

# Modelamiento de la vida útil de leche entera pasterizada y bebida de soya

Ana Ruby Correa<sup>1</sup> y Marta Quicazán<sup>2</sup>

## RESUMEN

El modelo de la ecuación de Gompertz fue utilizado para predecir la vida útil de muestras de leche pasterizadas almacenadas a 2, 6 y 19°C y muestras de bebida de soya almacenadas a 6 y 10 °C, de acuerdo a la inocuidad microbiológica. Se determinó el cambio de perfil aromático por la técnica de nariz electrónica, recuento de mesófilos aerobios, la acidez titulable y pH de muestras de leche pasterizadas y bebida de soya. Es posible monitorear el cambio de calidad de las muestras de leche pasterizadas y leche de soya utilizando una nariz electrónica, pues un perfil aromático influenciado principalmente por los sensores que identifican compuestos alcohólicos y azufrados coinciden un aumento en la acidez de la leche pasterizada y un descenso del pH en la bebida de soya, indicando descomposición.

**Palabras Clave**— Gompertz, leche, soya y vida útil

## I. INTRODUCCIÓN

Se denomina bebida de soya al extracto acuoso de soya obtenido por maceración. La leche de soya contiene aproximadamente 92% agua, 3,4% proteínas, 1,5% grasas, 2,1% carbohidratos [1]. Según la legislación colombiana se denomina leche al producto la secreción mamaria normal de animales bovinos, bufalinos y caprinos lecheros sanos [2]. La leche entera está compuesta principalmente por 88% agua, 4,7% lactosa, 3,4% grasa, 3,2% proteína y 0,72 minerales [3]. Es por tanto que la leche de soya como la leche fresca tiene un periodo de vida útil corto.

Los tratamientos térmicos son los procesos más utilizados para mejorar la seguridad microbiológica y extender la vida útil de la bebida de soya y la leche, puesto que inactiva bacterias patógenas y bacterias contaminantes causantes de descomposición. Para alargar el tiempo de vida útil, en la

bebida de soya tradicionalmente se usa un tratamiento de 90 – 100 °C por 30 min. No obstante, se han empezado a utilizar tratamientos de alta presión de homogenización[4–6], altas presiones y pulsos eléctricos. Mientras tanto, en la leche se utiliza tratamientos térmicos como la termización, pasterización, y ultrapasterización [2] y altas presiones [7] para su conservación.

La vida útil de un producto comprende el tiempo transcurrido entre la fabricación y el momento en que se presentan cambios significativos en él, que puedan generar rechazo en el consumidor final [8]. La vida útil de un alimento puede variar por factores como la composición, prácticas de manufacturas, tipos de empaque, condiciones de almacenamiento y conservación. Para la determinación de los tiempos de vida útil de alimentos lácteos se han utilizado modelos empírico de predicción de crecimiento microbiano [11], modelos Weibull Hazard [12]. Aunque también, se han empezado a utilizar las correlaciones entre análisis sensoriales cambios de aroma por nariz electrónica con los análisis tradicionales para determinar cambios que indicarían culminación de la vida útil de los productos [13, 14]. Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la vida útil de la leche pasterizada y la bebida de soya.

## II. METODOLOGÍA

### A. Muestras

En este estudio se utilizó leche entera pausterizada 72 °C por 10 min. La leche fue envasada en frascos de vidrio de 100 ml y se almacenó a 2, 6 y 19°C por 20 días. Las muestras almacenadas a 2 y 6 °C fueron analizadas después de 0, 3, 7, 12, 17 y 20 días y las almacenadas a 19 °C fueron analizadas después de 0, 3 y 5 días. La bebida de soya fue elaborada de acuerdo a la metodología de Gómez & Sandoval, [15], se envasó en frascos de vidrio y se almacenó a 6 y 10°C; fue analizada después de 0, 7, 15 y 20 días.

### B. Determinación de pH y acidez

En las muestras de leche pasterizada se determinó la acidez total titulable ,expresada como g de ácido láctico/ 100 g de muestra, fue determinada para una muestra 5 g, utilizando 5 gotas de fenolftaleína como indicador y NaOH a 0.1 N; en las

<sup>1</sup>arcorream@unal.edu.co. Estudiante de Maestría Ciencia y Tecnología de Alimentos , Universidad Nacional de Colombia

<sup>2</sup>mcquicazand@unal.edu.co. Profesor, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos - ICTA, Universidad Nacional de Colombia

Este trabajo se desarrolló en el marco del proyecto “Modelamiento del deterioro y predicción de la vida de anaquel de alimentos a través de valoraciones instrumentales de características sensoriales” financiado por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – Colciencias a través de la beca de jóvenes investigadores modalidad regional año 2012.

muestras de bebida de soya se determinó el pH de acuerdo a lo establecido en la AOAC [16].

### C. Determinación del perfil aromático

El perfil aromático de las muestras de leche pasterizadas y bebida de soya fue determinado con una nariz electrónica portátil comercial Airstense Analytics GmbH PEN3 (Schwerin, Alemania) con un arreglo de 10 sensores semiconductores de acuerdo a la metodología Ampuero & Bosset [17]. La respuesta obtenida es registrada por los sensores a través del software del equipo, que es expresada cuantitativamente como un valor de conductancia, obteniéndose al final una matriz de datos de "m" columnas por "n" filas, donde las "m" columnas representan el número de sensores que posea la nariz electrónica y "n" el número de muestras. Los resultados, fueron analizados con un PCA (Principal Component Analysis) utilizando el software MATLAB.

### D. Análisis microbiológico

Se realizó el recuento de microorganismos mesófilos aerobios. Para esto se transfirió 10 ml de las muestras a 90 ml de una solución de agua peptonada a 0.1% y NaCl 0,85%, se homogenizó y se realizaron las respectivas diluciones, se tomó 1 ml de cada dilución y se sirvió en una caja de petri estéril junto con el Agar Plate Count y se llevaron a incubación a 35°C por 48 h de acuerdo a la NTC 4519 [18].

### E. Estimación de la vida útil

Se utilizó el modelo cinético empírico de Gompertz (Ecu. 1) para describir completamente la curva de crecimiento microbiano (Gibson *et al.*, 1987) de mesófilos aerobios en las muestras de leche y muestras de bebida de soya.

$$N(t) = N_0 + \mu_{\text{máx}} \cdot \exp(-\exp(-B(t-M))) \quad \text{Ec. 1}$$

Dónde:  $N(t)$ = recuento microbiano ( $\log_{10}$  UFC/g) en el tiempo  $t$ ;  $N_0$  = conteo bacteriano inicial ( $\log_{10}$  UFC/g);  $\mu_{\text{máx}}$ =máximo nivel de la población ( $\log_{10}$  UFC/g) y  $B$ =velocidad relativa de crecimiento en el tiempo  $M(h_{-1})$ ;  $M$ =tiempo en el cual se obtiene la máxima velocidad de crecimiento;  $t$ =tiempo (h).

Las constantes del sistema son diferentes para cada microorganismo y para cada condición de temperatura; estas constantes se calculan experimentalmente construyendo previamente una curva de crecimiento en las condiciones de interés e interpolando los puntos con la ecuación 1, se determina el valor de las constantes que permiten la aplicación del modelo.

## III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A. Determinación de acidez y pH

El cambio de acidez fue monitoreado durante el almacenamiento a 2, 6 y 19 °C. Se presentó un ascenso en la

acidez en las muestras de leche pausterizadas almacenadas a 19 °C a partir de las primeras 24 horas de almacenamiento y alcanzó valores de  $0,32 \pm 0,0084\%$  a las 48 horas, momento en el que se finalizó el estudio de vida útil debido a que las muestras se encontraban coaguladas y había separación de fases. Las muestras almacenadas a 6 °C tuvieron un aumento de la acidez desde  $0,17 \pm 0,013\%$  hasta  $0,34 \pm 0,040\%$  a las 480 horas de almacenamiento. Mientras que las muestras almacenada a 2°C mantuvieron la acidez promedio de 0,17% hasta las 480 horas, momento en el que se presentó un ascenso hasta  $0,25 \pm 0,009\%$  (Fig.1) Según [19], una leche fresca posee una acidez de 0.15 a 0.16%. Esta acidez se debe en un 40% a la caseína anfóterica, otro 40% al aporte de la acidez de las sustancias minerales, CO<sub>2</sub> disuelto y ácidos orgánicos; el 20% restante se debe a las reacciones secundarias de los fosfatos presentes.

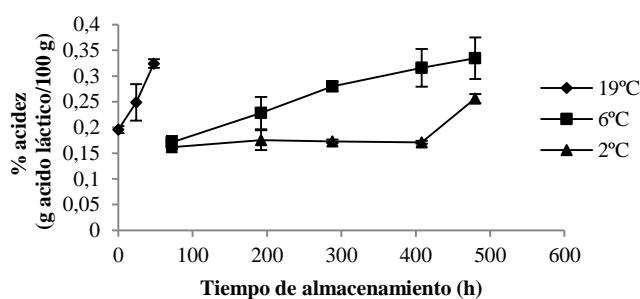


Fig. 1. Valores de acidez de la leche pasterizada durante el almacenamiento a 2, 6 y 19°C

El cambio de pH fue determinado para las muestras de bebida de soya durante el almacenamiento a 6 y 10°C. El pH presentó un descenso que pasó desde  $6,3 \pm 0,095$  a  $6,2 \pm 0,14$  y  $6,1 \pm 0,13$  a las 360 horas, a 6 y 10 °C (Fig 1), respectivamente. Finalmente, a las 480 horas se obtuvo un descenso hasta  $5,94 \pm 0,16$  y  $5,35 \pm 0,12$  para las muestras almacenadas a 6 y 10 °C, respectivamente.

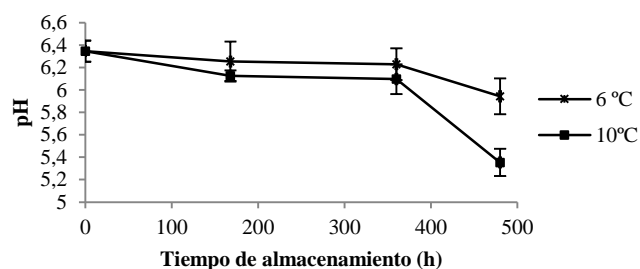


Fig. 2. Valores de pH de la bebida pasterizada almacenada 6 y 10°C

### B. Determinación del perfil aromático

Las respuestas de los 10 sensores de la nariz electrónica para las muestras de leche pasterizada y almacenadas a 2, 6 y 19 °C fueron analizadas en un PCA y se encontró que los dos primeros componentes principales, PC1 y PC2 representaron el 81,9% de la varianza total, 69 y 12,9%, respectivamente. La Figura 3, ilustra las relaciones existentes entre las muestras de leche pasterizada y almacenadas a 2, 6 y 19 °C y los sensores

de la nariz electrónica. Una diferenciación para el aroma de la leche de acuerdo a la temperatura y días de almacenamiento. Los sensores que reaccionan ante la presencia de compuestos de hidrocarburos de cadena corta (W1S), Alcoholes (W2S), compuestos alifáticos de cadena corta (W3S), compuestos azufrados (W2W y W1W) representaron el aroma de las muestras de leche pasteurizadas almacenadas a 19°C, a partir del día 3, las muestras de leche almacenadas a 2 y 6 a los 20 y 17 días respectivamente.

La presencia de compuestos alcohólicos y azufrados en la leche indica una descomposición del producto. Por acción enzimática y de las bacterias acidolácticas, la lactosa puede sufrir una fermentación y convertirse en ácido láctico, dando algunos compuestos aromáticos como el acetil - metil carbinol y diocétilo. Por otro lado, el calor ocasiona una formación de compuestos azufrados que pueden ser detectados por los sensores de la nariz electrónica[17].

La nariz electrónica ha sido utilizada en otros estudios para clasificar muestras de leche de acuerdo al tratamiento térmico utilizado para estabilizarlas microbiológicamente (pasteurización y UHT) e igualmente se ha utilizado para detectar el deterioro microbiano de leche pasteurizada [14].

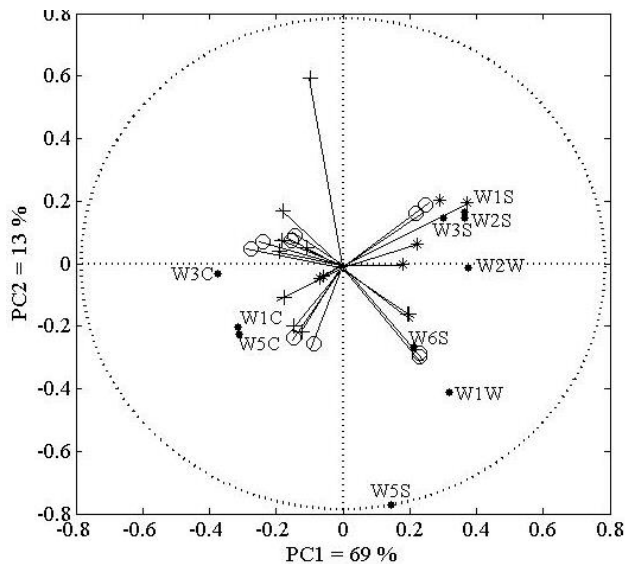


Fig 3. Perfil aromático de muestras de leche pasteurizadas durante el almacenamiento (+2 °C; ○ 6 °C; \*19 °C)

Mientras que las respuestas de los 10 sensores de la nariz electrónica para las muestras de bebida de soya almacenadas a 6 y 10°C fueron analizadas en un PCA y se encontró que los cuatro primeros componentes principales, PC1, PC2, PC3 y PC4 representaron el 86,51% de la varianza total, 36.81, 25.95, 13.46 y 11.30%, respectivamente. La Figura 4, que ilustra las relaciones existentes entre las muestras de bebida soya y almacenadas a 6 y 10 °C y los sensores de la nariz electrónica. Se puede evidenciar una diferenciación para el aroma de la bebida de soya de acuerdo a la temperatura y días de almacenamiento. Los sensores que reaccionan ante la presencia de compuestos azufrados (W2W y W1W) compuestos de hidrocarburos de cadena corta (W1S), alcoholes (W2S), compuestos alifáticos de cadena corta

(W3S), representaron el aroma de las muestras de bebida de soya almacenadas a 6°C y 10°C, a partir del día 15 de almacenamiento. La presencia de compuestos alcohólicos y azufrados en la bebida indica una descomposición del producto.

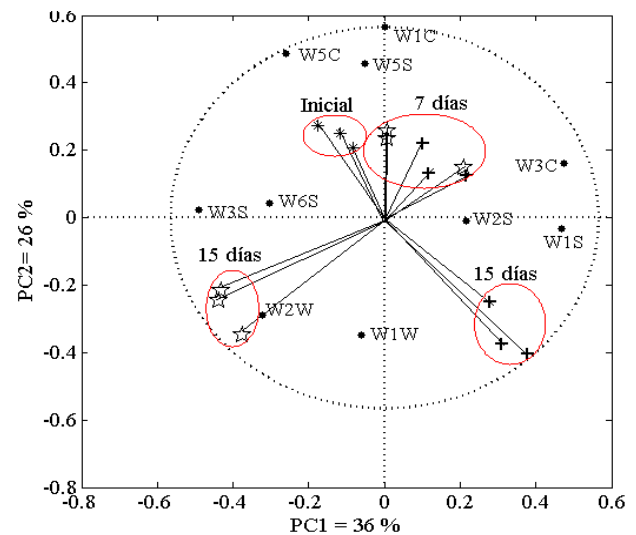


Fig 4. Perfil aromático de muestras de bebida de soya durante el almacenamiento (+ 6 °C; ☆ 10°C y \*Tiempo 0)

### C. Análisis microbiológico

Las muestras de leche pasteurizada almacenadas a 19 °C presentaron un rápido crecimiento de mesófilos aerobios desde los primeros días de almacenamiento, visualmente se evidenció coagulación de las muestras a partir del tercer día de almacenamiento. Igualmente pasó para las muestras almacenadas a 2 y 6°C a partir de los 12 y 7 días (fig. 5) respectivamente. Mientras que las muestras de bebida de soya presentaron un leve crecimiento al inicio del almacenamiento a 6 y 10 °C y después de los 15 días de almacenamiento la muestras se encontraron fermentadas y los recuentos de mesófilos aerobios fueron elevados (fig. 6).

La coagulación de la leche puede deberse a una desestabilización de la proteínas de la leche puesto que el ácido láctico puede convertirse en ácido propionico, ácido acético y CO<sub>2</sub>; también puede ocurrir un proceso llamado proteólisis, que es causado por la acción de las enzimas proteolíticas y proteinasas que provoca una coagulación de la leche, caracterizada por la formación de compuestos de reacción, en especial aminos, a la vez que se producen desprendimientos gaseosos dando a la leche un olor desagradable. Las bacterias que más frecuentemente provocan esta coagulación son *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas viscosa*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus liquefaciens*. Al actuar sobre las proteínas, la degradan dando compuestos como fétidos y aminoácidos [19].

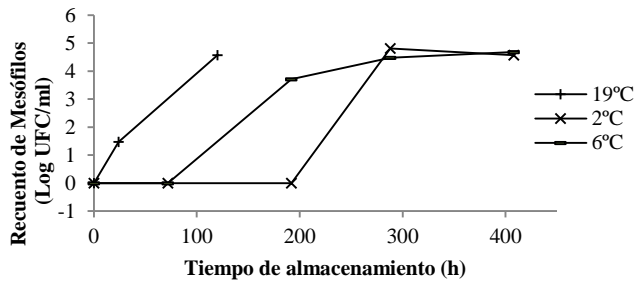


Fig 5. Recuento de mesófilos aerobios de la leche pasteurizada durante el almacenamiento a 2, 6 y 19°C

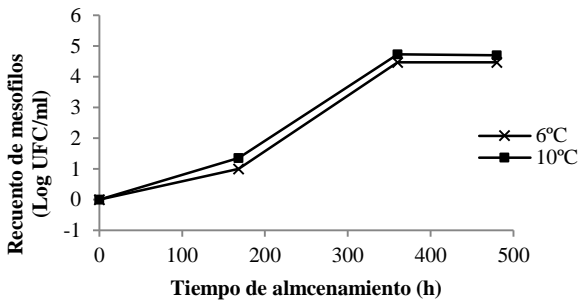


Fig 6. Recuento de mesófilos aerobios de la bebida de soya durante el almacenamiento a 6 y 10°C

#### D. Estimación de la vida útil

La estimación del crecimiento de mesófilos aerobios en muestras de leche pasteurizadas almacenadas a 2, 6 y 19 °C y en muestras de bebida de soya almacenadas a 6 y 10°C fue obtenido con el modelo de Gompertz. Los parámetros del modelo de Gompertz para las muestras de leche pausterizada y bebida de soya se encuentran en la tabla 2. Las curvas de crecimiento de mesófilos en muestras de leche pasteurizada y bebida de soya se encuentran en la Figs. 7 y 8, respectivamente. La velocidad de crecimiento (B) de los mesófilos aerobios en las muestras de leche pasteurizadas aumento significativamente con el aumento de la temperatura de almacenamiento. Mientras que en las muestras de bebida de soya esta velocidad no es significativamente diferente. Se estableció en 3 Log UFC /ml el límite de crecimiento de mesófilos aerobios para considerarse un producto de buena calidad de acuerdo a lo establecido en el decreto 616 de 2006 para leche UHT. Por lo que se puede estimar que el tiempo de vida útil de las muestras de leche pasteurizadas son 312, 204 y 60 horas, si se almacena a 2, 6 y 19 °C, respectivamente (Tabla 1). Mientras que la vida útil de las muestras de bebida de soya es de 408 y 396 horas almacenadas a 6 y 10°C, respectivamente.

Tabla 1. Parámetros de modelos de Gompertz y la predicción de la vida útil

Producto	Temperatura	$N_0$	$\mu_{max}$	B	M(h)	$t_{sl}$ (h)
Leche pasteurizada	2°C	0	4,81	0,05	48	312
	6°C	0	4,68	0,031	288	204
	19°C	0	4,57	0,0643	120	60
bebida de soya	6°C	0	4,47	0,0181	360	408
	10°C	0	4,732	0,0194	360	396

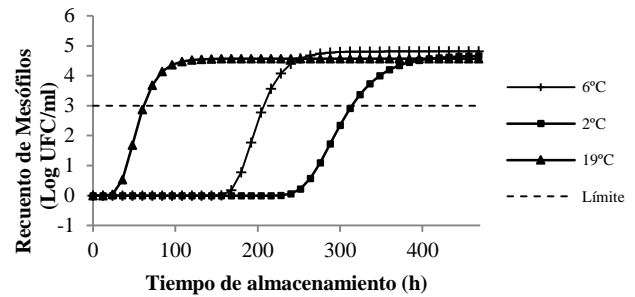


Fig 7. Predicción del crecimiento de mesófilos aerobios de la leche pasteurizada almacenada 2, 6 y 19°C

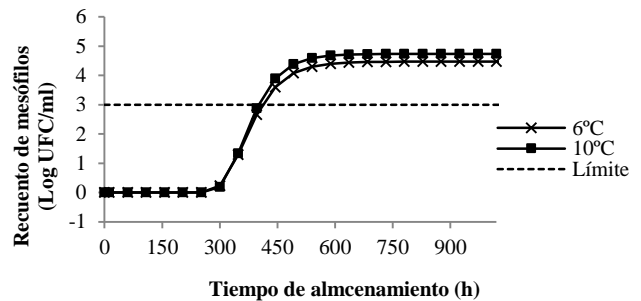


Fig 8. Predicción del crecimiento de mesófilos aerobios de la bebida de soya almacenada 6 y 10 °C

#### IV. CONCLUSIONES

Es posible monitorear el cambio de aroma de las muestras de leche pasteurizadas y muestras de bebida soya en almacenamiento utilizando una nariz electrónica, pues el perfil aromático representado por los sensores oxido-metálicos que reaccionan ante los compuestos alcohólicos y azufrados puede indicar descomposición de las muestras. El modelo de la ecuación de Gompertz permite predecir el crecimiento de microorganismos en las muestras y determinar el tiempo de vida útil de cada una de ellas a diferentes temperaturas. Se pudo comprobar que a mayor temperatura de almacenamiento mayor crecimiento de microorganismos y por ende menor tiempo de vida útil para alimentos de alto contenido de humedad, proteína y grasa.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos al grupo de investigación Aseguramiento de la calidad de alimentos y desarrollo de nuevos productos y al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos – ICTA, por la colaboración en el desarrollo del proyecto de investigación en el que se realizó este trabajo.

#### REFERENCIAS

- [1] Giri, S. K., & Mangaraj, S. (2012). Processing Influences on Composition and Quality Attributes of Soymilk and its Powder. *Food Engineering Reviews*, 4(3), 149–164.

- [2] Ministerio de la Protección Social. (2006). Decreto 616 de 2006.
- [3] Wattiaux, M. (2014). Composición de la leche y valor nutricional. *Agriculture Hall*, 240, 73–76.
- [4] Liu, H.-H., Chien, J.-T., & Kuo, M.-I. (2013). Ultra high pressure homogenized soy flour for tofu making. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 278–285.
- [5] Poliselí, F., Gallardo, J., Juan, B., Guamis, B., & Ferragut, V. (2013). Characterisation of volatile profile in soymilk treated by ultra high pressure homogenisation. *Food Chem*, 141, 2541–2548.
- [6]. Poliselí, F., Hernández, M., Guamis, B., & Ferragut, V. (2013). Characteristics of soymilk pasteurized by ultra high pressure homogenization (UHPH). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20, 73–80.
- [7]. Smiddy, A., Martin, J., Huppertz, T., & Kelly, A. (2007). Microbial shelf-life of high-pressure-homogenised milk. *International Dairy Journal*, 17, 29–32.
- [8]. Valencia, F. E., Millán, L., & Jaramillo, Y. (2008). Estimación de la vida útil fisicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías \*. *Revista Lasallista de Investigación* 5, 1, 28–33.
- [9]. Labuza, T. P. (2000). Determination of shelf-life of foods. *Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota. St. Paul.*, 32 pp.
- [10]. Osorio, D. P., Novoa, C. F., & Gutierrez, L. F. (2012). Determinación e la viabilidad de la nariz electrónica en la predicción de la vida útil del queso doble crema. *Revista Alimentos Hoy* 21, 26, 26–42
- [11] Hou, L., Xing, S., & Wang, Y. (2013). Microbial growth kinetics models of raw milk in storage and transportation. *Journal of food, Agriculture & Environment* 11, 1(January), 11–13.
- [12] Duyvesteyn, W. S., Shimoni, E., & Labuza, T. P. (2001). Determination of the End of Shelf-life for Milk using Weibull Hazard Method. *LWT - Food Science and Technology*, 34(3), 143–148.
- [13] Marilley, L., Ampuero, S., Zesiger, T., & Casey, M. G. (2004). Screening of aroma-producing lactic acid bacteria with an electronic nose, 14, 849–856.
- [14] Magana, N., Pavloub, A., & Chrysanthakis, A. (2001). Milk-sense: a volatile sensing system recognises spoilage bacteria and yeasts in milk. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 72(1), 28–34.
- [15] Gomez, L., & Sandoval, M. (2001). *Evaluación de diferentes condiciones de proceso para la obtención de tofú*. Universidad Nacional de Colombia.
- [16] AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. Association of Analytical Communities International. Washington.
- [17] Ampuero, S., & Bosset, J. O. (2003). The electronic nose applied to dairy products : a review. *Sensors and Actuators B 94: Chemical*, 1–12.
- [18] Icontec. (2009). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Norma Técnica Colombiana. Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30oC. NTC 4519. Bogotá D.C., Instituto Icontec, 12 p.
- [19] Celis, M., & Juarez., D. (2009). Microbiología de la leche. *Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional*, 26