instron) (Rosenthal, 2010).

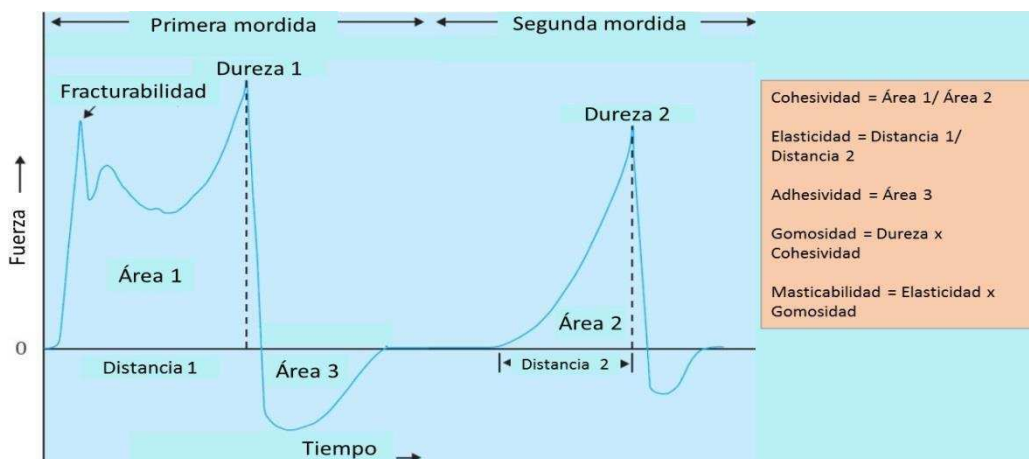
El Análisis de Perfil de Textura (TPA) instrumental es uno de los desarrollos más importantes para evaluación de la textura en alimentos sólidos y semi- sólidos (Rosenthal, 2010). Ésta es una prueba de doble compresión, que imita la acción de la mandíbula, generando como respuesta una curva fuerza vs tiempo (Bourne, 2002). El principio de la prueba se observa en la **Figura 1-20**. Una muestra de tamaño de un bocado se coloca sobre la placa base y se comprime y descomprime dos veces por un cabezal fijo al sistema de accionamiento. En 1963, Friedman, Whitney y Szczesniak, investigadores de la empresa *General Foods Corporation*, desarrollaron un procedimiento para medir la textura de los

## Introducción



**Figura 1-20.** Esquema de las dos compresiones necesarias para la prueba TPA (Bourne, 2002).

Alimentos mediante el uso de un texturómetro, el cual ha demostrado buena correlación con la evaluación sensorial (Friedman y col, 1963; Szczesniak y col., 1963). Cinco años más tarde, Bourne, adaptó el método para operar en una máquina universal de ensayos Instron, y al hacerlo, se sobrepuso a algunas limitaciones instrumentales del texturómetro de General Foods (Bourne, 1981; 2002). Una curva generalizada del perfil de textura, obtenida por una Máquina Universal Instron se muestra en la **Figura 1-21**. En esta se aprecia la fuerza aplicada frente al tiempo, permitiendo evaluar características mecánicas primarias y secundarias de la textura.



**Figura 1-21.** Curva típica de análisis de perfil de textura, obtenida de la máquina universal Instron (Bourne, 2002).

## **1.6. Análisis sensorial de alimentos**

En la antigüedad, la única manera de medir la calidad de un alimento era a través de los sentidos. Sin embargo, con el desarrollo de métodos instrumentales y de técnicas analíticas, la percepción sensorial fue perdiendo terreno frente a otras medidas más absolutas. Pero es importante resaltar que los métodos instrumentales, muchas veces no miden todas las características de un alimento. De ahí que la forma más directa de medir la calidad de un alimento, es mediante la evaluación que el hombre realiza con sus sentidos de las propiedades organolépticas de dichos productos. Mediante esta evaluación pueden clasificarse las materias primas y productos terminados, conocer que opina el consumidor sobre un determinado alimento, su aceptación o rechazo, así como su nivel de agrado, criterios que se tienen en cuenta en la formulación y desarrollo, producción y control calidad de los mismos (Espinosa – Manfugás, 2007; Clark y col., 2009).

El Análisis Sensorial es una disciplina científica, que evalúa las propiedades organolépticas de los alimentos, a través de la percepción del ser humano con uno o más de sus sentidos. El ser humano tiende a percibir los atributos de un alimento en el siguiente orden: apariencia, olor, aroma o fragancia, consistencia o textura y sabor (compuestos aromáticos, gusto), Sin embargo, en el proceso de percepción, la mayoría de los atributos se superponen, es decir, el sujeto recibe una mezcla de impresiones sensoriales casi simultáneamente (Meilgaard y col., 2006). La percepción de una sensación puede dividirse en tres etapas. El estímulo se produce sobre el órgano sensorial y es transmitido al cerebro por el sistema nervioso. El cerebro, que además posee información sobre las experiencias previas, integra, organiza e interpreta las sensaciones, que llegan desde todos los sentidos, para generar una percepción. Finalmente el sujeto elabora una respuesta (Schiffman, 1996; Meilgaard y col., 2006; Espinosa – Manfugás, 2007; Clark y col., 2009).

Cuando se utiliza a las personas como instrumento de medida, es necesario controlar todas las condiciones de las pruebas a realizar para evitar los errores causados por factores fisiológicos, psicológicos y culturales por parte del sujeto; factores



## Introducción

ambientales que puedan alterar el juicio por parte del sujeto y factores inherentes al alimento (por ejemplo: intensidad del estímulo inferior a la sensibilidad del individuo). Cuando se habla de error no se habla precisamente de un juicio equivocado sino que se incluye a todos los factores antes mencionados (Costell, 2002).

### **1.6.1. Panel de evaluación sensorial**

El Comité de Evaluación Sensorial perteneciente a la Sociedad Americana para el Análisis de Materiales (ASTM, 1968) los ha clasificado en tres grupos:

**Panel entrenado:** sujetos cuidadosamente seleccionados y entrenados en las propiedades sensoriales que han de evaluar en el alimento. El entrenamiento asegura la utilización sistemática de la combinación de las percepciones sensoriales de los evaluadores, como guía analítica para determinar la calidad de los productos alimenticios (IRAM 20005-2, 1996). Poseen un lenguaje formal y en muchas ocasiones tienen conocimiento científico de las propiedades que miden. Dado el elevado conocimiento que poseen del producto y su entrenamiento, se utiliza un número escaso de ellos (no más de 10).

**Panel semientrenado:** constituido por personas familiarizadas con los atributos del producto que van a evaluar. Este panel es capaz de discriminar diferencias, medir intensidad de atributos en escalas y evaluar globalmente al producto. Tienen un lenguaje menos formal que el panel entrenado. La variabilidad individual puede balancearse considerando un mayor número de panelistas (25 a 40 miembros).

**Panel de consumidores:** no tienen ningún tipo de entrenamiento, se eligen al azar teniendo en cuenta que sean consumidores del producto que van a evaluar. Son ideales para evaluar la aceptabilidad de un producto pudiendo también evaluar la intensidad de atributos en escalas simples siguiendo determinadas consignas en la elaboración del formulario.

### **1.6.2. Selección del panel**

Las pruebas de selección utilizadas son generalmente similares a las que luego se van a utilizar como método de análisis, con el propósito de familiarizar al panelista con dichos ensayos. Si se requiere un estudio de aceptabilidad de un producto por consumidores, no es necesario tener personas altamente entrenadas. Bastará con seleccionar aquellas con cierta aptitud para detectar los gustos básicos más exaltados en el alimento a analizar y entrenarlas mínimamente en las pruebas que irán a realizar. Si se busca detectar algún componente extraño en el producto o, por ejemplo, realizar un perfil de sabor del mismo se necesita tener panelistas más entrenados, los cuales seguirán diferentes pruebas de selección secuenciales. Dichas pruebas aumentarán la habilidad para reconocer e identificar atributos sensoriales en sistemas complejos y la sensibilidad y memoria para brindar mediciones sensoriales precisas (IRAM, 20005-1, 1996).

### **1.6.3. Características de la sala de evaluación sensorial**

Es aconsejable utilizar un área de evaluación sensorial especial, en la que se minimice las distracciones y se puedan controlar todas las condiciones, de forma tal de garantizar que la situación sea constante para la próxima prueba. De ser posible, el ambiente debe ser tranquilo, agradable, con buena iluminación, sin existencia de olores ambientales, de temperatura acondicionada y en algunos casos con control de humedad. No se permite fumar ni el uso de cosméticos o perfumes dentro del área. Meilgaard y col., (2006) proporcionan una guía para la construcción e instalación de las salas de ensayo en análisis sensorial. Así mismo, se debe evitar que los panelistas interactúen introduciendo errores de apreciación por distracción (**Figura 1-22**). Existen, sin embargo pruebas especiales descriptivas donde un grupo reducido de personas entrenadas evalúan y discuten en conjunto, en una mesa redonda los atributos de las muestras.



**Figura 1-22.** Ejemplo de una sala de evaluación sensorial.

#### **1.6.4. Pruebas de evaluación sensorial**

Los métodos de medición sensorial comprenden una amplia gama de pruebas de evaluación. La elección de los mismos se basa en los objetivos del proyecto y en la disponibilidad de personas y material a utilizar. Se han clasificado estos métodos en tres grandes categorías:

**Pruebas de discriminación:** buscan diferencias significativas entre productos. Dentro de este grupo se encuentran las pruebas: Test del triángulo; Duo ó trío; Test de comparación pareada; diferencia contra control; test “A”-“no A”; etc.

**Ensayos descriptivos:** realizan una descripción completa de los productos a través de un panel entrenado. Para realizar un test descriptivo se pueden utilizar métodos ya normalizados como: análisis descriptivo cuantitativo (QDA), perfil de flavor, perfil de textura, perfil libre, método SPECTRUM®, etc.

**Ensayos afectivos:** evaluar la respuesta (reacción, preferencia o aceptación) de consumidores reales o potenciales de un producto. Las pruebas afectivas siguen, en

## Introducción

general a estudios discriminativos y/o descriptivos y son previas a un estudio de mercado. A diferencia de los métodos analíticos que se realizan con evaluadores seleccionados y entrenados, las pruebas afectivas se realizan con los consumidores.

A continuación se describirán brevemente los fundamentos de las pruebas sensoriales que se han utilizado en este estudio. Las dos primeras son pruebas discriminativas y la última es una prueba afectiva.

### *1.6.4.1. Test de triángulo*

Esta prueba discriminativa tiene como objetivo determinar si existe diferencia sensorial entre dos productos, particularmente por la modificación de un ingrediente, proceso, envase ó por almacenamiento. Éste determina diferencia global, sin identificar ningún atributo particular. Se requiere aleatoriedad en la presentación de las muestras debiéndose ofrecer si se requiere seis combinaciones posibles, en las cuales las posiciones de las dos muestras son diferentes. Para muestras A y B, las posibles combinaciones son: ABA - AAB - BAA – BBA - BAB – ABB. Este test es estadísticamente más eficiente que la comparación pareada ó el test Duo-trio, debido a que la probabilidad de respuestas por efectos del azar es menor. Sin embargo, este test tiene uso limitado para productos que generan fatiga sensorial o adaptación (Meilgaard y col., 2006; Espinosa – Manfugás, 2007).

### *1.6.4.2. Test de diferencia contra control*

Los objetivos de esta prueba discriminativa consisten en determinar si existe diferencia entre una o más muestras y el control, y estimar el tamaño de dicha diferencia. Se presenta a los participantes una muestra control de referencia, identificada como tal, y una o varias muestras (una de las cuales puede ser un control camuflado), para ser comparadas con la referencia. El juez debe indicar el tamaño de dicha diferencia generalmente, en una escala de categorías desde “ninguna diferencia” a “diferencia muy grande”. A cada categoría se le asignará un número y los resultados totales para cada

## Introducción

muestra serán analizados por el método de análisis de varianza (ANOVA). Suele ser ventajoso agregar un control camuflado (consistente en una muestra igual al control, pero incluida entre las muestras a evaluar) para obtener una medida del efecto placebo. Este test es útil en situaciones en las cuales puede haber una diferencia detectable, pero el tamaño de esa diferencia es el que afecta la toma de una decisión, como por ejemplo, en estudios de vida útil o control de calidad de un producto (Meilgaard y col., 2006).

### *1.6.4.3. Test de campo con consumidores*

El objetivo principal de esta prueba afectiva consiste en evaluar la respuesta personal (aceptabilidad / impresión o bien preferencia frente a competidores) de los consumidores de un determinado producto o servicio siguiendo un protocolo debidamente especificado en el formulario (Meilgaard y col., 2006).

#### *A. Usos de los test campo con consumidores:*

1. Determinar aceptabilidad por consumidores, sobre una base sensorial despojada de la definición conceptual del producto que acompaña a su envase y/o promoción.
2. Diagnósis de problemas imperceptibles en laboratorio antes de investigaciones de mercado más costosas.
3. Son mejor usados como paso final antes de un estudio de mercado o en supermercados.
4. Provee la dirección de una reformulación si ello fuera necesario.
5. Screening de múltiples formulas o selección de las más promisorias sobre la base de un test camuflado.
6. Debido a que los tests se realizan con consumidores "blanco", hacia quienes está dirigido el producto, la información que surge es sustentable y valorable en defensa de sus competidores.

## Introducción

### *B. Presentación de las muestras (número de productos a comparar)*

Existen tres diseños principales:

- Los *tests paralelos* presentan dos productos simultáneamente. Se realizan más en locaciones centrales que en hogares. Bajo circunstancias controladas tiene buena sensibilidad pues las personas evalúan ambos productos. El análisis de datos se realiza por ANOVA. Las comparaciones son estadísticamente directas. Este tipo de test deben ser controlados y monitoreados por el analista.
- Los *tests de un producto (monádicos)*: cada sujeto evalúa un producto. Economiza tiempo pero se requiere de gran cantidad de sujetos. Puede no ser práctico si el producto no es muy usado ó si es difícil reclutar a las personas La comparación estadística entre productos requiere de comparación entre grupos. Existe una desventaja debido a la variabilidad individual. Además deben evitarse dado que el ser humano es mal evaluador de lo absoluto. Si compara con otros productos su potencial aumenta. Es mucho más seguro poner un producto de referencia de base. Ejemplos pueden ser fórmulas alternativas o muestras de la competencia.
- Los *tests monádicos secuenciales*: mejoran esta situación porque al presentar dos productos de forma secuencial, permite tener dos fuentes de variación: sujetos y producto. En algunas situaciones este tipo de tests es inaplicable. Cuando el proceso de evaluación se ve alterado severamente por el uso del primer producto (enjuague para el pelo, cremas, etc.).

### *C. Estructura del cuestionario*

Cuando se diseña un cuestionario es útil hacer un diagrama de flujo de los tópicos a cubrir. La regla principal cuando se diseña un cuestionario es ir de lo más general a lo

## Introducción

específico. Al principio se debe preguntar por la impresión global del producto. Para ello se recomienda utilizar una escala hedónica de 9 puntos balanceada. Inmediatamente después se formulan preguntas abiertas con un apropiado patrón de omisión de preguntas de acuerdo a lo contestado. El direccionamiento de preguntas orienta para las razones de gusto si la impresión global fue positiva o de disgusto si la impresión global fue negativa y en todo caso si encuentra alguna característica positiva. Aunque las respuestas abiertas presentan desventajas, dan la oportunidad de conocer razones de gusto o disgusto con las propias palabras del encuestado. Luego, se investigan atributos más específicos a través de escalas de punto óptimo, de intensidad y de gusto (apariencia, gusto, textura, color, etc.). Finalmente, puede chequearse nuevamente la satisfacción global o algún otro índice de gusto y se continúa con una escala de preferencia (si es que se evalúa más de un producto secuencialmente). Lo importante es no preguntar primero por los atributos y luego por la impresión global pues los consumidores piensan en el producto como un todo (de forma integrada). Las preguntas sobre atributos individuales los convierte en más analíticos y trae fallas cuando se les pregunta en forma global. Además, es común que en la impresión global utilicen terminología empleada en las escalas de atributos particulares.

Sumada a las preguntas de selección de participantes, se puede incluir en el cuestionario algunas preguntas de información personal (edad, ingresos, composición familiar, residencia, ocupación). Este tipo de preguntas de carácter demográfico nunca debe realizarse al principio del cuestionario pues inhiben a la persona y la hace más insegura. Al final del cuestionario es lo más adecuado. Lo sentirá más natural.

## 2. OBJETIVOS





## Objetivos

### **2.1. Hipótesis y objetivo general**

La aplicación de luz UV-C para procesar los alimentos es relativamente nueva en comparación con el tratamiento UV-C para agua, aguas residuales, desinfección del aire y la descontaminación de superficies. Para que el tratamiento con luz UV-C sea efectivo en el procesamiento de alimentos se requiere del desarrollo de métodos alternativos, debido a que los efectos de absorción de UV por parte de la matriz alimenticia son significativamente altos, y más aún si tienen partículas en suspensión o se trata de sistemas turbios. La luz UV-C puede ser eficaz en el tratamiento de los alimentos líquidos transparentes como jugos y refrescos, pero es menos eficaz en el tratamiento de líquidos turbios, con partículas (p.e., leche), donde la luz UV es fuertemente absorbida, dispersada, o reflejada. Un enfoque sistemático para la evaluación de la luz UV-C como un método alternativo de pasteurización implica la consideración de las propiedades y la composición del producto alimenticio a tratar, las características de la fuente de radiación UV-C y efectos en microorganismos clave y en la flora microbiana, entre otros factores a tener en cuenta. En cuanto a las matriz seleccionada, el procesamiento de lácteos con luz UV-C es novedoso y muchos aspectos se están estudiando actualmente a nivel mundial. En lo que se refiere a la cadena láctea, la misma conforma uno de los complejos agroalimentarios más importantes y dinámicos dentro de la economía argentina, siendo considerada como uno de los principales por su distribución territorial y generación de empleo. Los métodos tradicionales de procesamiento de derivados lácteos tales como la pasteurización y los procesos de ultra alta temperatura (UHT) son utilizados con el propósito de eliminar patógenos y generar productos seguros para el consumo humano. La demanda de productos lácteos de excelencia (con mejor calidad y mayor vida útil) ha llevado a la industria y la investigación a la búsqueda de nuevas alternativas que mejoren estos dos aspectos fundamentales. La utilización de luz UV-C como asistencia al procesamiento térmico de leche se enmarca dentro de este concepto. Se propone utilizar vacío durante el procesamiento combinado Temperatura –luz UV-C con el propósito de eliminar el oxígeno disuelto y la consecuente producción de flavors desagradables, aspectos que serán abordados a nivel instrumental y sensorial en el desarrollo de esta tesis. En lo que respecta a las modificaciones de las

## Objetivos

características fisicoquímicas y reológicas de un subproducto lácteo elegido (yogurt), se busca obtener beneficios en aspectos de calidad remarcando el potencial de la utilización de luz ultravioleta como una asistencia a la pasteurización.

El **objetivo general** de esta tesis pretende avanzar en la consideración de dos ejes innovadores para el desarrollo de productos a saber, i) la utilización de luz UV-C asistiendo a procesos tradicionales con el propósito de tener productos y derivados seguros y de calidad mejorada y ii) el desafío de la utilización de luz UV-C en sistemas opacos. Se evaluará, tanto cualitativa como cuantitativamente, la eficiencia de la aplicación de un proceso de pasteurización asistida por luz UV-C en leche, con el propósito de mejorar las características texturales, físico-químicas y organolépticas de un subproducto como el yogurt y al mismo tiempo obtener un producto seguro desde el punto de vista microbiológico.

### **2.2. Objetivos específicos**

Los objetivos específicos de esta tesis son:

1. Optimización del procesamiento combinado propuesto: tratamiento térmico/ UV-C/vacío, para el caso de leche utilizando un equipo UV-C en cascada.
2. Evaluación de la modificación de algunos factores de calidad en leche procesada por la tecnología propuesta (medida instrumental y sensorial de productos de oxidación).
3. Evaluación de la efectividad del tratamiento propuesto en inactivación de la flora nativa (bacterias aerobias mesófilas y coliformes) de leche.
4. Optimización de la elaboración de yogurt a partir de leche procesada por tecnología propuesta.
5. Validación de la calidad en el yogurt recién elaborado y también durante el almacenamiento refrigerado mediante medidas instrumentales (parámetros fisicoquímicos; color, sinéresis y textura).
6. Evaluación de la aceptabilidad sensorial del yogurt elaborado por la tecnología propuesta.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS



### 3.1. Materia Prima e insumos minoritarios

En la tesis se utilizaron las materias primas e insumos que se detallan a continuación:

- Leche entera comercial ultrapasteurizada (sólidos solubles =  $11,9 \pm 0,2^\circ\text{Brix}$ , pH =  $6,75 \pm 0,01$ , materia grasa = 3 % P/v. (La Serenísima, Mastellone Hnos. S.A., Buenos Aires, Argentina).
- Fermento (inóculo mixto de bacterias ácido lácticas, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*) FARGO™ 404 (Amarex Argentina S.A, Kerry Ingredients & Flavours, Rochester, Estados Unidos).
- Leche Descremada en polvo instantánea, humedad < 4 % P/p, materia grasa = 1,5 % P/v (La Serenísima, Mastellone Hnos. S.A., Buenos Aires, Argentina).

Otros insumos:

- Gelatina sin sabor (Royal, Kraft Foods Global Brands, San Luis, Argentina).
- Azúcar Blanco Refinado (Ingenio Ledesma S.A., Jujuy, Argentina).
- Vainilla (Alicante, La Virginia, Buenos Aires, Argentina).

La materia prima utilizada para los estudios microbiológicos fue:

- Leche cruda homogeneizada, donada por la Universidad de Luján (sólidos solubles =  $13,0 \pm 0,2^\circ\text{Brix}$ , pH =  $6,65 \pm 0,01$ , materia grasa = 4%).

### 3.2. Reactivos

- Ácido Tricloroacético (Biopack, Buenos Aires, Argentina).
- Ácido tiobarbitúrico (Merck, Darmstadt, Alemania).

## Materiales y métodos

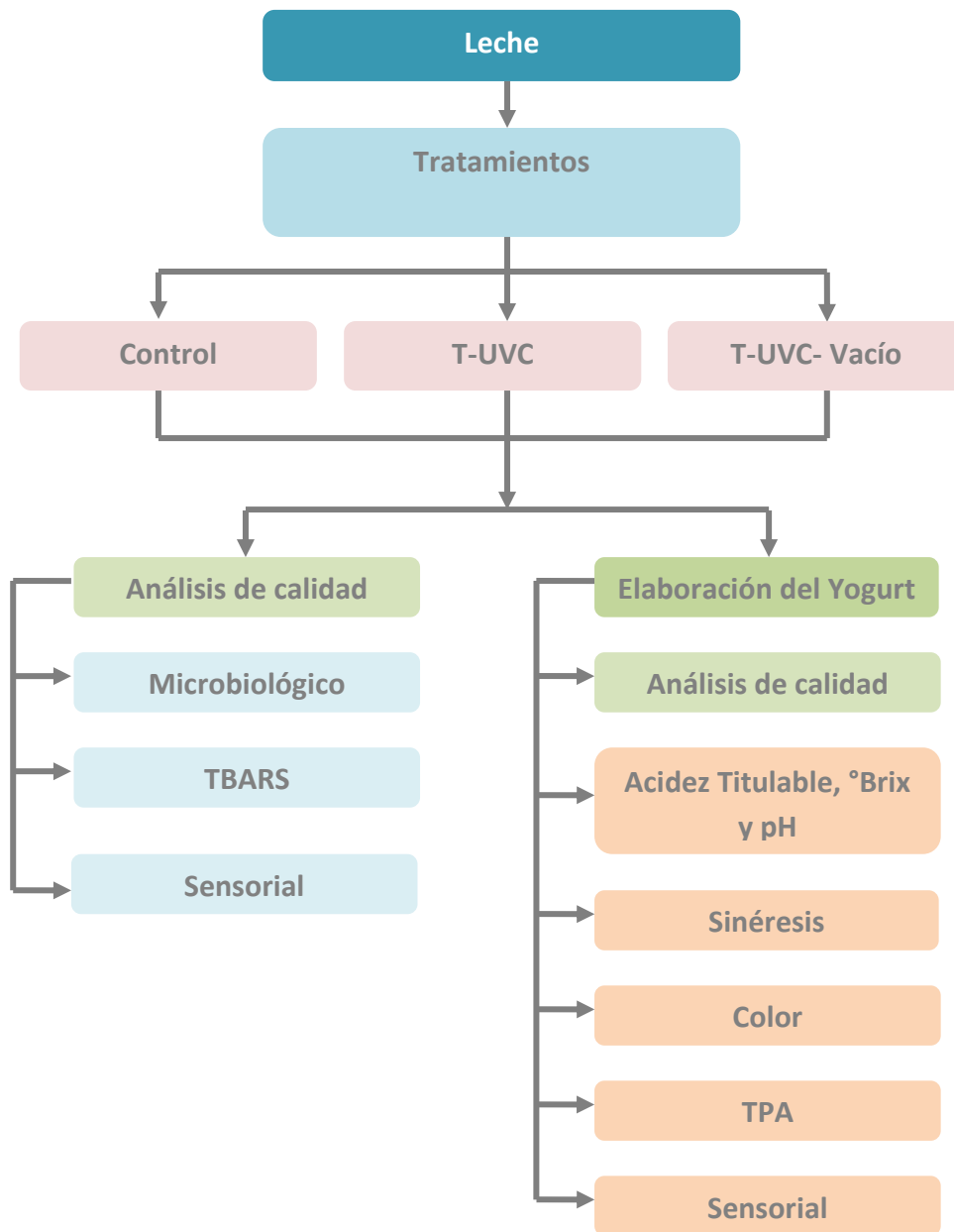
- Alcohol etílico absoluto (Biopack, Buenos Aires Argentina).
- Hidróxido de sodio (NaOH) (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Solución buffer pH 4,0 (Biopack, Buenos Aires, Argentina).
- Solución buffer pH 7,0 (Biopack, Buenos Aires, Argentina).
- 1,1,3,3 Tetrametoxipropano (Merck, Darmstadt, Alemania).

### **3.3. Medios de cultivo**

- Agua peptona buffereada (Laboratorios Britania, Buenos Aires, Argentina) Composición (g/L): peptona 10,0; cloruro de sodio 5,0; fosfato disódico 3,5; fosfato monopotásico 1,5; pH del medio preparado:  $7,2 \pm 0,2$ .
- Agar de Recuento en placa (APC) (Laboratorios Britania, Buenos Aires, Argentina) Composición (g/L): extracto de levadura 2,5; tripteína 5,0; glucosa 1,0; agar 15,0; pH del medio preparado:  $7,0 \pm 0,2$ .
- Agar Bilis Rojo Neutro Cristal Violeta Lactosa (ABRV-L) (Laboratorios Britania, Buenos Aires, Argentina) Composición (g/L): extracto de levadura 3,0; peptona 7,0; sales biliares 1,5; lactosa 10,0; cloruro de sodio 5,0; rojo neutro 0,03; cristal violeta 0,002; agar 15,0; pH del medio preparado:  $7,4 \pm 0,2$ .
- Caldo Verde Brillante 2% Sales Biliares (BRILA) (Laboratorios Britania, Buenos Aires, Argentina) Composición (g/L): bilis de buey deshidratada 20,0; lactosa 10,0; peptona 10,0; verde brillante 0,0133; pH del medio preparado:  $7,2 \pm 0,2$ .

### 3.4. Esquema de trabajo

A continuación se describe el esquema de trabajo (**Figura 3-1**) realizado en el presente trabajo de investigación y que será explicado a continuación.



**Figura 3-1.** Diagrama del esquema de trabajo.

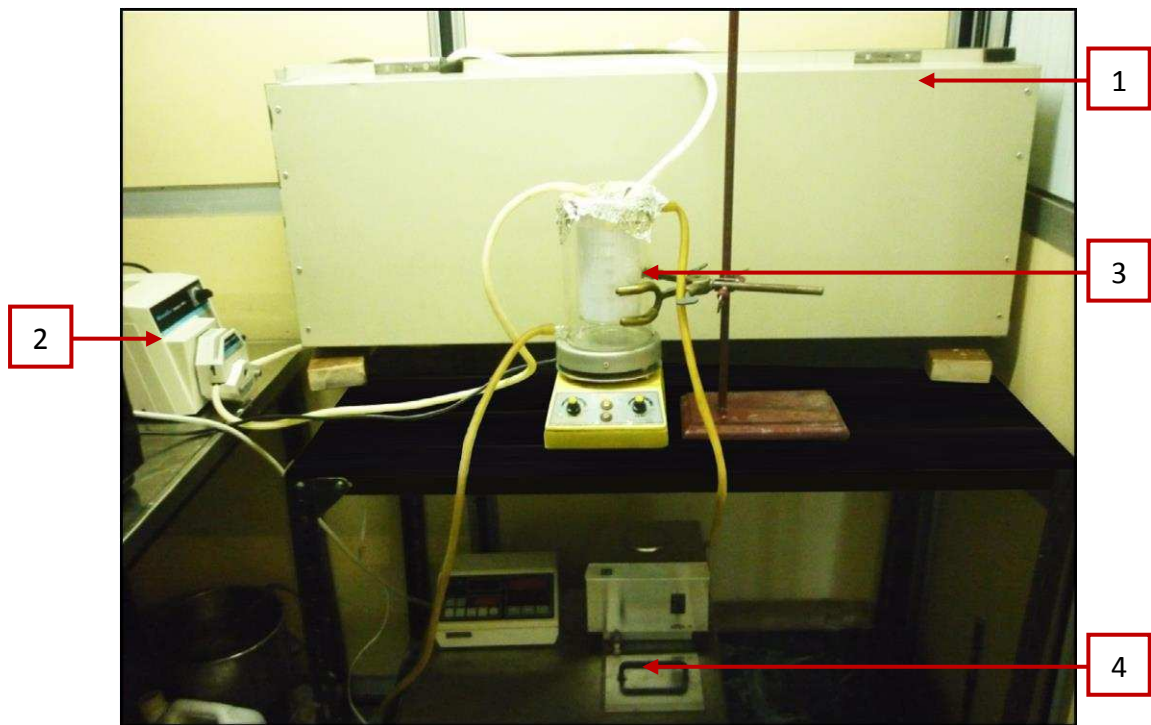
### 3.5. Tratamientos evaluados

La investigación se focalizó en el estudio de tres tratamientos, los cuales se describen a continuación:

- **Control:** leche procesada con tratamiento térmico a 85°C durante 20 min (pasteurización).
- **T-UVC:** leche procesada por luz UV-C con tratamiento térmico simultáneo a 85°C durante 20 min.
- **T-UVC-Vacío:** leche sometida a vacío (400 mmHg) con agitación durante 10 minutos, posteriormente procesada por luz UV-C y tratamiento térmico simultáneo a 85°C durante 20 min., manteniendo el vacío en el sistema durante el procesamiento.

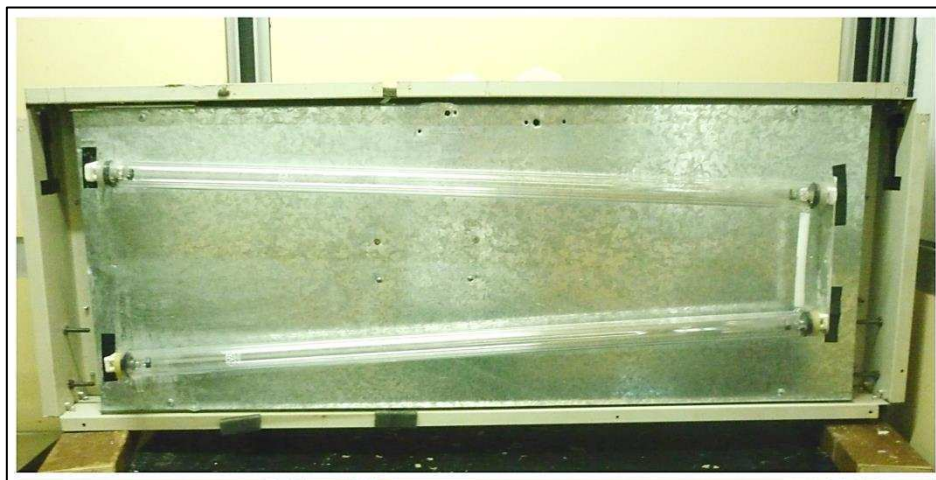
#### 3.5.1. Descripción del equipo de irradiación con luz UV-C asistido por temperatura (T-UVC)

El equipo de flujo continuo para tratamiento T-UVC de sistemas líquidos fue construido en el laboratorio para este fin y su esquema se muestra en la **Figura 3-2**. El mismo consiste de una carcasa metálica herméticamente cerrada, dentro de la cual se encuentran dos lámparas de luz en el rango germicida (254 nm, UV, Lux 50W/G50 TO, Phillips) de baja presión de mercurio, cada una instalada dentro de una camisa de vidrio sellada en sus extremos mediante o-rings y resina de contacto (**Figura 3-3**). Estas lámparas presentan un arreglo en paralelo y cada una cuenta con sus respectivas conexiones de entradas y salidas, las cuales se conectan a través de mangueras flexibles autoclavables (Cole-Parmer, Masterflex, L/S 24, Illinois, USA) a un vaso de doble camisa de 800 mL de capacidad, el cual a su vez, está conectado a un baño termostático HAAKE (Mess-Technik, Karlsruhe, Alemania) para el control preciso de la temperatura en el sistema, como se observa en la **Figura 3-2**.



- |                             |                      |
|-----------------------------|----------------------|
| 1. Carcasa del reactor UV-C | 3. Vaso doble camisa |
| 2. Bomba Peristáltica       | 4. Baño Termostático |

**Figura 3.2.** Esquema del equipo utilizado para el tratamiento T-UVC.

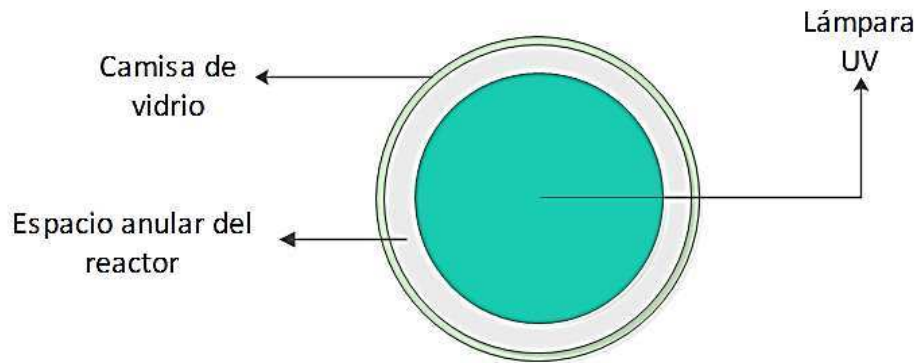


**Figura 3-3.** Interior de la carcasa conteniendo las lámparas de luz UV-C en cascada.



## Materiales y métodos

El espacio anular libre entre cada lámpara UV-C y su respectiva camisa de vidrio, se constituyó como reactor (cámara de irradiación). La longitud del reactor es de 0,87m con un diámetro interno (pared de la lámpara) de 0,024m y un diámetro externo (camisa de vidrio) de 0,031m (**Figura 3-4**).



**Figura 3-4.**Detalle de una lámpara de luz UV-C encamisada.

El volumen del reactor se calculó según la siguiente ecuación para flujo en espacio anular:

$$V = \pi r^2 L \quad (3.1)$$

Donde:

$r$  = radio del espacio anular del reactor.

$L$  = longitud del reactor.

Debido a posibles imperfecciones en el diseño del equipo, el volumen se verificó experimentalmente, midiendo por medio de una probeta calibrada. Para realizar esta verificación, se cargó totalmente el equipo con agua destilada por medio de una bomba peristáltica (Cole-Parmer, Masterflex, 7518-12, Illinois, USA), una vez cargado todo el reactor, se determinó su volumen, descargando el contenido en una probeta, verificando que todo el sistema quedara completamente vacío. La medición se realizó por triplicado.

### 3.5.2. Determinación de la dosis de radiación UV-C

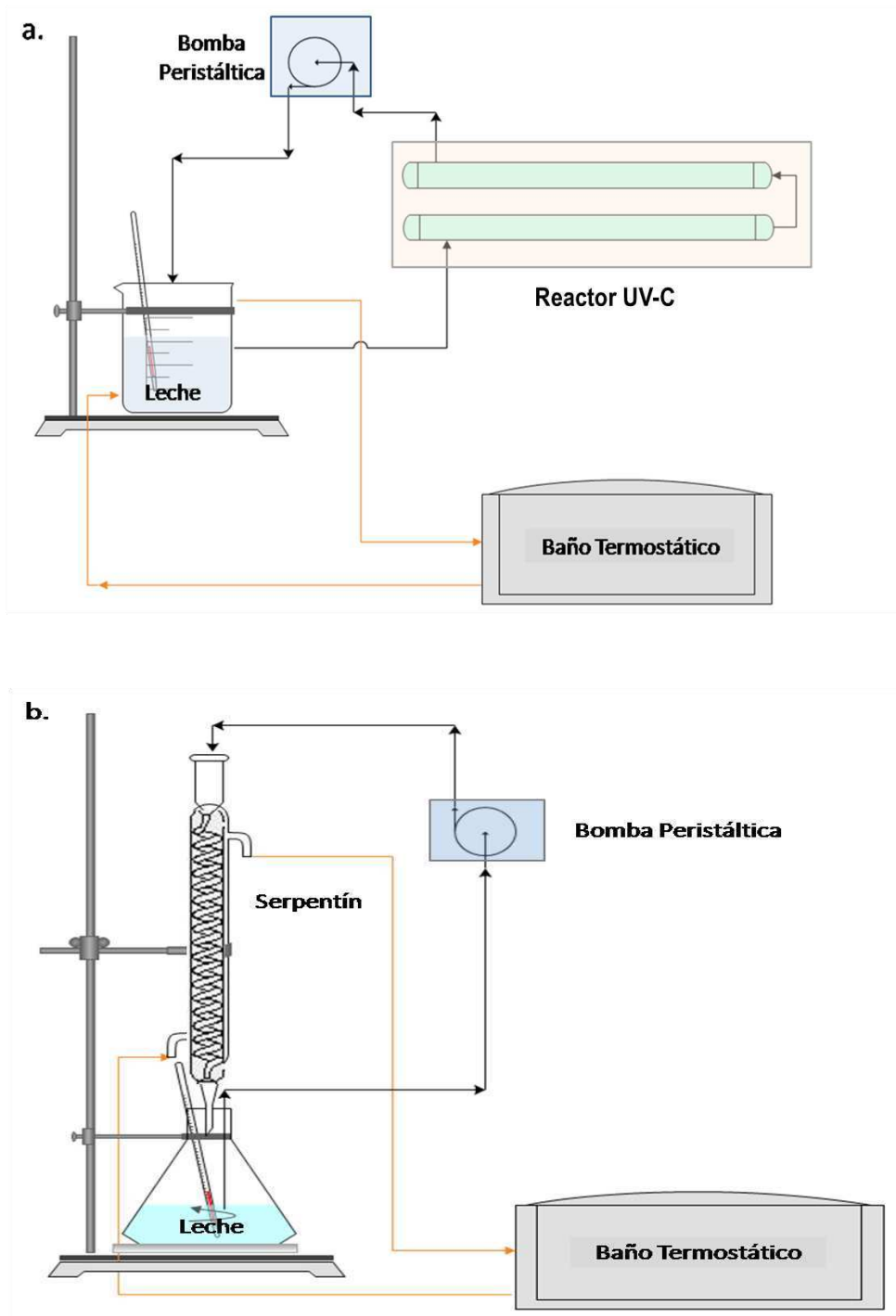
Para la determinación de la dosis de radiación, primero se midió la irradiación emitida por cada lámpara (mW) utilizando un radiómetro Melles Griot modelo 13 PEM 001 (Colorado, USA). Una vez obtenido este valor se calculó la dosis de radiación mediante la siguiente expresión:

$$UV \text{ dosis } (KJ/m^2) = \text{Irradiación } (mW) \times \text{tiempo de exposición } (s) \quad (3.2)$$

Los valores obtenidos con el radiómetro, se compararon con los valores obtenidos previamente en el laboratorio por otros investigadores (Mytilinaki, 2008; Char y col., 2010) utilizando el método de actinometría para el par yoduro-yodato de acuerdo a la técnica descrita por Rhan y col. (1997, 1999).

### 3.5.3. Optimización del equipo de irradiación con luz UV-C asistido por temperatura (T-UVC)

Luego de algunas pruebas iniciales, en primer lugar, se propuso que el proceso de irradiación con luz UV-C se realizara en serie con el tratamiento térmico. Para esto, se eligió una temperatura de operación de  $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  para el proceso de irradiación con luz UV-C, y una vez pasados 20 minutos, se pasteurizó la leche a través de un serpentín encamisado durante 20 minutos a una temperatura de  $85^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  utilizando agua como fluido calefactor. La secuencia de trabajo se esquematiza en la **Figura 3-5**.



**Figura 3-5.** Esquema del proceso. **a.** Etapa de irradiación con luz UV-C a  $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ; **b.** etapa de pasteurización de la leche a  $85^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Posteriormente, se realizó la prueba del proceso en simultáneo, es decir, efectuar el tratamiento térmico ( $85^{\circ}\text{C} - 20 \text{ min}$ ) combinado con la irradiación UV-C, tal como se observa en la **Figura 3-3**. Para alcanzar dicha temperatura se utilizó un baño

## Materiales y métodos

termostático HAAKE (Mess-Technik, Karlsruhe, Alemania), el cual se programó a una temperatura de 90°C.

Finalmente se decidió utilizar el proceso en simultáneo para este trabajo de investigación; debido a la simplicidad del proceso y a que pruebas preliminares de elaboración de yogurt a partir de leche procesada por ambos métodos no arrojaron diferencias significativas en los parámetros fisicoquímicos evaluados.

Para llevar a cabo el proceso, se reguló la velocidad de alimentación de la bomba peristáltica en su punto máximo, cuidando siempre que el sistema de mangueras permaneciera estable y no produjera derrames durante el procesamiento. Se utilizó un caudal de 1,5 L/min (0,000025 m<sup>3</sup>/s). Se calculó el número de Reynolds correspondiente para la leche usando la siguiente ecuación (Ibarz-Ribasy Barbosa-Cánovas, 2005):

$$Re = \frac{\rho \cdot v \cdot D_e}{\mu} \quad (3.3)$$

Donde:

$\rho$ : densidad de la leche = 1030.6 Kg/m<sup>3</sup> (Tetra Pak, 1995)

$\mu$ : viscosidad dinámica de la leche = 2,2×10<sup>-3</sup>Pa.s (Reverte, 1985)

$v$ : velocidad media de flujo (m/s)

$D_e$ : diámetro equivalente (m)

La velocidad media de flujo se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$v = \frac{F_v}{A} = \frac{0,000025 \text{ m}^3/\text{s}}{0,00030238 \text{ m}^2} = 0,08267789 \frac{\text{m}}{\text{s}} \quad (3.4)$$

Donde  $F_v$  es el caudal de alimentación (0,000025 m<sup>3</sup>/s), y A corresponde al área anular del reactor, la cual se calculó con la siguiente ecuación:

$$A = \frac{\pi}{4} D_{ext}^2 - \frac{\pi}{4} D_{int}^2 = \frac{\pi}{4} (0,031 \text{ m})^2 - \frac{\pi}{4} (0,024 \text{ m})^2 = 0,00030238 \text{ m}^2 \quad (3.5)$$

## Materiales y métodos

El diámetro equivalente ( $D_e$ ) se calculó de la siguiente manera:

$$D_e = \frac{(D_{ext}^2 - D_{int}^2)}{D_{int}} = 0,01604 \text{ m} \quad (3.6)$$

Reemplazando los valores de los parámetros en la ecuación (3.3), se obtuvo un número de  $Re = 621$ , el cual corresponde a régimen laminar. Dado que, según el diseño de este equipo, se operaba con un modelo de recirculación y no de única pasada, los elementos de volumen eran expuestos reiteradas veces a la irradiación UV-C, hecho que permitió la utilización de una velocidad de flujo laminar.

### **3.5.4. Tratamiento control**

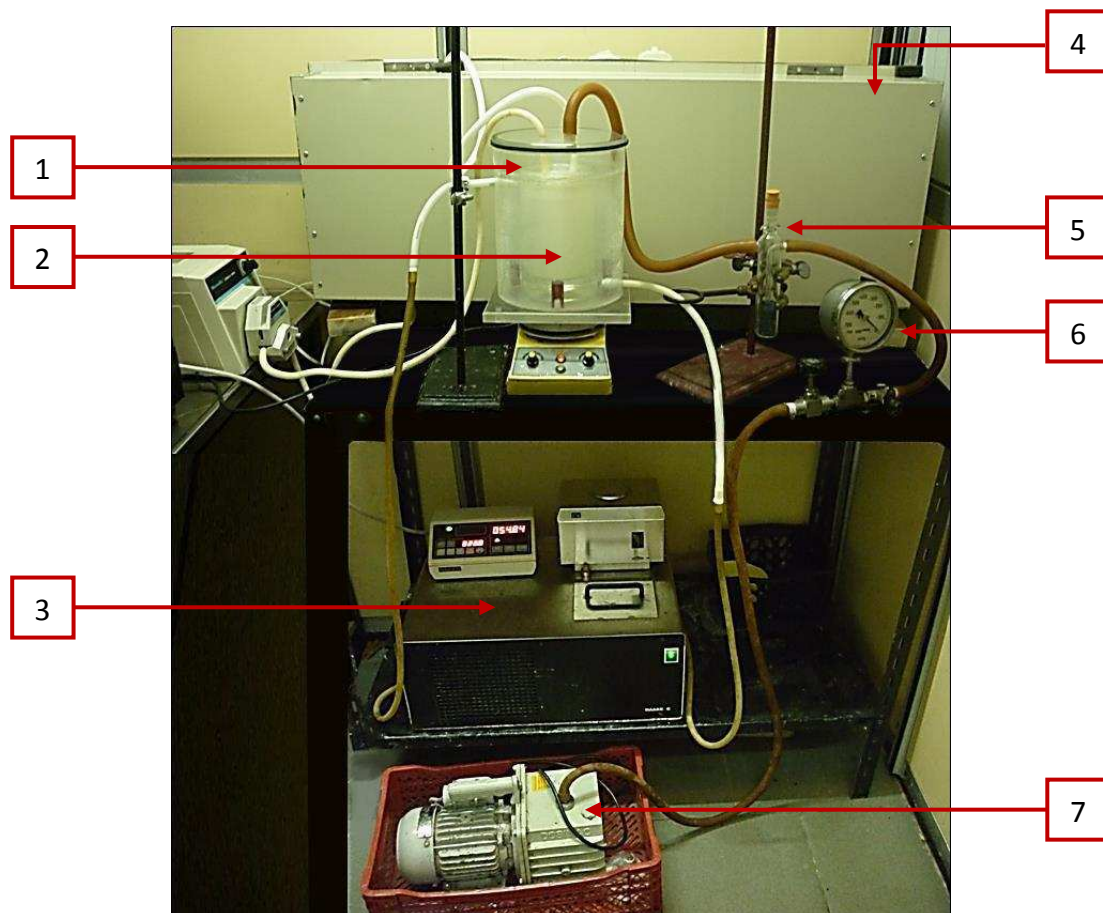
Antes de cada tratamiento térmico, se higienizó el área de trabajo y el reactor UV-C, con el objetivo de evitar cualquier contaminación en la leche. Ochocientos (800) mL de leche fueron descargados en un vaso doble camisa, el cual estaba conectado al baño termostático, con el propósito de mantener una temperatura constante de  $85 \pm 1^\circ\text{C}$  en el interior del vaso. El sistema se mantenía en constante agitación mediante un agitador magnético (Decalab SRL, Buenos Aires, Argentina). El vaso doble camisa, a su vez estaba conectado con el reactor por medio de mangueras flexibles autoclavables por donde circulaba la leche usando la bomba peristáltica, estableciéndose un flujo de 1,5 L/min. Con el flujo establecido, se procedió a realizar la pasteurización a  $85 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 20 min pero sin encender las lámparas de luz UV-C (**Figura 3-3**).

### **3.5.5. Tratamiento de irradiación con luz UV-C asistido por temperatura (T-UVC)**

Antes de cada experiencia, se higienizó el área de trabajo y se encendieron las lámparas UV-C del reactor durante 5 minutos, con el objetivo de esterilizar el mismo. Se procesó la leche en las mismas condiciones descritas en el **Apartado 3.5.4**, y con el flujo establecido, se encendió el reactor UV-C (**Figura 3-3**) durante 20 min.

### 3.5.6. Tratamiento de irradiación con luz UVC asistido por temperatura y vacío (T-UVC-Vacío)

Se realizó un tratamiento de irradiación T-UVC durante 20 minutos tal como se describió en el apartado 3.5.5, pero aplicando inicialmente un vacío al sistema de 400 mmHg durante 10 minutos y luego manteniendo el mismo durante el tratamiento T-UVC. Para realizar este tratamiento, el vaso doble camisa fue introducido dentro de un vaso cilíndrico con tapa, especialmente diseñado para soportar el vacío. El mismo estaba conectado a un manómetro y a una bomba de vacío (**Figura 3-6**). El vacío fue aplicado durante 10 minutos con agitación, luego se hizo circular la leche por el reactor durante 20 minutos adicionales manteniendo el vacío.



- |                      |                        |                   |
|----------------------|------------------------|-------------------|
| 1. Camisa para vacío | 4. Reactor de luz UV-C | 7. Bomba de vacío |
| 2. Vaso doble camisa | 5. Trampa de vapor     |                   |
| 3. Baño Termostático | 6. Manómetro           |                   |

**Figura 3-6.** Esquema del equipo utilizado para el tratamiento T-UVC-Vacío.

### **3.6. Evaluación de parámetros de calidad en la leche procesada por los tratamientos de estudio**

#### **3.6.1. Análisis Microbiológico**

Con el objetivo de evaluar la calidad microbiológica de la leche procesada por los tratamientos de estudio (Control, T-UVC y T-UVC-Vacío), se realizaron los siguientes análisis, de acuerdo con la especificación del Código Alimentario Argentino (Capítulo VIII; Artículo 558 - Res MSyAS Nº 047, 28.01.98).

##### *3.6.1.1. Recuento de bacterias aerobias mesófilas (norma FIL 100B:1191)*

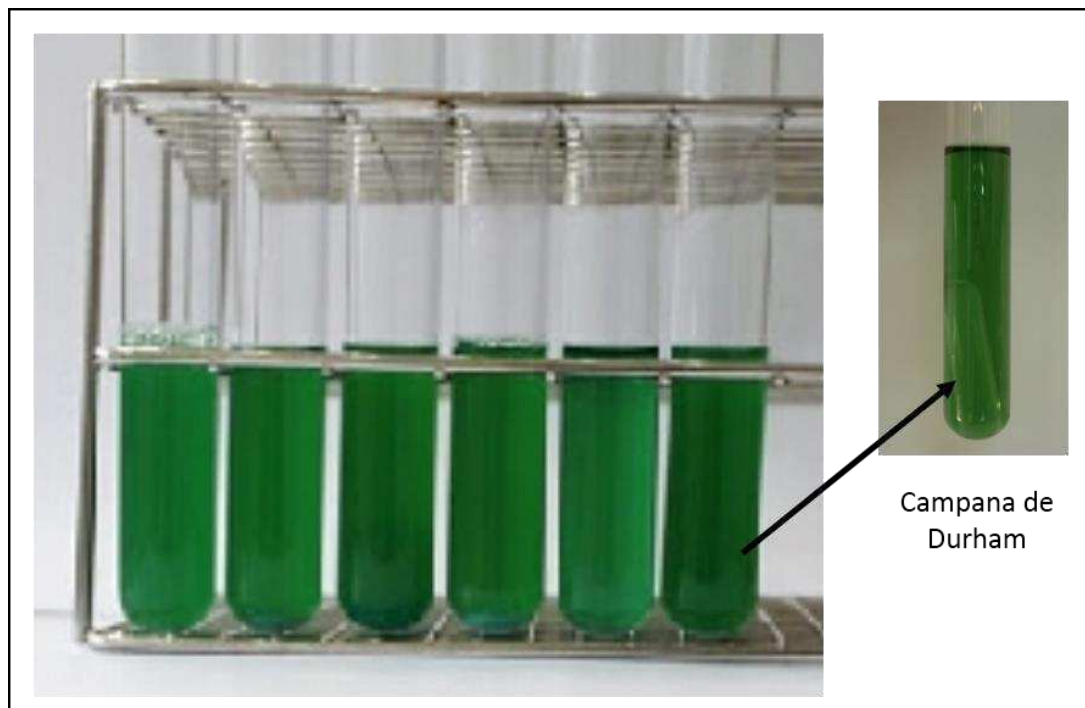
Se analizaron siete diluciones sucesivas de leche antes y después de cada tratamiento. Se sembró en profundidad, 1 mL de cada dilución por duplicado en agar para recuento (APC) con el agregado de 0,1% de leche en polvo descremada. Las placas, se incubaron a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $72\text{h} \pm 3\text{h}$ . Pasado este tiempo, se realizó el recuento de colonias en placa y se informó como “UFC de bacterias aerobias mesófilas/mL”.

##### *3.6.1.2. Recuento de bacterias Coliformes (Recuento en placa con medio ABRV)*

De manera general el recuento de bacterias coliformes, permite identificar si el procesamiento aplicado es adecuado y si no existe una recontaminación post-proceso (por equipos sucios o mala manipulación). Su determinación se realizó por recuento en placa con el medio Agar Bilis Rojo Violeta – Lactosa analizando siete diluciones sucesivas de leche antes y después de cada tratamiento. El análisis se inició con un ensayo presuntivo, en el cual se sembró por profundidad 1 mL de cada dilución por duplicado y se agregó agar Bilis Rojo Violeta – Lactosa, una vez solidificado completamente el agar, se incubaron a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $24\text{h} \pm 2\text{h}$ . Pasado este tiempo, si se observaba crecimiento de colonias típicas (rojas, grandes con un halo rojizo de precipitación de las sales biliares) en alguna de las placas, se procedía a realizar un ensayo de confirmación. El mismo consiste en tomar de 5 a 10 colonias típicas del medio ABRV, transferirlas a tubos de fermentación con caldo Verde Brillante

## Materiales y métodos

Lactosa 2% Sales Biliares (**Figura 3-7**) e incubarlas a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $24\text{h} \pm 2\text{h}$ . Se consideran positivas aquellas colonias que presentan producción de gas en la campana de Durham. El resultado se expresó como “UFC de coliformes totales/mL”.



**Figura 3-7.** Tubos de fermentación con caldo Verde Brillante Lactosa 2% Sales Biliares y campanas de Durham.

Los resultados de los análisis microbiológicos, fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA) para buscar diferencias significativas entre los tratamientos, verificándose siempre los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Se aplicó un test de Tukey (con un nivel de confianza del 95%) cuando se encontraron diferencias significativas. Se utilizó el software estadístico Infostat versión 2009 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) y Microsoft Office Excel para el análisis de los datos.

### **3.6.2. Determinación de compuestos de oxidación**

Para la determinación de oxidación de lípidos se utilizó el método TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances). TBARS es una técnica colorimétrica, que se basa en la reacción de color que ocurre entre el malondialdehído (producto de la



## Materiales y métodos

oxidación de los lípidos) y el ácido tiobarbitúrico, midiendo la absorbancia a 532nm del compuesto coloreado formado (King, 1962).

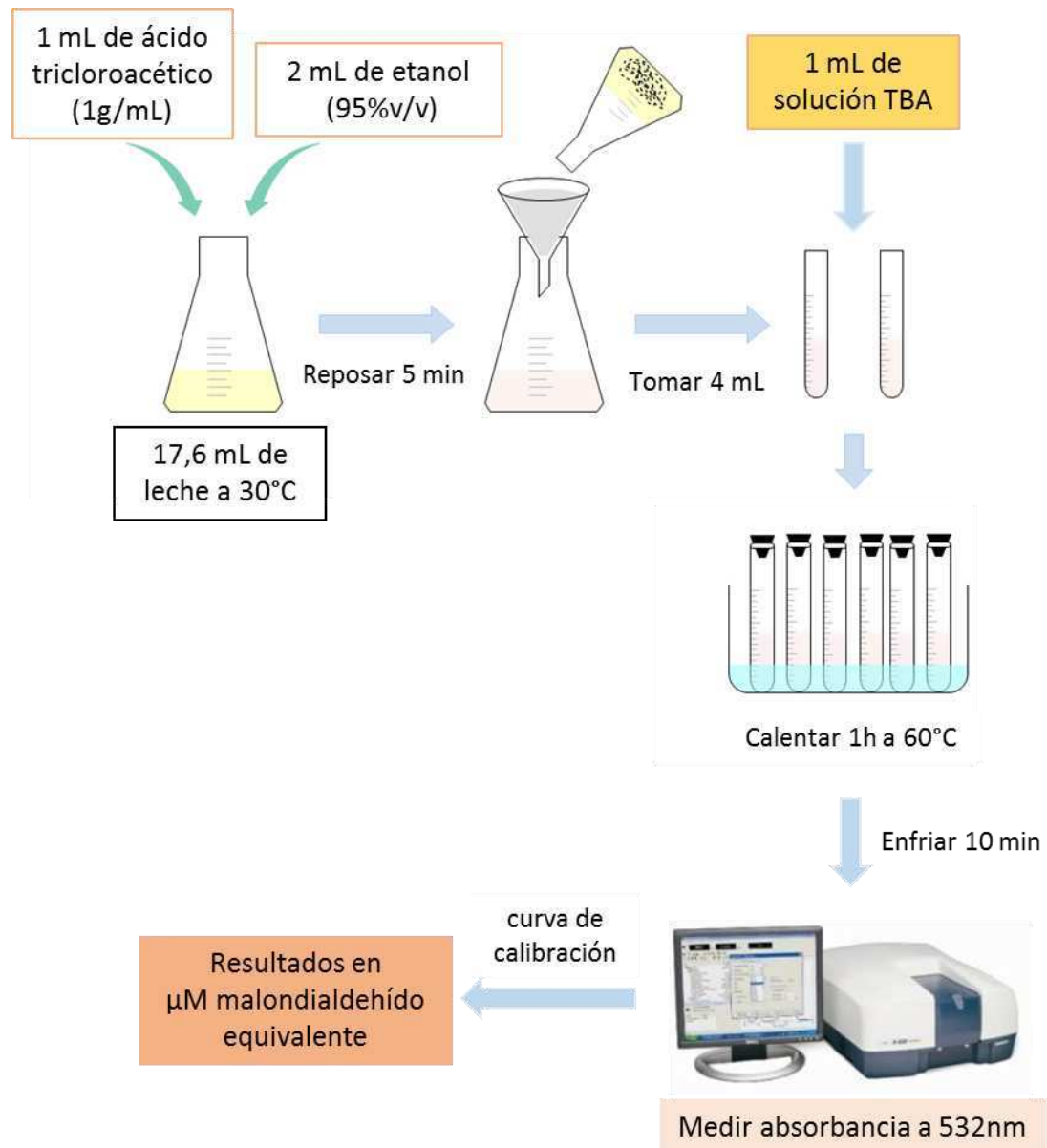
Se tomaron 17,6 mL de leche previamente termostatizada a 30°C, se le agregó 1 mL de ácido tricloroacético (1g/mL) y 2 mL de etanol (95% v/v) para precipitarla proteína de la leche. Transcurridos 5 minutos la mezcla fue filtrada utilizando un papel filtro Whatman #42 y el precipitado fue removido. Se tomaron 4 mL de la solución filtrada y se le adicionó 1 mL de solución TBA (1,4 g de Ácido tiobarbitúrico en 100 mL de etanol al 95% v/v). Con los tubos tapados, se procedió a calentar a 60°C en baño de agua durante 1h; transcurrido este tiempo, las muestras fueron inmediatamente enfriadas en un baño de agua-hielo durante 10 min. Por último, se midió la absorbancia a 532nm, utilizando un espectrofotómetro modelo V-630 (JASCO, Tokio, Japón) (**Figura 3-8**).

Se construyó la curva de calibración, con el objetivo de informar los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico como  $\mu\text{M}$  de malondialdehído. El estándar utilizado fue 1,1,3,3 tetrametoxipropano (TMP), el cual en medio ácido se hidroliza produciendo malondialdehído. Se realizaron diluciones de 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 y 1  $\mu\text{M}$  del reactivo estándar, y se realizaron los mismos pasos y condiciones descriptas en la **Figura 3-8**. Posteriormente, se graficaron las lecturas de absorbancia a 532nm en función de  $\mu\text{M}$  de malondialdehído, para obtener la ecuación de la recta.

Los valores de absorbancia obtenidos para la leche se multiplicaron por el valor obtenido para la pendiente de la curva de calibración, reportando los resultados como  $\mu\text{M}$  de malondialdehído. Las muestras fueron analizadas por triplicado para cada tratamiento.

Los resultados obtenidos fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar y fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA) para buscar diferencias significativas entre los tratamientos, verificándose siempre los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Se aplicó un test de Tukey (con un nivel de confianza del 95%) cuando se encontraron diferencias significativas. Se utilizó el software estadístico Infostat versión 2009 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) y Microsoft Office Excel para el análisis de los datos.

## Material es y métodos



**Figura 3-8.** Esquema de la determinación de compuestos de oxidación (TBARS).

### 3.6.3. Evaluación sensorial

Se realizó un análisis sensorial con el objetivo de determinar si los consumidores eran capaces de detectar presencia de sabores extraños en la leche procesada por los tratamientos propuestos.

## Materiales y métodos

### 3.6.3.1. Condiciones generales para el desarrollo de la prueba

#### A. Área de prueba y preparación de las muestras

Se utilizó una habitación tranquila y libre de posibles distracciones, acondicionada con luz natural uniforme y temperatura agradable. Esta se dividió en dos sectores, uno destinado al análisis y otro a la preparación de las muestras. Para que los juicios fuesen independientes, en el sector de análisis se utilizaron seis cubículos blancos como se muestra en la **Figura 3-9**.

#### B. Planillas

Las planillas utilizadas en el análisis, se elaboraron en base a modelos ya normalizados, en un estilo claro y conciso, para evitar cualquier tipo de duda. En estas se incluyó las instrucciones para el análisis sensorial a realizar, escalas, preguntas y términos para expresar el juicio emitido por cada sujeto; además también se incluyó una casilla de observaciones, donde los participantes expresaron su opinión, proporcionando información valiosa no suministrada por la estadística.



**Figura 3-9.** Cubículos utilizados para la evaluación sensorial.

## Materiales y métodos

### C. Evaluadores

Se invitó a participar de las sesiones a estudiantes universitarios, cuyas edades oscilaban entre los 20 y 35 años. Los mismos manifestaron ser consumidores de leche y yogur. Al finalizar cada prueba se les entregó una pequeña recompensa (golosina), como agradecimiento por su colaboración.

#### 3.6.3.2. Test de Triángulo olfatorio

El objetivo de las pruebas de diferenciación triangular es determinar si existe una diferencia sensorial entre dos productos. Este método es particularmente útil en situaciones en las que los efectos del tratamiento pueden haber producido cambios en el producto, que no pueden caracterizarse simplemente por uno o dos atributos (Meilgaard y col., 2006).

Este ensayo se realizó con el objetivo de evaluar si los consumidores encontraban alguna diferencia olfatoria entre las muestras de leche pasteurizada control (C), leche con tratamiento T-UVC (U) y T-UVC-Vacío (V). Se realizaron tres sets de prueba triangular por cada evaluador. Cada set de tres muestras correspondió a la evaluación de los sistemas C-U; C-V y U-V. De este modo, cada evaluador analizaba todos los sistemas comparándolos entre sí.

Cada evaluador recibió por set, tres muestras codificadas con números al azar, las cuales fueron presentadas de modo aleatorio en vasos plásticos (20mL) con tapa, los 15mL de leche colocados en cada vaso, fueron procesadas y almacenadas desde el día anterior, con el fin de saturar el espacio de cabeza. Además cada evaluador recibió un recipiente con granos de café para no saturar el olfato (**Figura 3-10**) y la planilla N°1 (**Figura 3-11**). El modo aleatorio de presentación de cada set aseguró la eliminación de los errores psicológicos cometidos por los participantes. Así para cada par a comparar, por ejemplo C-U, los posibles arreglos del set presentados entre seis evaluadores fueron CUU, UCU, UUC, UCC, CUC y CCU.



**Figura 3-10.** Prueba de triangulo olfatorio (izquierda). Presentación de un set de 3 muestras (derecha).

Participaron 42 evaluadores no entrenados, consumidores de leche, a quienes se les explicó detalladamente el procedimiento de evaluación olfatoria. Cada evaluador debía destapar la muestra, olerla y luego volverla a tapar, siguiendo siempre un orden de izquierda a derecha. Si fuera necesario o el evaluador sentía su olfato saturado, podía oler el frasco con granos de café entre muestra y muestra.

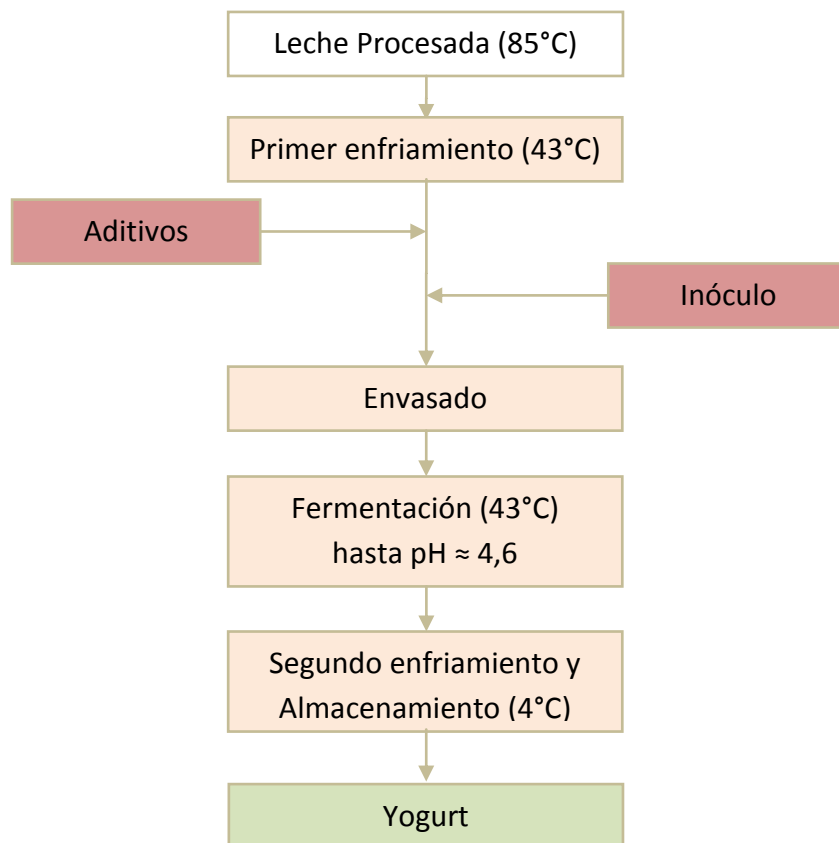
La consigna era detectar en cada set de muestras recibido, cuál era la muestra diferente y reportarlo en la Planilla N°1. Para el análisis e interpretación de los datos, se utilizó la Tabla T8: Número crítico de respuestas correctas en una prueba triangular, (Meilgaard y col., 2006), en el cual se comparó el valor total de respuestas correctas con el valor mínimo requerido para establecer diferencias significativas a un nivel de significación del 5% ( $\alpha = 0,05$ ).

FECHA: ___ / ___ / ___	BANDEJA N°: _____
<b>INSTRUCCIONES</b>	
<p>Ud. recibirá una serie de tres muestras de leche cada una. Analice las muestras, oliendo de a una por vez y de izquierda a derecha, siguiendo el procedimiento que se le ha explicado. Si fuera necesario, entre muestra y muestra, huela el frasco con granos de café.</p>	
<p>Anote por favor el número de la bandeja recibida y el número de cada muestra en esta planilla.</p>	
<p>En cada serie, dos muestras son idénticas y la otra es diferente. <b>Circule el número de la muestra diferente.</b></p>	
<p>Si no encuentra diferencia, deberá forzosamente elegir una de las 3. Si no está seguro puede repetir el procedimiento siempre siguiendo el orden de izquierda a derecha, sin mezclar las muestras que se le han presentado.</p>	
Serie:	
_____	
Observaciones: _____	
_____	
Gracias por su participación!	

**Figura 3-11.** Planilla N°1: Test de triángulo olfatorio.

### 3.7. Elaboración de Yogurt

En la **Figura 3-12** se muestra el diagrama de flujo empleado para la elaboración de yogurt (Hernández-Morales y col., 2013) a partir de leche procesada por los tratamientos propuestos y a continuación del mismo se describen brevemente las etapas.



**Figura 3-12.** Diagrama de flujo de proceso de elaboración de yogurt.

#### 3.7.1. Primer enfriamiento

La leche procesada (según los tratamientos Control, T-UVC y T-UVC-Vacío) fue enfriada de 85°C a 43°C por medio de un baño de agua-hielo durante 10 minutos; y se mantuvo a esta temperatura para favorecer el crecimiento de las bacterias a inocular.

### 3.7.2. Aditivos

Se procedió a la adición de los insumos: gelatina como estabilizante, leche descremada en polvo para aumentar el porcentaje de sólidos no grasos entre 11 – 12% y azúcar como endulzante (Hernández-Morales y col., 2013). En la **Tabla 3-1**, se muestra los porcentajes adicionados de cada insumo utilizado en la elaboración de yogurt:

**Tabla 3-1.** Cantidad adicionada de cada insumo (%p/v).

Insumo	Porcentaje(%p/v)
Gelatina	0,5
Leche en polvo	7,8
Azúcar	10
Inóculo	2

Durante esta etapa, se mantuvo agitación constante con el objetivo de favorecer la dilución de los sólidos utilizando un agitador magnético (Decalab SRL, Buenos Aires, Argentina).

### 3.7.3. Activación del inóculo

El inóculo (FARGO™ 404, Kerry Ingredients & Flavours, Rochester, Estados Unidos) fue pesado en balanza analítica Precisa Gravimetrics AG modelo 180<sup>a</sup> (Dietikon, Suiza) y agregado a leche entera ultrapasteurizada a una temperatura aproximada de 25°C, se agitó suavemente de forma manual durante aproximadamente 1 minuto, para asegurar su completa homogeneización. Se procedió a su incubación a una temperatura de 35°C en estufa (San Jor, modelo SL DB, Buenos Aires, Argentina) hasta que llegara a pH 4,2 (aproximadamente 16 horas) luego se conservó en refrigeración hasta su utilización ese mismo día, evitando cualquier tipo de contaminación, que pudiese afectar la flora necesaria para la fermentación.



## Materiales y métodos

Posteriormente, se adicionó el fermento activado a la leche procesada a 43 °C (temperatura óptima de crecimiento del starter, según las recomendaciones del fabricante) y se agitó suavemente para favorecer el mezclado homogéneo.

### **3.7.4. Envasado**

El envasado se realizó manualmente utilizando potes de plásticos con tapa de 50 mL, los cuales fueron previamente lavados y desinfectados con alcohol etílico al 75%. De igual manera, se aseguró que las instalaciones cumplieran con las condiciones de higiene necesarias.

### **3.7.5. Fermentación**

Los potes de yogurt fueron incubados en una estufa (San Jor modelo SL DB, Buenos Aires, Argentina) a 43°C hasta que se alcanzaran un pH entre 4,6 – 4,7. Los cambios en el pH fueron registrados cada hora hasta alcanzar el pH deseado (**Figura 3-13**).



**Figura 3-13.** Etapa de fermentación de la leche para la obtención de yogurt.

## Materiales y métodos

### **3.7.6. Almacenamiento**

Una vez alcanzado el pH óptimo (4,6 – 4,7), los yogures fueron almacenados en refrigeración durante 24 horas a una temperatura aproximada de 4°C, para luego ser sometidos a los diferentes análisis de calidad a lo largo del almacenamiento (0, 7, 14 y 21 días).

### **3.8. Evaluación de parámetros de calidad de yogurt**

#### **3.8.1. Determinación de pH, acidez titulable y sólidos solubles**

##### *3.8.1.1. Determinación de pH*

El pH del yogurt se midió en un pH-metro PerpHectLogR meter modelo 310 (Orion, Beverly, Estados Unidos). Antes de cada determinación, se calibró el pH-metro con soluciones buffer de pH 4,0 y 7,0. Se realizó determinación de pH por triplicado para cada tratamiento a lo largo del almacenamiento. Los resultados obtenidos fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar.

##### *3.8.1.2. Determinación de acidez titulable*

Se determinó la acidez titulable por medio de titulación potenciométrica (Ramírez-Sucre y Vélez-Ruiz, 2013). Se titularon alícuotas de 10mL de yogurt con una solución de NaOH 0,1N hasta llegar a un pH final de  $8,2 \pm 0,1$ . Las mediciones fueron realizadas por triplicado para cada tratamiento, durante los días de almacenamiento 0, 7, 14 y 21. El resultado fue expresado en % de ácido láctico, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Ácido Láctico} = \frac{V \cdot N \cdot P_{eq}}{A} \quad (3.7)$$

Donde:

V: Volumen de NaOH gastado en la titulación (mL)

## Materiales y métodos

*N*: Normalidad del NaOH

*P<sub>eq</sub>*: Peso equivalente de ácido láctico = 90

*A*: Alícuota de la muestra (10 g)

Los resultados obtenidos fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar y se analizaron a través de un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores, tratamiento y tiempo de almacenamiento, verificándose los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Se aplicó un test de Tukey (con un nivel de confianza del 95%) cuando se encontraron diferencias significativas.

### *3.8.1.3. Determinación de sólidos solubles*

La concentración de sólidos solubles (°Brix) se determinó utilizando un refractómetro digital PR 101 (ATAGO, Tokio, Japón) el cual fue calibrado con agua destilada antes de cada medición. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento, durante los días 0, 7, 14 y 21 de almacenamiento.

Los resultados obtenidos para los sólidos solubles, fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar y se analizaron de igual forma que en el **apartado 3.8.1.2.**

### **3.8.2. Evolución de la sinéresis**

Para la determinación de la sinéresis se utilizó el procedimiento descrito por Ramírez-Sucre y Vélez-Ruiz (2013). 10 mL de yogurt fueron colocados en tubos falcon, los cuales posteriormente fueron incubados en estufa (San Jor modelo SL DB, Buenos Aires, Argentina) a 43°C hasta que alcanzaran un pH entre 4,6 – 4,7. Estos fueron pesados en una balanza analítica Adventurer OHAUS (Parsippany, Estados Unidos) y centrifugados en una centrífuga refrigerada Eppendorf modelo 5804R (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania) a 1200 rpm, durante 10 minutos a 4°C. Una vez terminada la centrifugación, se retiró el suero sobrenadante y se pesaron nuevamente para determinar el porcentaje de sinéresis (ecuación 3.8).

## Materiales y métodos

$$\text{Sinéresis (\% m/V)} = \frac{m_s}{V} \times 100 \quad (3.8)$$

Donde:

$m_s$ : peso del sobrenadante (g)

V: Volumen de yogurt (10 mL)

Para cada tratamiento, se realizaron mediciones por triplicado y se estudió su evolución en el tiempo, midiendo el porcentaje de sinéresis los días 0, 7, 14, y 21 de almacenamiento.

Los resultados obtenidos fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar y se analizaron de igual forma que en el **apartado 3.8.1.2**.

### **3.8.3. Evolución del color**

Se estudió la evolución del color del yogurt, con el propósito de determinar los efectos de los tratamientos propuestos y los cambios que pudieran ocurrir durante su almacenamiento. Para esto, se utilizó un espectrofotómetro triestímulo de reflectancia con esfera integradora modelo CM-508-d (Minolta Co, Tokio, Japón), usando una apertura de medida de 1,4 cm de diámetro, iluminante estándar C (luz diurna) y un ángulo de observación standard de 2°.

Las mediciones colorimétricas fueron realizadas en un recipiente cilíndrico de 2,5 cm de diámetro y 1 cm de alto, con base vidriada y paredes opacas, con capacidad de contener 4 gramos de muestra aproximadamente; las determinaciones se hicieron sobre un fondo blanco. Se realizaron cinco mediciones por cada tratamiento en los días 0, 3, 7, 10, 14, 17 y 21 de almacenamiento.

Se obtuvieron los valores triestímulo del espacio CIE (X, Y, Z) y se calcularon los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del espacio CIEL\*a\*b\* por medio de las siguientes ecuaciones:

$$L^* = 116 (Y/Y_n)^{1/3} - 16 \quad (3.9)$$

$$a^* = 500 [(X/X_n)^{1/3} - (Y/Y_n)^{1/3}] \quad (3.10)$$

$$b^* = 200 [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}] \quad (3.11)$$

### Materiales y métodos

A partir de estos valores numéricos, se calcularon las funciones de color “croma” ( $C^*$ ), “ángulo de tono” ( $h^*$ ) e “índice de blanco” ( $HW$ ) (Zhu y col., 2008), utilizando las siguientes ecuaciones:

$$C_{ab}^* = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}} \quad (3.12)$$

$$h_{ab}^* = \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad (3.13)$$

$$HW = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (3.14)$$

Los resultados obtenidos fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar y fueron analizados mediante un análisis de varianza multivariado (MANOVA) de dos factores: tratamiento y tiempo de almacenamiento, verificándose siempre los supuestos de normalidad y homocedasticidad, además de los posibles outliers con la distancia de Mahalanobis ( $p \leq 0,001$ ). Se aplicó un test de Hotelling corregido por Bonferroni (con un nivel de confianza del 95 %) cuando se encontraron diferencias significativas. También, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para explicar la relación espacial entre los parámetros y funciones de color y las muestras.

#### **3.8.4. Medición instrumental del Perfil de Textura (TPA)**

Se estudió el perfil de textura del yogurt durante su almacenamiento, utilizando una máquina universal Instron modelo 3345 (Massachusetts, Estados Unidos) (**Figura 3-14**), equipada con una celda de carga de 50 N y un cabezal plano de 30 mm de diámetro.



**Figura 3-14.** Maquina Universal Instron.

Para la obtención de las curvas fuerza - tiempo correspondientes al yogurt, se utilizó una velocidad de desplazamiento constante de 60 mm/min, un valor de compresión del 60% (Hernández-Morales y col., 2013) y una celda de carga de 50 N. Se realizaron 10 mediciones para cada tratamiento y tiempos de almacenamiento analizados (0, 7, 14 y 21 días). A partir de estas curvas (**Figura 1-21** de la sección **Introducción**) se determinaron los parámetros de textura definidos por Bourne (2002) (**Tabla 3-2**).

Los resultados obtenidos fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar y fueron analizados mediante un análisis de varianza multivariado (MANOVA) de dos factores: tratamiento y tiempo de almacenamiento, verificándose siempre los supuestos de normalidad y homocedasticidad, además de los posibles outliers con la distancia de Mahalanobis ( $p \leq 0,001$ ). Se aplicó un test de Hotelling corregido por Bonferroni (con un nivel de confianza del 95 %) cuando se encontraron diferencias significativas. También, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para explicar la relación entre los parámetros del TPA y las muestras.

**Tabla 3-2.** Definiciones instrumentales de los parámetros del TPA.

<b>Parámetro</b>	<b>Definición instrumental (unidades)</b>
<b>Dureza</b>	Fuerza máxima registrada durante el primer y segundo ciclo de compresión (N).
<b>Fracturabilidad</b>	fuerza de la primera ruptura significativa en la curva del primer ciclo de compresión.
<b>Cohesividad</b>	Relación entre el área de la fuerza aplicada durante la segunda compresión y la primera compresión.
<b>Elasticidad</b>	Altura que recupera la muestra durante el tiempo que transcurre entre el final de la primera compresión y el comienzo de la segunda compresión. Estandarizada con la distancia inicial de la probeta.
<b>Adhesividad</b>	Área negativa bajo la curva del primer ciclo de compresión, generada por el trabajo que realiza la celda para desprenderse de la muestra (J).
<b>Gomosidad</b>	Producto entre la dureza y la cohesividad (N).
<b>Masticabilidad</b>	Producto entre gomosidad y la elasticidad (N).

### **3.9. Análisis Sensorial**

Se realizaron diferentes tests sensoriales en yogurt con el propósito de evaluar el impacto de los tratamientos aplicados a la leche utilizada para su elaboración. Las condiciones generales para el desarrollo de las pruebas ya fueron detalladas en el **apartado 3.6.3.1** de esta misma sección.

#### **3.9.1. Test de Diferencia Contra Control**

El test diferencia contra control persigue dos objetivos; primero, determinar si existe una diferencia entre una o más muestras y un control y segundo, estimar el

## Materiales y métodos

tamaño de tales diferencias (Meilgaard y col., 2006). En nuestro caso, esta prueba discriminativa se implementó para verificar si los 42 evaluadores, consumidores frecuentes de yogurt encontraban alguna diferencia entre el yogurt elaborado a partir de leche pasteurizada “control” y el yogurt elaborado a partir de leche procesada por T-UVC y T-UVC-Vacío; además para cuantificar que tan diferentes fueron estas muestras con respecto al control.

En cada sesión los jueces recibieron 3 vasitos, cada uno con aproximadamente 25g de yogurt natural con 1% de esencia de vainilla, presentados de manera idéntica en todas sus propiedades, codificados al azar y el control camuflado presentado también como muestra incógnita, acompañados de un cuarto vaso correspondiente a un control identificado como tal (C) (**Figura 3-15**). Las muestras se sirvieron a una temperatura de consumo de  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . El orden de presentación fue al azar pero balanceado y la distribución de los distintos sets de muestras entre los sujetos también fue al azar.

A cada panelista se les pidió que evaluaran la magnitud de la diferencia global de cada muestra con respecto al control reconocido como tal y que lo marcaran en una escala numérica de categorías desde “ninguna” diferencia a “muy grande”, como lo esquematiza la planilla N°2 (**Figura 3-16**).



**Figura 3-15.** Test de Diferencia Contra Control.



FECHA: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

BANDEJA N°: \_\_\_\_\_

### INSTRUCCIONES

Se le ha entregado una muestra control (C) y otras tres muestras de yogurt para que las compare respecto del mismo, en cuanto a su diferencia global. Las muestras están ordenadas al azar.

1. Probar primero el control (C).
2. Luego probar una de las muestras codificadas.
3. Evaluar la magnitud de la diferencia global de dicha muestra respecto al control.
4. Marcar en la escala con una "X" la casilla que mejor exprese la diferencia de sensación percibida.
5. Repetir los pasos 1 a 4 con las muestras restantes. De ser necesario enjuagar la boca con agua antes de cada evaluación de un nuevo par control-muestra.

Tenga en cuenta que algunas muestras pueden ser iguales al control.

La diferencia global de cada muestra respecto del control es:

**Clave de la muestra:**

		_____	_____	_____
Ninguna	1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ligera	2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Moderada	3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Grande	4	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muy grande	5	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

En caso de encontrar diferencia:

¿Puede describir la misma?

**Figura 3-16.** Planilla N°2: Test Diferencia Contra Control.

## Materiales y métodos

Se aplicó un análisis de varianza de dos factores (muestra-sujeto) a los resultados obtenidos (recopilación de números asignados a la diferencia encontrada por cada participante). Se estudiaron las diferencias entre los evaluadores con el objetivo de verificar que los mismos evaluaron como grupo. En caso de encontrarse diferencias significativas entre las muestras se aplicó el método de la mínima diferencia significativa de Dunnet (García Loredó, 2011).

### **3.9.2. Test de Campo**

Se realizó un test de campo con 46 consumidores frecuentes de yogurt, con el objetivo de evaluar la impresión global y algunos parámetros más relevantes del yogurt recién elaborado. Para ello se siguió el protocolo descrito por Lawless y Heymann (1999).

Considerando los resultados obtenidos en el test de diferencia contra control, se seleccionó el yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC- Vacío, pero con una adición de 1% de vainilla comercial. En cada sesión los evaluadores recibieron un vasito con aproximadamente 30 g de yogurt a una temperatura de consumo de  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . En la **Figura 3-17**, se esquematiza la planilla N° 3, utilizada para esta prueba.

Para evaluar la impresión global del yogurt (**numeral 1, planilla N°3**), se empleó una escala hedónica de 9 puntos balanceada, con extremos desde “me disgusta extremadamente” a “me gusta extremadamente”. Además se realizaron dos preguntas abiertas direccionadas acerca de que les gusto o disgusto del producto, las cuales debieron ser contestadas en un orden específico, según la puntuación dada en la impresión global. Posteriormente se valoraron aspectos como el sabor, el cual se evaluó mediante la intensidad de ácido e intensidad de dulce, mediante el uso de escalas de intensidad, y el adecuado del sabor a vainilla, mediante una “escala de punto justo”. Además se evaluaron el aroma y la textura (firmeza y cremosidad) del yogurt en escalas de impresión global y de “punto justo”, respectivamente, tal como se muestra en los numeral 2, 3 y 4, planilla N°3 (**Figura 3-17**).

Se analizó la información brindada por los consumidores, calculando un promedio del puntaje otorgado en la prueba de impresión global y su correspondiente desviación estándar; además se analizó la distribución de frecuencias de las respuestas

FECHA: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

**INSTRUCCIONES:**

Pruebe una pequeña cantidad de la muestra recibida y confiando en su primera impresión responda:

**1. Impresión global: realice una marca en la casilla que mejor refleje su opinión:**

- |                          |   |                            |
|--------------------------|---|----------------------------|
| <input type="checkbox"/> | 9 | Me gusta extremadamente    |
| <input type="checkbox"/> | 8 | Me gusta mucho             |
| <input type="checkbox"/> | 7 | Me gusta moderadamente     |
| <input type="checkbox"/> | 6 | Me gusta algo              |
| <input type="checkbox"/> | 5 | Ni me gusta ni me disgusta |
| <input type="checkbox"/> | 4 | Me disgusta algo           |
| <input type="checkbox"/> | 3 | Me disgusta moderadamente  |
| <input type="checkbox"/> | 2 | Me disgusta mucho          |
| <input type="checkbox"/> | 1 | Me disgusta extremadamente |

**Si su respuesta es 5 o más, vaya a la pregunta A y luego a la pregunta B**

**Si su respuesta es 4 o menos, vaya a la pregunta B y luego a la pregunta A.**

A. Diga qué le gustó del producto

\_\_\_\_\_

Pruebe nuevamente e indique: ¿Existe algo más que quiera agregar?

\_\_\_\_\_

B. Diga que no le gusta del producto.

\_\_\_\_\_

Pruebe nuevamente e indique: ¿Existe algo más que quiera agregar?

\_\_\_\_\_

**2. Las siguientes preguntas están relacionadas con el SABOR del producto:**

- ¿Cuán **ÁCIDO** es el producto?

Muy poco ácido      Muy ácido

- ¿Cuál es su opinión acerca del **ÁCIDO** del producto?

Demasiado débil      Adecuado      Demasiado fuerte

- ¿Cuán **DULCE** es el producto?

Muy poco dulce      Muy dulce

- ¿Cuál es su opinión acerca del **sabor a VAINILLA** del producto?

Demasiado débil      Adecuado      Demasiado fuerte

- ¿Qué tan **AGRADABLE** es el **sabor** que percibe en el producto?

Muy poco Agradable        Muy Agradable

**3. Las siguientes preguntas están relacionadas con el AROMA del producto:**

Describe su impresión acerca del **AROMA** del producto (Nota : aprecie el aroma cuando el producto está en la boca y el aroma llega al paladar)

Muy desagradable      Muy agradable

**4. La próxima pregunta está relacionada con la TEXTURA del producto:**

- ¿Cuál es su opinión acerca de la **FIRMEZA** del producto?

Poco firme                  Adecuado                  Demasiado firme

- ¿Cuál es su opinión acerca de la **CREMOSIDAD** del producto?

Poco cremoso                  Adecuado                  Demasiado cremoso

**Figura 3-17.** Planilla N°3: Test de Campo.

obtenidas. Las respuestas a las preguntas abiertas, se analizaron como información complementaria a la descripción del producto. Para las preguntas realizadas en los **numerales 2, 3 y 4** se calculó el porcentaje de sujetos que respondieron a cada categoría de las escalas para cada atributo. Se realizó análisis de componentes principales (PCA) para explicar la relación entre los atributos y la impresión global del producto.

**3.10. Análisis estadístico**

Se utilizó el software estadístico Infostat versión 2009 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) y herramientas de Microsoft Office 2007 para el análisis estadístico de los resultados.

## 4. RESULTADOS



## Resultados

### 4.1. Determinación de la dosis de radiación UV-C

La dosis de radiación UV-C fue determinada por medio de un radiómetro, tal como se describe en el **apartado 3.5.2**. A partir de dicha medición se obtuvo la potencia para cada una de las lámparas; siendo de 0,00108 J/s y 0,00091 J/s para las lámparas 1 y 2, respectivamente. Dichos valores se dividieron por el área del sensor del radiómetro ( $A = 0,00007854 \text{ m}^2$ ):

$$\text{Lámpara 1} = \frac{0,00108 \text{ J/s}}{0,00007854 \text{ m}^2} = 13,71 \text{ J/s.m}^2 \quad (4.1)$$

$$\text{Lámpara 2} = \frac{0,00091 \text{ J/s}}{0,00007854 \text{ m}^2} = 11,63 \text{ J/s.m}^2 \quad (4.2)$$

El valor obtenido para cada una de las lámparas se multiplicó por el tiempo de tratamiento aplicado (20 min = 1200 s) determinando así el correspondiente valor de la dosis:

$$\text{Lámpara 1} = 13,709 \text{ J/s.m}^2 * \frac{1200 \text{ s}}{1000 \text{ J/kJ}} = 16,45 \text{ kJ/m}^2 \quad (4.3)$$

$$\text{Lámpara 2} = 11,629 \text{ J/s.m}^2 * \frac{1200 \text{ s}}{1000 \text{ J/kJ}} = 13,96 \text{ kJ/m}^2 \quad (4.4)$$

Realizando un promedio de las dosis calculadas para cada lámpara, se obtuvo el valor de la dosis total promedio de radiación, de  $15,202 \text{ kJ/m}^2$  correspondiente a 20 minutos de exposición a la luz UV-C.

### 4.2. Efecto sobre los parámetros de calidad de la leche procesada por los tratamientos de estudio

#### 4.2.1. Análisis Microbiológico

Se realizaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas y coliformes totales según lo establecido en Materiales y Métodos, **Apartado 3.6.1** en leche cruda, leche



## Resultados

pasteurizada (control) y leche procesada por los tratamientos propuestos (T-UVC y T-UVC-Vacío), con el objeto de conocer la carga inicial de la materia prima y la eficiencia de dichos tratamientos. Debido a la elevada actividad de agua, pH próximo a la neutralidad (6,4 - 6,6) y gran cantidad de nutrientes, la leche es un medio excelente para el crecimiento microbiano (Adams y Moss, 2008). Gracias a ello, en la mayoría de los países se exige un alto nivel de higiene en la producción y procesamiento de la leche. En Argentina, el Código Alimentario (Capítulo VIII; Artículo 558) establece los criterios para leche entera pasteurizada, fijando los valores máximos de recuento de bacterias aerobias mesófilas y coliformes totales en  $5 \times 10^4$  UFC/mL y  $5 \times 10^1$  UFC/mL, respectivamente.

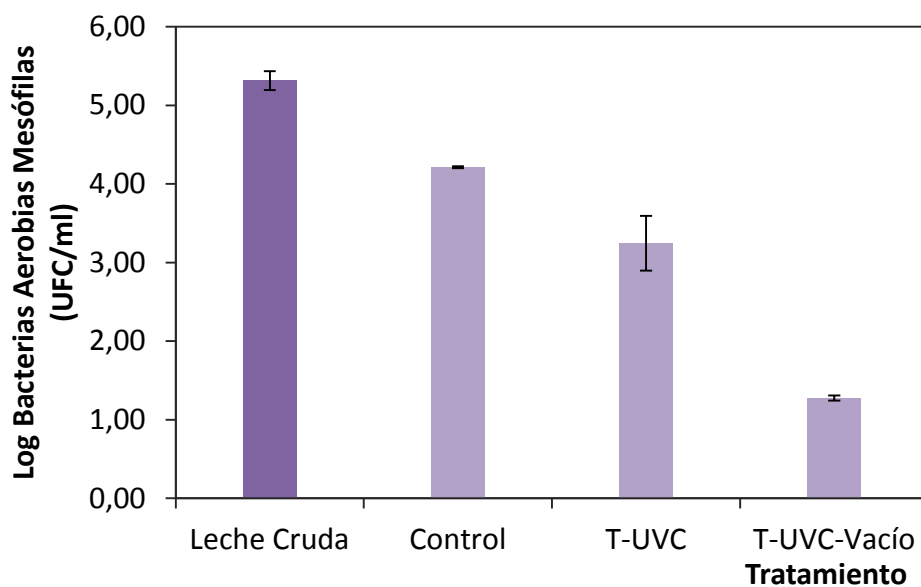
En la **Figura 4-1** se observan los resultados de calidad microbiológica de leche procesada por las tecnologías propuestas y por el tratamiento tradicional (control). Los mismos se encontraron dentro de los límites estipulados por el Código Alimentario Argentino. Por lo tanto, se puede afirmar que los diferentes tratamientos aplicados resultaron eficientes en cuanto a la eliminación de bacterias aerobias mesófilas y coliformes. En la **Figura 4-1 (a)** se puede observar que la leche procesada por las tecnologías propuestas (T-UVC y T-UVC-Vacío), lograron una mayor reducción de aerobios mesófilos que la obtenida con la leche control siendo el tratamiento T-UVC-vacío más efectivo que el tratamiento T-UVC. La asistencia de luz UV-C al tratamiento térmico de leche permitió reducir la carga de bacterias aerobias mesófilas así como también la incorporación de vacío que, al limitar la presencia de oxígeno disuelto, disminuyó la posibilidad de desarrollo de esta flora (Ukuku y col., 2006). En cuanto a la presencia de bacterias coliformes en leche cruda (**Figura 4-1 (b)** y **Figura 4-2**), se observó desarrollo de colonias típicas (rojas, grandes con un halo rojizo de precipitación de las sales biliares), y por lo tanto, fue necesario realizar la prueba de confirmación en tubos de fermentación con caldo Verde Brillante Lactosa 2% Sales Biliares, los cuales arrojaron un resultado positivo (producción de gas en la campanita de Durham) confirmatorio de la presencia de las mismas (**Figura 4-3**). Así mismo los tres tratamientos que se aplicaron a la leche cruda (control, T-UVC y T-UVC-Vacío) fueron igualmente efectivos inactivando completamente esta flora.

Estos resultados son coincidentes con los reportados por otros autores, como Cilliers y col. (2014), los cuales encontraron que leche tratada con UV-C ( $4,3 \text{ kJ/m}^2$ ) en

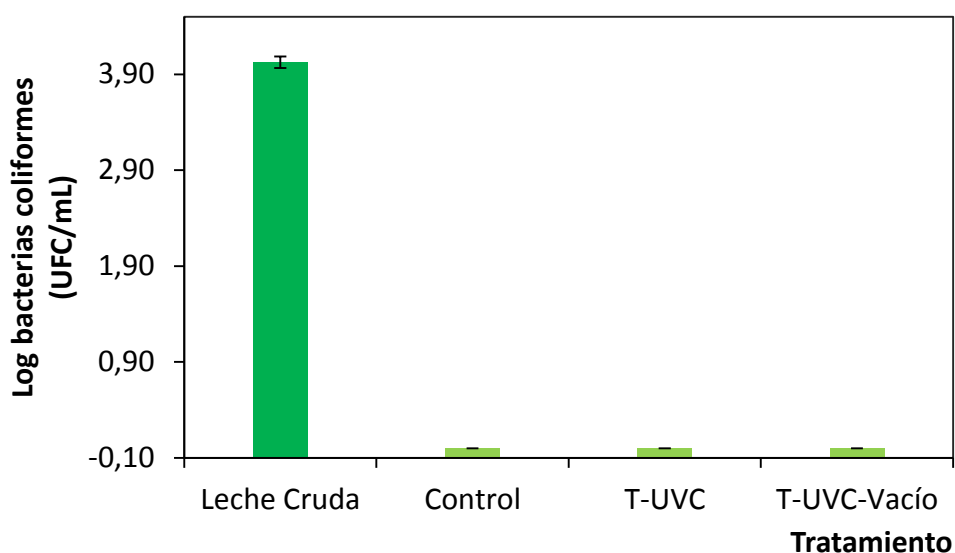
## Resultados

combinación con la pasteurización (73,5°C por 15s) logró la mayor reducción en bacterias aerobias mesófilas, además de la no detección de coliformes en los tratamientos aplicados (pasteurización, UV-C y UV-C en combinación con pasteurización). Por otra parte, Matak y col. (2005), demostraron la efectividad del procesamiento de leche cabra con luz UV-C (15,8 mJ/cm<sup>2</sup>) para la reducción de microorganismos patógenos como *Listeria monocytogenes*.

(a)



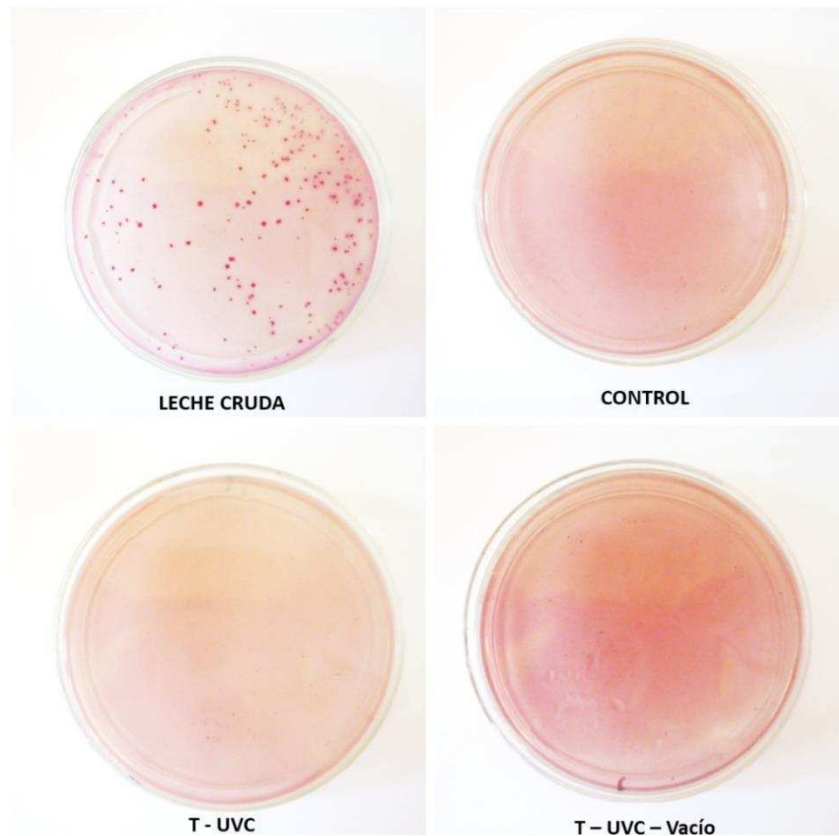
(b)



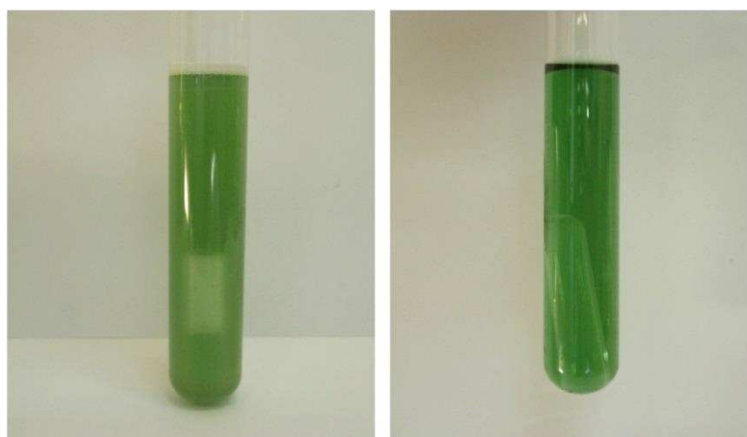
**Figura 4-1.** Reducciones decimales de: **(a)** bacterias aerobias mesófilas, **(b)** coliformes.

(|) desvío estándar.

## Resultados



**Figura 4-2.** Resultado de bacterias coliformes en leche cruda y leche procesada según los tratamientos control, T-UVC y T-UVC-Vacío, en el medio ABRV – L (Agar Bilis-Rojo Neutro-Cristal Violeta-Lactosa).



**Figura 4-3.** Prueba confirmatoria para bacterias coliformes en caldo Verde Brillante Lactosa 2% Sales Biliares. Tubo positivo (izquierdo), tubo negativo (derecho).

## Resultados

### 4.2.2. Determinación de compuestos de oxidación

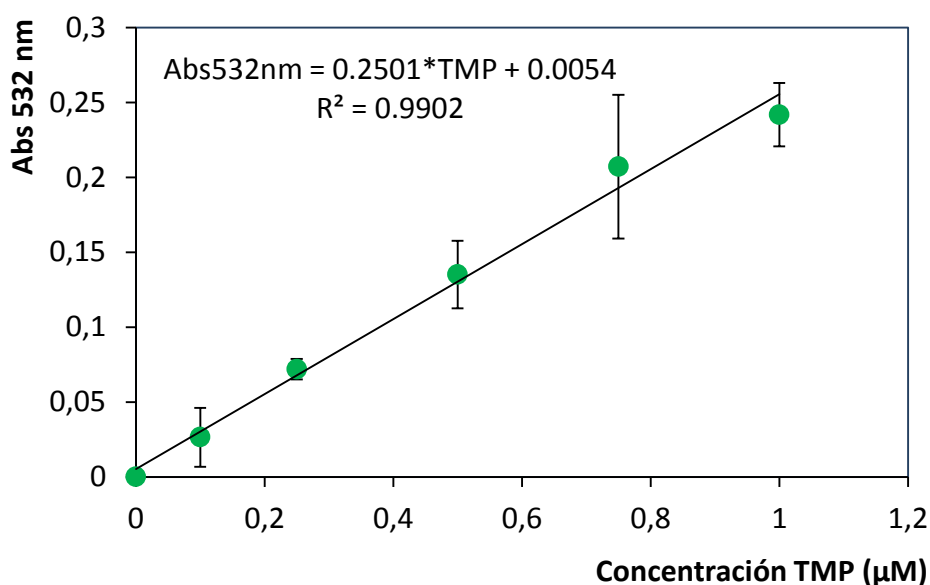
El grado de oxidación de lípidos fue evaluado mediante el método de TBARS tal como se describió en **Materiales y Métodos, sección 3.6.2**. Mediante el mismo se determinó la cantidad de malondialdehído presente en las muestras de leche con los diferentes tratamientos: control, T-UVC y T- UVC-Vacío.

#### 4.2.2.1. Determinación de la curva de calibración

En la **Figura 4-4** se observa la curva de calibración obtenida mediante la utilización del estándar 1,1,3,3 tetrametoxipropano (TMP) para calcular la concentración de malondialdehído equivalente ( $\mu\text{M}$ ) en cada una de las muestras analizadas.

Los valores de TBARS obtenidos se expresaron como valores de absorbancia a 532nm (**Tabla 4-1**) y  $\mu\text{moles}$  de malondialdehído (MDA) equivalente por litro de muestra ( $\mu\text{M}$ ) utilizando la pendiente obtenida en la curva de calibración (**Figura 4-5**).

Los resultados obtenidos, de acuerdo al test de Tukey, indicaron que existieron diferencias significativas entre los tratamientos, en los valores de absorbancia a 532 nm ( $F_{2,6} = 101,08$ ;  $p < 0,0001$ ) y en los valores de TBARS ( $F_{2,6} = 132,6$ ;  $p < 0,0001$ ) los cuales derivan de los valores de absorbancia.



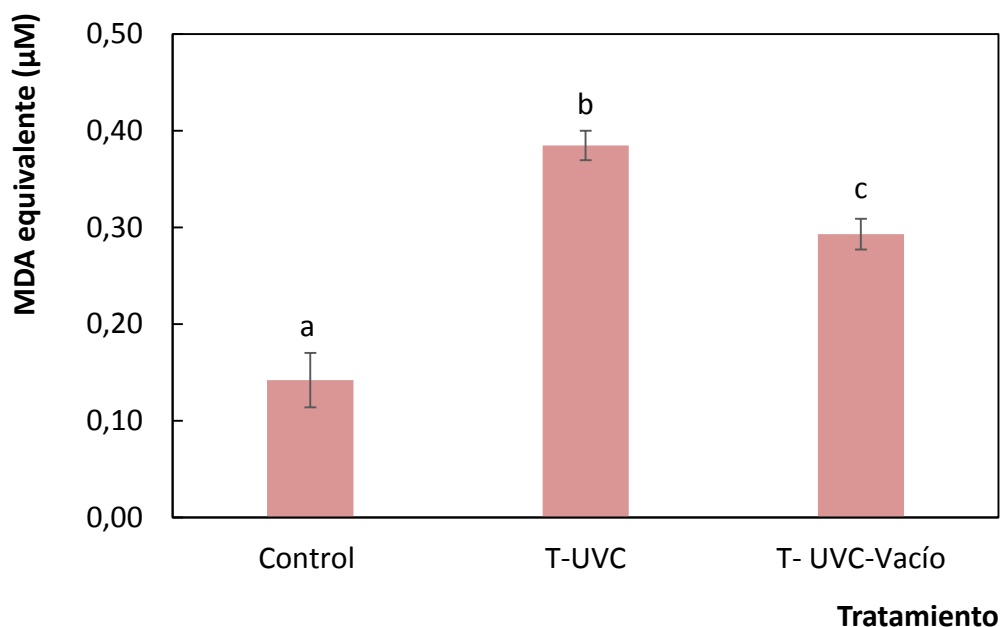
**Figura 4-4.** Curva de calibración de TMP. (|) desvío estándar.

## Resultados

**Tabla 4-1.** Valores promedio y su correspondiente desvío estándar de absorbancia a 532nm de la leche procesada por diferentes tratamientos<sup>1</sup>.

Tratamiento	Absorbancia a 532nm
Control	0,023 ± 0,004 <sup>a</sup>
T-UVC	0,054 ± 0,002 <sup>b</sup>
T- UVC-Vacío	0,040 ± 0,002 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Letras minúscula diferentes en la columna implican diferencias significativas



**Figura 4-5.** Valores promedio de TBARS ( $\mu$ moles de MDA equivalente/L) de leche procesada con diferentes tratamientos. (|) desvío estándar. Las barras identificadas con diferente letra, presentan diferencias significativas con un 95% de nivel de confianza, según test de Tukey.

Como se puede observar en los resultados, la oxidación de los lípidos fue mayor en las muestras de leche procesadas por las tecnologías propuestas (T-UVC y T- UVC-Vacío) que la obtenida en la leche pasteurizada (control). La oxidación de lípidos en la leche, puede ser catalizada por ciertos metales, exposición a la luz y oxígeno (O'Brien y O'Connor, 2011). Por lo tanto, es importante destacar que el valor obtenido en la leche

## Resultados

procesada por T- UVC-Vacío fue significativamente menor que el observado en la muestra T-UVC. Esto puede deberse a la menor cantidad de oxígeno presente en el sistema que fue extraída previamente por el vacío.

Estos resultados son consistentes con lo reportado por Matak y col. (2004), los cuales demostraron que en la leche de cabra irradiada con luz UV-C a una dosis de  $15,8 \pm 1.6 \text{ mJ/cm}^2$  durante 18 segundos, aumentaron los valores de TBARS dos veces más que la muestra control (leche sin irradiar). Van Aardt y col. (2005a) reportaron que leche expuesta a luz fluorescente (1100 - 1300 luxes) durante 10 horas, obtuvo mayores valores de TBARS que la leche que estaba protegida de la luz.

King (1962) estableció la correlación entre el aroma de la leche oxidada con 0,1 ppm de cobre y los valores de TBARS reportados como absorbancia a 532 nm (**Tabla 4-2**) en rango. Al comparar nuestros resultados se pudo corroborar que la leche pasteurizada, la cual obtuvo un valor bajo de TBARS, no presentó aroma oxidado (puntuación de 0); la leche procesada por T-UVC-Vacío consiguió una calificación de 2 significando un flavor ligeramente detectable a oxidado; y la leche procesada por T-UVC presentó una puntuación de 3 mostrando un flavor oxidado. Matak y col. (2007) reportaron que la radiación UV-C a una longitud de onda de 254nm provocó alteraciones aromáticas y químicas sobre la leche de cabra.

**Tabla 4-2.** Relación entre características organolépticas de la leche y la absorbancia a 532nm determinada por King (1962).

<b>Puntuación flavor</b>	<b>Descripción sensorial</b>	<b>Absorbancia a 532 nm</b>
0	No oxidado	0,010 – 0,023
1	Dudoso a muy leve	0,024 – 0,029
2	Ligeramente detectable	0,030 – 0,040
3	Oxidado	0,041 – 0,055
4	Muy Oxidado	> 0,056

## Resultados

### **4.2.3. Evaluación Sensorial**

Esta prueba discriminativa se realizó con el fin de determinar si los dos tratamientos propuestos (T-UVC y T-UVC-Vacío) producían en la leche algún tipo de mal olor o bien, en el habla inglesa, “off-flavor” que la hiciera perceptiblemente diferente. En esta prueba participaron 42 evaluadores no entrenados, según la metodología detallada en **Materiales y Métodos, Apartado 3.6.3.2.**

En la **Tabla 4-3** se muestra los resultados brindados por los evaluadores en el set de prueba triangular N° 1, el cuál correspondió a la evaluación de los sistemas control y T-UVC; además se muestra el total de respuestas correctas e incorrectas para este set. El número de juicios correctos (42) fue mayor que el número mínimo de juicios correctos requerido (22) tabulado para 42 panelistas para establecer la significación de la diferencia a un nivel de probabilidad del 99% (Meilgaard y col., 2006). Se concluyó que sí existieron diferencias significativas al 1% ( $\alpha$ : 0,01) entre la leche control y la leche tratada con T-UVC, respecto de su percepción olfatoria por un grupo de consumidores.

En las **Tablas 4-4 y 4-5**, se exponen los resultados obtenidos en las pruebas de triangulo N° 2 y 3, respectivamente. La prueba de triangulo N° 2, correspondió a la evaluación de los sistemas control y T-UVC-Vacío. El análisis de los resultados determinó que los sistemas evaluados fueron diferentes respecto de su percepción olfatoria a un nivel de significancia del 1%, debido a que el número de juicios correctos resultantes (38), fue mayor que el número mínimo de juicios correctos requerido (22) tabulado para 42 panelistas para establecer la significación de la diferencia a un nivel de probabilidad del 99% (Meilgaard y col., 2006). La prueba de triangulo N° 3, que correspondió a la evaluación de los sistemas T-UVC y T-UVC-Vacío, mostró que el número de juicios correctos resultantes (23), fue mayor que el número mínimo de juicios correctos requerido (22) tabulado para 42 panelistas para establecer la significación de la diferencia a un nivel de probabilidad del 99% (Meilgaard y col., 2006). Se concluyó que si existieron diferencias significativas al 1% ( $\alpha$ : 0,01) entre las leches tratadas con T-UVC y T-UVC - Vacío, respecto de su percepción olfatoria.

## Resultados

**Tabla 4-3.** Respuestas emitidas por los evaluadores en el test de triángulo N° 1, en donde evaluaron muestras de: leche tratada con T-UVC y leche control.

<u>Evaluador</u>	<u>Resultado</u>	<u>Evaluador</u>	<u>Resultado</u>
1	C	22	C
2	C	23	C
3	C	24	C
4	C	25	C
5	C	26	C
6	C	27	C
7	C	28	C
8	C	29	C
9	C	30	C
10	C	31	C
11	C	32	C
12	C	33	C
13	C	34	C
14	C	35	C
15	C	36	C
16	C	37	C
17	C	38	C
18	C	39	C
19	C	40	C
20	C	41	C
21	C	42	C

C: respuesta correcta

I: respuesta incorrecta

**Total de respuestas correctas: 42**

**Total de respuestas incorrectas: 0**



## Resultados

**Tabla 4-4.** Respuestas emitidas por los evaluadores en el test de triángulo N° 2, en donde evaluaron muestras de: leche tratada con T-UVC– Vacío y leche control.

<b>Evaluador</b>	<b>Resultado</b>	<b>Evaluador</b>	<b>Resultado</b>
1	C	22	C
2	C	23	C
3	C	24	C
4	C	25	C
5	I	26	C
6	C	27	C
7	C	28	C
8	C	29	C
9	I	30	C
10	C	31	C
11	C	32	C
12	C	33	C
13	C	34	C
14	C	35	C
15	C	36	C
16	C	37	C
17	C	38	C
18	C	39	I
19	I	40	C
20	C	41	C
21	C	42	C

C: respuesta correcta

I: respuesta incorrecta

**Total de respuestas correctas: 38**

**Total de respuestas incorrectas: 4**

## Resultados

**Tabla 4-5.** Respuestas emitidas por los evaluadores en el test de triángulo N° 3, en donde evaluaron muestras de: leche tratada con T-UVC – Vacío y leche control.

<b>Evaluador</b>	<b>Resultado</b>	<b>Evaluador</b>	<b>Resultado</b>
1	C	22	C
2	I	23	C
3	C	24	C
4	I	25	I
5	I	26	C
6	C	27	C
7	C	28	C
8	C	29	I
9	I	30	I
10	C	31	C
11	C	32	I
12	C	33	I
13	C	34	I
14	I	35	C
15	I	36	I
16	C	37	I
17	C	38	I
18	C	39	I
19	I	40	C
20	I	41	C
21	I	42	C

C: respuesta correcta

I: respuesta incorrecta

**Total de respuestas correctas: 23**

**Total de respuestas incorrectas: 19**

## Resultados

En conclusión, las tres muestras evaluadas de a pares fueron percibidas significativamente diferentes. Las muestras de leche tratadas tanto con T-UVC como con T-UVC– Vacío, fueron descritas con algo de olor “rancio” y “oxidado” por la mayoría de los panelistas y por otros pocos con olor “extraño” y al ser comparada con el olor fresco y cremoso de la leche control (pasteurizada). Según Clark y col. (2009), olores típicamente asociados con la oxidación de lípidos (inducida por luz) en la leche son: quemado, plumas quemadas, astringente, inmundo, establo, amargo, cocinado, seboso, extraño, carente de frescura, rancio, salado y oxidado.

Es importante resaltar que en la prueba de triángulo N° 3 correspondiente a la comparación entre leche tratada con T-UVC–Vacío y T-UVC algo menos de la mitad de los panelistas equivocaron sus respuestas, ratificando la dificultad de la prueba debido al parecido entre las muestras evaluadas. Este resultado se correlaciona adecuadamente con los resultados obtenidos por el análisis de oxidación de lípidos TBARS, en los cuales se obtuvieron valores significativamente más bajos para las muestras tratadas con T-UVC– Vacío (0,29  $\mu$ moles de MDA equivalente/L) que las muestras de leche tratadas con T-UVC (0,38  $\mu$ moles de MDA equivalente/L).

Estos resultados son comparables con los expuestos por King (1962), el cual estudió la relación existente entre las características organolépticas de la leche oxidada y los valores de TBARS declarados en absorbancia (**Tabla 4-2**). Se puede observar que para los valores de absorbancia obtenidos para las muestras tratadas con T-UVC– V corresponden a un puntaje de flavor igual a 2, el cual significa que tiene un flavor descrito como “ligeramente detectable a oxidado”, en comparación a las muestras tratadas con T-UVC, las cuales obtuvieron un puntaje de flavor igual 3 que corresponde a “flavor oxidado”.

Análogamente, Cilliers y col. (2014), estudiaron las características microbiológicas, bioquímicas y sensoriales de leche tratada con luz UV-C (dosis de 430  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ) en combinación con calor (73.5°C durante 15 segundos) para la elaboración de queso cheddar. Estos autores encontraron mediante la realización de un análisis sensorial descriptivo que la leche tratada con luz UV-C en combinación con calor presentó un notable aroma oxidado en comparación con la leche control. Matak y col. (2007) estudiaron los efectos de la luz UV-C a una dosis de  $15,8 \pm 1.6 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  durante 18 segundos, en las propiedades químicas y sensoriales de la leche de cabra y

## Resultados

reportaron que el tratamiento produjo cambios indeseables en su olor, los cuales fueron descritos por algunos panelistas como olor a cabra, abono, apestoso y corral.

Una vez determinados mediante esta prueba olfatoria los cambios sensoriales que los tratamientos propuestos introdujeron en la leche, se quiso determinar si los mismos eran percibidos en el yogurt y su impacto en los consumidores. Para ello, se realizaron una prueba discriminativa (test de diferencia contra control) y una prueba afectiva (test de campo) en las muestras de yogurt, las cuales se analizarán más adelante.

### **4.3. Efecto de los tratamientos propuestos sobre la elaboración del yogurt**

#### **4.3.1. Evolución del pH y la acidez titulable durante la fermentación**

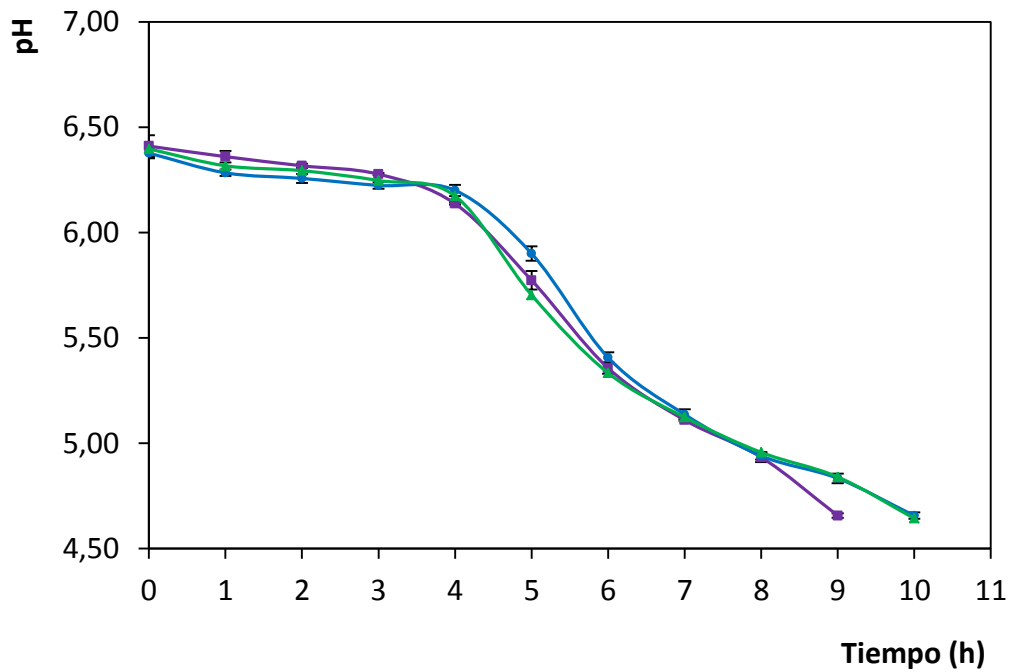
En la elaboración del yogurt, el pH es una de las propiedades fisicoquímicas más importantes a seguir durante la fermentación de la leche, ya que se busca disminuir el pH de la leche (6,5 – 6,6) hasta llegar a un valor de pH 4,5 a 4,6, en el cual se obtiene el flavor y el sabor característico del yogurt, además de la producción de bacteriocinas, aumentando la vida útil del mismo y disminuyendo la sinéresis. Por otra parte, la acidez es una propiedad muy ligada al pH, ambas propiedades fisicoquímicas son muy importantes en el yogurt, debido a que sirven como indicador de los microorganismos que pueden estar presentes, desarrollarse o deteriorar el alimento durante el almacenamiento (Fennema, 2010). Según el Código Alimentario Argentino (CAA), la acidez en el yogurt debe encontrarse en un rango de entre 0,6 y 1,5 % p/v ácido láctico (Capítulo VIII, artículo 576, resolución conjunta SPRyRP N° 33/2006 y SAGpyA y N° 563/2006).

En la **Figura 4-6** se observa la evolución del pH y la acidez (expresada como % p/v de ácido láctico) de la leche procesada por los diferentes tratamientos evaluados (control, T-UVC y T-UVC-vacío). Este proceso de fermentación, se llevó a cabo por las bacterias ácido lácticas: *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, las cuales acidifican la leche produciendo ácido láctico a partir de lactosa, causando un efecto conservante en el producto, aumentando el valor nutricional y la digestibilidad. La incubación de las muestras de leche a 43°C se mantuvo hasta que el yogurt alcanzó

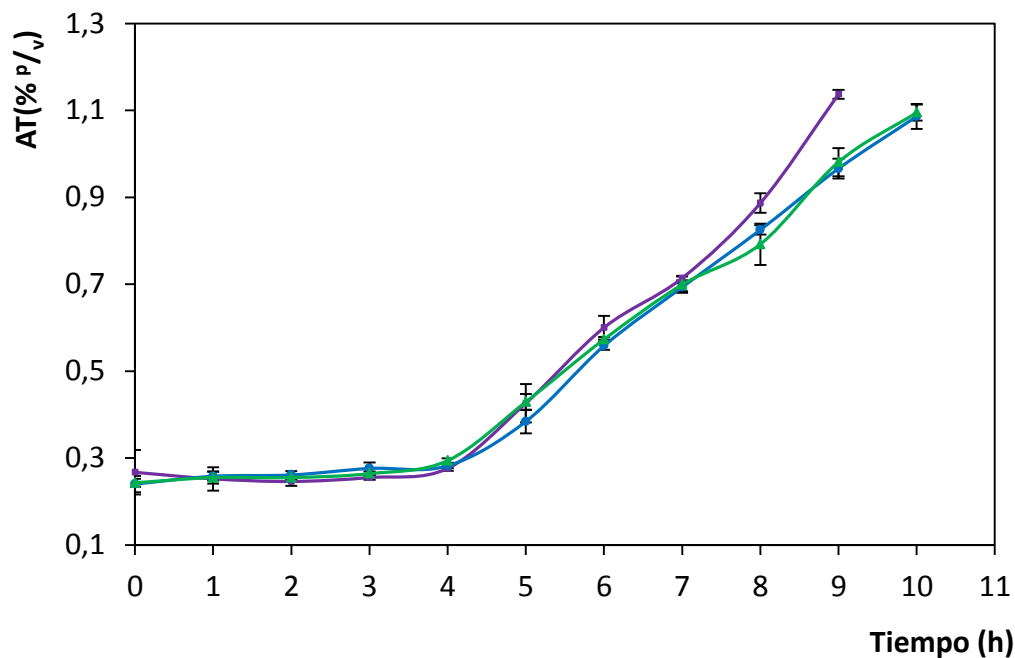
## Resultados

un pH 4,6; valor en el cual precipita la caseína, debido a que alcanza su punto isoeléctrico (Baglio, 2014).

(a)



(b)



**Figura 4-6.** (a) Evolución del pH y (b) la acidez titulable durante la fermentación del yogurt. (—) Control, (—) T-UVC, (—) T-UVC-Vacío. (|) desvío estándar.

## Resultados

Como puede observarse en la **Figura 4-6**, las muestras de leche procesadas con los distintos tratamientos exhibieron comportamientos muy similares, tanto en la disminución de pH como en el aumento de ácido láctico, mostrando valores finales acordes con lo establecido en el Código Alimentario Argentino para yogurt (capítulo VIII, artículo 576, resolución conjunta SPRyRP N° 33/2006 y SAGpyA y N° 563/2006). Sin embargo, los yogures correspondientes a leches procesadas con T-UVC y T-UVC-Vacío tardaron aproximadamente una hora más en llegar al pH deseado que el yogurt correspondiente a leche pasteurizada (control). Este comportamiento puede deberse a los cambios que ocurren en los constituyentes de la leche (como por ejemplo las proteínas del suero) durante el calentamiento o procesamiento. La irradiación UV-C oxida las proteínas y aminoácidos de la leche (van Aardt y col., 2005a), las cuales puede interferir en el proceso de fermentación. Según estudios reportados por Tamime y Robinson (2007), el calentamiento de la leche además de destruir o eliminar agentes patógenos y otros microorganismos indeseables, también puede liberar ciertos factores que estimulan o inhiben la actividad de los cultivos iniciadores lácticos.

### **4.4. Efecto del procesamiento de la leche sobre de parámetros de calidad del yogurt**

#### **4.4.1. Determinación de la acidez titulable y los sólidos solubles del yogurt durante el almacenamiento**

Con el objetivo de conocer la estabilidad del yogurt obtenido a partir de leche con distintos procesamientos, se determinó la acidez titulable y los sólidos solubles en las muestras Control, T-UVC y T-UVC –Vacío, según lo establecido en **Materiales y Métodos, Apartado 3.8.1**.

Los valores de acidez obtenidos, expresaron que todas las muestras analizadas tuvieron un porcentaje de acidez titulable normal, es decir, cumple con lo establecido en el CAA. Los resultados obtenidos de la realización de un ANOVA de dos factores (**Tabla 4-6**) mostraron que había interacción significativa entre los tratamientos aplicados y el tiempo de almacenamiento del yogurt. Por lo tanto, la evolución de la acidez titulable a lo largo del tiempo dependió de los tratamientos evaluados.

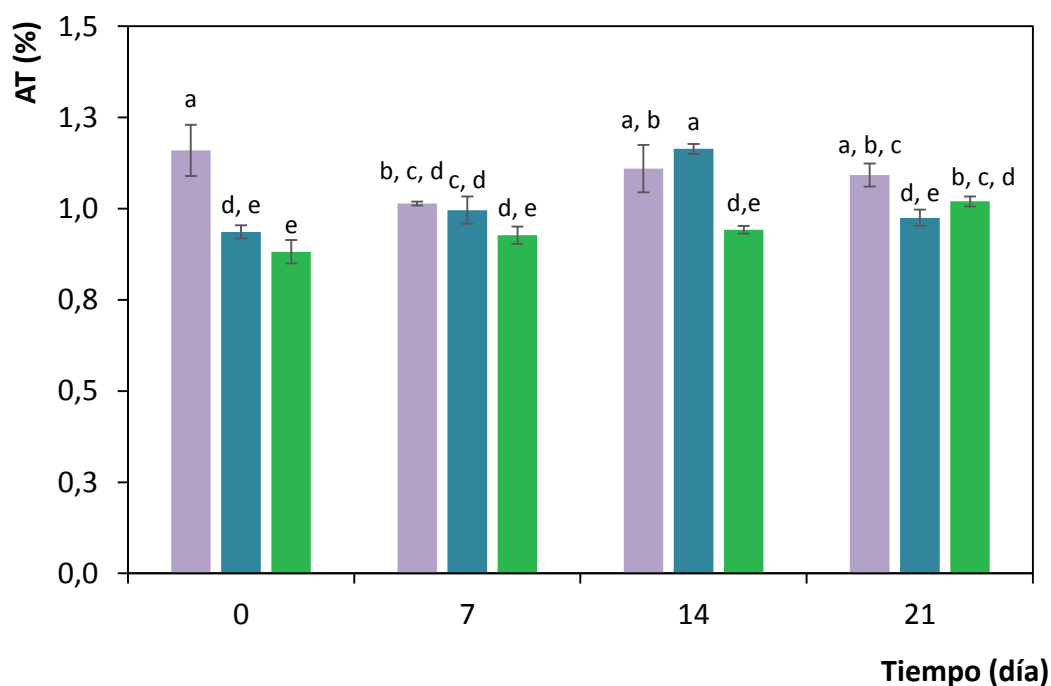
## Resultados

**Tabla 4-6.** Resumen del análisis de varianza para la acidez titulable de las muestras de yogurt en función del tiempo de almacenamiento.

Origen de la varianza	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio del error	Fisher
Tratamiento	0,14	2	0,07	54,35***
Tiempo	0,05	3	0,02	12,77***
Tratamiento*Tiempo	0,10	6	0,02	14,01***
Error	0,03	24	0,0012	

\*\*\* 1% nivel de significación.

En la **Figura 4-7** se muestran los resultados de acidez titulable durante 21 días de almacenamiento refrigerado de diferentes muestras de yogurt.



**Figura 4-7.** Valores promedio de acidez titulable (% m/v de ácido láctico) de yogurt elaborado con diferentes tratamientos a lo largo del almacenamiento. (I) desvío estándar. (■) Control, (■) T-UVC, (■) T-UVC-Vacío. Las barras identificadas con igual letra, no presentan diferencias significativas con un 95% de nivel de confianza, según el test de Tukey.

Las muestras de yogurt correspondientes al tratamiento T-UVC-Vacío mostraron diferencias significativas con respecto al control al inicio y al día 14 de

## Resultados

almacenamiento. En el día 7, ambos tratamientos con luz UV-C (T-UVC y T-UVC-Vacío) no mostraron diferencias significativas respecto del control. En general, las muestras de yogurt correspondientes a los tratamientos T-UVC y T-UVC-Vacío presentaron valores tendientes a menor acidez con respecto a la muestra control a lo largo del almacenamiento; y a su vez, menores para las muestras tratadas con vacío (**Figura 4-7**). Serra y col. (2009) reportaron menores valores de acidez a lo largo del almacenamiento en yogures elaborados con leche procesada con altas presiones de homogenización (300MPa) combinada con calentamiento a 40°C con respecto a yogures elaborados a partir de leche procesada convencionalmente. Es importante resaltar que los yogures elaborados a partir de leche procesada por T-UVC-Vacío presentaron un leve aumento de acidez al día 21, esto se debe a un fenómeno llamado post-acidificación o sobre-acidificación en el cual las bacterias ácido lácticas continúan su actividad metabólica produciendo ácido láctico (Mani-López y col, 2014; Serra y col. 2009).

Los resultados del ANOVA de dos factores para los sólidos solubles (**Tabla4-7**) mostraron que no existió interacción significativa entre los tratamientos aplicados y el tiempo. Por lo tanto, la evolución de los sólidos solubles (°Brix) a lo largo del tiempo no dependió de los tratamientos evaluados. En este análisis también se observó, que el factor *tiempo* no mostró diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), indicando que las muestras de yogurt no presentaron diferencias significativas en el nivel de sólidos solubles durante el almacenamiento independientemente del tratamiento aplicado a la leche.

**Tabla 4-7.** Resumen del análisis de varianza para los sólidos solubles (°Brix) de las muestras de yogurt a lo largo del almacenamiento.

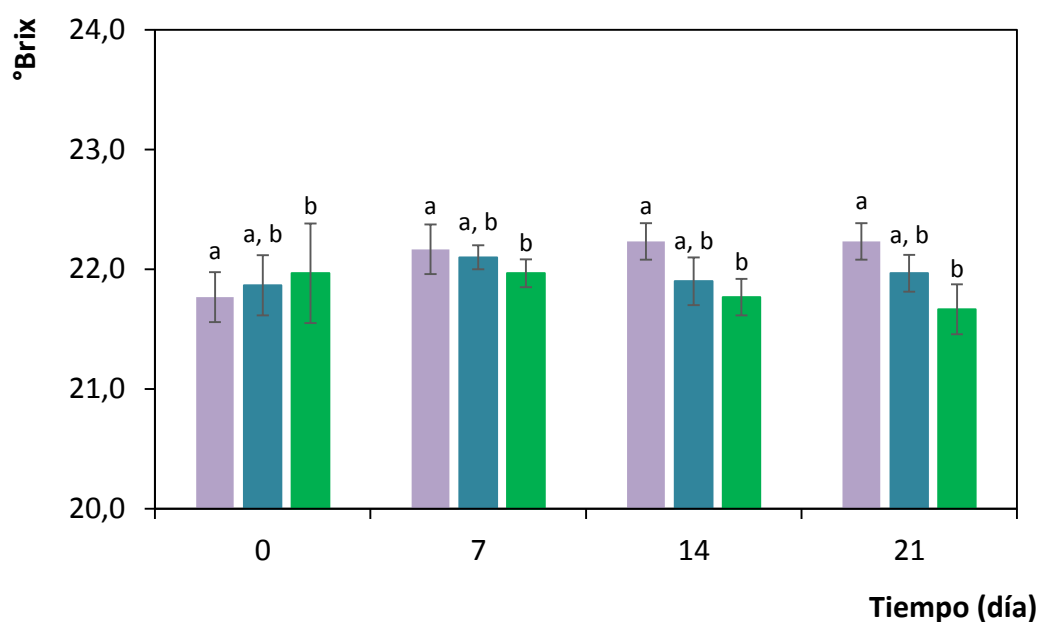
Origen de la varianza	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio del error	Fisher
Tratamiento	0,40	2	0,20	4,61 <sup>***</sup>
Tiempo	0,20	3	0,07	1,55(NS)
Tratamiento*Tiempo	0,55	6	0,09	2,10 (NS)
Error	1,05	24	0,04	

<sup>\*\*\*</sup> 1% nivel de significación, NS: no significativo.



## Resultados

En la **Figura 4-8** se muestran los resultados obtenidos de las determinaciones de sólidos solubles en las muestras de yogurt correspondientes a los tratamientos control, T-UVC y T-UVC-vacío. Tamime y Robinson, (2007), definen que los sólidos solubles están íntimamente ligados a la consistencia del yogurt, ya que la misma mejora, a medida que aumentan los sólidos solubles. Además, que cuanto mayor es el nivel de sólidos solubles (de 12 a 20) en la mezcla de yogurt, mayor es la estabilidad de la cuajada del producto final.



**Figura 4-8.** Valores promedio de sólidos solubles (°Brix) de yogurt elaborado a partir de leche con diferentes tratamientos, a lo largo del almacenamiento. (|) desvío estándar. (■) control, (■) T-UVC, (■) T-UVC-Vacío. Las barras identificadas con igual letra, no presentan diferencias significativas con un 95% de nivel de confianza, según el test de Tukey.

En los resultados mostrados en la **Figura 4-8**, se puede observar que las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC no mostraron diferencias significativas respecto de los tratamientos control y T-UVC-Vacío durante todo el tiempo de almacenamiento. De manera opuesta, las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC-Vacío mostraron diferencias significativas respecto del control durante todo el tiempo de almacenamiento, pero es importante resaltar que, si bien se manifestaron diferencias significativas, los valores

## Resultados

de sólidos solubles para los tres tratamientos, permanecieron en un rango acotado entre 21 y 22 °Brix (**Figura 4-8**). Yeom y col. (2004) reportaron cambios no significativos en los sólidos solubles de bases de yogurt tratadas con calentamiento suave (60°C por 30s) en combinación con luz pulsada (30 kV/cm, 32  $\mu$ s) durante 91 días de almacenamiento a 4°C.

### **4.4.2. Evolución de la sinéresis del yogurt durante el almacenamiento**

La sinéresis, además de ser considerada en la industria del yogurt como un defecto de calidad relacionado con la estabilidad y aceptación del producto por parte del consumidor, también provoca problemas en el estudio de las características reológicas. De allí la importancia de su estudio en la elaboración y almacenamiento refrigerado de yogurt (Xu y col., 2008). La sinéresis espontánea ocurre como resultado de re-arreglos en la estructura de gel y la consecuente expulsión del suero (O'Kennedy y Kelly, 2000)

Los resultados del ANOVA de dos factores para los valores de sinéresis (**Tabla 4-8**) mostraron que existió interacción significativa entre los tratamientos aplicados y el tiempo de almacenamiento del yogurt. Por lo tanto, la evolución de la sinéresis a lo largo del tiempo dependió de los tratamientos evaluados.

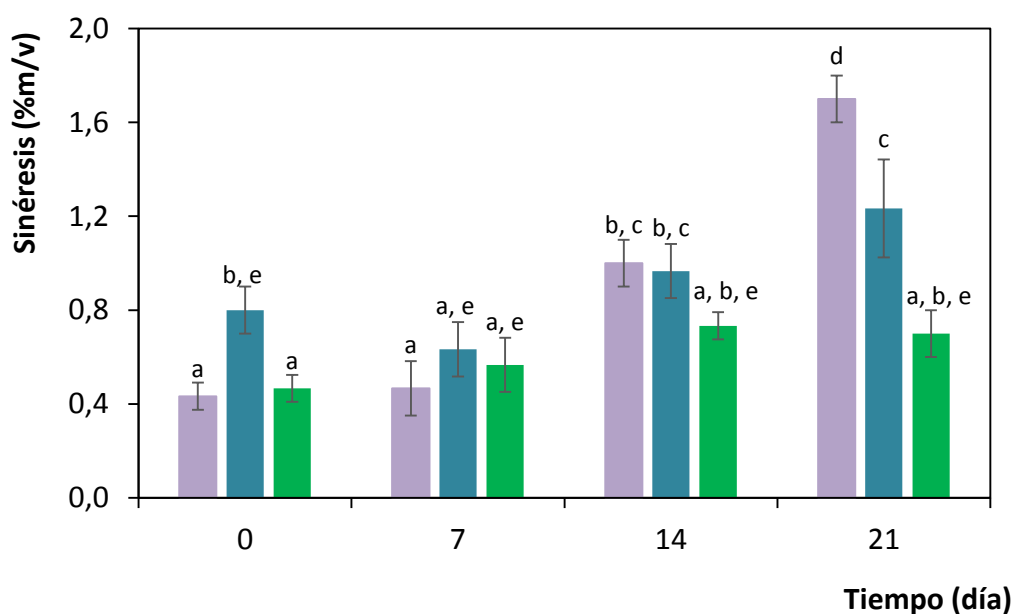
**Tabla 4-8.** Resumen del análisis de varianza correspondiente a la sinéresis observada en muestras de yogurt elaborado a partir de leche con diferentes tratamientos a lo largo del almacenamiento.

<b>Origen de la varianza</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado medio del error</b>	<b>Fisher</b>
Tratamiento	0,66	2	0,33	27,07 <sup>***</sup>
Tiempo	2,64	3	0,88	71,90 <sup>***</sup>
Tratamiento*Tiempo	1,26	6	0,21	17,13 <sup>***</sup>
Error	0,29	24	0,01	

<sup>\*\*\*</sup> 1% nivel de significación.

## Resultados

Los resultados de sinéresis en las diferentes muestras de yogurt durante el almacenamiento, se exponen en la **Figura 4-9**. Esta determinación se realizó según lo establecido en **Materiales y Métodos, Apartado 3.8.2**.



**Figura 4-9.** Valores promedio de sinéresis (%m/v) de yogurt elaborado con diferentes tratamientos a distintos días de almacenamiento. (|) desvío estándar. (■) control, (■) T-UVC, (■) T-UVC-Vacío. Las barras identificadas con igual letra, no presentan diferencias significativas con un 95% de nivel de confianza, según test de Tukey.

En la **Figura 4-9** se puede observar que las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con procesamiento T-UVC-Vacío no mostraron cambios significativos con respecto al control al día 0 de almacenamiento. A los días 7 y 14, tanto las muestras de yogurt elaborados a partir de leche con procesamientos T-UVC-Vacío y T-UVC no mostraron diferencias significativas respecto del control, contrario a lo observado al día 21 de almacenamiento, donde ambos tratamientos presentaron diferencias significativas. Es importante resaltar que los valores de sinéresis obtenidos para las muestras de yogurt T-UVC-Vacío fueron inferiores en las dos últimas semanas de almacenamiento en comparación con las muestras de yogurt T-UVC y control. Estas últimas, a su vez, mostraron un importante aumento significativo en la sinéresis el día 21 de almacenamiento. Estos cambios en las muestras de yogurt elaborado a partir de leche pasteurizada (control) pueden explicarse debido a que en la leche tratada

## Resultados

térmicamente ocurre en 2 etapas: primero al punto isoeléctrico de las proteínas del suero asociadas a la caseína y segundo, al punto isoeléctrico de la caseína. Esto genera “estreses” locales en la estructura y una desagregación continua luego de la gelificación que da lugar una mayor sinéresis (Serra y col., 2009). También se ha atribuido el incremento de sinéresis al aumento de acidez durante el almacenamiento el cual puede haber tenido un efecto sobre el encogimiento de la matriz de micelas de caseína causando liberación del suero (Achanta y col., 2007; Clark y col., 2009). El proceso de gelificación durante la elaboración de yogurt demoró algo más en las muestras de leche procesadas con luz UV-C y probablemente la estructura de gel formada fuera más estable y resistente reteniendo suero y dando lugar a una menor sinéresis.

Un resultado similar se ha observado mediante la aplicación de otras tecnologías emergentes al procesamiento de leche. Así por ejemplo, Serra y col. (2009), estudiaron las propiedades físicas del yogurt elaborado con leche tratada con homogenización a ultra alta presión (UAPH, 300MPa) combinado con calentamiento (40°C), encontrando que el yogurt elaborado con esta tecnología, presentó menor sinéresis y mayor consistencia en comparación con el yogurt elaborado a partir de la leche tratada convencionalmente, incluso fortificada con 3% de leche descremada en polvo. Estos autores han explicado la menor sinéresis en las muestras tratadas por UAPH por la presencia de un mayor número de partículas micelares y un mayor grado de solvatación de estas proteínas con una alta dispersión de grasa en la estructura observada por microscopía confocal (Serra y col., 2009).

### **4.4.3. Evolución del color del yogurt durante el almacenamiento**

Se estudió la evolución del color a lo largo del almacenamiento de las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con los tratamientos control, T-UVC y T-UVC-Vacío, de acuerdo al procedimiento descrito en **Materiales y Métodos, Apartado 3.8.3.**

Las **Figuras 4-10 y 4-11** muestran la evolución del color del yogurt medidos durante el almacenamiento a 4°C durante 21 días, a través de los valores promedio de

## Resultados

los parámetros del espacio CIEL\*a\*b\* y de las funciones de color croma (C\*) y ángulo de tono (h\*).

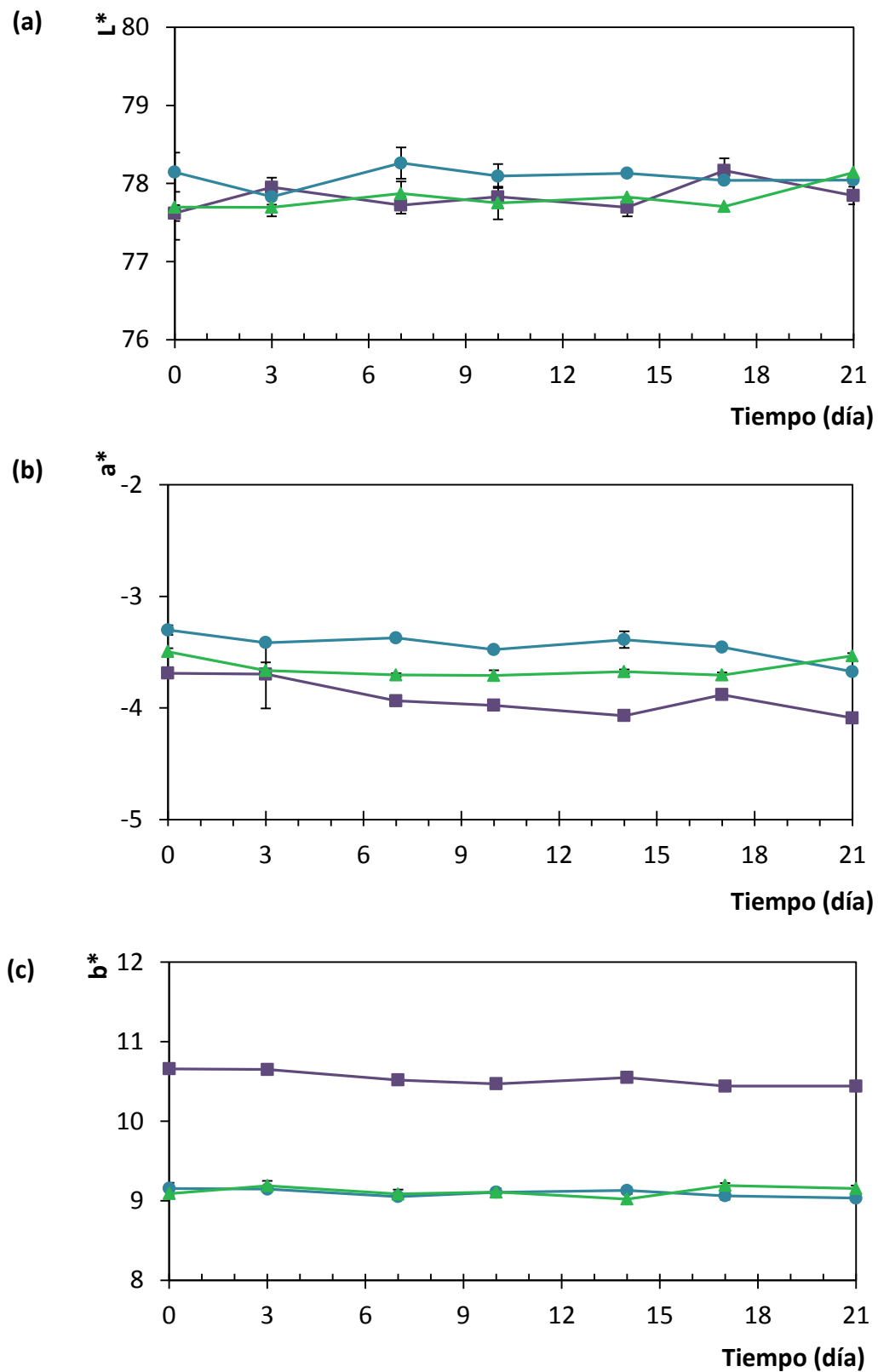
En la **Figura 4-10 (a)** se puede observar como la luminosidad (L\*) correspondiente a las muestras de yogurt (control, T-UVC y T-UVC –Vacío) se mantuvo prácticamente constante durante todo el tiempo de almacenamiento, oscilando entre 77 y 79. Harte y col. (2003) evaluaron los cambios en la luminosidad (L\*) del yogurt elaborado con leche tratada con altas presiones hidrostáticas (300 a 676MPa, 5min) y procesamiento térmico (85°C, 30min), reportando que los valores de luminosidad fueron muy similares para todos los yogures independientemente del tratamiento previo aplicado a la leche.

También se puede observar en la **Figura 4-10 (b)** que el parámetro a\* permaneció prácticamente constante durante todo el almacenamiento y no se presentaron grandes cambios entre las muestras de yogurt elaboradas a partir de leche procesada por los diferentes tratamientos. Sin embargo, los valores negativos asumidos por dicha variable, debido a que osciló entre -3 a -4, indicaron un predominio de la componente verde en los yogures.

En la **Figura 4-10 (c)** se puede observar para las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamientos T-UVC y T-UVC-Vacío, una disminución en el parámetro b\* respecto del control, la cual que se mantuvo a lo largo del almacenamiento. Esto indicaría que las muestras de yogurt elaborado a partir de leche procesada con luz UV-C se percibieron menos amarillas.

Es muy escasa la información disponible en bibliografía respecto de la evolución de color de yogurt elaborado a partir de leche procesada con luz. Yeom y col. (2004) estudiaron las características físicas y sensoriales de bases de yogurt procesado con luz pulsada (30 kV/cm, 32  $\mu$ s) en combinación con tratamiento térmico suave (60°C por 30s) y reportaron que los valores iniciales de los parámetros L\*, a\* y b\* no se vieron afectados significativamente por el tratamiento aplicado, además no observaron diferencias significativas de estos parámetros entre las muestras control y las tratadas durante 91 días de almacenamiento a 4°C.

## Resultados



**Figura 4-10.** Valores promedio de los parámetros  $L^*$  (a),  $a^*$  (b) y  $b^*$  (c) medidos en muestras de yogurt elaborado a partir de leche con diferentes tratamientos a distintos días de almacenamiento. (|) desvío estándar. (■) Control, (●) T-UVC (▲) T-UVC-Vacío.

## Resultados

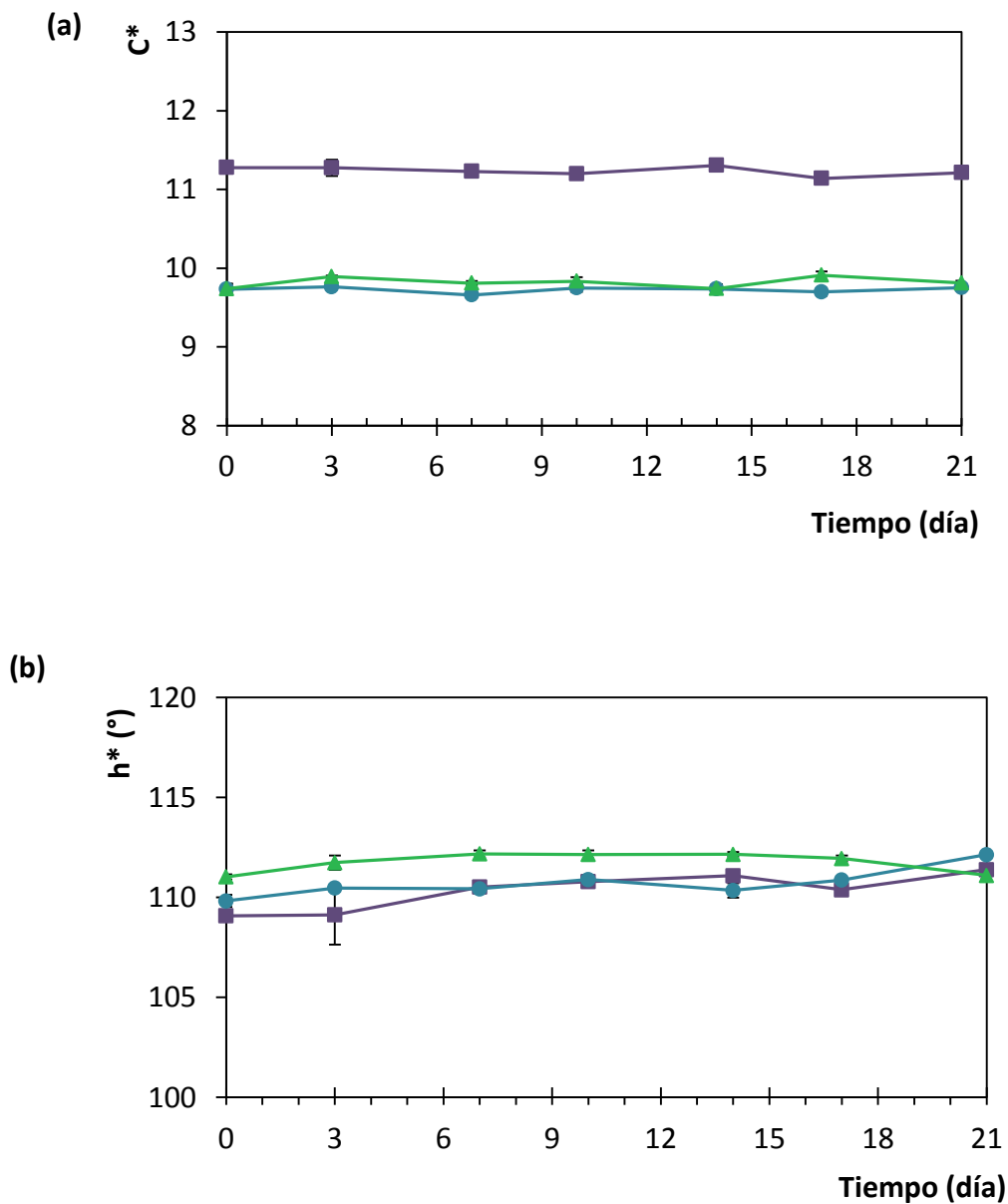
La **Figura 4-11** muestra la evolución de las funciones de color croma ( $C^*$ ) y ángulo de tono ( $h^*$ ). En la **Figura 4-11 (a)** se puede observar que  $C^*$  permaneció en niveles prácticamente constantes a lo largo del almacenamiento para los tres tratamientos; para las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamientos T-UVC y T-UVC–Vacío presentaron valores más bajos con respecto a la muestra control.

Los resultados obtenidos para el ángulo de tono ( $h^*$ ) muestran valores del mismo cercanos a los  $110^\circ$  y levemente mayores para las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC en comparación con control y T-UVC –Vacío, los cuales a su vez fueron aumentando levemente los valores de este parámetro en función del tiempo de almacenamiento (**Figura 4-11, (b)**).

En la **Figura 4-12** se muestra la evolución de índice de blanco. Este índice se relaciona al color blanco y en los alimentos lácteos se lo atribuye a la presencia de partículas coloidales, tales como glóbulos de grasa de la leche y las micelas de caseína, capaces de dispersar la luz en el espectro visible.

De acuerdo a la **Figura 4-12**, se puede observar que este índice permaneció prácticamente constante durante el tiempo de almacenamiento para todas las muestras evaluadas, pero resaltando que los valores para las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con los tratamientos T-UVC y T-UVC–Vacío fueron levemente mayores en comparación a las muestras control durante todo el tiempo de almacenamiento. Estudios anteriores han demostrado que la fermentación de la leche además de la adición de sólidos, hace que se disminuya la luminosidad y blancura característica de la misma (Belitz, 2009). Los tratamientos con luz UV-C aplicados a la leche aumentarían levemente la percepción del blanco en las muestras de yogurt, hecho que podría resultar beneficioso desde el punto de vista del consumidor.

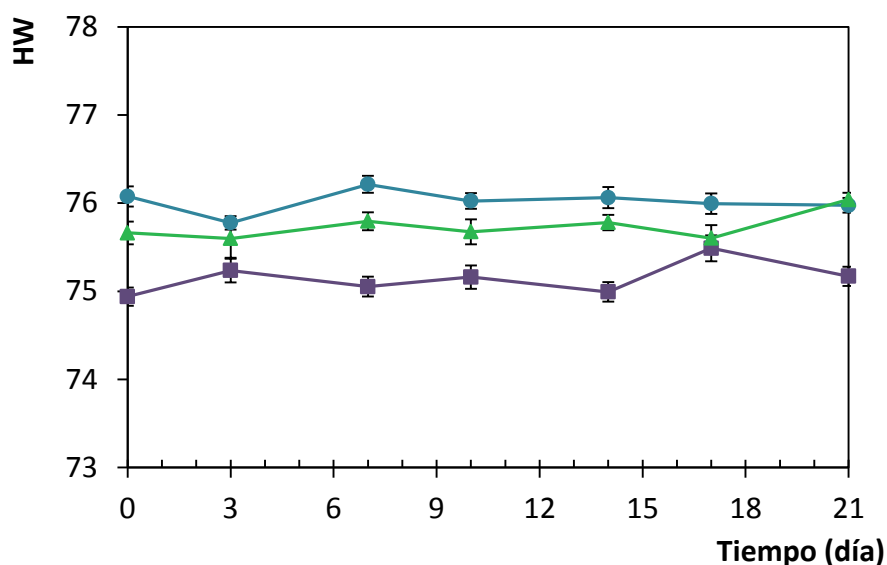
Resultados



**Figura 4-11.** Valores promedio de los parámetros  $C^*$  (a),  $h^*$  (b) de yogurt elaborado a partir de leche con diferentes tratamientos a distintos días de almacenamiento. (I) desvío estándar. (■) Control, (●) T-UVC, (▲) T-UVC-Vacío.



## Resultados



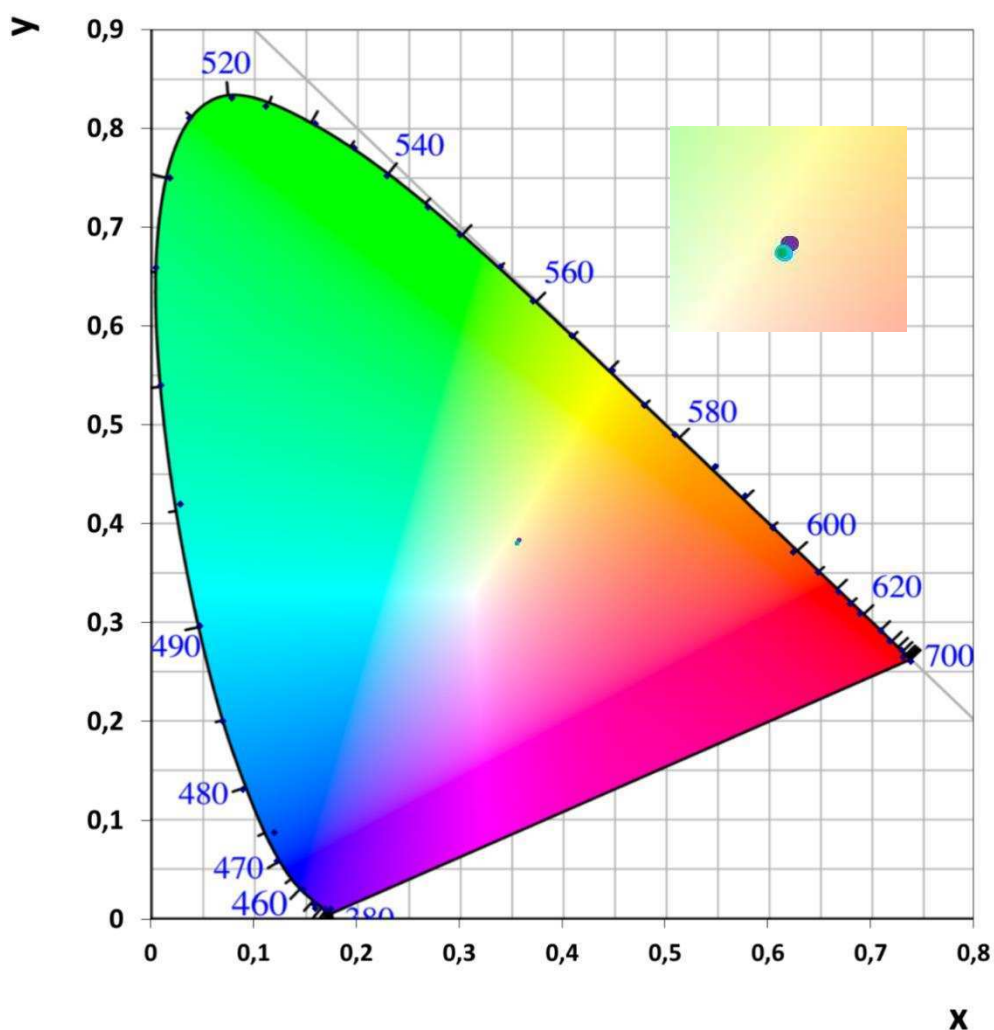
**Figura 4-12.** Valores promedios del índice de blanco de yogurt elaborado con diferentes tratamientos a distintos días de almacenamiento. (|) desvío estándar.

(■) Control, (●) T-UVC, (▲) T-UVC-Vacío.

En la **Figura 4-13** se muestra la evolución del color de las muestras de yogurt en un diagrama de cromaticidad CIE x-y. En este diagrama se puede observar que todas las muestras se sitúan en la región de color blanca-amarilla y que no se muestran grandes cambios ni por el tipo de tratamiento ni por el tiempo de almacenamiento, ya que todas las muestras se superponen en un solo punto.

Los resultados del análisis de varianza multivariado de dos factores (tiempo y tratamiento) para los parámetros y funciones de color con sus respectivos valores se muestran en las **Tablas 4-9 y 4-10**, respectivamente. El análisis mostro que existía interacción significativa entre los tratamientos aplicados y el tiempo de almacenamiento. Por lo tanto, la evolución de los parámetros y funciones de color a lo largo del tiempo dependió de los tratamientos evaluados.

## Resultados



**Figura 4-13.** Evolución de los parámetros de color del sistema CIE x-y de yogurt elaborado con diferentes tratamientos a distintos días de almacenamiento. (●) Control, (●) T-UVC, (●) T-UVC -Vacío.

**Tabla 4-9.** Resumen del análisis de varianza multivariado de los parámetros y funciones del color de las muestras de yogurt a lo largo del almacenamiento.

Origen de la varianza	Estadístico de Pillai	Grados de libertad entre tratamientos	Grados de libertad del error	Fisher
Tratamiento	1,91	12	160	281,14***
Tiempo	1,83	36	504	6,17***
Tratamiento*Tiempo	3,34	72	504	8,79***

\*\*\* 1% nivel de significación

## Resultados

En los resultados que se muestran en la **Tabla 4-10**, se puede observar que tanto las muestras de yogurt T-UVC como las de yogurt T-UVC-Vacío mostraron diferencias significativas con respecto al control durante todo el tiempo de almacenamiento. Los valores para los parámetros y funciones de color de las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC no presentaron diferencias significativas entre los días 7 y 14, y entre los días 3, 10 y 17. Para el caso de las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC-Vacío no se presentó diferencias significativas entre los días 3, 10 y 17, y a su vez el día 10 de almacenamiento no presentó diferencias significativas con los días 7 y 14. Los resultados para las muestras control mostraron diferencias significativas entre todos los días de almacenamiento. Es importante resaltar que más allá de las diferencias significativas halladas, los valores de los parámetros correspondientes a todas las muestras oscilaron en un rango muy acotado durante los 21 días de almacenamiento. De ahí que, por ejemplo, para las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC se encuentren diferencias entre los 7 y 10 pero no entre los días 7 y 14 (**Tabla 4-10**).

Resultados

**Tabla 4-10.** Valores promedio y sus correspondientes desvío estándar de los parámetros y funciones de color del yogurt elaborado con diferentes tratamientos a distintos días de almacenamiento.

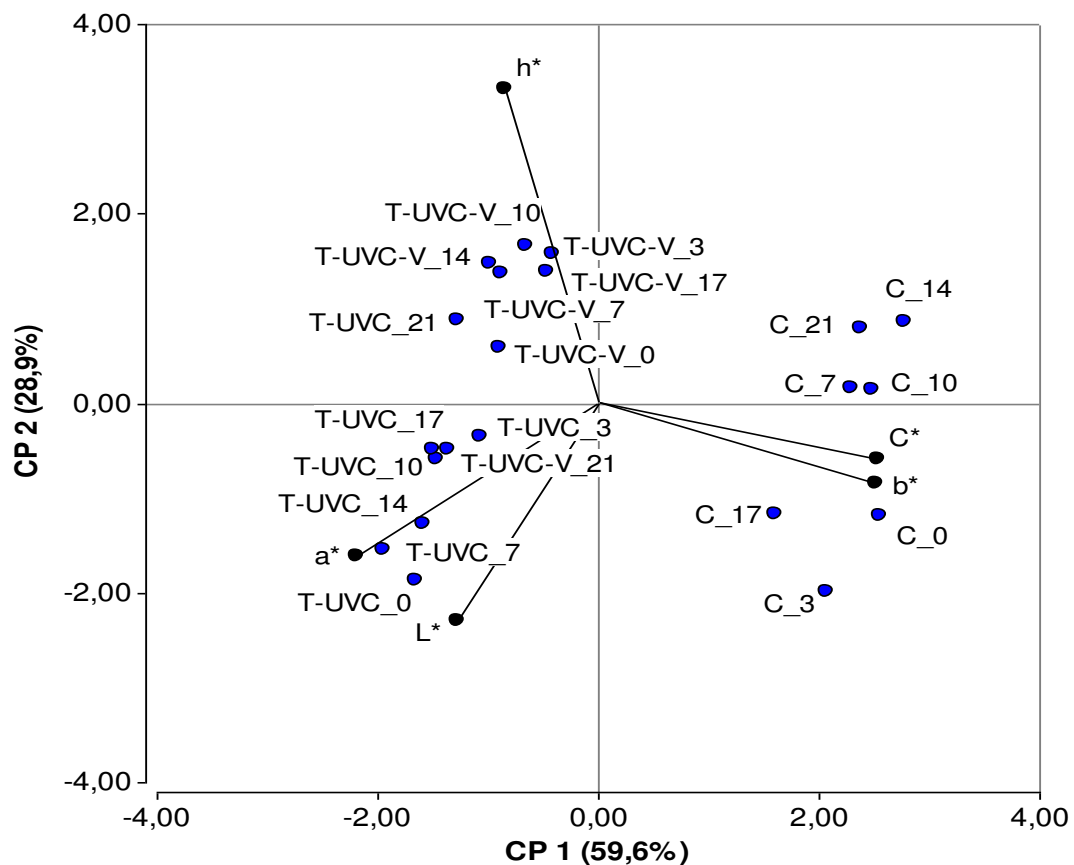
Tratamiento	Día	L*	a*	b*	C*	h*	HW	
Control	0	77,62 ± 0,10	-3,69 ± 0,02	10,66 ± 0,05	11,28 ± 0,04	109,09 ± 0,17	74,94 ± 0,10	a
	3	77,95 ± 0,12	-3,70 ± 0,31	10,65 ± 0,03	11,28 ± 0,10	109,13 ± 1,49	75,24 ± 0,13	b
	7	77,72 ± 0,11	-3,94 ± 0,03	10,52 ± 0,06	11,23 ± 0,04	110,52 ± 0,23	75,05 ± 0,11	c
	10	77,83 ± 0,12	-3,98 ± 0,03	10,47 ± 0,06	11,20 ± 0,06	110,80 ± 0,15	75,16 ± 0,13	c
	14	77,70 ± 0,12	-4,07 ± 0,03	10,55 ± 0,02	11,31 ± 0,02	111,09 ± 0,13	74,99 ± 0,11	d
	17	78,17 ± 0,16	-3,88 ± 0,02	10,44 ± 0,03	11,14 ± 0,03	110,39 ± 0,13	75,49 ± 0,15	e
	21	77,85 ± 0,11	-4,09 ± 0,03	10,44 ± 0,03	11,21 ± 0,03	111,39 ± 0,12	75,17 ± 0,11	f
T-UVC	0	78,14 ± 0,10	-3,30 ± 0,04	9,16 ± 0,07	9,73 ± 0,06	109,83 ± 0,31	76,08 ± 0,12	g
	3	77,83 ± 0,09	-3,41 ± 0,02	9,15 ± 0,02	9,76 ± 0,01	110,47 ± 0,16	75,78 ± 0,08	h
	7	78,26 ± 0,11	-3,37 ± 0,02	9,05 ± 0,03	9,66 ± 0,03	110,43 ± 0,11	76,21 ± 0,10	i
	10	78,10 ± 0,09	-3,48 ± 0,02	9,11 ± 0,05	9,75 ± 0,05	110,90 ± 0,04	76,02 ± 0,09	h, j
	14	78,13 ± 0,14	-3,39 ± 0,07	9,13 ± 0,04	9,74 ± 0,05	110,36 ± 0,36	76,06 ± 0,12	g, i
	17	78,04 ± 0,12	-3,45 ± 0,01	9,06 ± 0,05	9,70 ± 0,05	110,87 ± 0,07	75,99 ± 0,12	h, k
	21	78,04 ± 0,09	-3,68 ± 0,01	9,03 ± 0,03	9,75 ± 0,03	112,14 ± 0,13	75,98 ± 0,08	l
T-UVC - Vacío	0	77,70 ± 0,14	-3,49 ± 0,03	9,09 ± 0,03	9,74 ± 0,04	111,03 ± 0,13	75,66 ± 0,13	k
	3	77,69 ± 0,21	-3,66 ± 0,07	9,19 ± 0,06	9,89 ± 0,07	111,74 ± 0,36	75,60 ± 0,22	m
	7	77,87 ± 0,10	-3,70 ± 0,02	9,08 ± 0,06	9,81 ± 0,05	112,19 ± 0,18	75,79 ± 0,10	l
	10	77,75 ± 0,14	-3,71 ± 0,05	9,11 ± 0,03	9,83 ± 0,04	112,15 ± 0,20	75,67 ± 0,14	l, m
	14	77,83 ± 0,09	-3,67 ± 0,02	9,02 ± 0,06	9,74 ± 0,06	112,16 ± 0,12	75,78 ± 0,09	l
	17	77,71 ± 0,15	-3,71 ± 0,03	9,19 ± 0,03	9,91 ± 0,03	111,96 ± 0,15	75,60 ± 0,15	m
	21	78,14 ± 0,08	-3,53 ± 0,02	9,15 ± 0,04	9,81 ± 0,03	111,11 ± 0,18	76,04 ± 0,08	j

Tratamientos y días de almacenamiento identificados con la misma letra no presentan diferencias significativas con un 95% de nivel de confianza

**L\***: luminosidad; **C\***: croma; **h\***: ángulo de tono; **HW**: Índice de blanco.

## Resultados

El análisis de componentes principales explicó la relación espacial entre los parámetros de color y las muestras a los diferentes tiempos de almacenamiento (**Figura 4-14**). Considerando las dos primeras componentes principales se logró explicar el 89 % de la variabilidad de los datos (**Tabla 4-11**). En la **Tabla 4-12** se puede observar además, el peso de las variables sobre cada componente. La CP 1 fue asociada positivamente con el croma ( $C^*$ ) y el parámetro  $b^*$ , y negativamente con el parámetro  $a^*$ . La CP 2 fue representada positivamente por el parámetro hue ( $h^*$ ) y negativamente por la luminosidad ( $L^*$ ).



**Figura 4-14.** Análisis de componentes principales para los parámetros de color de las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamientos control (C), T-UVC y T-UVC-Vacío (T-UVC-V), evaluadas a distinto tiempo de almacenamiento (●). Las etiquetas de número corresponden al tiempo de almacenamiento (0, 3, 7, 10, 14, 17 y 21).

## Resultados

Como se puede observar en la **Figura 4-14**, las muestras de yogurt control se encuentran en el cuadrante derecho y las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamientos T-UVC y T-UVC-Vacío, en el cuadrante izquierdo, indicando que éstas presentaron un leve aumento en el parámetro  $a^*$  y una disminución en el croma ( $C^*$ ) y el parámetro  $b^*$ . Analizando la CP 2, en general, las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC-Vacío (ubicadas en el cuadrante izquierdo positivo) presentaron un leve aumento en el ángulo de tono ( $h^*$ ) con respecto a T-UVC que presentaron más luminosidad (ubicadas en el cuadrante izquierdo negativo).

**Tabla 4-11y 4-12.** Autovalores, autovectores y correlaciones correspondientes al PCA de los parámetros de color de las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamientos control, T-UVC y T-UVC-Vacío a diferentes tiempos de almacenamiento.

Autovalores			
CP	Valor	Proporción	Prop. Acum.
1	2,98	0,60	0,60
2	1,45	0,29	0,89

Autovectores			Correlaciones con las variables originales		
Variables	CP 1	CP 2	Variables	CP 1	CP 2
L*	-0,29	<b>-0,51</b>	L*	-0,49	<b>-0,62</b>
a*	<b>-0,49</b>	-0,36	a*	<b>-0,85</b>	-0,43
b*	<b>0,56</b>	-0,19	b*	<b>0,97</b>	-0,23
C*	<b>0,57</b>	-0,13	C*	<b>0,98</b>	-0,16
h*	-0,19	<b>0,74</b>	h*	-0,33	<b>0,89</b>

Valor en rojo representa la variable(s) más relevante(s) de la componente principal.

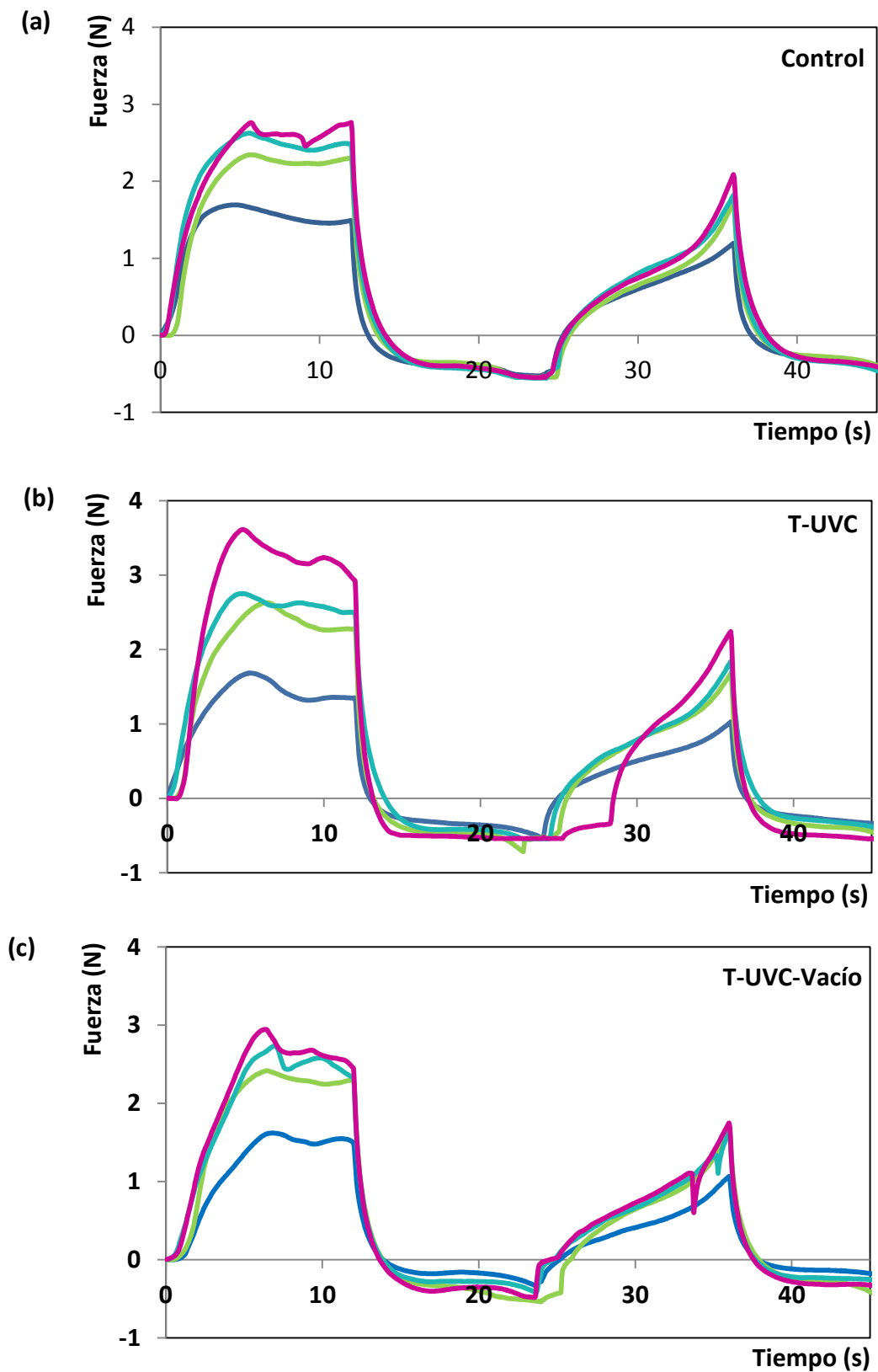
#### **4.4.4. Medición Instrumental del perfil de textura (TPA) del yogurt durante el almacenamiento**

Se evaluaron los perfiles de textura (TPA) de todas las muestras de yogurt según la metodología detallada en la sección de **Materiales y Métodos, Apartado 3.8.4.**, para obtener los parámetros mecánicos y observar los cambios de éstos en el yogurt elaborado a partir de leche procesada por las tecnologías propuestas durante el almacenamiento.

Las curvas del perfil de textura para las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamientos control, T-UVC y T-UVC-Vacío se muestran en las **Figuras 4-15 y 4-16**. En la **Figura 4-15** se muestra el efecto del tiempo de almacenamiento sobre las curvas del perfil de textura de las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamientos control (a), T-UVC (b) y T-UVC -Vacío (c). En las figuras se puede observar cómo, para los tres tratamientos, el perfil de textura aumenta con el tiempo de almacenamiento, es decir, presentaron un aumento de la fuerza y el área bajo la curva de la primera y segunda compresión; siendo más notorio el cambio en el yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC.

En la **Figura 4-16** se observan los perfiles de textura de las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con los tratamientos propuestos (control, T-UVC y T-UVC – Vacío) durante los diferentes días de almacenamiento. En general, en los días 0, 7 y 14 de almacenamiento no se encontraron grandes diferencias entre los tres tratamientos e incluso presentaron perfiles muy similares; al día 21 de almacenamiento se observó que el yogurt elaborado a partir de leche con el tratamiento T-UVC presentó mayores valores de dureza tanto en el primer ciclo de compresión como en el segundo, mostrando así mayor firmeza del coágulo. En cuanto a las muestras de yogurt elaboradas a partir de leche tratada con T-UVC –Vacío se puede observar que presentaron perfiles similares durante todo el tiempo de almacenamiento a las muestras control, pero con valores levemente más altos.

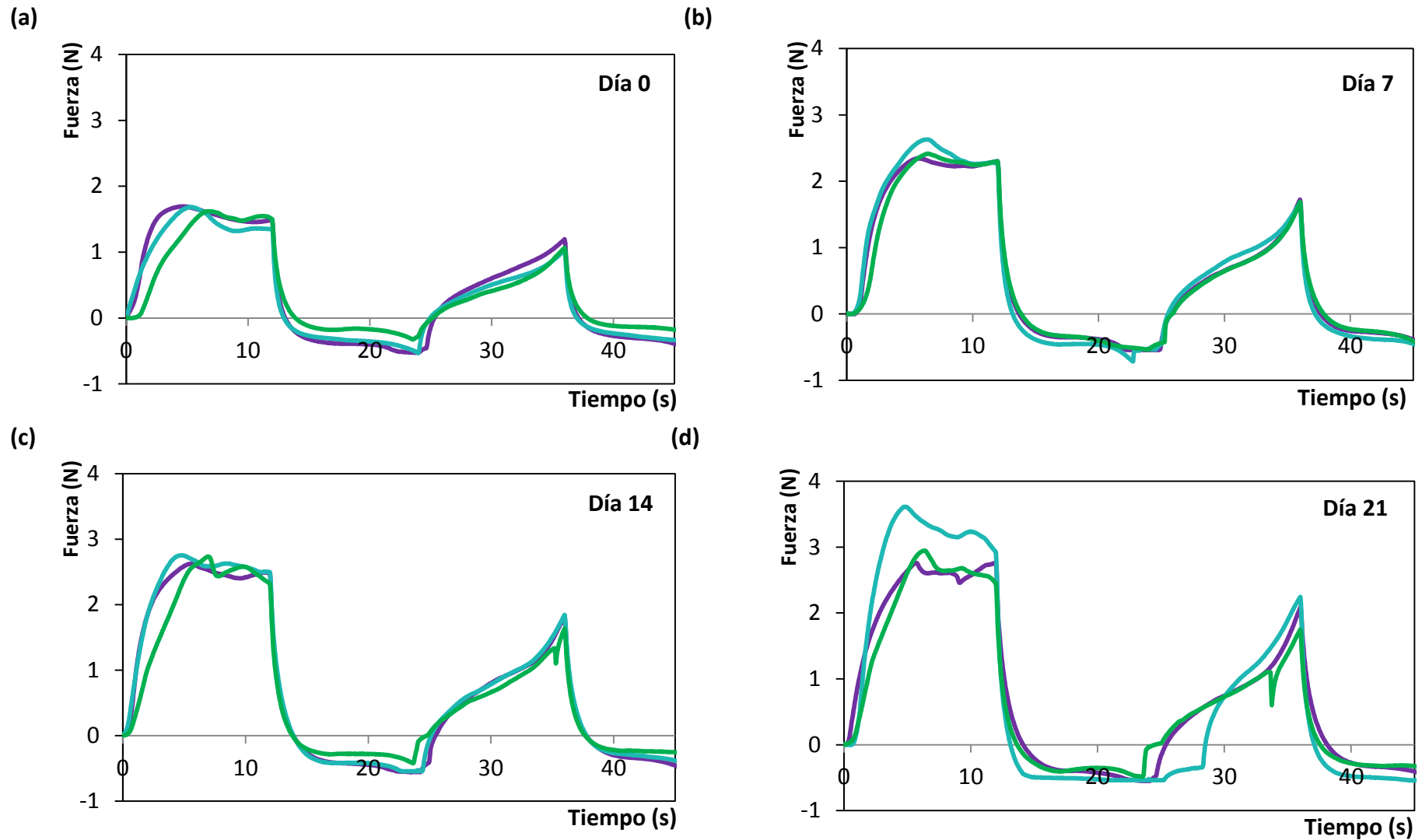
Resultados



**Figura 4-15.** Curvas de doble compresión para yogurt elaborado a partir de leche con diferentes tratamientos, control (a), T-UVC (b) y T-UVC-Vacío (c), a distintos días de almacenamiento. ( — ) 1, ( — ) 7, ( — ) 14 y ( — ) 21.



Resultados



**Figura 4-16.** Curvas de doble compresión para yogurt elaborado a partir de leche con diferentes tratamientos a distintos días de almacenamiento, 1(a), 7(b), 14(c) y 21 (d), (—) control, (—) T-UVC y (—) T-UVC –Vacío.

## Resultados

Estudios realizados por Vercet y col. (2002) sobre las propiedades reológicas de yogur elaborado a partir de leche tratado con ultrasonido (20 kHz) bajo presión moderada en combinación con calor (40°C) encontraron que el yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento por la tecnología propuesta presentó mayor dureza, más adhesividad, gomosidad y masticabilidad que el yogurt control, mientras que la cohesividad y elasticidad fueron prácticamente iguales para ambos yogures. Serra y col. (2009) estudiaron las propiedades físicas del yogurt elaborado con leche tratada con ultra altas presiones de homogenización (300MPa) en combinación con calentamiento (40°C) encontrando que el yogurt elaborado con esta tecnología presentó valores más altos de dureza (1,99 – 2,33 N) que el yogurt control (1,37 – 1,42 N) esto debido a que la red del yogurt elaborado por la tecnología propuesta fue resistente a la rotura que el yogurt convencional, el cual tiene una matriz más ramificado con un gran número de poros.

Los resultados del análisis de varianza multivariado de dos factores: tratamiento y tiempo (**Tabla 4-13**) de los parámetros mecánicos mostraron que hubo interacción significativa entre los factores, es decir, la evolución de los parámetros mecánicos a lo largo del almacenamiento fueron dependientes de los tratamientos evaluados. Los valores de los parámetros mecánicos para las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con los tratamientos control, T-UVC y T-UVC–Vacío durante el almacenamiento se muestran en la **Tabla 4-14**.

**Tabla 4-13.** Resumen del análisis de varianza multivariado de los parámetros mecánicos de las muestras de yogurt a lo largo del almacenamiento.

Origen de la varianza	Estadístico de Pillai	Grados de libertad entre tratamiento	Grados de libertad del error	Fisher
Tratamiento	1,03	18	198	11,59 <sup>***</sup>
Tiempo	1,05	27	300	5,94 <sup>***</sup>
Tratamiento*Tiempo	1,16	54	618	2,75 <sup>***</sup>

<sup>\*\*\*</sup> 1% nivel de significación

Resultados

**Tabla 4-14.** Parámetros mecánicos promedio y desvíos estándar correspondientes las curvas de doble compresión del yogurt elaborado a partir de leche con diferentes tratamientos a distintos días de almacenamiento

Tratamiento	Día	Dureza (N)	Dureza 2 (N)	Área 1 x 10 <sup>-3</sup> (J)	Área 2 x 10 <sup>-3</sup> (J)	Adhesividad (J)	Elasticidad (-)	Cohesividad (-)	Gomosidad (N)	Masticabilidad (N)	
<b>Control</b>	<b>0</b>	1,70 ± 0,27	1,17 ± 0,18	6,4 ± 2,6	5,7 ± 0,6	3,70 ± 0,86	0,86 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	a
	<b>7</b>	2,36 ± 0,14	1,70 ± 0,11	15,7 ± 6,3	7,5 ± 0,5	3,84 ± 0,23	0,87 ± 0,02	0,33 ± 0,01	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	b
	<b>14</b>	2,27 ± 0,16	1,61 ± 0,16	19,7 ± 1,5	6,9 ± 0,6	3,79 ± 1,05	0,89 ± 0,04	0,33 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	c
	<b>21</b>	2,54 ± 0,18	1,83 ± 0,20	20,4 ± 6,2	7,9 ± 0,6	4,20 ± 0,75	0,88 ± 0,04	0,33 ± 0,02	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	b, c
<b>T-UVC</b>	<b>0</b>	1,57 ± 0,26	1,02 ± 0,16	6,3 ± 0,9	5,4 ± 0,9	2,70 ± 0,98	0,90 ± 0,02	0,39 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	a, d
	<b>7</b>	2,51 ± 0,50	1,76 ± 0,33	15,0 ± 3,4	7,5 ± 0,9	3,06 ± 1,29	0,84 ± 0,16	0,35 ± 0,08	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	b, e, f
	<b>14</b>	2,67 ± 0,30	1,85 ± 0,21	16,4 ± 5,4	8,0 ± 0,8	3,75 ± 0,99	0,86 ± 0,10	0,33 ± 0,05	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	b, f, g
	<b>21</b>	3,01 ± 0,46	2,09 ± 0,31	16,4 ± 6,5	8,4 ± 0,9	4,33 ± 1,38	0,81 ± 0,10	0,31 ± 0,06	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	g
<b>T-UVC-Vacío</b>	<b>0</b>	1,55 ± 0,06	1,09 ± 0,08	9,1 ± 2,9	4,8 ± 0,3	1,65 ± 0,30	0,88 ± 0,03	0,39 ± 0,02	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	d, h
	<b>7</b>	1,86 ± 0,15	1,21 ± 0,16	8,9 ± 3,8	5,5 ± 0,5	1,43 ± 0,58	0,90 ± 0,03	0,40 ± 0,05	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	h
	<b>14</b>	2,37 ± 0,24	1,64 ± 0,13	12,5 ± 3,6	7,4 ± 1,0	1,92 ± 0,80	0,91 ± 0,02	0,42 ± 0,06	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	e
	<b>21</b>	2,49 ± 0,27	1,66 ± 0,20	14,5 ± 4,6	7,7 ± 0,9	2,75 ± 1,11	0,90 ± 0,02	0,38 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,35 ± 0,03	e, f

Tratamientos y días de almacenamiento identificados con la misma letra no presentan diferencias significativas con un 95% de nivel de confianza.

## Resultados

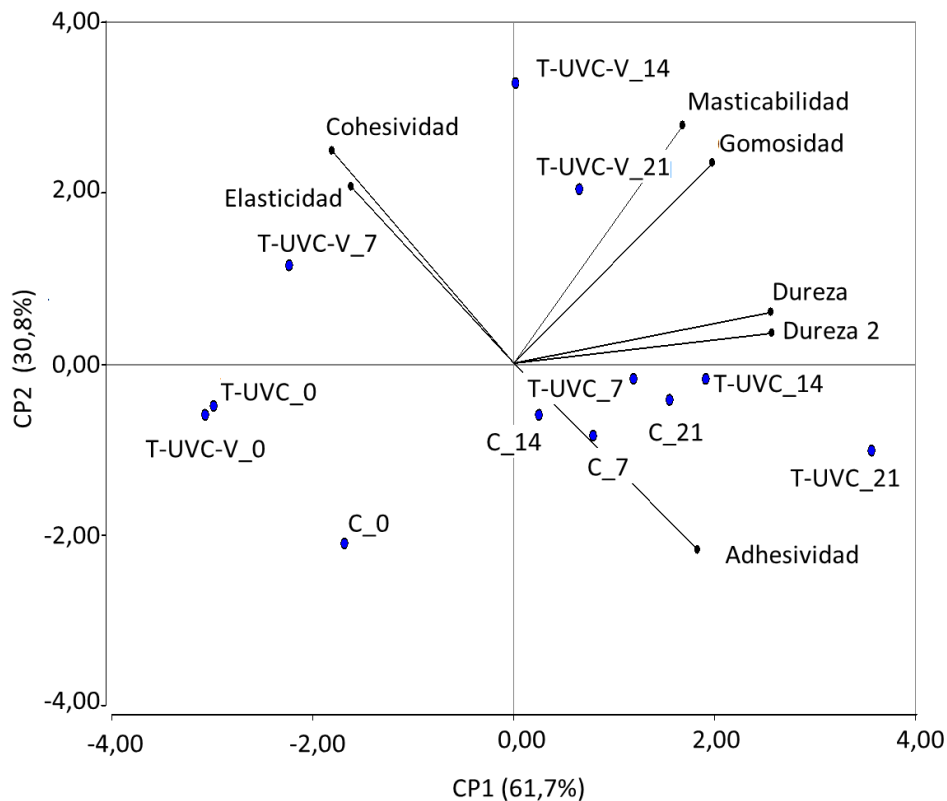
En los resultados obtenidos (**Tabla 4-14**) se puede observar que las muestras de yogurt elaborado a partir la de leche procesada con tratamiento T-UVC no mostraron diferencias significativas con respecto al control los días 0 y 7 de almacenamiento, ni tampoco con respecto al yogurt T-UVC-Vacío en el día 0. Caso contrario ocurrió con las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC-Vacío, las cuales mostraron diferencia significativa con respecto al control durante todo el tiempo de almacenamiento. Es importante resaltar que todas las muestras de yogurt presentaron un incremento en la dureza (firmeza), adhesividad, gomosidad y masticabilidad a medida que aumentaba el tiempo de almacenamiento siendo más notorio el cambio en el yogurt elaborado con el tratamiento T-UVC.

En cuanto a los parámetros elasticidad y cohesividad, se pudo observar en la **Tabla 4-14** que permanecieron en niveles prácticamente constantes durante todo el tiempo almacenamiento. Los resultados obtenidos en estos parámetros fueron similares a los reportados por Salvador y Fizman (2004), quienes estudiaron las características sensoriales y de textura de yogurt entero y bajo en grasa durante 91 días de almacenamiento reportando que los valores de dureza y adhesividad aumentaron con el tiempo de almacenamiento para ambas muestras de yogurt.

Mani-López y col. (2014) estudiaron la estabilidad del yogur preparado con varias mezclas de bacterias ácido-lácticas durante su almacenamiento y encontraron que tanto la firmeza como la adhesividad del yogurt aumentaron durante los 35 días de almacenamiento a 4°C. Serra y col. (2009) reportaron un aumento en la dureza durante el almacenamiento en yogurt elaborado con leche tratada con ultra alta presión de homogenización (300MPa) en combinación con calentamiento (40°C).

Adicionalmente, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para explicar la relación espacial entre los parámetros mecánicos y los tratamientos (**Figura 4-17**). El análisis indicó que la componente principal 1 (CP 1) explicó el 61,7% de la variabilidad de los datos, e incluyendo la componente principal 2 (CP 2) fue posible explicar globalmente el 92% de la variación en los resultados obtenidos (**Tabla 4-15**). En la **Tabla 4-16** se puede observar el peso de las variables sobre cada componente. La CP 1 fue asociada positivamente con la dureza en la primera y segunda compresión y negativamente con la cohesividad y la elasticidad. La CP 2 (31 %) fue representada positivamente por la masticabilidad y gomosidad; y negativamente por la adhesividad.

## Resultados



**Figura 4-17.** Análisis de componentes principales para los parámetros mecánicos obtenidos del perfil de textura. (●) Yogurt elaborado a partir de leche con tratamientos control, T-UVC y T-UVC-Vacío en los diferentes días de almacenamiento. Las etiquetas de número corresponden al tiempo de almacenamiento (0, 7, 14, y 21).

Como se puede observar en la **Figura 4-17** las muestras de yogurt al día 0 se encuentran en el cuadrante izquierdo negativo. Durante el transcurso del almacenamiento, las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC-Vacío se fueron moviendo al cuadrante positivo y hacia la derecha debido a los leves aumentos en la cohesividad, elasticidad, masticabilidad y gomosidad con respecto a las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento control y T-UVC que se ubicaron en el cuadrante negativo derecho. Analizando la CP1, todas las muestras de yogurt en función del tiempo de almacenamiento aumentaron su dureza en ambas compresiones.

## Resultados

**Tablas 4-15 y 4-16.** Autovalores, autovectores y correlaciones correspondientes al PCA de los parámetros mecánicos del perfil de textura de las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con tratamientos control, T-UVC y T-UVC-Vacío a diferentes tiempos de almacenamiento.

Autovalores			
CP	Valor	Proporción	Prop. Acum.
1	4,32	0,62	0,62
2	2,16	0,31	0,92

Autovectores			Correlaciones con las variables originales		
Variables	CP 1	CP 2	Variables	CP 1	CP 2
Dureza	0,47	0,11	Dureza	0,98	0,16
Dureza 2	0,48	0,07	Dureza 2	0,99	0,1
Adhesividad	0,34	-0,4	Adhesividad	0,7	-0,59
Elasticidad	-0,3	0,39	Elasticidad	-0,62	0,57
Cohesividad	-0,34	0,46	Cohesividad	-0,7	0,68
Gomosidad	0,37	0,44	Gomosidad	0,76	0,64
Masticabilidad	0,31	0,52	Masticabilidad	0,65	0,76

Valor en rojo representa la variable(s) más relevante(s) de la componente principal.

### 4.5. Análisis sensorial

Se evaluaron los cambios sensoriales en las muestras de yogurt elaborado a partir de leche con los tratamientos control, T-UVC y T-UVC-Vacío. Para ello se realizaron distintas pruebas sensoriales tal como se describió en **Materiales y Métodos, Apartado 3.9.**

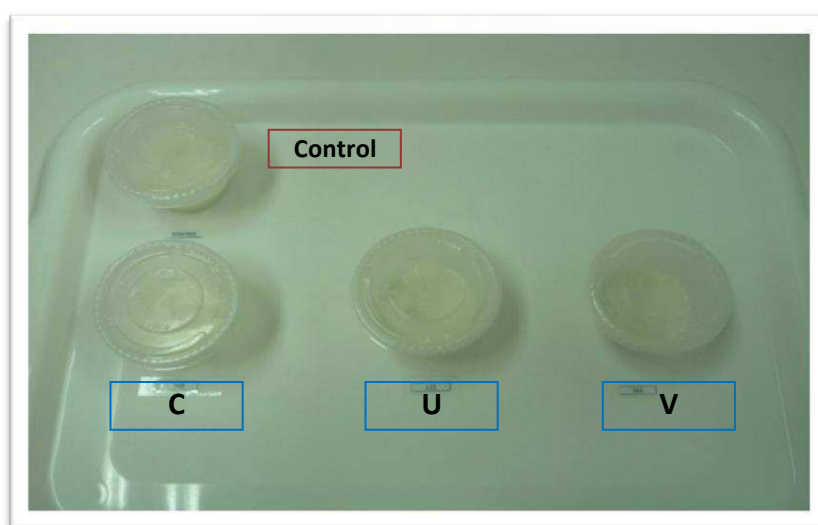
## Resultados

### 4.5.1. Test de Diferencia Contra Control

En esta prueba, los panelistas analizaron la magnitud de la diferencia global entre el yogurt elaborado a partir de leche pasteurizada (control) y el yogurt elaborado a partir de leche procesada por T-UVC ó T-UVC-Vacío, con el propósito de determinar la influencia del tipo de tratamiento en la percepción sensorial del producto final, según el procedimiento descrito en **Materiales y Métodos, Apartado 3.9.1**. Las muestras evaluadas frente al control reconocido como tal (yogurt elaborado a partir de leche pasteurizada), fueron (**Figura 4-18**):

- Control camuflado (**C**)
- Yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC (**U**)
- Yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC-Vacío (**V**)

Se incluyó un control camuflado para comparar con el control reconocido como tal, con el objeto de evaluar un posible efecto placebo y también facilitar la tarea al tener una muestra de referencia para comparar. Con los resultados obtenidos a partir de la escala numérica y verbal de categorías (desde 1: “ninguna” diferencia hasta 5: “muy grande”), se calculó la diferencia media correspondiente a cada muestra, respecto al control identificado como tal.



**Figura 4-18.** Esquema de las muestras evaluadas en el test de diferencia contra control.

## Resultados

Las puntuaciones promedio obtenidas para cada una de las muestras evaluadas fueron las siguientes:

- Control camuflado (**C**): 1,86
- Yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC (**U**): 4,07
- Yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC-Vacío (**V**): 3,74

La diferencia contra control promedio obtenida tanto por el yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC (**U**), como para el yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC-Vacío (**V**), resultó muy cercana a la categoría de diferencia “grande”. Sin embargo, el control camuflado obtuvo un puntaje cercano a la categoría “ligera” diferencia, esto puso de manifiesto la importancia de la inclusión de un control camuflado para detectar el efecto placebo. De esta manera, se pudieron comparar los puntajes relativos asignados, considerando el control camuflado (1,86) respecto del cual habría “moderada” diferencia con los yogures T-UVC y T-UVC-Vacío. La puntuación promedio corregida con respecto al control camuflado para las muestras T-UVC fue entonces de  $4,07 - 1,86 = 2,21$  y para las muestras T-UVC-Vacío fue de  $3,74 - 1,86 = 1,88$ .

Con el propósito de determinar si existen diferencias significativas en cuanto a la percepción de los sistemas evaluados, se llevó a cabo un análisis de varianza de dos factores: sujeto y muestra; el cual se resume en la **Tabla 4-17**. El análisis de varianza mostró que los juicios emitidos por los sujetos no fueron significativamente diferentes ( $F_{\text{sujeto}} < F_{\text{crítico sujetos}}$ ) a un nivel del 5%, por lo que si bien en este test utilizó un panel no entrenado, existió coherencia entre sus integrantes, los cuales evaluaron la muestra comportándose como un grupo. Además, se presentaron diferencias significativas a un nivel del 5% en los sistemas evaluados en cuanto a la diferencia contra el control ( $F_{\text{muestras}} > F_{\text{crítico muestras}}$ ).



## Resultados

**Tabla 4-17.** Análisis de varianza para las posiciones asignadas por los participantes a las diferencias encontradas en las muestras de yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC y yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC– Vacío en un test de diferencia contra control.

Fuente	gl	Suma de cuadrados	Promedio de cuadrados	F	F <sub>crítico</sub>
Sujeto	41	53,8	1,31	1,49 (NS)	1,54
Muestras	2	119,7	59,87	67,93*	3,11
Error	82	72,3	0,88		
Total	125	243,8			

NS: no significativo; \* significativo al 5%.

Con el propósito de determinar cuáles de los tratamientos fueron significativamente diferentes, se procedió a realizar el test de comparaciones múltiples de Dunnett (Meilgaard y col., 2006; Dunnett, 1964). La diferencia crítica calculada ( $\Delta$ Dunnett) fue de 0,46 ( $\alpha$ : 0,05;  $\phi_{\text{error}}$ : 82; k: 2; n= 42), calculada de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\Delta_{\text{Dunnett}} = d(\alpha, \phi_{\text{error}}) \cdot S_{\text{error}} \cdot \sqrt{\frac{2}{n}} = 2,25 \times 0,94 \sqrt{\frac{2}{42}} = 0,46 \quad (4.5)$$

donde:

$d = d(\alpha, \phi_{\text{error}}, k-1)$ , obtenida de la Tabla “Valores críticos para el test de Dunnett” (Dunnett, 1955, 1964). Para este caso,  $d = 2,25$ .

$\alpha$  = nivel de significación. Para este caso,  $\alpha = 0,05\%$ .

$\phi_{\text{error}}$  = grados de libertad del error (**Tabla 4-17**)

k = número de comparaciones.

n = número de muestras.

Las medias ( $\bar{y}_i$ ), diferentes a la media del control camuflado C ( $\bar{y}_{\text{control}}$ ) y además excediendo dicho valor, se consideraron estadísticamente diferentes a 5% de

## Resultados

significación. Tanto la diferencia calculada entre la media del control y el sistema U ( $\Delta$ : 2,21), como la diferencia entre la media del control y el sistema V ( $\Delta$ : 1,88), excedieron el valor crítico ( $\Delta$ Dunnett: 0,46). Por lo tanto, los tratamientos T-UVC y T-UVC– Vacío aplicados a la leche para la elaboración de yogurt, podrían estar alterando en cierta medida la impresión global que se experimenta al degustar dichos yogures. Sin embargo, al no encontrarse grandes diferencias entre los yogures elaborados a partir de leche tratada con T-UVC y con T-UVC–Vacío, se optó por realizar un test de campo solo para el yogurt elaborado con leche tratada con T-UVC–Vacío, debido a la complejidad de la prueba y además para evaluar en profundidad la impresión global de éste ya que en los estudios instrumentales antes descrito este tratamiento demostró ser más conveniente.

### **4.5.2. Test de Campo**

Si bien el yogur elaborado a partir de leche tratada con T-UVC – Vacío fue significativamente diferenciado del control, se quiso saber cómo esos cambios impactaban en la aceptabilidad del producto. Para ello, se realizó un test de campo con 46 consumidores, con el propósito de evaluarla impresión global y obtener la opinión acerca de algunas características del yogurt elaborado a partir de leche procesada por T-UVC– Vacío, a éste se le adicionó 1% de vainilla comercial, con el fin de elaborar el yogurt tal cual como sería elaborado en el mercado para los consumidores. Esta prueba se realizó según la metodología descrita en **Materiales y Métodos, Apartado 3.9.2.**

Una vez recolectados los formularios calificados por los 46 consumidores, se procedió al análisis de cada uno de los aspectos evaluados. Cada categoría de la escala hedónica balanceada de 9 puntos utilizada en la evaluación de la impresión global, fue convertida a una puntuación entre 1 y 9 puntos, donde la puntuación 1 corresponde a “me disgusta extremadamente” y 9 corresponde a “me gusta extremadamente”. En la **Tabla 4-18**, se muestran los resultados obtenidos para la impresión global del yogurt, la cual obtuvo un promedio para los 46 evaluadores de 6 puntos, correspondiendo a la categoría “me gusta algo”, en una escala de nueve puntos. La **Figura 4-19** muestra la distribución de frecuencias de los puntajes asignados por los panelistas, en esta se

## Resultados

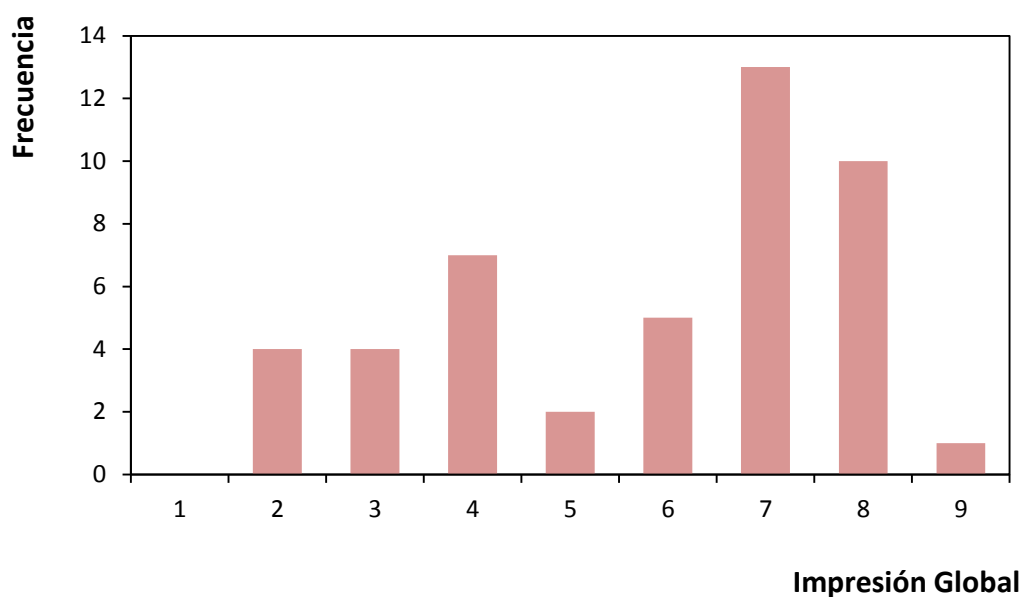
puede observar que, si bien el promedio obtenido fue de 6 “me gusta algo”, se detectaron dos poblaciones diferentes, la primera población con su máxima frecuencia en impresión global 4 “me disgusta algo” y la segunda población con su máxima frecuencia en 7 “me gusta moderadamente”, seguida de una elevada población que evaluó la impresión global del producto como 8 “me gusta mucho”, demostrando entonces, la división de opiniones dentro de la población. Este resultado indica que debiera repetirse este estudio con un número mucho mayor de participantes y realizar un análisis de conglomerados a fin de identificar los grupos poblacionales de preferencia (Hough, 2010).

Adicionalmente, en la misma planilla se evaluaron características específicas del yogurt, como el gusto, aroma y textura, mediante distintos tipos de escala. Para la evaluación del gusto del yogur se evaluó intensidad de ácido e intensidad de dulce, mediante el uso de escalas de intensidad. También se evaluó el adecuado del sabor a vainilla, mediante una “escala de punto justo”. Además se evaluaron el aroma y la textura (firmeza y cremosidad) del yogurt en escalas de impresión global y de “punto justo”, respectivamente, tal como se muestra en la Planilla N° 3 (**Figura 3-17**). Con la calificación brindada por cada participante, se calculó el porcentaje de sujetos que respondió en cada puntuación de la escala.

**Tabla 4-18.** Análisis estadístico de los resultados obtenidos para la impresión global de yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC-Vacío (adicionado con 1% de vainilla comercial).

N° Panelistas	46
<b>Promedio</b>	<b>6</b>
Desvío estándar	2
<b>Rango</b>	<b>6 (me gusta algo)</b>
Valor mínimo	2
Valor máximo	9

## Resultados

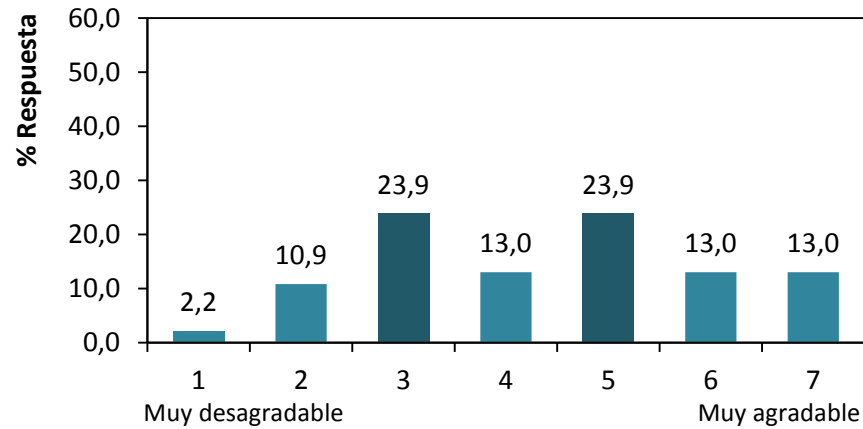


**Figura 4-19.** Distribución de frecuencias de los puntajes asignados por los panelistas para la evaluación de impresión global del yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC – Vacío (adicionado con 1% de vainilla comercial).

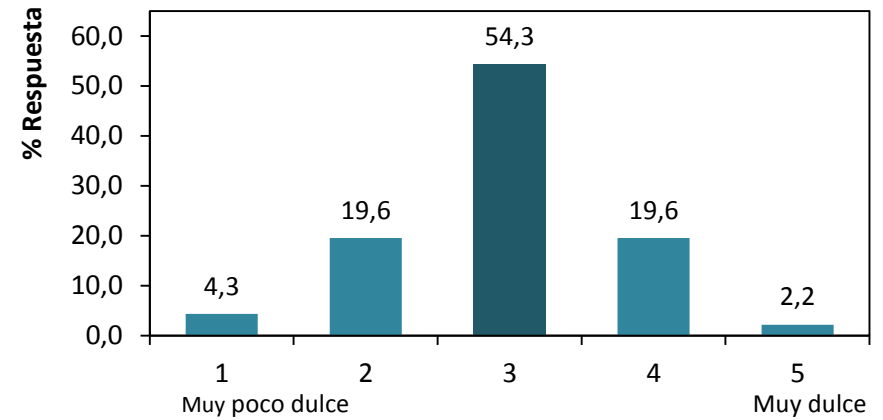
En la **Figura 4-20** se muestran los resultados obtenidos para la aceptabilidad ó impresión global del sabor, éste se evaluó por medio de una escala lineal de siete puntos con extremos reconocidos mediante anclas por los evaluadores como “muy desagradable” y “muy agradable”, los mayores porcentajes de las respuestas (23,9%) se ubicaron en los puntos 3 y 5 de la escala, denotando nuevamente, la existencia de dos segmentos de consumidores, pero ambos grupos ubicándose cercanos al centro de la escala, lo cual correspondió a un sabor “agradable” (**Figura 4-20.a**).

## Resultados

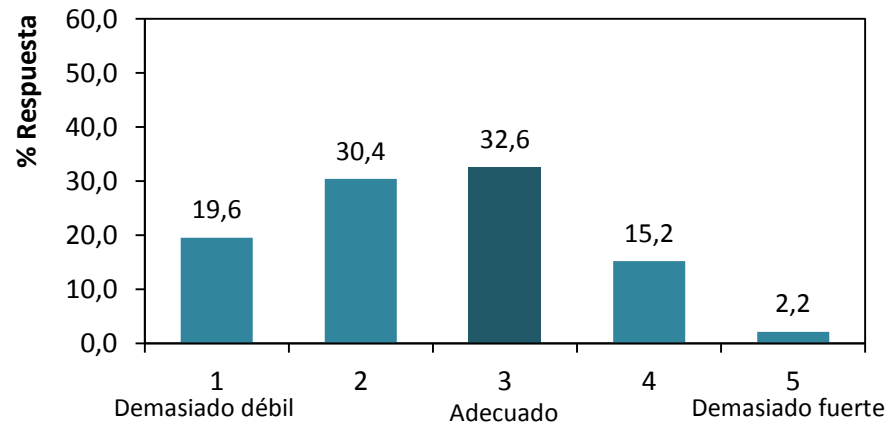
### a) Sabor



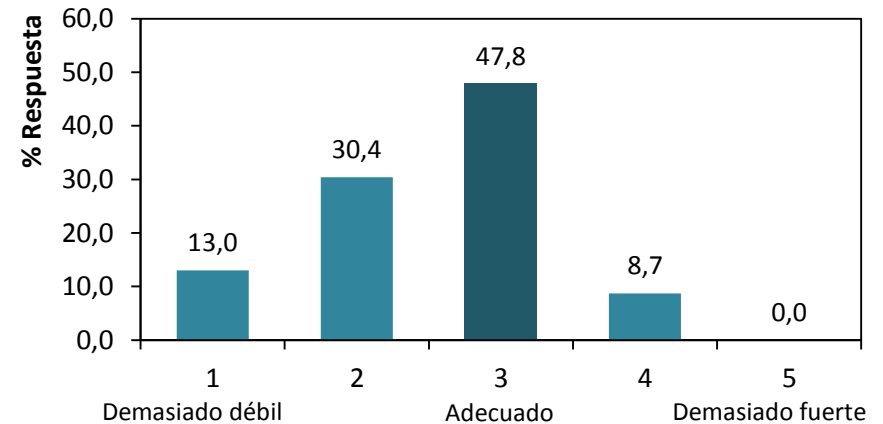
### c) Dulce



### b) Acidez



### d) Sabor vainilla



**Figura 4-20.** Evaluación del sabor (a), acidez (b), dulce (c) y sabor a vainilla (d) de yogurt elaborado a partir de leche con tratamiento con T-UVC – Vacío (adicionado con 1% de vainilla comercial).

## Resultados

En cuanto a la evaluación del punto adecuado de la acidez del yogurt (mediante escala de punto justo o en el habla inglesa, “just right”), se encontró que porcentajes de respuestas más elevados (30,4 y 32,6%) correspondieron a las posiciones 2 y 3 de la escala, correspondiendo a un valor intermedio entre la categoría identificada como “adecuado” y una categoría que correspondería a “algo débil”, es decir intermedia entre las categorías “demasiado débil” y “adecuado” (**Figura 4-20.b**).

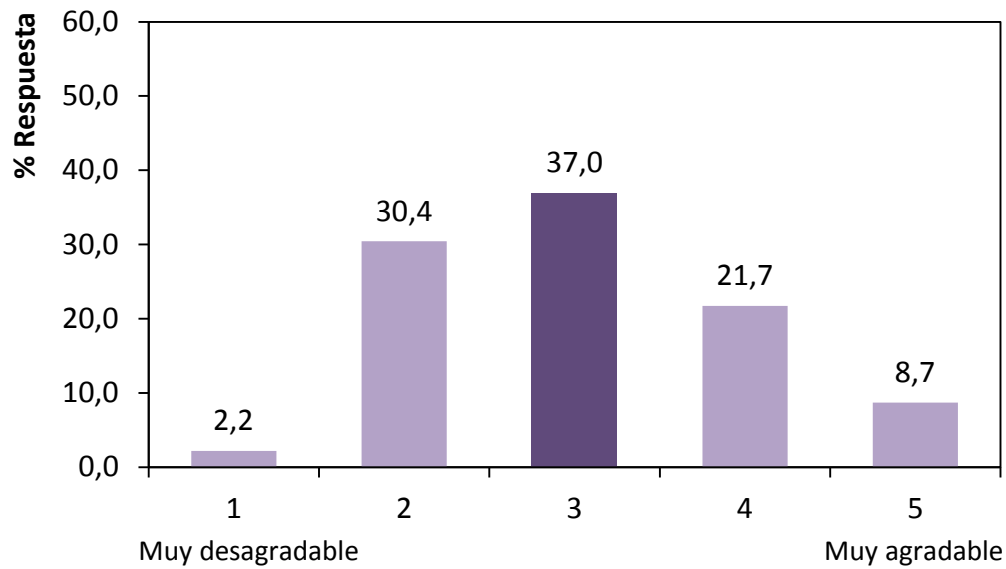
El sabor dulce se evaluó por medio de una escala corta de intensidad, obteniéndose que el mayor porcentaje de las respuestas (54,3%) se ubicó en la categoría 3, correspondiendo a una intensidad moderada del dulce (**Figura 4-20.c**). Para la evaluación del sabor a vainilla del yogurt, se utilizó una escala de punto adecuado y se halló que el mayor porcentaje de las respuestas (47,8%) se ubicó en la categoría 3 de la escala, correspondiendo a la categoría “adecuado” (**Figura 4-20.d**).

En la **Figura 4-21**, se muestra los resultados obtenidos para la aceptabilidad del aroma, ésta se estimó por medio de una escala corta de cinco puntos con extremos reconocidos mediante anclas por los evaluadores como “muy desagradable” y “muy agradable”. Con la evaluación de esta característica, se buscaba conocer si aún después de elaborado el yogurt, se detectaba en el mismo algún tipo de mal sabor tal como se había detectado en la leche tratada con T-UVC – Vacío por los panelistas en el test de triangulo olfatorio. Se encontró que el mayor porcentaje de respuestas (37,0%) se ubicó en el punto 3 de la escala, correspondiéndose a una categoría de “agradable”.

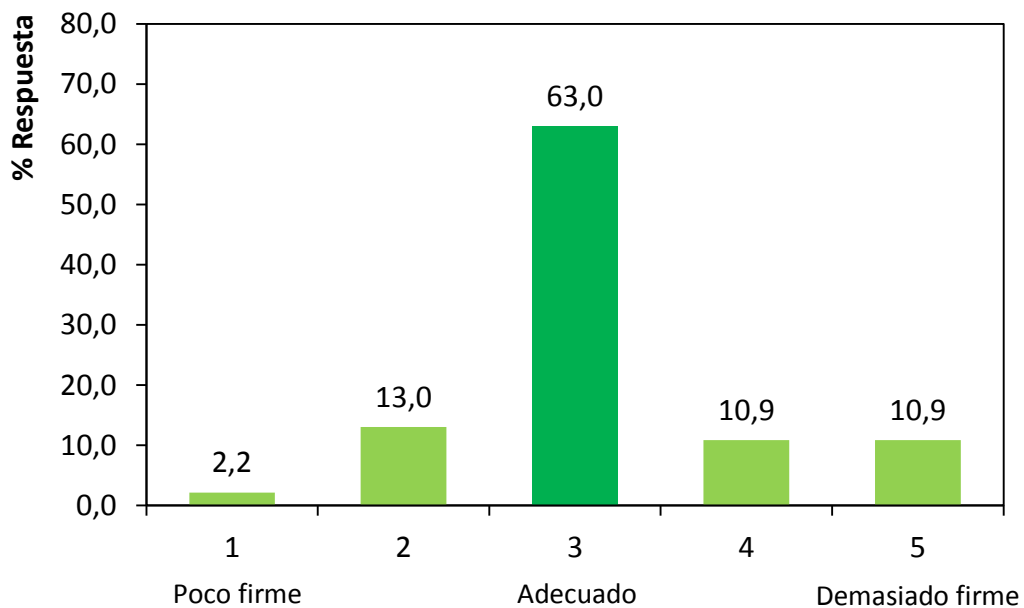
En la **Figura 4-22**, se muestran los resultados obtenidos para la medida de punto justo de algunos atributos de textura, expresados en términos reconocidos por el consumidor (firmeza y cremosidad). Se encontró que tanto el mayor porcentaje de respuesta para la firmeza (63,0%) (**Figura 4-22.a**) como para la cremosidad (67,4%) (**Figura 4-22.b**), se ubicaron en el punto 3 de la escala, correspondiendo a la categoría marcada como “adecuado”.

Resulta interesante destacar algunos comentarios realizados en las dos preguntas abiertas A y B de la planilla N°3 (**Figura 3-17**) que se hicieron acerca de qué fue lo que gustó o no gustó del yogurt. La información obtenida es de gran importancia para futuras investigaciones, ya que se buscara mejorar algunas cualidades organolépticas del producto final.

## Resultados

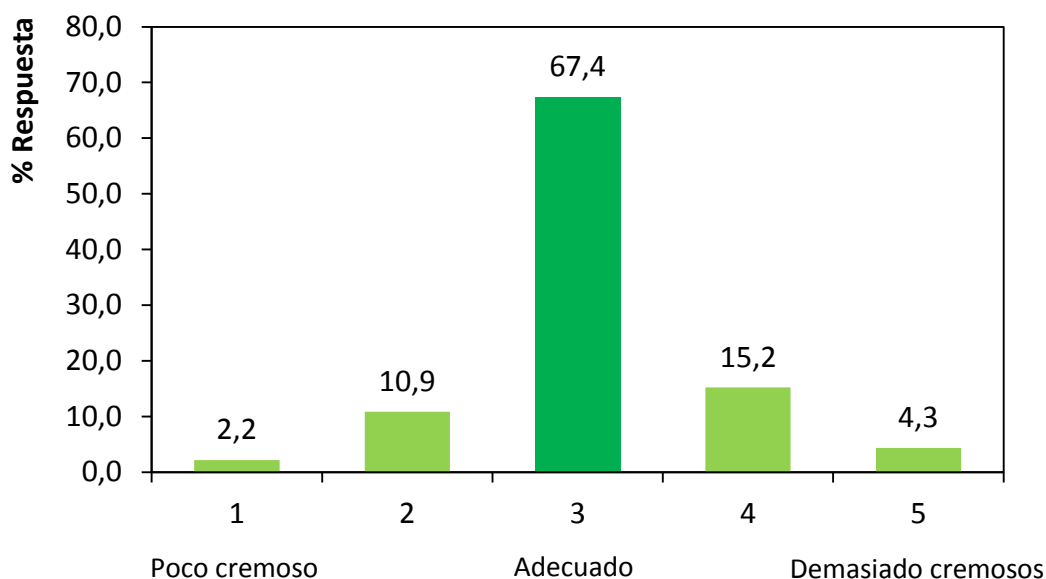


**Figura 4-21.** Evaluación del aroma de yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC – Vacío.



**Figura 4-22 a.** Evaluación de la firmeza de yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC – Vacío mediante el test de punto justo.

## Resultados



**Figura 4-22 b.** Evaluación de la cremosidad de yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC – Vacío mediante el test de punto justo.

Lo que gustó del producto:

- Textura, suave y cremosa
- Agradable sabor, buena acidez y dulzura
- El sabor a vainilla

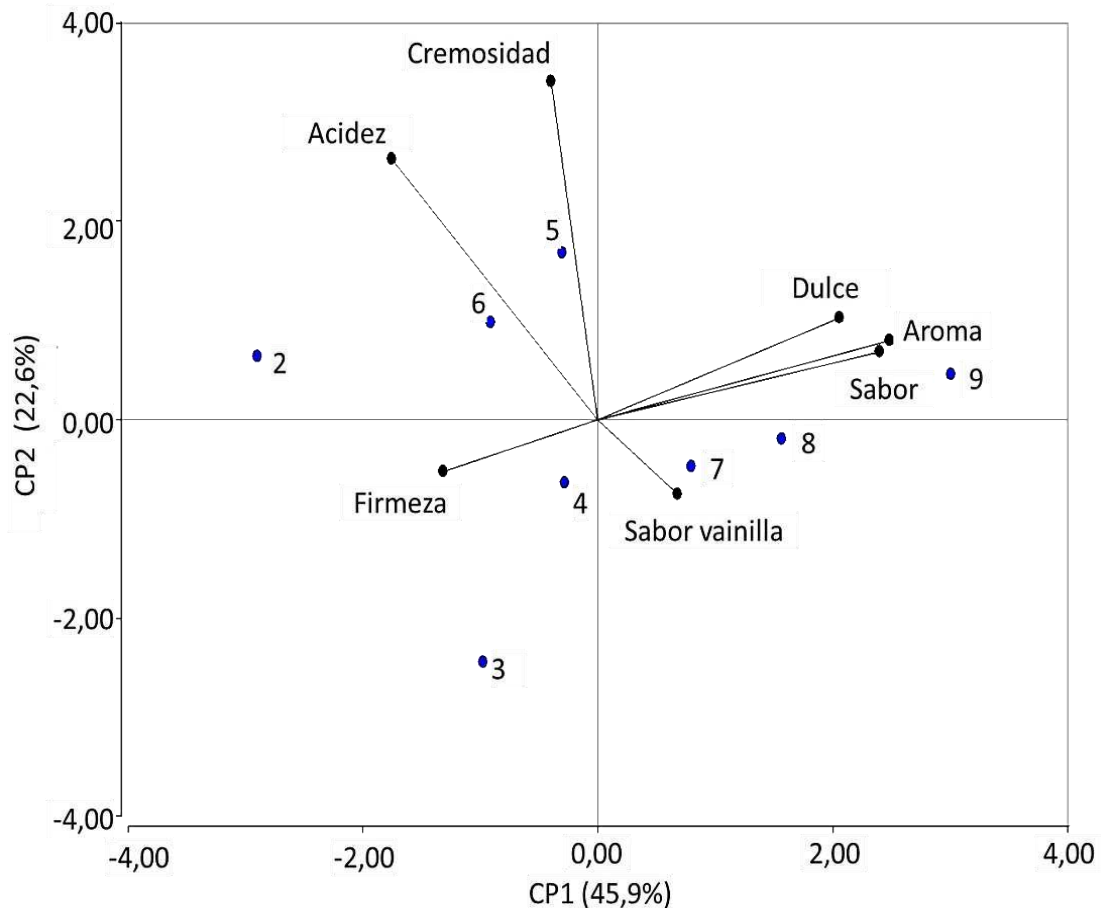
Lo que no gustó del producto:

- Sabor un poco amargo al final
- Color caramelo, “debería ser blanco”.

Adicionalmente, se realizó análisis de componentes principales (PCA) para explicar la relación espacial entre las características sensoriales y la impresión global del yogurt (**Figura 4-23**). El análisis indicó que la componente principal 1 (CP 1) explicó el 45,9% de la variabilidad de los datos, e incluyendo la componente principal 2 (CP 2) fue posible explicar globalmente el 68,5% de la variación en los resultados obtenidos (**Tabla 4-18**). En la **Tabla 4-19** se puede observar el peso de las variables sobre cada componente. La CP 1 fue asociada positivamente con el sabor y el aroma. La CP 2 (22,5 %) fue representada positivamente por la acidez y la cremosidad.



## Resultados



**Figura 4-23.** Análisis de componentes principales para de las características sensoriales evaluadas en el test de campo. (●) Puntaje de la impresión global.

En la **Figura 4-23** se puede observar que la mayor calificación para impresión global (9) estuvo altamente asociada a las variables sabor, aroma y dulzor; de igual forma se puede observar que la puntuación 7 está íntimamente asociada a la variable sabor vainilla.

Finalmente, de acuerdo a este estudio sensorial, el yogur elaborado a partir de leche con tratamiento T-UVC-Vacío resultó con características de firmeza, cremosidad, dulzura y acidez adecuadas para la definición de este producto, de buen sabor y aroma agradable.

## Resultados

**Tablas 4-18 y 4-19.** Autovalores, autovectores y correlaciones correspondientes al PCA de las características sensoriales evaluadas en el test de campo del yogurt elaborado a partir de leche tratada con T-UVC – Vacío (adicionado con 1% de vainilla comercial).

<b>Autovalores</b>			
PC	Valor	Proporción	Prop. Acum.
1	3,22	0,459	0,459
2	1,58	0,226	0,685

<b>Autovectores</b>			<b>Correlaciones con las variables originales</b>		
Variables	CP 1	CP 2	Variables	CP 1	CP 2
Sabor	<b>0,52</b>	0,15	Sabor	<b>0,92</b>	0,19
Acidez	-0,38	<b>0,57</b>	Acidez	-0,68	<b>0,71</b>
Dulce	0,44	0,22	Dulce	0,79	0,28
Sabor a vainilla	0,15	-0,16	Sabor a vainilla	0,26	-0,20
Aroma	<b>0,53</b>	0,17	Aroma	<b>0,96</b>	0,22
Firmeza	-0,28	-0,11	Firmeza	-0,51	-0,14
Creemosidad	-0,09	<b>0,73</b>	Creemosidad	-0,15	<b>0,92</b>

Valor en rojo representa la variable(s) más relevante(s) de la componente principal.

## 5. CONCLUSIONES



## 5. Conclusiones

Este estudio permitió aportar información cuantitativa y cualitativa relevante acerca de la influencia de una tecnología de procesamiento de leche y posterior elaboración de yogurt a partir de ésta. Esta tecnología combinada e innovadora, que involucra radiación UV-C y tratamiento térmico, proveyó valiosa información acerca sus consecuencias en algunos aspectos de calidad de la leche y el yogurt. En particular se puede afirmar que:

- Se desarrolló un equipo a escala laboratorio para el tratamiento de líquidos turbios con luz UV-C combinada con tratamiento térmico y vacío en un proceso en simultáneo, que operara en flujo continuo laminar pero con múltiples pasadas (de modo de asegurar la posibilidad que todos los elementos de volumen queden expuestos a la radiación UV-C). La puesta a punto y utilización del mismo proveyó valiosa información como punto de partida de futuros estudios.
- En leche cruda, las tecnologías propuestas T-UVC y T-UVC-Vacío lograron una mayor reducción de aerobios mesófilos (3,2 y 1,3 ciclos log, respectivamente), respecto del tratamiento control (4,2 ciclo log), alcanzando así una medida de seguridad microbiológica adicional. Sin embargo, es importante señalar que para todos los tratamientos, el producto obtenido se ajustó a los límites exigidos por el CAA. En cuanto a las bacterias coliformes, los tratamientos de preservación propuestos T-UVC y T-UVC-Vacío, lograron la misma eficacia de inactivación en comparación al control.
- Si bien se determinaron valores superiores de compuestos de oxidación presentes en leche procesada por luz UV-C (T-UVC: 0,38  $\mu$ moles de MDA Equivalente/L y T-UVC-Vacío: 0,29  $\mu$ moles de MDA Equivalente/L) respecto del tratamiento térmico tradicional (0,14  $\mu$ moles de MDA Equivalente/L), se puede concluir que, el vacío aplicado redujo la formación de estos compuestos.

## Conclusiones

- El estudio sensorial olfatorio por prueba de triángulo correlacionó adecuadamente con el estudio de medida de los compuestos de oxidación (TBARS). El mismo indicó que si bien los panelistas detectaron la presencia de estos compuestos de oxidación al diferenciar claramente las muestras de leche tratada (definidas por algunos participante con sabor a "establo", "extraño" y "un poco a estiércol") respecto del control, las diferencias fueron significativamente menores para la leche procesada por T-UVC-Vacío, la cual fue definida de acuerdo a la escala de King, con sabor levemente oxidado. Este resultado demuestra que la estabilidad oxidativa de la leche es el resultado de un delicado equilibrio entre los procesos anti y pro-oxidantes presentes en ella, influenciados en este caso por la irradiación con luz UV-C y la concentración de oxígeno presente.
- En cuanto al proceso de elaboración de yogurt, la leche procesada por las tecnologías propuestas (T-UVC y T-UVC-Vacío), tuvo un comportamiento muy similar a la leche tratada térmicamente en cuanto a la disminución del pH y el aumento de acidez (% ácido láctico) durante el periodo de fermentación. Sin embargo, el proceso de fermentación en estas muestras de yogurt requirió de una hora adicional para completarse.
- Los cambios en acidez titulable y sólidos solubles del yogurt elaborado a partir de leche procesada por los tratamientos T-UVC y T-UVC-Vacío durante el almacenamiento fueron mínimos, y siempre se mantuvieron dentro de las especificaciones establecidas por el CAA.
- La tecnología propuesta T-UVC-Vacío para el procesamiento de leche, mostró mejoras significativas durante el almacenamiento en uno de los defectos de calidad más importantes del yogurt, la sinéresis. Los yogures elaborados a partir de leche procesada por la tecnología T-UVC-Vacío, presentaron valores bajos de sinéresis durante las dos últimas semanas de almacenamiento en comparación con las muestras de yogurt elaborado a partir de leche tratada T-UVC y control, las cuales, a su vez, mostraron un importante aumento en la sinéresis el último día de almacenamiento (día 21). Estos podría deberse a la formación de una estructura

## Conclusiones

micelar más firme, con menor encogimiento y una consiguiente menor liberación del suero.

- El color del yogurt elaborado por los tratamientos propuestos T-UVC y T-UVC-Vacío que fue medido a través de diferentes funciones y parámetros, no presentó cambios substanciales respecto del control luego de la elaboración y durante el almacenamiento refrigerado.
- Los perfiles de textura de los yogures elaborados utilizando los tres tratamientos, fueron similares, mostrando un incremento en la dureza (firmeza), adhesividad, gomosidad y masticabilidad durante el tiempo de almacenamiento; pero siendo más notorio el cambio en el yogurt elaborado a partir de leche procesada por T-UVC. En cuanto a los parámetros elasticidad y cohesividad, sus valores permanecieron en niveles prácticamente constantes durante todo el tiempo almacenamiento.
- El yogur elaborado a partir de leche tratada por T-UVC-Vacío fue bien aceptado por los consumidores, siendo definido en un test de campo con valores adecuados, respecto de la definición de este tipo de productos, de los parámetros sensoriales sabor a vainilla, dulce, ácido, firmeza, cremosidad y aroma. El procesamiento de leche propuesto y en particular, la oxidación leve de leche detectada debida al procesamiento propuesto, no afectaron significativamente la definición sensorial del yogurt obtenido a partir de la misma.
- Finalmente se puede afirmar que, el yogur elaborado a partir de leche procesada por el tratamiento propuesto T-UVC-Vacío presentó una notable disminución de la sinéresis, parámetros instrumentales de textura muy adecuados y una aceptación global por parte de los consumidores satisfactoria.

## Conclusiones

### INVESTIGACIONES FUTURAS

Se espera, en un futuro cercano, continuar esta línea de investigación. En este sentido, se ha solicitado recientemente un proyecto PICT para el desarrollo de la misma, para avanzar en la definición de los siguientes aspectos, no dilucidados hasta el momento:

1. Incrementar la inactivación microbiana observada diseñando un equipo de mayores proporciones, con mayor capacidad de procesamiento, con varias fuentes de emisión de luz ubicadas en paralelo y operando en flujo turbulento, de modo de aumentar la eficacia del procesamiento de líquidos turbios y también, reducir la temperatura de tratamiento térmico aplicada en simultáneo.
2. Mejorar el sistema de vacío aplicado con el propósito de reducir la formación de compuestos de oxidación y mejorar así, la percepción sensorial del yogurt.
3. Dada la pretensión de utilizar temperaturas moderadas de procesamiento, realizar estudios de reto microbiano durante el proceso y el almacenamiento del producto, con patógenos de colección y microorganismos deteriorativos de relevancia, a fin de proponer una tecnología de procesamiento innovadora pero que asegure la calidad microbiológica del producto y derivados.
4. Realizar estudios complementarios que permitan evaluar los cambios en la estructura micelar, abarcar otros aspectos reológicos, analizar los productos de oxidación y los posibles beneficios en los subproductos obtenidos.

Priscilla Vásquez Mazo

## 6. BIBLIOGRAFÍA





## Bibliografía

**Achanta, K.; Aryana, K. J. & Boeneke, C. A.** (2007). Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. *LWT - Food Science and Technology*, 40: 424–429.

**Adams, M. R. & Moss, M. O.** (2008). *Food Microbiology*. Eds. M. R. Adams y M.O. Moss. The Royal Society of Chemistry, 3<sup>ra</sup> edición, Cambridge, Reino Unido.

**Agrobit.** (2014). Composición de la leche y Valor Nutritivo. Disponible en: [http://www.agrobit.com/Info\\_tecnica/Ganaderia/prod\\_lechera/GA000002pr.htm](http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/prod_lechera/GA000002pr.htm).

**Alzamora, S. M.; Tapia, M. S. & López-Malo, A.** (2000). Overview. En *Minimally Processed Fruits and Vegetables: Fundamental Aspects and Applications*. Eds. S.M. Alzamora, M.S. Tapia y A. López-Malo. Aspen Publishers Inc., Maryland, Estados Unidos.

**Alzamora, S. M.; Guerrero, S.; Raffellini, S.; Ferrario M.& Schenk, M.**(2015). Hurdle technology in fruit processing. En *Advances in Postharvest Biology and Technology of Horticultural Crops. Volumen 7: Fresh Cut Fruits And Vegetables*. Ed S. Pareek. Apple Academic Press, New Jersey, Estados Unidos (En prensa).

**Artigas, J. M; Capilla - Perea, P. & Ramo, J.** (2002). *Tecnología del color*. Ed J. Artigas, Universidad de Valencia, Valencia, España.

**ASTM (1968)**. *Manual of sensory testing methods*. ASTM Special Technical Publication, Florida, Estados Unidos.

**Badui, S.** (2006). *Química de los Alimentos*. Ed S. Badui. Pearson, 4<sup>ta</sup> edición. Ciudad de México, México.

**Baglio, E.** (2014). *Chemistry and Technology of Yoghurt Fermentation*. Ed., E. Baglio, Springer International Publishing, Palermo, Italia.

**Barbosa-Cánovas, G. V. & Bermúdez-Aguirre, D.** (2010). Improving the safety and quality of milk, other milk preservation technologies: ultrasound, irradiation, microwave, radio frequency, ohmic heating, ultraviolet light and bacteriocins. Ed. G. Barbosa Cánovas, Woodhead Publishing Inc., Londres, Reino Unido.

## Bibliografía

**Belitz, H. D.; Grosch, W. & Schieberle, P.** (2009). Food Chemistry. Eds H. Berlitz, W. Grosch y P. Schieberle. Springer, 4<sup>ta</sup> edición. Berlín, Alemania.

**Bolton, J. R & Linden, K. G.** (2003). Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments. Journal of Environmental Engineering, 129: 209 - 215.

**Bolton, J. R.** (2004). Fundamentals of ultraviolet treatment. Terms and definitions do matter. IUVA News, 6: 27–30.

**Bolton, J. R. & Cotton, C. A.** (2011). The Ultraviolet Disinfection Handbook. Eds J. Bolton y C. Cotton. American Water Works Association, Denver, Estados Unidos.

**Bourne, M. C.** (2002). Food texture and viscosity: Concept and measurement. Ed M. Bourne. Academic Press, 2<sup>da</sup> edición. Florida, Estados Unidos.

**Bourne, M. C. & Comstock, S. H.** (1981). Effect of degree of compression on texture profile parameters. Journal of Texture Studies, 12: 201-216.

**Bouslim, L.; Stambouli, M.; Braiek, E.; Zisis, G. & Cambronne, J. P.** (2012). High Power Discharge Lamps and Their Photochemical Applications. Molecular Photochemistry . Various Aspects, InTech, Florida, Estados Unidos.

**Castellano, A.** (2014). Conducta, dinámica y patrones tecnológicos de la cadena de lácteos bovinos. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, Buenos Aires, Argentina.

**Char, C. D., Mytilinaki, E., Guerrero, S. N., & Alzamora, S. M.** (2010). Use of high-intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices. Food and Bioprocess Technology, 3: 797–803.

**Choi, L. H. & Nielsen, S. S.** (2005). The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability. Journal of Food Quality, 28: 13–29.

## Bibliografía

**CIL**, Centro de la Industria Lechera Argentina (2013). Disponible en: <http://da0249.wix.com/cil-argentina#!lecheria-argentina/cyq2>.

**Cilliers, F. P.; Gouws, P. A.; Koutchma, T.; Engelbrecht, Y.; Adriaanse, C. & Swart P.** (2014). A microbiological, biochemical and sensory characterization of bovine milk treated by heat and ultraviolet (UV) light for manufacturing Cheddar cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 23: 94–106.

**Clark, S.; Costello, M.; Drake, M. & Bodyfelt, F.** (2009). *The Sensory Evaluation of Dairy Products*. Eds, S. Clark, M. Costello, M. Drake y F. Bodyfelt. Springer Science, 2<sup>da</sup> edición. New York, Estados Unidos.

**Código Alimentario Argentino**, Capítulo VIII: ALIMENTOS LÁCTEOS; Artículo 558 - Res MSyAS N° 047, 28.01.98.

**Código Alimentario Argentino**, Capítulo VIII: ALIMENTOS LÁCTEOS; Artículo 576 - (Resolución Conjunta SPRyRS y SAGPyA N° 33/2006 y N° 563/2006)

**Costell, E.** (2002). A comparison of sensory methods in quality control. *Food Quality and Preference*, 13: 341-353.

**Damin, M.R.; Alcantara, M.R.; Nunes, A.P. & Oliveira, M.N.** (2009). Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 1744–1750.

**Dunnett, C. W.** (1955). A Multiple Comparison Procedure for Comparing Several Treatments with a Control. *Journal of the American Statistical Association*, 50: 1096-1121.

**Dunnett, C. W.** (1964). New tables for multiple comparisons with a control. *Biometrics*, 20: 482-491.

**Espinosa - Manfugás, J.** (2007). *Evaluación Sensorial*. Ed, J. Espinosa-Manfugás. Editorial Universitaria, Ciudad de La Habana, Cuba.

## Bibliografía

**Fagan, P.; Wijesundera, C.; & Watkins, P.** (2004). Determination of mono- and diacylglycerols in milk lipids. *Journal of Chromatography*, 1054: 251–259.

**Fairchild, M. D. & Berns, R. S.** (1993). Image color-appearance specification through extension of CIELAB. *Color Research & Application*, 18: 178–190.

**Fan, X. & Geveke, D. J.** (2007). Furan formation in sugar solution and apple cider upon ultraviolet treatment. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55: 7816–7821.

**FAO**, Food and Agriculture Organization (2013). Milk and dairy products in human nutrition. Roma, Italia.

**FAO**, Food and Agriculture Organization (2015). Food and Agriculture Organization of the United Nations statistics division (FAOSTAT). Disponible en: <http://faostat3.fao.org/home/E>.

**FDA**, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition (2000). Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies: Ultraviolet light. Center for Food Safety and Applied Nutrition. U.S. Food and Drug Administration, Rockville MD, US .Disponible en: <http://vm.cfsan.fda.gov/~comm/ift-uv.html>

**Fennema, O.R.; Damodaran, S. & Parkin, K. L.** (2010). *Química de los Alimentos*. Eds, O. Fennema, S. Damodaran y K. Parkin. Acribia, 3<sup>ra</sup> edición. Zaragoza, España.

**Fox, P. F.** (2001). Milk proteins as food ingredients. *International Journal of Dairy Technology*, 54: 41-55.

**Fox, P. F.; & Mc Sweeney, P. L. H.** (1998). *Dairy chemistry and biochemistry*. Eds, P Fox y P Mc Sweeney, Blackie Academic and Professional, Londres, Reino Unido

**Frazier, W. C. & Westhoff, D. C.** (1993). *Microbiología de los alimentos*. Eds W. Frazier y D. Westhoff. Acribia, 4<sup>ta</sup> edición., Zaragoza, España.

## Bibliografía

**Friedman, H., Whitney, J. & Szczesniak, A.** (1963). The Texturometer, a new instrument for object texture measurement. *Journal of Food Science*, 28: 390–396.

**Galetto, A.** (2015). Lechería Argentina: situación actual, contexto internacional y perspectivas competitivas. Junta Intercooperativa de Productores de Leche (JIPL), presentación en la 6° Jornada Nacional de Forrajes conservados, INTA EEA Manfredi.

**García Loredo, A.** (2011). Textura y reología de tejidos vegetales mínimamente procesados. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

**Gil, A.** (2010). Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Editorial Médica Panamericana, Madrid, España.

**Gösta, B.** (1995). Dairy Processing Handbook. Tetra Pak Processing Systems AB, Lund, Suecia.

**Gould, G.W.** (1995). Homeostatic mechanisms during food preservation by combined methods. En *Food Preservation by Moisture Control. Fundamentals and Applications*. ISOPOW PRACTICUM II. G.V. Eds. G. Barbosa-Cánovas y J. Welti-Chanes. Technomic Publication. Pensilvania, Estados Unidos.

**Guerrero-Beltrán, J. A. & Barbosa-Cánovas, G.V.** (2004). Advantages and Limitations on Processing Food by UV Light. *Food Science Technology International*, 10: 137-146.

**Guerrero-Beltrán, J. A. & Barbosa-Cánovas, G. V.** (2005). Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice by ultraviolet light. *Journal of Food Process Engineering*, 28: 437–452.

**Guerrero, S. N.; Alzamora, S. M. & Ferrario, M.** (2015). The use of pulsed light technology in a hurdle preservation strategy. En *High Intensity Pulsed Light in Processing and Preservation of Foods*. Eds G. Pataro y J. Lyng. Nova Publishers (En prensa).

## Bibliografía

**Harte, F.; Luedecke, L.; Swanson, B. & Barbosa-Cánovas, G. V.** (2003). Low-fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. *Journal of Dairy Science*, 86: 1074–1082.

**Hedegaard, R.V.; Kristensen D.; Nielsen J. H.; Frost M.B.; Ostda H. I; Hermansen J. E.; Kroger-Ohlsen M. & Skibsted L. H.** (2006). Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk. *Journal of Dairy Science*, 89: 495–504.

**Hernández, A.; Alfaro, I. & Arrieta, R.** (2003). *Microbiología Industrial*. Ed., A. Hernandez, I. Alfaro y R. Arrieta. EUNED, San Carlos, Costa Rica.

**Hernández-Morales, P. S.; García Loredo, A. B.; Alzamora, S. M. & Guerrero, S. N.** (2013). Elaboración de yogurt a partir de leche tratada por ultrasonido asistido por temperatura moderada y agregado de antimicrobianos. Libro de Proceedings del XVI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

**Hill, A. R. & Kethireddipalli, P.** (2013). Dairy Products: Cheese and Yogurt. En *Biochemistry of Foods*. Eds., N. Eskin y F. Shahidi. Academic Press, Toronto, Canada.

**Hough, G.**(2010). Survival analysis applied to sensory shelf life. En *Sensory Shelf Life Estimation of Food Products*. Ed G. Hough. Taylor and Gordon Group, CRC Press, Boca Raton,US.

**Hutchings, J. B; Ronnier – Luo, M. & Wei, J.** (2012). *Food Appearance and Expectations. Color in Food: Technological and Psychophysical Aspects*. CRC Press, Boca Raton, Estados Unidos.

**Ibarz-Ribas, A. & G. V. Barbosa-Cánovas.** (2005). *Unit Operations in Food Engineering*. Eds., A Ibarz-Ribas y G. Barbosa-Cánovas. Mundiprensa, 2<sup>da</sup> edición, Madrid, España.

**IRAM 20005-1** (1996). Análisis sensorial, guía para la selección, entrenamiento y seguimiento de los evaluadores. Parte I: evaluadores seleccionados. Instituto Argentino de Normalización.

## Bibliografía

**Jensen, R. G.** (1995). Handbook of Milk Composition. Ed., R Jensen. Academic Press, Boca Raton, Estados Unidos.

**King, R. L.** (1962). Oxidation of milk fat globule membrane material thiobarbituric acid reaction as a measure of oxidized flavor in milk and model systems. Journal of Dairy Science, 10: 1162 – 1171.

**Koutchma, T.; Parisi, B. & Patazca, E.** (2007). Validation of UV coiled tube reactor for fresh juices. Journal of Environmental Engineering and Science, 6: 319–328.

**Koutchma, T.; Forney, L. J. & Moraru, C. I.** (2009). Ultraviolet Light in Food Technology: Principles and Applications. CRC Press, Boca Raton, US.

**Lado, B. H. & Yousef, A. E.** (2002). Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. Microbes and Infection, 4: 433–440.

**Laguerre, M.; Lecomte, J. & Villeneuve, P.** (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Progress in Lipid Research, 46: 244 – 282.

**Lawless, H. T. & Heymann, H** (1999). Principles and Practices. Sensory Evaluation of Food. Eds., H Lawless y H Heymann. Aspen, Maryland, Estados Unidos .

**Leistner, L.** (1992). Food preservation by combined methods. Food Research International, 25: 151 - 158.

**Leistner, L.** (1995). Principles and applications of hurdle technology. En New Methods of Food Preservation. Ed. G.W. Gould, p. 1-21. Blackie Academic & Professional, Glasgow, Escocia.

**López - Malo, A. & Palou, E.** (2004). Ultraviolet Light and Food Preservation. En Novel Food Processing Technologies. Ed. G. Barbosa-Cánovas. CRC Press, Boca Raton, Estados Unidos.

## Bibliografía

**MacDougall, D. B.** (2002). *Colour in food: Improving quality*. Ed., D. Mac Dougall. CRC Press LLC, Boca Raton, Estados Unidos.

**MAGyP**, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (2015). Disponible en: [http://www.minagri.gob.ar/site/\\_subsecretaria\\_de\\_lecheria/lecheria/07\\_Estad%C3%A9sticas/index.php](http://www.minagri.gob.ar/site/_subsecretaria_de_lecheria/lecheria/07_Estad%C3%A9sticas/index.php)

**Mani-López, E.; Palou, E. & López-Malo, A.** (2014). Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 97: 2578–2590.

**Manresa-González. A. & Vicente, I.** (2007). *El color en la industria de los alimentos*. Eds., A Manresa-Gonzalez e I Vicente. Editorial Universitaria, Ciudad de La Habana, Cuba.

**Montoya-López, J.; Giraldo, G. A. & Lucas, J. C.** (2012). Determinación del índice de blancura en harina de trigo comercial. *Vitae*, 19: S415-S416.

**Matak, K. E.** (2004). *Effects of UV Light on Chemical Indicators of Goat's Milk*. Department of Food Science and Technology .Virginia, Virginia Tech. Tesis Philosophy in Food Science and Technology.

**Matak, K. E.; Churey, J. J.; Worobo, R. W.; Sumner, S. S.; Hovingh,E.; Hackney, C. R. & Pierson, M. D.** (2005). Efficacy of UV light for the reduction of *Listeria monocytogenes* in goat's milk. *Journal of Food Protection*, 68: 2212–2216.

**Matak, K. E.; Sumner, S. S; Duncan, S. E.; Hovingh,E.; Worobo, R. W.; Hackney, C. R. & Pierson, M. D** (2007). Effects of Ultraviolet Irradiation on Chemical and Sensory Properties of Goat Milk. *Journal of Dairy Science*, 90: 3178–3186.

**Meilgaard, M.; Thomas Carr, B. & Vance Cville, G.** (2006). *Sensory Evaluation Techniques*. Eds., M. Meilgaard, T. Carr y G. Vance Cville. CRC Press, 4<sup>ta</sup> edición. New York, Estados Unidos.



## Bibliografía

**Milly, P.J.; Toledo, R.T.; Chen, J. & Kazem, B. (2007).**Hydrodynamic cavitation to improve bulk fluid to surface mass transfer in a non immersed ultraviolet system for minimal processing of opaque and transparent fluid foods. *Journal of Food Science*, 72: M407- M413.

**Mytilinaki, E. (2008).** Utilización de luz UV-C para preservar jugos frutales. Tesis Maestría en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de Alimentos Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

**NACMCF.(2004)** Requisite scientific parameters for establishing the equivalence of alternative methods of pasteurization. Disponible en: [www.fsis.usda.gov/ophs/nacmcf/2004/nacmcf\\_pasteurization\\_082704.pdf](http://www.fsis.usda.gov/ophs/nacmcf/2004/nacmcf_pasteurization_082704.pdf).

**NACMCF.(2006).** Requisite scientific parameters for establishing the equivalence of alternative methods of pasteurization. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods, *Journal of Food Protection*, 69: 1190-1216.

**Nasanovsky, M.A.; Garijo, R.D & Kimmich, R.C.(2009).**Proceso de Pasteurización. Portal Lechero. Disponible en: <http://www.portalechero.com/innovaportal/v/725/1/innova.front/proceso-de-pasteurizacion-.html?page=1>

**Ngadi, M.; Smith, J. P. & Cayouette, B. (2003).** Kinetics of ultraviolet light inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in liquid foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 1551–1555.

**O'Brien, N. M. & O'Connor, T. P. (2011).** Milk Lipids: Oxidation. Eds., N O'Brien y T. O'Connor. *Encyclopedia of Dairy Science*. Elsevier Ltd, 2<sup>da</sup> edición. Londres, Reino Unido.

**O'Kennedy, B. & Kelly, P. M. (2000).**Evaluation of milk protein interactions during acid gelation using a simulated yogurt model. *Milch Wissenschaft*, 55: 187–190.

**O'Regan, J.; Ennis, M. P. & Mulvihill, D. M. (2009).**Milk Proteins. *Handbook of Hydrocolloids*.CRC Press, 2<sup>da</sup> edición, Boca Raton, Estados Unidos.

## Bibliografía

**Orlowska, M.; Koutchma, T.; Grapperhaus, M.; Gallagher, J.; Schaefer, R. & Defelice, C.** (2013). Continuous and Pulsed Ultraviolet Light for Non-thermal Treatment of Liquid Foods. Part 1: Effects on Quality of Fructose Solution, Apple Juice, and Milk. . Food Bioprocess Technology, 6: 1580–1592.

**Oteiza, J.M.** (2007). Efecto de la aplicación de radiación UV en la inactivación de Escherichia coli productor de toxina Shiga en alimentos líquidos. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata.

**Pang, Z.; Deeth, H.; Sharma, R. & Bansal, N.** (2015). Effect of addition of gelatin on the rheological and microstructural properties of acid milk protein gels. Food Hydrocolloids, 43: 340 – 351

**Pegg, R. B.** (2001a). Measurement of Primary Lipid Oxidation Products. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, John Wiley & Sons. New Jersey, US.

**Pegg, R. B.** (2001b). Spectrophotometric Measurement of Secondary Lipid Oxidation Products. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, John Wiley & Sons. New Jersey, US.

**Rahn, R. O.** (1997). Potassium iodide as a chemical actinometer for 254 nm radiation: use of iodate as an electron scavenger. Photochemistry and Photobiology, 66(4): 450-455.

**Ramírez - Navas, J.S.** (2006). Introducción a la Reología de los Alimentos. Ed. J. Ramirez-Navas. ReCiTeIA. Valle, Colombia.

**Ramírez-Sucre, M. O. & Vélez-Ruiz, J. F.** (2013). Physicochemical, rheological and stability characterization of a caramel flavored yogurt. LWT - Food Science and Technology, 51: 233 -241.

**Rosenthal, A. J.** (2010). Texture profile analysis . How important are the parameters?. Journal of Texture Studies, 41: 672–684.

## Bibliografía

**Salvador, A. & Fiszman, S. M.** (2004). Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavored set-type yogurt during long storage. *Journal of Dairy Science*, 87: 4033–4041.

**Sandoval-Castilla, O; Lobato-Callerosa, C.; Aguirre-Mandujanoa, E. & Vernon-Carterb, E. J.** (2004). Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14: 151–159.

**Schaich, K. M. S., F.; Zhong, Y. & Eskin M** (2013). Lipid Oxidation. En *Biochemistry of Foods*. Ed. M Eskin . Academic Press 3<sup>rd</sup> edition: 419-478.

**Schaller, A.** (2008). Yogurt y leche cultivada. *Revista Alimentos Argentinos*, 41: 37 – 43.

**Scheidegger, D., Pecora, R. P., Radici, P.M., & Kivatinitz, S. C.** (2010). Protein oxidative changes in whole and skim milk after ultraviolet or fluorescent light exposure. *Journal of Dairy Science*, 93: 5101–5109.

**Schenk, M. L.** (2010). Preservación de productos frutales mínimamente procesados mediante la aplicación de luz UV y su combinación con otras tecnologías emergentes. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

**Schiffman H. R.** (1996). *Sensation and Perception. An Integrated Approach*. Ed., H Schiffman. John Wiley & Sons. New York, Estados Unidos.

**Serra, M.; Trujillo, A. J.; Guamis, B. & Ferragut V.** (2009). Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food Hydrocolloids*, 23: 82–91.

**Shaker, R. R.; Jumah, R. Y. & Abu-Jdayil, B.** (2000). Rheological properties of plain yogurt during coagulation process: impact of fat content and preheat treatment of milk. *Journal of Food Engineering*, 44: 175 – 180.

**Shama, G.** (2007). Process challenges in applying low doses of ultraviolet light to fresh produce for eliciting beneficial hormetic responses. *Postharvest Biology and Technology*, 44: 1 – 8.

## Bibliografía

**Sharma, S. K., Mulvaney, S. J. & Rizvi, S. S.** (2003). Ingeniería de alimentos – Operaciones unitarias y prácticas de laboratorio. Eds., S Sharma, S Mulvaney y S. Rizvi. Limusa Wiley. New York, Estados Unidos.

**Singh, G. & Muthukumarappan, K.** (2008). Influence of calcium fortification on sensory, physical and rheological characteristics of fruit yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 41: 1145–1152.

**Smet, K.; Raesb, K.; De Blocka, J.; Hermana, L.; Dewettinckc, K. & Coudijzera, K.** (2008). A change in antioxidative capacity as a measure of onset to oxidation in pasteurized milk. *International Dairy Journal*, 18: 520 – 530.

**Spanier, A. M. & Traylor, R.D.** (1991). A Rapid, Direct Chemical Assay for the Quantitative Determination Of Thiobarbituric Acid Reactive Substances In Raw, Cooked, And Cooked/Stored Muscle Foods. *Journal of Muscle Foods*, 2: 165-176.

**Sun, H.; Kawamura, S.; Himoto, J.; Itoh, K.; Wada, T & Kimura, T.** (2008). Effects of ohmic heating on microbial counts and denaturation of proteins in milk. *Food Science and Technology Research*, 14: 117-123.

**Szczesniak, A., Brandt, M. & Friedman, H.** (1963). Development of standard rating scales for mechanical parameters of texture and correlation between the objective and the sensory methods of texture evaluation. *Journal of Food Science*, 28: 397–403.

**Tamime, A. Y. & Robinson, R. K.** (2007). Tamime and Robinson's Yogurt Science and Technology. CRC Press, 3<sup>ra</sup> edición. Cambridge, Reino Unido

**Taverna, M. & Fariña, S.** (2013). La producción de leche en Argentina. Anuario de la lechería Argentina 2013. Fundación para la Promoción y el Desarrollo de la Cadena Láctea Argentina (FunPEL)

**Tunick, M. H.** (2000). Rheology of dairy foods that gel, stretch and fracture. *Journal of Dairy Science*, 83: 1892 – 1898.

## Bibliografía

**Ukuku, D.; Fan, X. & Kozempel, M.F.** (2006).Effect of Vacuum-Steam-Vacuum Treatment on Microbial Quality of Whole and Fresh-Cut Cantaloupe. *Journal of Food protection*, 69: 1623-1629.

**van Aardt, M.; Duncan, S. E.; Marcy, J. E.; Long, T. E.; O’Keefe, S. F. & Nielsen-Sims, S. R.** (2005a). Effect of antioxidant (alphatocopherol and ascorbic acid) fortification on light-induced flavor of milk. *Journal of Dairy Science*, 88: 872–880.

**van Aardt, M.; Duncan, S. E.; Marcy, J. E.; Long, T. E.; O’Keefe, S. F. & Nielsen-Sims, S. R.** (2005b). Aroma Analysis of Light-Exposed Milk Stored With and Without Natural and Synthetic Antioxidants. *Journal of Dairy Science*, 88: 881–890.

**Vercet, A.; Oria, R.; Marquina, P.; Crelier, S. & Lopez-Buesa, P.** (2002). Rheological Properties of Yoghurt Made with Milk Submitted to Nanothermosonication. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50: 6165-6171.

**Walstra, P. & Jenness, R** (1984).*Dairy Chemistry and Physics*. Eds., P Walstra y R. Jenness. John Wiley and Sons, New York, Estados Unidos.

**Walstra, P.; Wouter, J. & Geurts, T.L.** (2006).Protein preparations. En *Dairy Science and Technology*. Eds., P Walstra, J. Wouter y T. Geurts. CRC Taylor & Francis, 2<sup>da</sup> edición .Boca Raton, Estados Unidos.

**Wright, H. B., & Cairns W. L.** (1998).Ultraviolet light. Trojan Technologies Inc: 1- 28.

**Wu, S.; Li, D.; Li, S.; Bhandari, B.; Yang, B.; Chen, X. D. & Mao, Z.** (2009) Effects of Incubation Temperature, Starter Culture Level and Total Solids Content on the Rheological Properties of Yogurt. *International Journal of Food Engineering*, 5: 1-17.

**Xu, Z. M.; Emmanouelidou, D. G.; Raphaelides, S. N. & Antoniou, K. D.** (2008).Effects of heating temperature and fat content on the structure development of set yogurt. *Journal of Food Engineering*, 85: 590–597.

Bibliografia

**Yeom, H.W.; Evrendilekz, G. A.; Jin, Z.T. & Zhang, Q.H.** (2004). Processing of yogurt-based products with pulsed electric fields: microbial, sensory and physical evaluations. *Journal of Food Processing Preservation*, 28: 161-178.

**Zhu, K., Kanu, P.J., Claver, I.P., Zhou, H.** (2008). A Method for Evaluating Hunter Whiteness of Mixed Powders. *Advanced Powder Technology*, 20: 123–126.

**Zhu, K.; Kanu, P. J.; Claver, I. P.; Zhu, K.; Qian, H. & Zhou, H.** (2009). A method for evaluating Hunter whiteness of mixed powders. *Advanced Powder Technology*, 20 (2009) 123–126.