

**Predicción de la vida útil de leche saborizada
con chocolate con base en el conteo de
psicrófilos, temperatura y ATECAL**

Luis Moisés Peña Lévano

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2009

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Predicción de la vida útil de leche saborizada con chocolate con base en el conteo de psicrófilos, temperatura y ATECAL

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Luis Moisés Peña Lévano

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2009

Predicción de la vida útil de leche saborizada con chocolate con base en el conteo de psicrófilos, temperatura y ATECAL

Presentado por:

Luis Moisés Peña Lévano

Aprobado:

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Asesor Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Carrera de Agroindustria Alimentaria

Edward Moncada, M.A.E.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

RESUMEN

Peña, Luis. 2009. Predicción de la vida útil de leche saborizada con chocolate con base en el conteo de psicrófilos, temperatura y ATECAL. Proyecto de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 29 p.

La leche fluida saborizada con chocolate es un producto elaborado por la planta de lácteos de la Escuela Agrícola Panamericana. La importancia de conocer su vida de anaquel radica en comercializar un producto de calidad e inocuidad constante. Ellos pueden ser afectados por diferentes factores tales como: Temperatura de almacenamiento en los cuartos fríos, la acidez inicial de la leche expresada en ATECAL y la cantidad de psicrófilos y psicrotrofos contenidos en la misma. Para predecir la vida de anaquel se analizaron los tres factores mencionados, evaluando 3 muestras de leche con chocolate con ATECAL en rangos de 0.20 y 0.27% correlacionándolo con pH y el número de días en el que alcanzaba esos niveles. Se realizó un panel sensorial con tres repeticiones de 25 panelistas no entrenados cada uno, evaluando los atributos de color, aroma, acidez y aceptación general. Se analizó microbiológicamente 21 muestras de la leche entre los uno, tres, cinco, siete, nueve, once y trece días a 4 y 7°C, temperaturas convencionales de cuartos fríos y refrigeradoras caseras. Se evaluó la cantidad de psicrófilos y psicrotrofos presentes. Se determinó en el estudio que la calidad se mantiene constante hasta un nivel de ATECAL de 0.22%. Finalmente al combinar los tres factores mediante una regresión múltiple, se obtuvo una correlación alta positiva de 0.927. La ecuación obtenida fue: Vida de anaquel (días) = $65.13 - 287.33 * \text{ATECAL} - 4.1 \times 10^{-5} * \text{Cantidad de microorganismos psicrófilos/psicrotrofos}$ (R²=0.862). Se determinó además que la diferencia en temperaturas de 4 y 7°C no fue un factor significativo en la vida de anaquel del producto (P>0.05). Se validó la ecuación con 12 muestras en diferentes días obteniendo valores similares entre los resultados obtenidos por la regresión y experimentalmente, obteniendo una correlación alta (R²=0.986).

Palabras clave: Anaquel, calidad, ecuación, psicrotrofos.

CONTENIDO

Portadilla.....	I
Página de firmas.....	II
Resumen.....	III
Contenido.....	IV
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	V
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
5. CONCLUSIONES.....	17
5. RECOMENDACIONES.....	18
6. LITERATURA CITADA.....	19
7. ANEXOS.....	20

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadro

1. Relación ATECAL y vida útil de leche con chocolate.....	12
2. Relación entre sabor y niveles de ATECAL de la leche con chocolate.	12
3. Aroma y su relación con el nivel de ATECAL de la leche con chocolate	13
4. Acidez en comparación con cada nivel de ATECAL de la leche chocolatada.....	13
5. Apreciación general de la leche chocolatada a diferente ATECAL	14
6. Niveles de ATECAL a diferentes temperaturas y días.....	14
7. Resultados del análisis microbiológico.....	15
8. Determinación de coeficientes	15
9. Resultados del modelo estadístico.....	16
10. Comparación entre resultados experimentales y teóricos	16

Figura

1. Flujo de proceso de la leche fluida empacada en envases plásticos de HDPE.....	7
2. Correlación entre diferentes niveles de pH y ATECAL en la leche chocolatada.....	11

Anexo

1. Hoja de análisis sensorial para determinar vida útil	20
2. Resultados obtenidos de cantidad de psicrófilos y psicrotrofos.....	21

1. INTRODUCCIÓN

La leche fluida fresca es producto obtenido de vacas sanas, sin contenido de calostro, que no sufrió ninguna adulteración, con un ordeño higiénico y completo. La industria de lácteos es una de las más importantes del mundo, siendo la leche fluida un producto reconocido por su valor nutricional relacionado por su contenido de vitaminas y por ser una fuente primordial de calcio. La inocuidad del producto es uno de los marcos imprescindibles que rondan el entorno de comercialización del producto. La pasteurización, es el tratamiento térmico más usado, permite una reducción de 99.99% de microorganismos, eliminando patógenos y actividades enzimáticas. Ello permite el incremento de la vida útil, que sin tratamiento es de dos a tres días; mientras que al ser tratado permite una extensión de su vida útil de diez a catorce días (Revilla 1996).

La tendencia actual de innovación ha permitido la adición de saborizantes a la leche, como la adición de chocolate en su formulación. La planta de lácteos no está exenta a los retos que lo enmarca la globalización y también es participe en este marco, lo que ha permitido una investigación para la mejora constante. La predicción de la vida de anaquel del producto es primordial para la comercialización de los productos lácteos, por tener una vida limitada por diversos factores. Por lo que es indispensable poder buscar una relación que permita analizar diversas variables para determinar su efecto y así poder permitarnos obtener de una manera precisa la cantidad de días que tenemos para poder vender un producto con las características que aseguren la inocuidad y calidad del producto.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tendencia de los mercados para elaborar y comercializar productos de calidad y que no sean dañinos ha ido en aumento conforme avanza el tiempo, la globalización y las competencias externas. Por ello que los requerimientos legales son más exigentes y las especificaciones tienen que ser claras.

Todas las industrias alimentarias están inmiscuidas, especialmente los productos lácteos, siendo la Planta de Lácteos de la Universidad Zamorano una de las empresas que busca ser competitiva y líder en este campo necesita cumplir estos requisitos. Para realizarlo necesita tomar ciertos factores que pueden alterar la vida útil de sus productos, específicamente los elaborados con ingredientes especiales como chocolate; entre los factores podemos mencionar: La temperatura de almacenamiento de los productos lácteos, la cantidad de psicrófilos y psicrotrofos iniciales y el ATECAL de la leche chocolatada luego de haber sido envasada.

Por tanto, es necesario buscar una manera de poder asociar estos factores y evaluar si existe una relación entre ellos y poder analizar si su interacción puede ayudarnos a predecir de una manera eficiente y sencilla la vida útil de ambos productos. Ello busca dar recomendaciones para la mejora de la calidad de la leche con chocolate.

1.2 ANTECEDENTES

En la actualidad en la Universidad Zamorano, no se ha realizado un estudio profundo sobre factores múltiples que pudieran predecir la vida útil con precisión en leche con chocolate. Peña (2007), realizó un estudio teniendo como factor principal el conteo microbiano inicial para predecir la vida útil de la leche fluida, en la cual concluyó que existía una gran importancia para ofrecer productos de calidad e inocuos; en la cual, su regresión lineal fue: $Y = 27.71868 - 3.19306X$; teniendo una correlación alta negativa de -0.95399 y el ajuste del modelo llegó a ser 0.9001. Por lo que tomándola como una referencia inicial, se ha decidido realizar una regresión múltiple con diversos factores y obtener una ecuación precisa que se ajuste a las condiciones de ambos tipos de productos lácteos.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

- Elaborar una regresión matemática para poder predecir la vida útil en leche con chocolate.

1.3.2 Objetivos específicos

- Analizar la relación que existe entre la temperatura de almacenamiento en anaquel y la vida útil del producto.
- Analizar la relación que existe entre los factores microbiológicos y la vida útil de la leche.
- Determinar mediante un análisis sensorial el nivel de ATECAL en el que el consumidor es capaz de percibir que el producto lácteo ha cumplido su vida útil.
- Validar la regresión múltiple para la predicción de vida útil de la leche con chocolate con 12 muestras.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 DEFINICIÓN

Se define a la leche como un producto que se obtiene por la segregación de las mamas de las hembras bovinas, como alimento para sus crías, el cual es producido cinco días después del nacimiento del ternero (La Real Academia Española 2008).

2.2 PROPIEDADES FÍSICAS DE LA LECHE

La leche de vaca tiene una densidad media de 1,032 g/ml. Es una mezcla compleja y heterogénea compuesta por un sistema coloidal de tres fases:

- Solución: los minerales así como los hidratos de carbono se encuentran disueltos en el agua.
- Suspensión: las sustancias proteicas se encuentran con el agua en suspensión.
- Emulsión: la grasa en agua se presenta como emulsión.

Contiene una proporción importante de agua (cerca del 87%). El resto constituye el extracto seco que representa el 13%.

Otros componentes principales son los glúcidos lactosa, las proteínas y los lípidos. Los componentes orgánicos (glúcidos, lípidos, proteínas, vitaminas), y los componentes minerales (Ca, Na, K, Mg, Cl). La leche contiene diferentes grupos de nutrientes.

Las sustancias orgánicas (glúcidos, lípidos, proteínas) están presentes en cantidades más o menos iguales y constituyen la principal fuente de energía. Estos nutrientes se reparten en elementos constructores, las proteínas, y en compuestos energéticos, los glúcidos y los lípidos (Badui 2006).

2.3 PROPIEDADES QUÍMICAS DE LA LECHE

El pH de la leche es ligeramente ácido, en un promedio de 6.7; obtenido por el contenido de humedad de 87% y la combinación de nutrientes. Otra propiedad química importante es la acidez, o cantidad de ácido láctico, que suele ser de 0,15-0,16% de la leche (ITDG 1998).

2.4 COMPOSICIÓN MEDIA DE LA LECHE EN GRAMOS POR LITRO (MCGEE 2004)

Agua: 870 g/L

Extracto seco: 130 g/L

- Materia grasa: 35-40 g/L
- Materiales nitrogenados totales: 30 - 35 g/L
 - Caseína: 27-30 g/L
 - Albúmina: 3 - 4 g/L
- Lactosa: 45 – 50 g/L
- Materiales minerales: 8 – 10 g/L

2.5 TRATAMIENTO TÉRMICO DE LA LECHE

Uno de los métodos más utilizados en las industrias lácteas es la pasteurización, con este procedimiento la leche se calienta a temperaturas determinadas para la eliminación de microorganismos patógenos e inhibir otras bacterias. El organismo indicador de la pasteurización es *Coxiella Burnetti* (ITDG 1998).

2.6 INGREDIENTES DE LA LECHE CON CHOCOLATE

Los componentes que forman parte de la formulación son: Cocoa, estabilizadores, leche fluida (1.5% de grasa), azúcar y sal mineral.

2.7 VIDA ÚTIL DE LA LECHE PASTEURIZADA

La vida útil de la leche pasteurizada está muy relacionada con la calidad de la leche cruda; también por las condiciones de producción, que deben ser óptimas desde el punto de vista técnico e higiénico; lo cual debe ser gestionado bajo sistemas de calidad total. Cuando se produce a partir de leche cruda con una calidad suficientemente alta (menor a 100 000 ufc de aerobios totales / ml) y con buenas condiciones de calidad e inocuidad la vida útil de la leche pasteurizada puede llegar a ser de 10-12 días a 5-7 °C en un envase que no haya sido abierto aún. Sin embargo la vida útil puede ser reducida debido a la contaminación de algunas especies de microorganismos como las *Pseudomonas*, y bacterias resistentes al calor, que poseen sistemas enzimáticos resistentes que pueden disminuir drásticamente la vida útil de la leche (Gosta 2000).

2.8 BACTERIAS QUE AMENAZAN LA CALIDAD DE LA LECHE

Las bacterias que afectan la calidad de la leche en almacén son principalmente dos grupos. La primera es la denominada flora psicrófila, descubierta desde hace 100 años por el Dr. Forster, capaz de crecer por debajo de 0°C, haciéndose macroscópicamente visible en un período no mayor de dos semanas. El factor determinante para la propagación de las bacterias en los productos lácteos es el incorrecto manejo de la temperatura de refrigeración (Bello 2005).

Eddy en los el 1960, sugirió como nombre al segundo grupo el término psicrotrofo, que pueden crecer a 0°C, independientemente de su temperatura óptima de crecimiento. Las colonias visibles pueden vivir de 8 a 11 días en temperaturas comprendidas entre 0 y 100°C. Por otro lado, no se conoce bien los mecanismos de ambas bacterias, pero se saben que poseen enzimas y sistemas formadores de las mismas que se diferencia de otros microorganismos porque pueden activarse en temperaturas de refrigeración. Poseen membranas celulares que permiten el transporte de sustrato debido a un mecanismo de adaptación de sus lípidos a bajas temperaturas, por lo que son peligros latentes en almacenamiento (Ellner et al. 1998).

Al disminuir al mínimo posible la temperatura de refrigeración se restringe el crecimiento de las bacterias psicrotrofas y la actividad de sus enzimas excretadas. Por lo que se recomienda mantener la leche a 4°C; manteniendo constante la cadena de frío. Se estima que a partir de 10^4 ufc/ml de estos microorganismos pueden producir una proteólisis en la leche modificando el aroma y sabor típico del producto, perceptible por el consumidor. Por lo que la cadena de frío debe empezar rápidamente para evitar el deterioro de la leche, cruda y no afectar la vida de anaquel (Plank 1999).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en la Planta de Procesamientos de Lácteos y el Laboratorio de Microbiología de la Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano, Km 30, Valle del Yeguaré, Departamento Francisco Morazán, Honduras, C.A.

3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

3.2.1 Materiales

- Plate Count Agar (PCA), DIFCO
- Peptona, Dickinson & Company
- Muestras de leche con chocolate de 1.8 L
- Platos petri desechables

3.2.2 Equipo

- Balanza electrónica de precisión Acculab Sartorius Group Serie VIC 98648-013-61
- Calentados y agitador Fisher Scientific Isotemp
- Incubadora Fisher Scientific Isotemp Incubator
- Campana extractora de flujo laminar Purifier Class II Biosafety Cabinet LABCONCO
- Erlenmeyer 250 y 500 ml
- Beaker de 500 ml
- Pipetas volumétricas 2.2 ml
- Refrigeradora Samsung, Model RT47MASW (7° C)
- Cuarto frío de la planta de Lácteos. Universidad Zamorano (4° C)

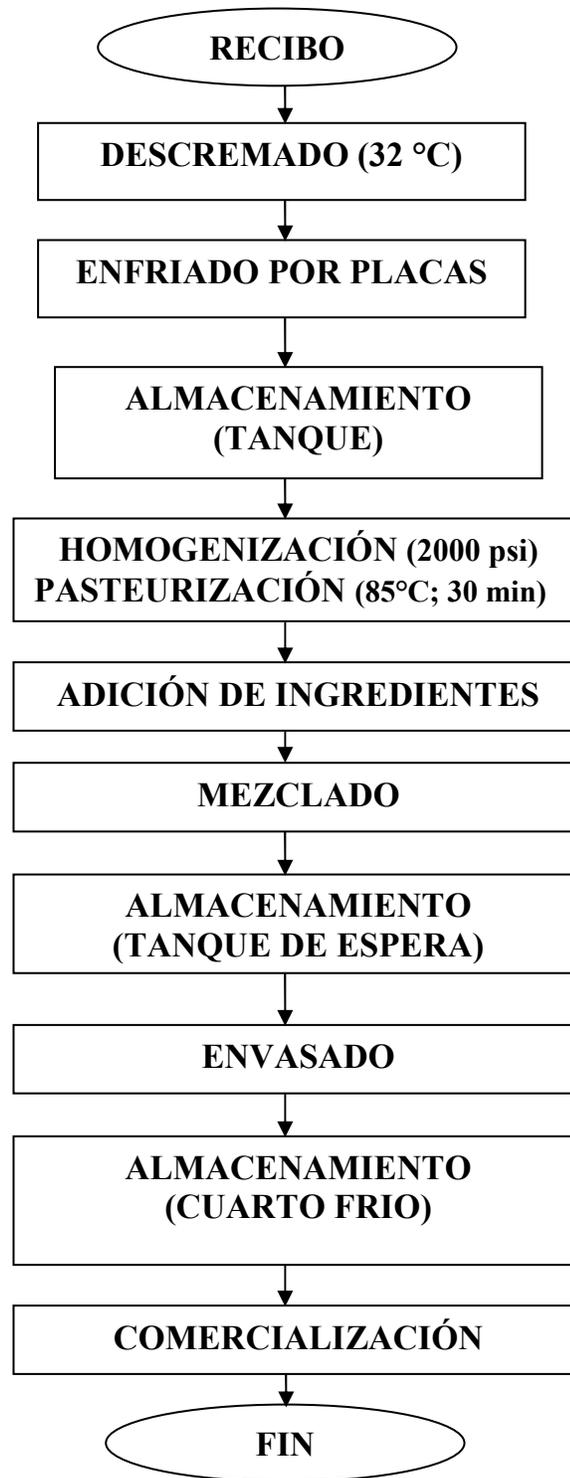


Figura 1. Flujo de proceso de la leche fluida empacada en envases plásticos de HDPE.

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1. Análisis químicos

3.3.1.1 Acidez titulable expresado como ácido láctico (ATECAL)

Se evaluó durante trece días consecutivos el nivel de ATECAL, se hicieron tres réplicas para cada toma de la siguiente manera:

- Se obtenían diez ml de cada muestra, los cuales se le añadían tres gotas de Fenolftaleína.
- Se añade 1 ml de NaOH por cada nivel de titulación de ácido láctico, hasta alcanzar el ATECAL de 0.16%.
- Posteriormente, se coloca una gota de la mezcla en cerámica blanca con hendiduras redondas.
- Se le añade 1 ml de NAOH por cada nivel de titulación, hasta alcanzar color rosado; que marca la finalización de la titulación.

3.3.1.2 pH

Para realizar la relación de ATECAL, se realizan tres repeticiones por cada muestra, en la que simultáneamente a la leche fresca chocolatada es analizado con un potenciómetro evaluando la temperatura y pH.

3.3.2 Análisis sensorial

3.3.2.1 Análisis de atributos por aceptación

Para determinar la vida de anaquel de la leche con chocolate se realizaron evaluaciones sensoriales con trabajadores de la planta de lácteos de Zamorano y estudiantes de los diferentes años de la Escuela Agrícola Panamericana. El total de panelistas utilizado por sesión fueron 25, con tres repeticiones realizadas en tres días consecutivos.

Se sostiene que el chocolate puede ocultar la sensación de acidez del producto, brindando una vida útil mayor que la leche promedio (10 días) por la dulzura que posee que eleva su pH a niveles neutros. Se realizó un estudio de correlación entre los niveles de ATECAL, los atributos evaluados sensorialmente y la vida de anaquel de la leche con chocolate.

Se escogió análisis de aceptación de escala hedónica con puntuaciones de 1 (me disgusta mucho) a 5 (me gusta mucho). La probabilidad que se tomó como referencia fue en base a $Pr \leq 0.05$; en el cuadro 1 se puede detallar los resultados compendiados del estudio realizado.

Las muestras fueron obtenidas de la planta de Lácteos con leche fresca que fue manipulada por fermentación hasta obtener los niveles de ATECAL de manera natural.

La logística para el análisis sensorial fue el uso de vasos pequeños etiquetados con números aleatorios en tríos en tres sesiones consecutivas de 25 panelistas cada uno. Ellos fueron instalados en el Laboratorio de Análisis Sensorial de la Escuela Agrícola Panamericana. Se colocaron cinco vasitos con los diferentes niveles de acidez, con una hoja y lápiz. Las repeticiones se realizaron en tres días consecutivos. La hoja de evaluación constó de cinco atributos.

Para el almacenamiento de las muestras se utilizó el cuarto frío de la planta de lácteos de Zamorano y una refrigeradora convencional. Se tomaron tres muestras diarias en diferentes áreas con un termómetro digital para evaluar la constancia de la temperatura a 4°C para el cuarto frío y 7°C para la refrigeradora en un período de cinco días consecutivos.

3.3.2.1.1 Sabor como atributo determinante de vida útil

El sabor fue uno de los atributos escogidos en el análisis sensorial, pues debido al contenido de chocolate en la leche; la vida de anaquel se puede extender por opacar la sensación agria o ácida debido a la dulzura de este ingrediente. El resultado del análisis está descrito en el cuadro 2.

3.3.2.1.2 Aroma como atributo determinante de vida útil

Aroma se determinó como un atributo a analizar, porque la leche al ser degradada por los microorganismos puede adquirir un olor pronunciado a rancio.

3.3.2.1.3 Acidez como atributo determinante de vida útil

Se analizó la acidez, porque la leche con chocolate posee un pH neutro (6.8), finiquitando su vida útil al ser degradada por los psicrófilos y psicrotrofos.

3.3.2.1.4 Aceptación y apreciación general como atributo determinante de vida útil

La apreciación general fue un atributo evaluado porque es un factor muy importante al comprar un producto, la visión es la carta de presentación y si resulta desagradable marca la finalización de la vida de anaquel.

3.3.3 Análisis microbiológicos

Se analizaron muestras de leche con chocolate con tres repeticiones y en seis diferentes concentraciones la cantidad de microorganismos, siendo por ley lo permitido de 1×10^6

ufc/mL de bacterias psicrófilas y psicrotrofas en el producto lácteo que permiten asegurar una vida útil del producto.

Se usó 23.5 g de solución de cultivo PCA sobre 1 litro de agua destilada. Paralelamente se realizó la combinación de peptona y agua destilada, necesaria para el crecimiento de microorganismos. Ambos, se colocaron en el autoclave en tiempo requerido de 15 minutos para alcanzar 121°C (temperatura estándar de esterilización comercial).

Se incubaron a 35°C para evitar que el agar se solidificara; y se utilizó el método aséptico con uso de mecheros y guantes. Luego de ello, se realizó la dilución de cada una de las muestras, en la que se colocaron en concentraciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} ; siendo las muestras obtenidas de leche con chocolate de los días uno, tres, cinco, siete, nueve, once y trece; tomando las tres repeticiones de las muestras en temperaturas diferentes de la leche a 4 y 7°C.

Posteriormente se realizó el método de pour plate colocando 15 ml de agar líquido y 1 ml de cada una de las diluciones colocándose en platos petri. Finalmente, se incubaron a las temperaturas de 4 y 7°C durante 1 día.

3.3.3 Análisis estadístico

3.3.3.1 Realización de la regresión múltiple

Los datos fueron analizados en el programa estadístico SAS 9.1 con un $Pr \leq 0.05$. Se usó regresión por múltiples factores que fueron: temperatura de los cuartos fríos de la planta que es 4°C y la temperatura de las refrigeradoras convencionales que es 7°C; cantidad de psicrófilos y psicrotrofos iniciales en la leche chocolatada y ATECAL inicial de la leche.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CORRELACIÓN ENTRE PH Y ATECAL DE LA LECHE CHOCOLATADA

Se estableció una relación entre pH y nivel de ATECAL de la leche con chocolate; determinándose que el producto tiene un pH neutro, cercano a 7. En la figura 2 se muestran los resultados obtenidos.

El rango de ATECAL usado fue de 0.19 (acidez adquirida al envasarse y puesto en el cuarto frío) a 0.27 (valor muy alto para la vida útil). La relación obtenida fue alta entre ambas variables con un valor de $R^2 = 0.974$. Siendo Y el valor del ATECAL y X el nivel de pH, se obtuvo una regresión lineal la siguiente ecuación: $Y = -0.107X + 0.934$.

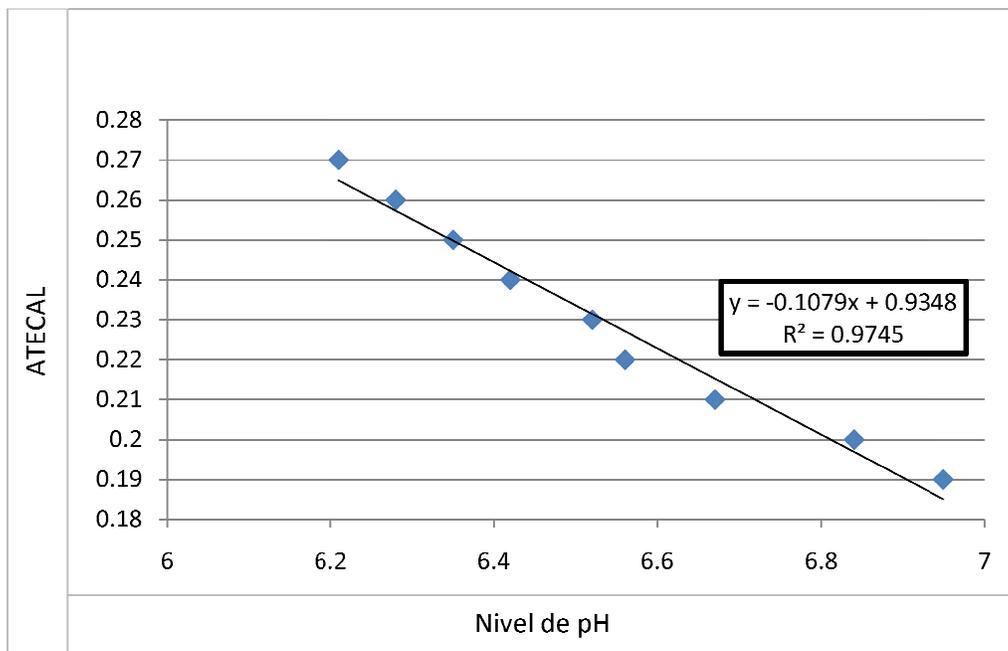


Figura 2. Correlación entre diferentes niveles de pH y ATECAL en la leche chocolatada

4.2 NIVEL DE ATECAL DE CUMPLIMIENTO DE VIDA ÚTIL

Los panelistas establecieron que la calidad de la leche con sabor a chocolate es óptima hasta un ATECAL de 0.22% de acuerdo con el cuadro 1.

Cuadro 1. Relación ATECAL y vida útil de leche con chocolate.

ATECAL (%)	MEDIA±DE
0.21	3.60±0.23 ^a
0.22	3.27±0.23 ^a
0.23	2.60±0.23 ^b
0.24	2.40±0.23 ^b
0.25	2.07±0.23 ^b
Pr ≤ 0.05	0.0269

4.3 SABOR COMO ATRIBUTO DETERMINANTE DE VIDA ÚTIL

Los panelistas apreciaron que el producto conserva su sabor dulce y agradable hasta un nivel de ATECAL de 0.22%. Como efectivamente se planteó, el chocolate pudo enmascarar la acidez de la leche hasta el nivel mencionado. Posterior a ello, percibieron un sabor a cartón y muy dulce, debido a la fermentación de la lactosa por parte de microorganismos psicrófilos tales como *Pseudomonas aureginosa*. Los resultados se detallan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Relación entre sabor y niveles de ATECAL de la leche con chocolate.

ATECAL (%)	MEDIA±DE
0.21	3.87±0.16 ^a
0.22	3.40±0.16 ^a
0.23	2.73 ^a ±0.16 ^b
0.24	2.47±0.16 ^b
0.25	2.67±0.16 ^b
Pr ≤ 0.05	0.0270

4.4 AROMA COMO ATRIBUTO DETERMINANTE DE VIDA ÚTIL

El aroma que percibieron los panelistas al cumplir su vida de anaquel era rancio, esto es debido a la oxidación por lipólisis realizada por los microorganismos psicrófilos y psicrotrofos. En el cuadro 3 se muestra que el ATECAL máximo en que la calidad es idónea de de 0.22%.

Cuadro 3. Aroma y su relación con el nivel de ATECAL de la leche con chocolate.

ATECAL (%)	MEDIA±DE
0.21	3.67±0.24 ^a
0.22	3.13 ^a ±0.24 ^b
0.23	2.60±0.24 ^b
0.24	2.47±0.24 ^{bc}
0.25	2.00±0.24 ^c
Pr ≤ 0.05	0.0003

4.5 ACIDEZ COMO ATRIBUTO DETERMINANTE DE VIDA ÚTIL

La sensación de acidez fue detectada por los panelistas a partir de un ATECAL mayor a 0.22%, percibiendo que la leche con chocolate se deteriora al adquirir una intensa acidez.

Cuadro 4. Acidez en comparación con cada nivel de ATECAL de la leche chocolatada.

ATECAL (%)	MEDIA±DE
0.21	3.87±0.18 ^a
0.22	3.33 ^a ±0.18 ^b
0.23	2.87±0.18 ^{bc}
0.24	2.67±0.18 ^{bc}
0.25	2.27±0.18 ^c
Pr ≤ 0.05	0.0089

4.6 ACEPTACIÓN GENERAL COMO ATRIBUTO DETERMINANTE

Los panelistas detectaron visualmente que el producto mantiene su calidad hasta un nivel de 0.22 % de ATECAL; posterior a ello se observa una precipitación del chocolate, resultado de la degradación proteica por parte de las bacterias psicrófilas y psicrotrofas.

En el cuadro 5 se detallan las medias obtenidas para cada nivel de ATECAL.

Cuadro 5. Apreciación general de la leche chocolatada a diferente ATECAL.

ATECAL (%)	MEDIA±DE
0.21	3.60±0.22 ^a
0.22	3.27±0.22 ^{ab}
0.23	2.60±0.22 ^{bc}
0.24	2.40±0.22 ^{bc}
0.25	2.07±0.22 ^c
Pr ≤ 0.05	0.0026

4.7 DETERMINACIÓN DE LA REGRESIÓN MÚLTIPLE PARA LA PREDICCIÓN DE VIDA ÚTIL DE LECHE SABORIZADA

De acuerdo a los resultados obtenidos se determinó que la leche con chocolate posee una vida anaquel aproximada de trece días en los cuartos fríos y once días en una refrigeradora convencional. Se debe tomar en cuenta que puede existir variabilidad en este rango debido a cambios de temperaturas comunes, como es el caso de la apertura del cuarto frío y de la refrigeradora, en los que suben de temperatura por unos segundos o minutos y luego vuelven a bajar a sus temperaturas estándares paulatinamente.

Cuadro 6. Niveles de ATECAL a diferentes temperaturas y días.

Día	Nivel de ATECAL a 4°C (%)	Nivel de ATECAL a 7°C (%)
1	0.19	0.19
2	0.19	0.19
3	0.19	0.19
4	0.19	0.20
5	0.20	0.20
6	0.20	0.20
7	0.20	0.21
8	0.21	0.21
9	0.21	0.22
10	0.21	0.22
11	0.22	0.23
12	0.22	0.23
13	0.23	0.24

El cuadro 7 nos indica una relación directamente proporcional entre el número de días concernientes a las muestras y la cantidad de microorganismos psicrófilos y psicrotrofos; y la diferencia existente al incubarlas en diferentes temperaturas (4 y 7°C)

Cuadro 7. Resultados del análisis microbiológico

DÍA	TEMP	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
1	4	0	0	0	0	0	0
	7	1	0	0	0	0	0
3	4	2	0	0	0	0	0
	7	3	1	0	0	0	0
5	4	18	3	0	0	0	0
	7	23	4	1	0	0	0
7	4	101	11	3	0	0	0
	7	116	20	4	2	0	0
9	4	TMTC	35	8	2	0	0
	7	TMTC	110	16	3	0	0
11	4	TMTC	67	15	5	1	0
	7	TMTC	TMTC	67	21	3	2
13	4	TMTC	TMTC	147	54	5	1
	7	TMTC	TMTC	TMTC	64	20	7

El cuadro 8 se muestra el resultado de la evaluación de las tres variables que podrían determinar la vida útil de la leche con chocolate; notándose que la temperatura no fue un factor influyente en la predicción de la vida de anaquel por no existir diferencia significativa. Por tanto, la regresión establecida se dio con base en el nivel de ATECAL y la cantidad de psicrófilos y psicrotrofos presentes en el producto.

Cuadro 8. Determinación de los coeficientes de estimación de las variables que participan en la regresión múltiple

VARIABLE	Estimador	Pr > t
Intercepto	+65.130	<.0001
ATECAL	-287.333	<.0001
TEMP	-0.084	0.2584
CANT. MIC. PSIC./PSICT	-4.1x10 ⁻⁵	0.0003

R² = 0.8624

MIC.PSIC./PSICT=Cantidad de microorganismos psicrófilos y psicrotrofos iniciales de la leche con chocolate.

En el cuadro 9 se observa un coeficiente de variación de 6.52, que indica un buen manejo en la realización del experimento. El R^2 obtenido fue de 0.8624, demostrando un buen ajuste del modelo a la regresión y un $Pr > |t|$ menor a 0.05, estableciendo diferencia entre las muestras que fueron analizadas.

Cuadro 9. Resultados estadísticos que enmarcan el modelo que ha sido estudiado.

Desv. Estándar	Ajuste de modelo	Coef. Var.	Pr > t
0.1828	0.8624	6.52	0.0001

Por tanto, el valor resultante obtenido en la regresión con los factores influyentes queda de la siguiente manera:

$$\text{VIDA ÚTIL} = 65.13 - 287.33 \cdot \text{ATECAL} - 4.1 \times 10^{-5} \cdot \text{C. Microorg. Psicrófilos/psicrotrofos (ufc/ml)}$$

Como se demuestra en la validación, los valores reales y teóricos se aproximan al redondearlos a números enteros ($R^2=0.986$), lo que demuestra la efectividad de la ecuación; se puede observar además que cumplen los valores de vida útil que se habían mencionado de acuerdo a los valores encontrados en relación de ATECAL y también se debe añadir que los valores de ATECAL coinciden con la experimentación realizada para buscar la relación entre ATECAL y vida útil.

Cuadro 10. Comparación entre resultados experimentales y teóricos.

Temperatura (°C)	ATECAL INICIAL (%)	C. Ps/Ps (Ufc/ml)	Resultado teórico	Días reales de vida
4	0.18	0	13.41 ^a	13 ^a
4	0.19	1	10.53 ^a	11 ^a
7	0.19	2	10.53 ^a	10 ^a
4	0.22	11*10 ³	1.91 ^a	2 ^a
7	0.23	31*10 ³	-0.29 ^a	0 ^a
4	0.23	9*10 ⁴	-0.23 ^a	0 ^a

5. CONCLUSIONES

- Se puede concluir que la regresión múltiple que mejor describe el comportamiento de la vida útil es: $VIDA \acute{U}TIL \text{ (en d\u00edas)} = 65.13 - 287.33 * ATECAL \text{ INICIAL} - 4.1 \times 10^{-5} * C.Microorg.Psicro\u00edfilos/psicrotrofos$.
- Se determin\u00f3 que el nivel de ATECAL de 0.23 marca la diferencia en calidad de vida \u00fatil de la leche chocolatada de acuerdo al an\u00e1lisis sensorial realizado con 75 observaciones usando panelistas no entrenados de la Escuela Agr\u00edcola Panamericana.
- Los factores influyentes en la regresi\u00f3n lineal fueron la cantidad inicial de microorganismos psicro\u00edfilos y psicrotrofos y el nivel inicial de ATECAL las variables independientes del experimento. La temperatura no fue una variable determinante.
- Se determin\u00f3 que la vida de anaquel obtenido te\u00f3ricamente en la regresi\u00f3n fue similar al aproximarla en n\u00fameros enteros a la obtenida experimentalmente.

6. RECOMENDACIONES

- Realizar un análisis que pueda evaluar una correlación entre la cantidad de microorganismos mesófilos con respecto a la vida de anaquel de la leche con chocolate.
- Analizar los costos y la factibilidad que concierne a la leche con chocolate para saber el impacto que tiene el mal manejo de producción y un manejo adecuado de los mismos.

7. LITERATURA CITADA

Badui, S. 2006. Química de los Alimentos, México. 256 p.

Bello, J. 2005. Calidad de vida, alimentos y salud humana: fundamentos científicos. Editorial Díaz Santos. España. 234 p.

Diccionario de la Real Academia Española. 2008. Definición de leche (en línea). Consultado el 9 de julio 2008. Disponible en: <http://buscon.rae.es/draeI/SrvltGUIBusUsual?LEMA=leche>

Ellner, R. et al. 1998. Preguntas y respuestas sobre la microbiología de la leche y los productos lácteos. Editorial Díaz Santos. España. 370 p.

Gosta, A. 2000. Productos lácteos pasteurizados (en línea). Consultado el 5 de julio del 2008. Disponible en: http://books.google.hn/books?id=xcaN14spLCcC&pg=PA207&lpg=PA207&dq=vida+%C3%BAtil+de+la+leche&source=web&ots=lpXKw25SIH&sig=fb7ZHh48955xSpJhQkB14FEukls&hl=es&sa=X&oi=book_result&resnum=6&ct=result#PPA206,M1

ITDG. 1998. Libro de consultas para tecnologías aplicadas en lácteos. Editado por el Fondo de las Naciones Unidas para el Desarrollo de Latinoamérica. México. 98 p.

McGee, H. 2004. On Food and Cooking (Revised Edition), Scribner. 213 p.

Peña, M. 2006. Vida de anaquel de la leche fluida en función del conteo microbiano inicial. Honduras. Tesis Ing. Agroindustrias Alimentarias. Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 44 p.

Plank, R 1999. El empleo del frío en la industria de la alimentación. Editorial Reverte. 134 p.

Revilla, A. 1996. Tecnología de la Leche. 3º edición revisada, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 396 p.

8. ANEXOS

Anexo 1. Hoja de análisis sensorial realizado para detectar diferencia en la leche saborizada con chocolate y obtener el ATECAL que determina el cambio en su vida útil.

Número de muestras 5

Fecha

Instrucciones: Marque con una X la evaluación que se merece cada muestra analizada de acuerdo a sus características.

1 Me disgusta mucho 2 No me gusta 3 No me gusta ni me disgusta
4 Me gusta 5 Me gusta mucho

Muestra: _____

	1	2	3	4	5
Sabor	<input type="radio"/>				
Acidez	<input type="radio"/>				
Aroma	<input type="radio"/>				
Apreciación general	<input type="radio"/>				

Muestra: _____

	1	2	3	4	5
Sabor	<input type="radio"/>				
Acidez	<input type="radio"/>				
Aroma	<input type="radio"/>				
Apreciación general	<input type="radio"/>				

Muestra: _____

	1	2	3	4	5
Sabor	<input type="radio"/>				
Acidez	<input type="radio"/>				
Aroma	<input type="radio"/>				
Apreciación general	<input type="radio"/>				

Muestra: _____

	1	2	3	4	5
Sabor	<input type="radio"/>				
Acidez	<input type="radio"/>				
Aroma	<input type="radio"/>				
Apreciación general	<input type="radio"/>				

Muestra: _____

	1	2	3	4	5
Sabor	<input type="radio"/>				
Acidez	<input type="radio"/>				
Aroma	<input type="radio"/>				
Apreciación general	<input type="radio"/>				

¿Cuál es su muestra preferida? _____

ANEXO 2. Resultados obtenidos de cantidad de psicrófilos y psicrotrofos

DÍA	TEMP	REP	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
1	4	1	1	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0	0
	7	1	0	0	0	0	0	0
		2	2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0	0
3	4	1	1	1	0	0	0	0
		2	3	0	0	0	0	0
		3	2	0	0	0	0	0
	7	1	3	1	0	0	0	0
		2	6	0	0	0	0	0
		3	2	1	0	0	0	0
5	4	1	30	5	1	0	0	0
		2	16	4	0	0	0	0
		3	8	1	0	0	0	0
	7	1	33	4	2	0	0	0
		2	20	3	0	0	0	0
		3	25	3	1	0	0	0
7	4	1	90	15	4	1	0	0
		2	105	7	1	0	0	0
		3	108	10	5	0	0	0
	7	1	TMTC	32	5	3	0	0
		2	98	14	3	2	1	0
		3	130	24	4	1	0	0
9	4	1	TMTC	20	6	2	0	0
		2	151	54	6	1	0	0
		3	TMTC	30	10	0	0	0
	7	1	TMTC	140	8	2	0	0
		2	TMTC	100	15	4	0	0
		3	TMTC	90	25	4	1	0
11	4	1	TMTC	42	14	3	0	0
		2	TMTC	100	20	8	1	0
		3	TMTC	58	12	3	1	0
	7	1	TMTC	TMTC	80	30	3	1
		2	TMTC	150	65	20	2	2
		3	TMTC	TMTC	56	13	3	1
13	4	1	TMTC	TMTC	140	102	1	0
		2	TMTC	TMTC	154	48	10	2
		3	TMTC	TMTC	TMTC	12	3	1
	7	1	TMTC	TMTC	100	38	15	10
		2	TMTC	TMTC	TMTC	73	21	9
		3	TMTC	TMTC	TMTC	82	24	6

