



**UNIVERSIDAD DEL AZUAY**

**FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA**

**ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS ENVASES PLÁSTICOS EN LA  
VIDA DE ANAQUEL DE LECHE FERMENTADAS**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**AUTORA:**

**CATALINA ELIZABETH ORDÓÑEZ PULLA**

**DIRECTOR:**

**CLAUDIO ESTEBAN SÁNCHEZ JÁUREGUI**

**CUENCA - ECUADOR**

**2014**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado a todos aquellos que me dieron su tiempo, sus consejos, su palabra de aliento, su apoyo, su esfuerzo.

## AGRADECIMIENTOS

*“El que da, no debe volver a acordarse; pero el que recibe nunca debe olvidar”*

Más que en mi mente, se encuentran en mi corazón; todas aquellas personas que no dudaron en extenderme su mano para ayudarme.

Pongo a Dios como maestro y guía fundamental de este proyecto, ya que sin él nada hubiera sido posible, gracias porque me dio la vida, las ganas de luchar, por mostrarme y alumbrarme el camino por el cual estuve cinco largos años pero que gracias a Él hoy llegan a su fin con gran éxito.

Gracias profundas a toda mi familia pues cada uno de ellos ha sembrado en mí la perseverancia y el sacrificio, el amor y la pasión.

Gracias a mis padres por ser mi pilar fundamental y empujarme siempre hacia adelante. Gracias a mi ñaño que estuvo a mi lado emocionándose con cada uno de mis logros. Gracias especiales a mis abuelos, mis maestros de la vida, mis maestros de la gratitud, mis maestros de la sencillez y de la humildad. Gracias a mis tías cada una de ellas más alocada que la otra, gracias por enseñarme su constancia en el trabajo, las ganas de superación y por enseñarme que si las cosas se hacen con amor no hay nada que pueda salir mal. En especial gracias a mi tía Mime que más que mi tía ha sido mi amiga. Gracias a mi familia quiteña, a mis primas y primo que siempre estuvieron dispuestas a colaborar con cada cosa que necesitaba, a la tía Margarita por su deliciosa comida y al Tío Manuel por su acogida; gracias Karen y Gabriel por la larga espera en la Biblioteca y en la Fábrica de envases sin su ayuda no hubiera terminado este proyecto. Gracias a todos mis tíos, tías, primos, primas, abuelos, hermano por creer en mí.

Gracias a mi novio Mateo, quien supo entender y apoyar mi profunda pasión hacia mi carrera y hacia cada una de las cosas que hago. Gracias por estar ahí en cada uno de mis pasos por el aliento en cada tropiezo y por compartir cada una de mis alegrías.

Gracias a mis profesores pues cada uno de ellos formó un pedacito de lo que soy.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo general:.....	2
Objetivos específicos:.....	2

### CAPITULO I: ENVASES

1.1. Envasado de Alimentos .....	3
1.1.1. Definiciones .....	3
1.1.2. Funciones de un envase en la Industria Alimentaria .....	3
1.1.3. Tipos de Envases .....	4
1.2. Estructuras y propiedades químicas de los materiales de envasado .....	9
1.2.1. Constituyentes químicos .....	9
1.2.2. Enlaces Químicos .....	9
1.2.3. Espacios Organizados .....	11
1.3. Polímeros para el envasado de Alimentos .....	11
1.3.1. Estructura Química de los Polímeros .....	11
1.3.2. Estructura Molecular .....	12
1.3.3. Reacciones de polimerización.....	13

### CAPITULO II: CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

2.1. Leche Generalidades.....	16
2.1.1. Definiciones .....	16

2.1.2. Características de la Leche.....	16
2.2. Leche fermentada.....	19
2.2.1. Clasificación de las leches fermentadas .....	20
2.2.2. Tipos de leches fermentadas según los microorganismos utilizados.....	20
2.3. Generalidades del Yogur .....	21
2.3.1. Composición del Yogur.....	21
2.3.2. Fermentación Acido Láctica.....	22
2.3.3. Las bacterias del yogur.....	24
2.3.4. Probióticos y Prebióticos.....	25
2.3.5. Problemas en el yogur .....	26

### **CAPITULO III: VIDA UTIL O SHELF LIFE**

3.1. Conceptos de Vida útil.....	28
3.2. Factores que intervienen en la vida útil.....	28
3.2.1. Factores limitantes de la vida útil .....	29
3.3. Cálculo de vida útil.....	30
3.3.1. Paneles sensoriales.....	30
3.3.2. Mediciones físicas.....	31
3.3.3. Mediciones químicas .....	31
3.3.4. Mediciones microbiológicas .....	31
3.4. Predicciones sensoriales de vida útil .....	31
3.4.1. Métodos de Evaluación sensorial para la determinación de vida útil.....	31
3.5. Pruebas Aceleradas (ASLT) .....	33
3.5.1. Enfoque inicial .....	33
3.5.2. Enfoque del modelo cinético .....	35
3.5.3. Problemas en las pruebas aceleradas .....	36
3.6. Predicción de las características de los envases para mejorar la vida de anaquel. 36	
3.6.1. La función de los envases para la ampliación de la vida útil .....	36
3.7. La integración de los envases con otros métodos para alargar la vida útil.....	38
3.7.1. Tratamientos térmicos como medio para extender la vida útil.....	38
3.7.2. Bajas temperaturas como un medio para extender la vida útil .....	39
3.7.3. Los plásticos como una opción de envasado .....	39
3.7.4. Predicción de las características de envase para alimentos .....	40

3.8.Vida útil de los productos lácteos.....	41
3.8.1.Yogur y leches fermentadas .....	41

#### **CAPITULO IV: MATERIALES Y METODOLOGÍA**

4.1.Ubicación del experimento.....	43
4.1.1.Material experimental.....	43
4.1.2.Equipos, materiales e Instalaciones.....	43
4.2.Métodos de Análisis.....	45
4.2.1.Materia prima.....	45
4.2.2.Producto terminado.....	47
4.2.3.Envase.....	48
4.3.Metodología.....	49
4.3.1.Proceso de Elaboración de yogur tipo 1.....	49
4.3.2.Pruebas de vida de anaquel .....	51
4.3.3.Establecimiento de la vida de anaquel a través de un diseño experimental .....	52
4.3.4.Evaluación de la vida de anaquel a través de métodos físicos químicos.....	53
4.3.5.Control microbiológico .....	53
4.3.6.Determinación de permeabilidad de los envases .....	53

#### **CAPITULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

5.1.Materia Prima .....	56
5.1.1.Análisis físico-químicos en la materia prima.....	56
5.1.2.Densidad .....	56
5.1.3.Acidez... ..	57
5.1.4.Determinación de grasa.....	57
5.1.5Determinación de Lactosa .....	58
5.2.Producto terminado.....	58
5.2.1.Análisis físico-químicos en el producto terminado.....	59
5.2.2.Análisis microbiológicos.....	72
5.2.3.Determinación de vida útil.....	75
5.2.4.Determinación de la vida restante.....	76
5.2.5.Determinación de la constante de reacción.....	77
5.2.6.Determinación de la Energía de activación .....	77

5.2.7.Diseño experimental .....	78
5.2.8.Determinación de permeabilidad del envase.....	79
5.3.Análisis físico-químicos en los mejores tratamientos .....	83
5.3.1.pH.....	83
5.3.2.Acidez.....	85
5.3.3.Lactosa .....	86
5.4.Análisis microbiológicos .....	88
5.5.Análisis sensoriales .....	90
CONCLUSIONES .....	95
RECOMENDACIONES.....	98
BIBLIOGRAFÍA.....	99
ANEXOS .....	101

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Requisitos físicos químicos de la leche cruda .....	17
Tabla 2. Especificaciones de las leches fermentadas. NTE - INEN 2395:2011 .....	21
Tabla 3. Especificaciones de las leches fermentadas. NTE - INEN 2395:2006. ....	22
Tabla 4. Localización .....	43
Tabla 5. Número de experimentos .....	52
Tabla 6. Datos para diseño experimental.....	53
Tabla 7. Acidez en leche cruda.....	57
Tabla 8. Lactosa en leche cruda.....	58
Tabla 9. Valores de pH obtenidos a 4°C .....	60
Tabla 10. Valores de pH obtenidos a 8°C.....	61
Tabla 11. Valores de pH obtenidos a 20°C.....	62
Tabla 12. Valores de pH obtenidos a 32°C.....	62
Tabla 13. Valores de pH obtenidos a 55°C.....	63
Tabla 14. Valores de acidez obtenidos a 4°C.....	65
Tabla 15. Valores de Acidez obtenidos a 8°C .....	66
Tabla 16. Valores de acidez obtenidos a 20°C .....	66
Tabla 17. Valores de acidez obtenidos a 32°C .....	67
Tabla 18. Valores de acidez obtenidos a 55°C .....	68
Tabla 19. Lactosa inicial del yogur .....	69
Tabla 20. Lactosa en yogur a temperatura de 4°C.....	69
Tabla 21. Lactosa en Yogur a temperatura de 8°C .....	70
Tabla 22. Lactosa en Yogur a temperatura de 20°C .....	71
Tabla 23. Microorganismos a temperatura de 4°C .....	72
Tabla 24. Microorganismos a temperatura de 8°C .....	73
Tabla 25. Microorganismos a temperatura de 20°C.....	74
Tabla 26. Temperatura vs Vida de estante en días.....	75
Tabla 27. Vida restante en envase natural .....	76
Tabla 28. Vida restante en envase pigmentado.....	76
Tabla 29. Determinación de la constante de reacción .....	77
Tabla 30. Determinación de la energía de activación .....	78
Tabla 31. Mejor tratamiento en envase natural.....	78
Tabla 32. Mejor tratamiento en envase pigmentado .....	79
Tabla 33. Variación de peso en envase natural y pigmentado.....	80
Tabla 34. Especificaciones técnicas del envase .....	80
Tabla 35. Permeabilidad del envase natural.....	81

Tabla 36. Permeabilidad del envase pigmentado .....	82
Tabla 37. Valores de pH obtenidos a 4°C .....	83
Tabla 38. Valores de pH obtenidos a 8°C .....	84
Tabla 39. Valores de acidez obtenidos a 4°C .....	85
Tabla 40. Valores de acidez obtenidos a 8°C .....	86
Tabla 41. Lactosa en Yogur a 4°C. ....	87
Tabla 42. Lactosa en Yogur a 8°C .....	87
Tabla 43. Microorganismos a temperatura de 4°C .....	88
Tabla 44. Microorganismos a temperatura de 8°C .....	89
Tabla 45. Evaluación sensorial del envase natural a 4°C .....	91
Tabla 46. Evaluación sensorial del envase pigmentado a 4°C.....	91
Tabla 47. Evaluación sensorial del envase natural a 8°C .....	92
Tabla 48. Evaluación sensorial del envase pigmentado a 8°C.....	93
Tabla 49. Aceptación del producto .....	93

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Enlace covalente en la cadena del polietileno .....	12
Figura 2. Reacción de polimerización por condensación .....	14
Figura 3. Estructura molecular de la lactosa.....	18
Figura 4. pH durante la fermentación.....	59
Figura 5. Tiempo vs pH a temperatura de 4°C.....	60
Figura 6. Tiempo vs pH a temperatura de 8°C.....	61
Figura 7. Tiempo vs pH a temperatura de 20°C .....	62
Figura 8. Tiempo vs pH a temperatura de 32°C .....	63
Figura 9. Tiempo vs pH a temperatura de 55°C .....	63
Figura 10. Tiempo vs Acidez a temperatura de 4°C.....	65
Figura 11. Tiempo vs acidez a temperatura de 8°C .....	66
Figura 12. Tiempo vs acidez a temperatura de 20°C.....	67
Figura 13. Tiempo vs acidez a temperatura de 32°C.....	67
Figura 14. Tiempo vs acidez a temperatura de 55°C.....	68
Figura 15. Tiempo vs Lactosa a temperatura de 4°C.....	70
Figura 16. Tiempo vs Lactosa a temperatura de 8°C.....	70
Figura 17. Tiempo vs Lactosa a temperatura de 20°C .....	71
Figura 18. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 4°C.....	73
Figura 19. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 8°C.....	73
Figura 20. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 20°C.....	74
Figura 21. Gráfico para determinar vida de estante .....	75
Figura 22. Variación de peso en envase natural.....	81
Figura 23. Variación de peso en envase pigmentado .....	82
Figura 24. Tiempo vs pH a temperatura de 4°C.....	84
Figura 25. Tiempo vs pH a temperatura de 8°C.....	84
Figura 26. Tiempo vs Acidez a temperatura de 4°C.....	85
Figura 27. Tiempo vs Acidez a temperatura de 8°C.....	86
Figura 28. Tiempo vs lactosa a temperatura de 4°C .....	87
Figura 29. Tiempo vs lactosa a temperatura de 8°C .....	88
Figura 30. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 4°C.....	89
Figura 31. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 8°C.....	90
Figura 32. Evaluación sensorial en envase natural a 4°C.....	91
Figura 33. Evaluación sensorial en envase pigmentado a 4°C. ....	92
Figura 34. Evaluación sensorial en envase natural a 8°C.....	92
Figura 35. Evaluación sensorial en envase pigmentado a 8°C .....	93
Figura 36. Aceptación del producto vs el tiempo .....	94

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Requisitos de la Leche cruda.....	16
Anexo 2: Requisitos de las Leches fermentadas.....	19

*14-03-14*

## RESUMEN

### ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS ENVASES PLÁSTICOS EN LA VIDA DE ANAQUEL DE LECHE FERMENTADAS

En la actualidad es importante analizar y estudiar el efecto que tienen los envases plásticos en la vida útil de las leches fermentadas. En este trabajo se elaboró un yogur tipo 1, el mismo que fue sometido a temperaturas aceleradas y a temperaturas de refrigeración para poder elaborar una curva tiempo vs temperatura que permita establecer la vida útil del alimento. El yogur fue envasado en dos contenedores diferentes; uno natural y otro pigmentado para evaluar el efecto del producto en cada uno de ellos. Durante toda la vida útil del alimento se realizaron pruebas fisico-químicas, microbiológicas y sensoriales. Adicionalmente se evaluó la permeabilidad de cada envase sometiéndolos a un ambiente con temperatura y humedad relativa controlados, para así determinar la permeabilidad de cada uno de ellos. Finalmente con todos los datos obtenidos, se determinó el envase plástico que interfiere mayormente en la vida de anaquel del yogur tipo 1.

Palabras clave: leches fermentadas, yogur tipo 1, envase pigmentado, permeabilidad, vida de anaquel.



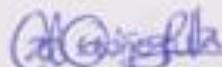
Ing. Fausto Tobías Parra Parra

Director de Escuela



Ing. Claudio Esteban Sánchez Jáuregui

Director



Catalina Elizabeth Ordóñez Pulla

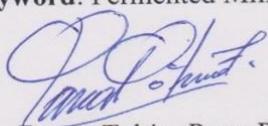
*Received  
14-03-14*

## ABSTRACT

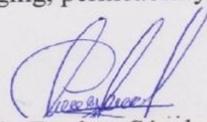
### STUDY OF THE EFFECT OF PLASTIC CONTAINERS IN THE SHELF-LIFE OF FERMENTED MILK PRODUCTS

At present it is important to analyze and study the effect of plastic containers in the useful lifetime of fermented milks. In this paper, a type 1 yogurt was prepared and was subjected to accelerated temperatures and refrigeration temperatures to develop a time curve versus a temperature curve so as to establish its shelf- life. The yogurt was packed in separate containers, one natural and the other pigmented, to evaluate the effect of the product in each. During the useful lifetime of the food, physicochemical, microbiological and sensory tests were conducted. Additionally the permeability of each container was evaluated by exposing them to a controlled temperature and humidity environment to determine the permeability of each one. Finally with all the data obtained, the plastic container that interferes mostly in the shelf-life of yogurt type 1 was determined.

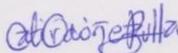
**Keyword:** Fermented Milks, type 1 Yogurt, Pigmented Packaging, permeability, Shelf-Life



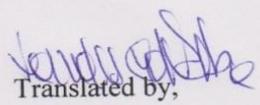
Ing. Fausto Tobías Parra Parra  
School Director



Ing. Claudio Esteban Sánchez Jáuregui.  
Thesis Director



Catalina Elizabeth Ordoñez Pulla  
Author



Translated by,  
Lic. Lourdes Crespo

Ordóñez Pulla Catalina Elizabeth

Trabajo de Graduación

Ing. Sánchez Jáuregui Claudio Esteban

Marzo 2014

## **ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS ENVASES PLÁSTICOS EN LA VIDA DE ANAQUEL DE LECHE FERMENTADAS**

### **INTRODUCCIÓN**

Un envase es aquel objeto que se encuentra en contacto con el alimento y su función es contenerlo desde que ha sido elaborado hasta que se haya entregado al consumidor.

El objetivo principal del envase es proteger al alimento de los agentes externos existentes como; la humedad, el oxígeno y de elementos que pueden alterar y contaminar el producto sin embargo algunos envases presentan interacciones con los alimentos que contienen; como es el caso de los envases plásticos. Un envase plástico está formado de un material orgánico, razón por la cual suele ser más ligero, más liviano algunos más débiles y más susceptibles a las reacciones químicas.

Los plásticos son permeables a gases y vapores y estas propiedades representan una gran desventaja debido a que muchos alimentos como el yogur, son sensibles a la humedad y al oxígeno, por lo tanto la vida útil de estos productos será más corta; otra desventaja es la propiedad que tienen los plásticos de interactuar con el alimento ocasionando migraciones de olores y sabores.

Los plásticos utilizados para envases pueden variar desde ser transparentes como las botellas PET, o botellas de color blanco de polietileno de alta densidad especialmente utilizadas para productos lácteos. Si el alimento necesita una barrera para la luz varios pigmentos pueden ser incluidos durante la fabricación de los envases.

La calidad de varios lácteos en especial del yogur puede verse afectada por la composición del envase en el que se encuentra contenido pero también está

influenciado por otros factores que se deben tener muy en cuenta como; la humidificación de la capa superficial del yogur debido a una condensación de agua en la cara interna de la tapa del envase ya que la presencia de gotas de agua rápidamente generan la separación de suero; otro defecto que puede intervenir en la calidad del producto puede deberse a los microorganismos contaminantes tales como: levaduras y mohos. Para evitar estos problemas se debe tener mucho cuidado con el espacio de cabeza que se deja ya que este genera cantidad de oxígeno disponible, así como precaución con la permeabilidad del envase.

El yogur puede disminuir su vida útil debido a los elementos mencionados anteriormente y también debido a otros factores que deben ser estudiados, como: cambios microbiológicos, cambios químicos deteriorativos, cambios físicos deteriorativos y cambios deteriorativos a partir de la temperatura.

Por lo tanto en el presente estudio se evaluará la vida útil de un yogur tipo 1, envasado en diferentes envases plásticos de alta densidad uno natural y otro pigmentado, para lo cual se realizarán análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales durante toda la vida de anaquel del producto, análisis que nos permitirán obtener resultados comparativos que nos lleven a una conclusión sobre qué envase es el más idóneo para mantener las características del yogur.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general:**

Estudiar el impacto que tienen los envases plásticos en la composición y vida útil de un yogurt tipo 1.

### **Objetivos específicos:**

- ✓ Controlar el contenido de lactosa en el producto conforme avance el tiempo para así detectar los cambios producidos en el alimento.
- ✓ Realizar análisis microbiológicos del producto elaborado para evaluar el contenido de microorganismos viables.
- ✓ Determinar la vida de estante y la vida restante del alimento en estudio.

## **CAPITULO I**

### **ENVASES**

#### **1.1. Envasado de Alimentos**

##### **1.1.1. Definiciones**

Envase Alimentario: “Un envase alimentario es el artículo que se encuentra en contacto directo con los alimentos, destinado a contenerlos desde su fabricación hasta la entrega al consumidor, con la finalidad de protegerlos de agentes externos de alteración y contaminación, así como de adulteración.” (Ariosti, 2009, p.1)

“Se denomina envase al contenedor que está en contacto directo con el producto mismo, su función es guardar, proteger, conservar e identificar el producto, también facilita su manejo y comercialización”. (Manthon, 2012, p.24)

Envase primario: “es el artículo que contiene directamente al alimento, generalmente en una unidad de venta definida”. (Ariosti, 2009, p.1)

“Un envase primario es aquel que está en contacto directo con el producto, casi siempre permanece en él, hasta su consumo”. (Manthon, 2012, p.24)

Envase secundario: “es aquel que contiene a varios envases primarios”. (Ariosti, 2009, p.1)

Envase terciario (de transporte): “Es el utilizado para agrupar, manipular, almacenar y trasladar los productos. Contiene tanto envases primarios como secundarios”. (Manthon, 2012, p.24)

##### **1.1.2. Funciones de un envase en la Industria Alimentaria**

Los envases dentro de la Industria Alimentaria tienen objetivos y funciones tales como:

- Contener alimentos en unidades definidas
- Permitir el transporte adecuado del alimento
- Proteger al producto de factores como:

- Permeabilidad al vapor de agua, gases (oxígeno, dióxido de carbono, nitrógeno, dióxido de azufre), aromas.
- Radiaciones (luz visible, radiación UV)
- Polvo atmosférico
- Líquidos externos
- Microorganismos
- Adulteraciones
- Conservar el alimento con sus características esenciales el mayor tiempo posible.
- Poseer buenas propiedades estructurales y mecánicas
- Facilidad de impresión
- Presentación elegante del producto. (Ariosti, 2009, p.2)

### **1.1.3. Tipos de Envases**

Los tipos de envases más utilizados en la industria de alimentos se desarrollan de materiales como: el aluminio, plástico y vidrio. El aluminio es utilizado mayormente en la industria de bebidas como los jugos, refrescos, cervezas así como para algunos alimentos perecederos enlatados. Mientras que el plástico es el material elegido para la mayoría de productos alimenticios perecederos frescos, se lo utiliza en la elaboración de envases para comidas rápidas desde papas fritas hasta galletas, también son utilizados en la industria láctea como envases rígidos o flexibles al igual que se los usa en envases para snacks y para productos de panadería. El vidrio es el material utilizado para elaborar envases como botellas ya sea para la industria de bebidas, una gaseosa o una pulpa, también es muy común utilizar este material para elaborar frascos contenedores de mermelada.

#### **Aluminio:**

El aluminio es un material relativamente de fácil fabricación, respetuoso con el medio ambiente ya que está elaborado de materiales reciclados y puede ser reutilizado. Los envases fabricados a partir de este material principalmente son las latas. Están formados por hojas muy delgadas de aluminio que pueden usarse solas o en combinación con otros materiales. (Coles, McDowell, Kirwan, 2003).

Entre las propiedades más importantes que presenta el aluminio se destacan:

- Apariencia: en comparación con otros envases ninguno de ellos es tan atractivo como el aluminio, pues debido a sus delgadas hojas es muy fácil de imprimir etiquetas de colores que mejoran su apariencia.
- Resistencia al Vapor de Agua: debido a la impermeabilidad que presenta no tiene índice de transmisión de agua.
- Resistencia a los Gases: Mientras más gruesa sea la capa de aluminio aumenta la barrera que posee contra el oxígeno y otros gases perjudiciales. Pero a espesores menores puede presentarse rancidez y oxidación dependiendo del producto que este contenido dentro del envase.
- Carencia de Absorción: el aluminio tiene la característica de no absorber líquidos, no se contrae ni se expande en contacto con productos fríos o calientes.
- Impermeabilidad a Grasas: el aluminio presenta impermeabilidad a grasas y aceites incluso estas se encuentren a altas temperaturas.
- Carencia de Sabor y Olor: tiene la propiedad de no generar ningún tipo de olor o sabor que pueda perjudicar la calidad del producto.
- Capacidad de Permanencia: ya que el aluminio no es afectado por la luz solar mantiene estable su flexibilidad.
- Resistencia a la Contaminación: altamente resistente a la contaminación causada por polvo exterior, suciedad, grasa entre otros. (Universidad Tecnológica de Perú, 2012)

### **Plástico:**

El plástico es un material muy común en la industria de alimentos debido a todas las ventajas que este ofrece por sus diferentes formas y bajo coste. (Universidad Tecnológica de Perú, 2012) Los envases plásticos están formados por cadenas de monómeros como por ejemplo el etileno y también por polímeros como el polietileno, estos polímeros pueden ser lineales o ramificados.

Clasificación de los Plásticos: Labuza (2011), clasifica a los plásticos de diferentes formas:

- a) Se pueden clasificar según su origen en:
  - Naturales: son aquellos polímeros que se han formado a partir de monómeros de origen natural como puede ser la celulosa, la caseína y el caucho.

- Sintéticos: son aquellos que se han elaborado y extraído del petróleo mediante manipulación del hombre.
- b) Se clasifican según su comportamiento ante el calor en:
- Termoplásticos: son aquellos plásticos que a temperatura ambiente son deformables, pero al calentarlos se derriten transformándose en líquidos, y al ser enfriados se endurece hasta llegar a un estado vítreo.
  - Termoestables: los plásticos termoestables a diferencia de los termoplásticos son completamente rígidos después de haber sufrido el proceso de calentamiento – fusión, y formación – solidificación.

Ariosti (2009, p.8) los nombra de la siguiente manera:

- ✓ Polietileno de baja densidad (PEBD)
- ✓ Polietileno de media densidad (PEMD)
- ✓ Polietileno de alta densidad (PEAD)
- ✓ Polietileno de baja densidad lineal (PEBDL)
- ✓ Polipropileno (PP)
- ✓ Copolímero de etileno-vinil acetato (EVA)
- ✓ Resinas inoméricas (SURLYN)
- ✓ Policloruro de vinilo (PVC)
- ✓ Poliestireno (PS)
- ✓ Poliamidas (NYLON) (PA)
- ✓ Polietilentereftalato (PET)
- ✓ Polietilentereftalato modificado con glicol (PETG)
- ✓ Policarbonato (PC)
- ✓ Policloruro de vinilideno (PVDC)
- ✓ Copolímero de etileno-vinil alcohol (EVOH)
- ✓ Poliacrilonitrilo (PAN)
- ✓ Terpolímero de acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS)
- ✓ Polieterimida (PEI).

Propiedades generales de los plásticos:

Entre las propiedades más importantes que poseen los envases plásticos, La Universidad Tecnológica de Perú (2012) destaca:

- Resistencia a la tensión: característica que expresa la fuerza necesaria para la ruptura de un material al estirar una sección transversal sobre el mismo.
- Resistencia al impacto: la resistencia al impacto es una propiedad beneficiosa sobre todo cuando se fabrican embalajes para productos pesados que están sujetos a sufrir golpes durante su transporte.
- Rigidez: importante en especial cuando se trata de películas plásticas que son manejadas en máquinas automáticas. Es muy utilizado en botellas y en contenedores que requieren máxima resistencia a la compresión con un espesor mínimo en sus paredes.
- Estabilidad térmica: algunos factores intervienen en esta característica.
- Punto de ablandamiento: el mismo que expresa la temperatura a la cual la estructura rígida de los termoplásticos empieza a romperse.
- Índice de fusión: esta propiedad es utilizada para indicar el índice de fluidez de los termoplásticos cuando se les aplica una presión y temperatura determinada a través de un orificio por un tiempo establecido.
- Resistencia al termosellado: fuerza que se aplica para separar dos superficies de plástico termosellado. El que mayor resistencia presenta es el polietileno, mientras que el de menor resistencia es el celofán.
- Resistencia a la humedad: este factor se debe considerar al momento de elegir un plástico que ha de utilizarse para varios productos, es necesario realizar pruebas que verifiquen la resistencia a la humedad del plástico a utilizar ya que algunos productos exigen una protección contra la humedad del aire, mientras que otros necesitan envases que impidan la evaporación de la humedad.
- Barrera contra gases: Para verificar la barrera contra gases es necesario determinar el índice de transmisión de gases específicos como; el nitrógeno, el anhídrido carbónico o el oxígeno, a través de un plástico.
- Elongación: se define como la cantidad que se puede estirar un plástico sin que este se fracture. Mientras mayor sea el estiramiento mejor será su resistencia a impactos y menor la posibilidad de rupturas. Se mide en porcentajes de la longitud original del material.
- Elasticidad: Es catalogada como la capacidad que tiene un plástico para recuperar su forma original después de haber sido sometido a un esfuerzo. Todo material plástico posee un límite de elasticidad que es el grado de estiramiento en el que más allá de ese valor el plástico ya no puede recobrar su estado original.

**Vidrio:**

Los vidrios son materiales sólidos formados por una estructura atómica no cristalina es decir que sus átomos no están ordenados en el espacio. “Se obtienen por enfriamiento de una masa fundida de óxidos inorgánicos en solución mutua y en condiciones controladas para impedir su cristalización”. (Ariosti, 2009, p.69).

El vidrio como envase comprende; botellas, frascos, jarros, tarros y vasos.

Una ventaja del vidrio es que puede ser reciclado varias veces sin que se perjudiquen sus propiedades mecánicas, sin embargo se necesitan altas temperaturas y por consiguiente altos costos energéticos para poder procesar el vidrio. (Universidad Tecnológica de Perú, 2012)

Composición de los vidrios: Según Ariosti (2009); los vidrios utilizados para envases son de tipo sódicos- cálcicos y poseen los siguientes componentes:

- Silice ( $\text{SiO}_2$ ) que se extrae de la arena que es la materia vitrificadora.
- Oxido de Sodio ( $\text{Na}_2\text{O}$ ) el mismo que se extrae del carbonato de sodio, que actúa como agente fundente, con una parte muy pequeña de sodio como material afinante.
- Oxidos de calcio, magnesio y aluminio ( $\text{CaO} + \text{MgO} + \text{Al}_2\text{O}_3$ ) que son aportados respectivamente por la roca calcárea, la dolomita y la nefelina, que actúan como agentes estabilizantes.

-  
Los vidrios más utilizados en la fabricación de botellas, frascos, entre otros destinados para la industria alimentaria son los sódico – cálcicos.

Ventajas Intrínsecas del Envase de Vidrio: La Universidad Tecnológica de Perú (2012) detalla las siguientes ventajas:

- Los envases de vidrio son impermeables a los gases, los vapores y a los líquidos.
- Es químicamente inerte es decir que no presenta compatibilidad con los productos alimenticios.
- Es un material higiénico fácil de lavar y de esterilizar.
- Es inodoro pues no transmite sabores y así no altera el gusto.
- Es generalmente transparente característica que es muy útil para controlar visiblemente el producto garantizando al consumidor su calidad.

- Es fácil de colorear lo que permitirá proteger el producto contra los rayos ultravioletas.
- Puede adoptar varias formas a más de ser un material rígido.
- Resistencia a la presión interna razón por la cual se la utiliza para envasar bebidas carbonatadas.
- Resistencia al shock térmico pues no es necesario enfriar el producto para envasarlo.
- Posee una resistencia mecánica suficiente para soportar golpes producidos durante su empaquetado y transporte.

## **1.2. Estructuras y propiedades químicas de los materiales de envasado**

### **1.2.1. Constituyentes químicos**

Los átomos que componen el material de envase son los que determinarán el tipo de enlaces químicos que pueden formarse y según estos se pueden predecir qué tipo de propiedades químicas se esperan. La mayoría de materiales orgánicos como el plástico y el papel suelen ser más ligeros, más livianos algunos más débiles y más susceptibles a las reacciones químicas, ya que por ser componentes orgánicos pueden presentar interacciones con los alimentos. (Lee, Yam, Piergiovanni, 2012).

### **1.2.2. Enlaces Químicos**

Los enlaces químicos son aquellos que determinarán la cantidad de átomos que son necesarios para formar una molécula. Un enlace químico se forma cuando los electrones del último nivel de dos átomos interactúan entre ellos para alcanzar un estado de energía más estable y más baja. (Lee, Yam, Piergiovanni, 2012).

#### **1.2.2.1. Enlaces Iónicos**

Un enlace iónico se forma por la transferencia de electrones mediante la unión de dos átomos de diferente electronegatividad. Generalmente uno de los átomos suele ser un metal (Li, Na, Al, Fe) ya que su tendencia es la de ceder electrones, mientras que el otro átomo debe ser un no metal (O, S, Cl) este átomo será el que reciba los electrones. Los enlaces iónicos no se encuentran muy comúnmente en los

materiales de envases en comparación con los enlaces covalentes y los enlaces metálicos. (Lee,Yam, Piergiovanni, 2012).

#### **1.2.2.2. Enlaces Metálicos**

Los enlaces metálicos se encuentran en; foils de aluminio y en contenedores metálicos. Los átomos de estos metales generalmente tienen una electronegatividad baja y pueden compartir sus electrones libremente. Los enlaces metálicos son los responsables de la ductibilidad y la maleabilidad de los metales según Lee,Yam, Piergiovanni (2012).

#### **1.2.2.3. Modelo de Enlaces Covalentes**

Lee,Yam, Piergiovanni (2012), describen que los enlaces covalentes son aquellos enlaces que se encuentran mayormente en los materiales plásticos, papel y vidrio. Un enlace covalente se forma cuando dos átomos se unen para compartir los electrones ubicados exteriormente, generalmente estos átomos poseen similares pero altas electronegatividades. Estos átomos son no metales (C,O,N,Cl). Las moléculas de los materiales de empaque son largas y complicadas como por ejemplo el polietileno, mismo que se caracteriza por ser un polímero y su molécula está conformada por miles de enlaces covalentes (C-C, C-H).

#### **1.2.2.4. Fuerzas Intermoleculares**

Mientras que algunos átomos se encuentran unidos fuertemente por enlaces covalentes para formar una molécula, un grupo de moléculas se mantienen unidas muy débilmente por fuerzas intermoleculares. Cuando el PE es perforado o fundido las moléculas que se rompen son aquellas unidas mediante las fuerzas intermoleculares, mientras aquellas moléculas unidas por enlaces covalentes permanecen intactas. Las moléculas que se unen mediante fuerzas intermoleculares son también conocidas como enlaces secundarios y son más débiles que los enlaces primarios (moléculas unidas por enlaces covalentes). (Lee,Yam, Piergiovanni, 2012).

### **1.2.3. Espacios Organizados**

Lee, Yam, Piergiovanni (2012) describen los espacios organizados como la forma en la que las moléculas se encuentran dispersas dentro del material de envase. Los enlaces químicos, los espacios organizados de los átomos y el peso molecular, son factores importantes para la determinación de las propiedades químicas y físicas particularmente de los materiales poliméricos como es el caso del plástico y del papel.

#### **1.2.3.1. Reacciones Químicas y Susceptibilidad de los Envases**

Lee, Yam, Piergiovanni (2012) describen las propiedades químicas como la medición de un fenómeno que está relacionado con una importante función protectora en el envasado de alimentos. Ejemplos de estas propiedades químicas es la combustión, la estabilidad ante la oxidación, la degradación, resistencia a la corrosión del aluminio, acero inoxidable a la hojalata y resistencia a reacciones químicas que resultan ser agresivas.

### **1.3. Polímeros para el envasado de Alimentos**

#### **1.3.1. Estructura Química de los Polímeros**

La palabra polímero se deriva del griego “poly” que significa muchos y del griego “mero” que significa partes, por lo tanto un polímero se compone de varias partes, es una molécula compuesta de miles de repeticiones de monómeros, unidos mediante una reacción de polimerización. (Lee, Yam, Piergiovanni, 2012).

Por ejemplo en caso del polietileno se puede observar la repetición de moléculas de ( $C_2H_4$ ) unidas por enlace covalente para formar una larga cadena. Los átomos que se encuentran al final de la cadena dependen del tipo de polimerización que se haya dado.

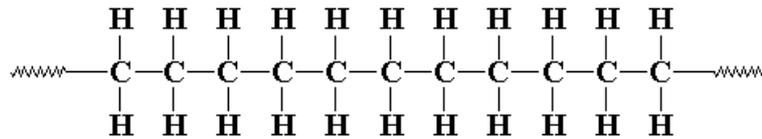


Figura 1. Enlace covalente en la cadena del polietileno

Fuente: Labuza, 2011

### 1.3.2. Estructura Molecular

Lee, Yam, Piergiovanni, (2011) clasifican los polímeros de acuerdo a su estructura en:

- **Lineales:** Un polímero lineal está compuesto por macromoléculas y no posee ramificaciones a lo largo de la cadena. Esta es la forma más simple de un polímero y por esta razón su cadena puede organizarse para formar estructuras muy compactas para aumentar su densidad, el grado de cristalización, la fuerza y sus propiedades de barrera contra los gases. Ejemplos de polímeros lineales son el Polietileno de alta densidad (PEAD) y el policloruro de vinilo (PVC).
- **Ramificados:** Un polímero ramificado se compone de macromoléculas caracterizadas por tener cadenas cortas y largas unidas a la cadena principal. Estas cadenas laterales dificultan el embalaje y el plegamiento de la cadena principal, lo que disminuye la densidad y cristalinidad del polímero. Un ejemplo de polímeros ramificados es el polietileno de baja densidad (PEBD).
- **Entrecruzados:** Los polímeros entrecruzados se caracterizan por ser una red tridimensional de cadenas poliméricas conectadas entre sí, lo que restringe la movilidad de la cadena polimérica, haciendo que los polímeros se vuelvan más resistentes al calor y a los compuestos químicos. (Lee, Yam, Piergiovanni, 2012)

#### 1.3.2.1. Termoplásticos vs Termoestables

Un polímero se clasifica según Labuza (2011), en termoplástico o termoestable dependiendo de la existencia de polímeros entrecruzados.

- **Termoplásticos:** Formados por largas cadenas lineales o ramificadas unidas entre sí solo por enlaces secundarios. Son fundibles y solubles. Presentan

propiedades visco elásticas. Al ser sometidos al calor y a la presión se pueden formar varios envases rígidos y flexibles.

Entre los envases flexibles se encuentran: bolsas, tapas, etc.

Entre los envases rígidos se encuentran: botellas, tarros, tarrinas, bandejas, etc.

- Termoeestables: Son llamados también plásticos endurecidos. Al ser sometidos a elevadas temperaturas forman materiales rígidos y duros. Ejemplos de estos polímeros son los compuestos fenólicos y epoxis.

### **1.3.2.2. Homopolímeros vs Copolímeros**

La diferencia entre un homopolímero y un copolímero se basa en que un homopolímero se sintetiza usando un solo tipo de monómero, por ejemplo el homopolímero del polietileno se produce a partir del monómero del etileno; mientras que los copolímeros se sintetizan por varias especies de monómeros; entre estos polímeros se encuentra el etileno-acetato de vinilo que se produce por la mezcla de los monómeros de etileno y de vinil acetato. (Lee, Yam, Piergiovanni, 2012)

### **1.3.3. Reacciones de polimerización**

La polimerización es una reacción química en la cual se unen por medio de enlaces covalentes miles de monómeros para formar un polímero. Las principales reacciones de polimerización descritas por Lee, Yam, Piergiovanni (2012) son:

- Polimerización por Adición: Conocida también como polimerización por crecimiento de la cadena, es una reacción química en la que los monómeros de la misma especie se unen y forman una larga cadena sin producirse la formación de subproductos. (Labuza, 2011).
- Polimerización por Condensación: Se conoce también por ser una polimerización que se da por etapas y es un proceso en el cual polímeros de diferentes especies se unen químicamente para formar un polímero, en donde también se forman pequeñas moléculas llamadas subproductos

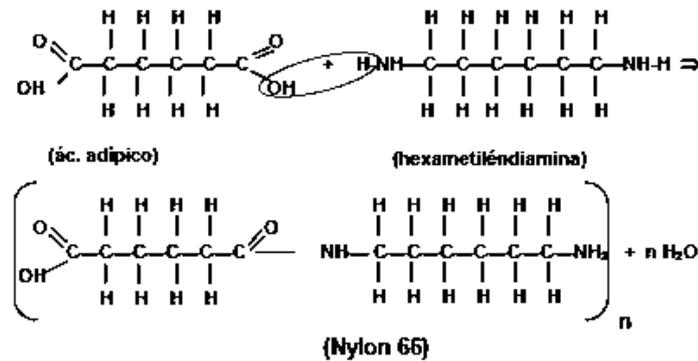


Figura 2. Reacción de polimerización por condensación

Fuente: Labuza, 2011.

### 1.3.3.1. Ventajas y Desventajas de los Plásticos

Las ventajas más importantes del uso de los envases plásticos descritos por Lee, Yam, Piergiovanni, 2012; son: variedad, versatilidad y eficiencia.

Variedad ya que los materiales plásticos ofrecen una gran cantidad de formas como films, bolsas, botellas, copas y bandejas así como innumerables opciones de estructuras incluyendo aquellas que poseen una o varias capas, films con o sin recubrimientos, y contenedores ya sean flexibles o semirígidos. Versatilidad debido a que los plásticos son termosellables, termoformables, resistentes a las rupturas y por sus propiedades pueden ser utilizados para diferentes aplicaciones de envasado de alimentos.

La eficiencia porque se pueden producir grandes volúmenes rápidamente y de la misma manera son fáciles de transportar debido a que no son pesados. Los plásticos son permeables a gases y vapores y estas propiedades representan una gran desventaja debido a que muchos alimentos son sensibles a la humedad y al oxígeno, por lo tanto la vida útil de estos productos será más corta. Otra desventaja es la propiedad que tienen los plásticos de interactuar con el alimento ocasionando migraciones de olores y sabores.

### 1.3.3.2. Características de los polímeros para embalaje

**Peso Molecular:** El peso molecular de un polímero puede afectar sus propiedades físicas. Cuando el peso molecular de un polímero aumenta las propiedades como la tensión, las fuerzas de impacto se incrementan drásticamente antes de que lleguen

a estabilizarse, mientras que la viscosidad aumenta lentamente para posteriormente incrementar su velocidad. (Lee, Yam, Piergiovanni, 2012)

Cadenas Moleculares Enredadas: Los polímeros poseen una característica única y es la habilidad que tienen las cadenas de los polímeros de enredarse unas con otras.

### **1.3.3.3. Polímeros para el envasado de Alimentos**

Los polímeros más utilizados para la fabricación de envases son los termoplásticos usados principalmente para la elaboración de fundas plásticas, bandejas entre otros.

Polietileno (PE): El polietileno es el polímero más común para la fabricación de envases de alimentos principalmente por su bajo costo de producción, su fácil procesamiento así como por sus buenas propiedades mecánicas según Labuza (2011). La composición química del polietileno es la más simple de todos los polímeros ya que se encuentra formado por cadenas lineales de hidrocarburos.

Dentro de la clasificación del polietileno se encuentran:

- Polietileno de Alta Densidad (PEAD)
- Polietileno de Baja Densidad (PEBD)
- Polietileno de Baja Densidad Lineal (PEBDL)

Esta clasificación los hace diferir tanto en densidad, cadenas ramificadas y en cristalinidad.

El polietileno de alta densidad (PEAD) es un polímero lineal con pocas ramificaciones en la cadena lateral y por lo tanto sus moléculas pueden plegarse y meterse en una estructura opaca y altamente cristalino. En comparación con el polietileno de baja densidad (PEBD) el polietileno de alta densidad (PEAD) posee un mayor punto de fusión (135°C vs 110°C) mayor tensión a la tracción y a la dureza, también poseen una mejor resistencia química. El PEAD es usado para la fabricación de botellas para productos lácteos o agua embotellada, y también para films, contenedores de alimentos, revestimientos por extrusión, etc.

## **CAPITULO II**

### **CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO**

#### **2.1. Leche Generalidades**

##### **2.1.1. Definiciones**

Leche: “Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo.” (NTE-INEN 9:2012). Anexo 1

Leche cruda: “Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40°C)”. (NTE-INEN 9:2012)

Leche pasteurizada: “Es la leche cruda homogenizada o no, que ha sido sometida a un proceso térmico que garantice la destrucción total de los microorganismos patógenos y la casi totalidad de los microorganismos banales (saprofitos) sin alterar sensiblemente las características fisicoquímicas, nutricionales y organolépticas de la misma.” (NTE-INEN 9:2012)

##### **2.1.2. Características de la Leche**

###### **2.1.2.1. Composición física de la leche**

Según la norma NTE INEN 9:2012 la leche debe ser de color blanco opalescente o ligeramente amarillento. Debe poseer un olor suave que sea característico de los lácteos y libre de olores extraños. Su aspecto debe ser completamente homogéneo es decir no debe presentar materias extrañas.

REQUISITOS	UNIDAD	MIN	MAX	MEDODO DE ENSAYO
Densidad relativa: a 15°C y 20°C	..	1,029	1,033	NTE INEN 11
		1,028	1,032	
Materia grasa	% (Fracción masa)	3	..	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	% (Fracción masa)	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	% (Fracción masa)	11,2	..	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (Fracción masa)	8,2	..	.
Cenizas	% (Fracción masa)	0,65	..	NTE INEN 14
Punto de congelación	% (Fracción masa)	-0,536	-0,512	NTE INEN 15
Proteínas	% (Fracción masa)	2,9	--	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa		3	--	NTE INEN 018

Tabla 1. Requisitos físicos químicos de la leche cruda

Fuente: NTE-INEN 9:2012

### 2.1.2.2. Composición química de la leche

La leche como materia prima deberá cumplir con todos los requisitos físicos químicos y microbiológicos descritos en la norma NTE-INEN 9:2012 de leche cruda. En cuanto a la composición de la leche ésta se encuentra conformada por la lactosa que es el carbohidrato característico de la leche, posee materia grasa constituida por triglicéridos diferentes que forman una compleja mezcla, también presenta pequeñas cantidades de otros lípidos tales como los fosfolípidos, el colesterol, los ácidos grasos libres y diglicéridos. Mientras que a lo referente a las proteínas de la leche más de las cuartas quintas partes de la proteína presenta en la leche son caseínas mismas que se encuentran formadas por mezclas de al menos diez proteínas diferentes; el resto de proteínas corresponden a las llamadas proteínas del suero y a otras proteínas minoritarias como las enzimas. Los principales minerales presentes en la leche son: K, Na, Ca, Mg, Cl y fostato.

**Carbohidratos:** El principal carbohidrato de la leche es la lactosa al ser un azúcar es percibida por su sabor ligeramente dulce. La presencia de la lactosa en la leche es constante según algunos autores con valores de 3%-4,5%. (Cabrera, 2011). Químicamente la lactosa es un disacárido formado por glucosa y galactosa.

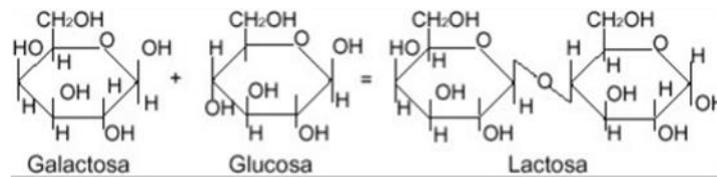
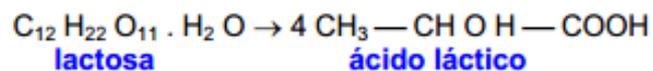


Figura 3. Estructura molecular de la lactosa

Fuente: Badui, 2006

Por acción de las bacterias lácticas la lactosa es transformada en ácido láctico mediante la siguiente reacción:



Fuente: (Celis, Juarez, 2009)

Grasa: Según la norma NTE-INEN 9:2012 el contenido de grasa de una leche cruda entera será como mínimo del 3% pudiendo variar este valor debido a factores como la raza del animal. (Wattiaux, 2003).

Proteínas: Aproximadamente el 95% del nitrógeno en la leche se encuentra en forma de proteína. Las proteínas de la leche se encuentran clasificadas en dos grupos: caseínas (80%) y proteínas séricas (20%) (Wattiaux, 2003). La caseína es definida como la proteína que precipita en la leche con un pH de 4,6 y por lo tanto se la considera insoluble a su pH isoeléctrico.

Minerales y vitaminas: La leche es principalmente rica en potasio, fósforo, calcio y magnesio, posee hierro pero debido a su bajo contenido de este mineral no alcanza a satisfacer la dieta de los humanos. Celis, Juarez, (2009) han clasificado a las vitaminas en dos grupos; vitaminas liposolubles y vitaminas hidrosolubles.

Enzimas: Las enzimas nativas de la leche es decir que son secretadas por la glándula mamaria son las catalasas; mientras que las enzimas de origen microbiano son las proteinasas y lipasas. Algunas de las enzimas de la leche presentan actividad antimicrobiana mientras que otras facilitan la absorción de componentes de la leche a nivel intestinal cuando termina la lactancia, enzimas de este tipo son la plasmina y la lipoprotein lipasa. (Walstra, 2001).

### 2.1.2.3. Microbiología de la leche

Para Celis, Juarez, (2009) la leche es considerada un medio adecuado y propicio para el crecimiento de los siguientes microorganismos:

Bacterias:

Gram positivas:

- Lácticas
- Micrococos
- Estafilococos
- Esporulados

Gram negativas:

- Enterobacterias
- Acromobacterias
- Micobacterias

Levaduras:

- Hongos

## 2.2. Leche fermentada

El INEN en la norma NTE-INEN 2395:2011, define a la leche fermentada natural como el producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, elaborado a partir de la leche por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica). Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de vencimiento; en cantidad de  $10^7$  UFC/gr y un mínimo de  $10^6$  UFC/gr de bacterias probióticas. Anexo 2.

Yogur: "Producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de esta con derivados lácteos, mediante la acción de bacterias lácticas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Sreptococcus salivaris* subsp.

*thermophilus*, pudiendo estar acompañadas de otras bacterias benéficas.” (NTE-INEN 2395:2011).

### **2.2.1. Clasificación de las leches fermentadas**

El INEN clasifica a las leches fermentadas de la siguiente manera:

Según su contenido de grasa:

- Tipo I. Elaborado con leche entera, leche íntegra o leche integral.
- Tipo II. Elaborado con leche semidescremada o semidesnatada.
- Tipo III. Elaborado con leche descremada o desnatada.

De acuerdo a los ingredientes en:

- Natural,
- Con ingredientes

De acuerdo al proceso de elaboración:

- Batido,
- Coagulado o aflanado,
- Tratado térmicamente,
- Concentrado,
- Deslactosado. (NTE-INEN 2395:2011).

### **2.2.2. Tipos de leches fermentadas según los microorganismos utilizados**

Mateos, (2005) clasifica a las leches fermentadas según los microorganismos utilizados del siguiente modo:

- Las leches fermentadas obtenidas con microorganismos termófilos (fermentación láctica entre 30 y 45°C).  
Con fermento único: como la leche acidófila obtenida únicamente por *Lactobacillus acidophilus*.

Con fermentos mixtos: como el yogur obtenido por la combinación de las bacterias *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivaris* subsp. *Thermophilus*.

- Las leches fermentadas obtenidas por microorganismos mesófilos (entre 10 y 40°C y generalmente una fermentación láctica por debajo de 30°C).

## 2.3. Generalidades del Yogur

### 2.3.1. Composición del Yogur

La composición del yogur variará de un tipo a otro dependiendo de la materia prima utilizada para su elaboración, de los ingredientes que han sido adicionados durante el proceso, y del tipo de proceso escogido.

Los requisitos que deben cumplir los diferentes tipos irán acorde a la norma NTE-INEN 2395:2011

REQUISITOS	ENTERA		SEMIDESCREMADA		DESCREMADA		METODO DE ENSAYO
	Min %	Max %	Min %	Max %	Min %	Max %	
Contenido de grasa	2,5	..	1	<2,5	..	<1	NTE INEN 12
Proteína % m/m En yogur, kéfir, kumis, leche cultivada	2,7	..	2,7	..	2,7	..	NTE INEN 16
Alcohol etílico, % m/v En kefir suave, En kefir fuerte, kumis	0,5 .. 0,5	1,5 3 ..	0,5 .. 0,5	1,5 3 ..	0,5 .. 0,5	1,5 3 ..	NTE INEN 379

Tabla 2. Especificaciones de las leches fermentadas. NTE - INEN 2395:2011

Fuente: Norma INEN 2395:2011

Debido a que en la norma NTE - INEN 2395:2011 no posee un valor referente a la acidez se tomará como referencia la norma NTE - INEN 2395:2006.

REQUISITOS	TIPO I		TIPO II		TIPO III		METODO DE ENSAYO
	Min %	Max %	Min %	Max %	Min %	Max %	
Contenido de grasa	3	..	1	<3	..	<1	NTE INEN 12
Acidez %min							
Yogur	0,6	1,5	0,6	1,5	0,6	1,5	
Kefir	0,5	1,5	0,5	1,5	0,5	1,5	
Kumis	..	0,7	..	0,7	..	0,7	
Leche Cultivada	0,6	2	0,6	2	0,6	2	
Bebida Láctea	0,5	1,5	0,5	1,5	0,5	1,5	NTE INEN 13

Tabla 3. Especificaciones de las leches fermentadas. NTE - INEN 2395:2006.

Fuente: Norma INEN 2395:2006

La composición típica del yogur es:

Grasa	3-5%
Lactosa	3-4,5%
Sólidos lácteos no grasos (SNG)	11-13%

Fuente: Cabrera J. Estudio de prefactibilidad e impacto ambiental para el establecimiento de una planta de procesamiento de lácteos en la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas. Quito 2011. p.27.

### 2.3.2. Fermentación Ácido Láctica

La lactosa es el carbohidrato que provee la fuente principal de energía para la mayor parte de las bacterias que se desarrollan en la leche. Los microorganismos actúan hidrolizando a la lactosa en galactosa y glucosa y los convierte en ácido láctico aunque parte de la galactosa no puede ser metabolizada. Las bacterias lácticas se encuentran clasificadas en dos grupos: las homofermentativas y las heterofermentativas. Las bacterias homofermentativas se caracterizan por producir solamente ácido láctico a través de la siguiente reacción:



Mientras que las bacterias heterofermentativas además de producir ácido láctico, producen CO<sub>2</sub>, ácido acético y etanol. El ácido láctico inhibe el desarrollo de casi todos los microorganismos y se puede producir entre el 1% y el 2% de ácido láctico. (Walstra, 2001).

### **2.3.2.1. Bacterias Lácticas**

Las bacterias lácticas utilizadas para la elaboración de lácteos son Gram positivas (+) con la excepción del género *Acteobacter*. Se caracterizan por ser bacterias anaerobias y no forman esporas, acidifican la lactosa formando ácido láctico, son tolerantes de pH bajos, no pueden reducir los nitratos y no pueden producir ATP por transferencia de electrones. (R, Hernández, Verdalet, 2013).

### **2.3.2.2. Cultivos Iniciadores**

Walstra, (2001) describe a los cultivos iniciadores o estárteres como aquellos que están constituidos por uno o más tipos de bacterias lácticas, que son añadidas a la leche para su fermentación.

Jay, Loessner, Golden, (2009) afirman que los cultivos iniciadores siempre incluyen bacterias que convierten la lactosa en ácido láctico, y dicen que un buen iniciador debe ser capaz de transformar la mayor parte de la lactosa en ácido láctico. La acidez titulable puede llegar a valores entre 0,8-1,0% expresados en ácido láctico y el pH suele disminuir hasta 4,3-4.5.

Propiedades de los cultivos iniciadores:

Las transformaciones bioquímicas que sufren los componentes de la leche gracias a las bacterias lácticas producen cambios importantes en los productos fermentados. Entre los más importantes se destacan:

Producción de ácido láctico a partir de la lactosa: El ácido formado debido a la transformación de la lactosa interfiere en tres aspectos importantes:

- La conservación del producto
- La textura del producto
- El flavor del producto

Formación de distintos compuestos durante la fermentación de la lactosa y el metabolismo del ácido cítrico.

- Componentes del flavor

- Dióxido de Carbono
- Exopolisacáridos bacterianos

Proteólisis: Este punto tiene influencia sobre los siguientes puntos:

- La consistencia del producto
- El flavor del producto

En forma de resumen las bacterias lácticas llevan a cabo transformaciones que determinarán la vida útil, seguridad así como la textura y consistencia de los productos fermentados.

### **2.3.3. Las bacterias del yogur**

Walstra, 2001 afirma que la flora del yogur se encuentra formada por las bacterias lácticas termófilas *Streptococcus Thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus*.

Una de las características principales del yogur es el flavor, y para que este se desarrolle las bacterias deberán encontrarse en una proporción aproximadamente igual recomendada de 1:1. Las bacterias proteolíticas que se encuentran en el producto favorecen el crecimiento de los estreptococos por la formación de péptidos y de aminoácidos (valina). Generalmente en el yogur se da un proceso conocido como antibiosis ya que los cocos no se siguen desarrollando una vez que el yogur ya haya alcanzado una acidez determinada.

Por otro lado los bacilos son más resistentes a la formación de ácido por esta razón su crecimiento no se detiene. Las dos especies mencionadas anteriormente es decir los *Streptococcus* y los *Lactobacillus* intervienen en la determinación de las propiedades del yogur. En el producto se verá primeramente un crecimiento de los *Streptococcus* debido a que los bacilos sintetizan factores de crecimiento, pero posteriormente su crecimiento se verá afectado por la acidez. Mientras que los bacilos empiezan a crecer más rápidamente pues son estimulados por los factores de crecimiento ( $\text{CO}_2$  y ácido fórmico) producidos por los *Streptococcus*. Hasta ese momento el yogur debe alcanzar la acidez deseada y se restablece la proporción inicial de bacterias. Si el producto no se refrigera correctamente o si la incubación es prolongada los microorganismos predominantes serán los *Lactobacillus*.

### **2.3.4. Probióticos y Prebióticos**

Jay, Loessner, Golden (2009) describen a un probiótico como un producto que contiene microorganismos vivos y que benefician a quien los consume. Mientras que otros autores citan a un probiótico como: un microorganismo vivo que proporciona efectos benéficos sobre la flora intestinal provocando un mejor balance microbiológico (R Eryck, Hernández Silva, Verdalet Guzmán Iñigo. 2003)

Este término ha sido aplicado a muchos alimentos que poseen la característica de brindar beneficios clínicos a sus consumidores. Uno de los alimentos probióticos mayormente consumidos según Jay, Loessner, Golden, 2009 es el yogur pues mitiga los síntomas de la intolerancia a la lactosa.

Los probióticos al ser parte de un producto deben sobrevivir en él en cantidad suficiente para que se garantice una estabilidad en el almacenamiento del producto final y que se mantengan todas sus propiedades benéficas después de su consumo. La introducción de microorganismos probióticos han permitido mejorar la post acidificación del yogur y a más de eso genera beneficios sobre las personas que lo consumen.

Por otro lado a los prebióticos no se los considera como microorganismos. Jay, Loessner, Golden (2009) los describen como sustancias sustrato para la microbiota nativa, pobladora del colón del consumidor. Los prebióticos no son digeribles por el ser humano, por lo que atraviesan el intestino delgado y acceden intactos al intestino grueso.

#### **2.3.4.1. Interacciones entre probióticos y compuestos de alimentos fermentados**

Los productos lácteos fermentados que contienen bacterias vivas en especial probióticos deben ser refrigerados durante su almacenamiento lo cual garantizará la supervivencia de estos microorganismos. Por otro lado se debe tener presente el contenido de oxígeno, la oxidorreducción, y la actividad de agua del medio. Los probióticos interactúan con su medio ambiente intercambiando componentes con el medio por productos metabólicos. Las propiedades proteolíticas y lipolíticas de los probióticos son importantes al momento de una degradación posterior de

proteínas y lípidos; efecto que tendría reacciones importantes en el gusto y el sabor del producto final. (Kunt, 2008)

Al momento de producir lácteos fermentados se debe tomar en cuenta los efectos sinérgicos y antagónicos que se producen. El sinergismo nace de la protosimbiosis de las bacterias lácticas propias del yogur, este sinergismo es visto como una acidificación acelerada y eficiente de la leche, y la multiplicación de los cultivos se basa en una alimentación cruzada entre ambos microorganismos, lo que no es una característica de estas especies pero sí de sus cepas específicas así lo describe Kunt, (2008).

En cambio el antagonismo se basa comúnmente en la producción de sustancias que inhiben o interactúan con otros microorganismos iniciadores relacionados y también con bacterias no relacionadas. El antagonismo es causado por bacteriocinas y es percibido como una propiedad deseable de los probióticos, sin embargo el antagonismo de estos cultivos iniciadores podría considerarse como un factor limitante para la combinación de probióticos y cultivos iniciadores.

### **2.3.5. Problemas en el yogur**

#### **2.3.5.1. Sinéresis**

Para describir el proceso de sinéresis se debe tomar en cuenta la composición física del yogur y Walstra (2001) describe a la estructura del yogur como una red de partículas agregadas, sobre las cuales se han depositado parte de las proteínas séricas que se han desnaturalizado por el calor. La sinéresis es resultado de una reorganización de esta red, lo cual da lugar a que haya un incremento en el número de uniones entre las partículas. Debido a este proceso la red tiende a contraerse y expulsa el líquido intersticial (líquido contenido entre las células) que lleva dentro. La sinéresis depende directamente de la temperatura a la que ha sido incubado el yogur.

Otro factor que puede causar una sinéresis es la agitación del producto cuando este se haya ya dentro de su envase y aún no ha sido formado un gel suficientemente fuerte, el yogur sufrirá roturas localizadas que posteriormente generarán la sinéresis. Otro problema que genera este efecto es la humidificación de la capa superficial del yogur debido a una condensación de agua en la cara

interna de la tapa del envase, la presencia de gotas de agua rápidamente generan la separación de suero. Por último se debe considerar el pH del yogur ya que si este desciende por debajo de 4, también puede generar este fenómeno, en especial si la temperatura del producto es alta y este ha sido agitado.

### **2.3.5.2. Defectos del flavor y vida útil**

Los principales problemas que afectan directamente la calidad del yogur son las reacciones que se siguen produciendo en el producto. La fermentación del yogur continúa durante su distribución y venta, por lo tanto puede desarrollar una acidez excesiva e indeseable hasta llegar al consumidor. Por otra parte el producto puede generar amargor como consecuencia de la proteólisis, su gravedad dependerá los microorganismos utilizados en el proceso.

El producto es refrigerado para así evitar la acidificación pero incluso a estas bajas temperaturas la acidificación y otras reacciones enzimáticas se siguen desarrollando, aunque sea de una forma lenta. Otro defecto que puede intervenir en la calidad del producto puede deberse a los microorganismos contaminantes tales como: levaduras y mohos. El aroma del yogur es alterado cuando estos microorganismos alcanzan recuentos de  $10^4$  levaduras y mohos por mililitro. Para evitar este problema se debe tener extremo cuidado con el volumen del espacio de cabeza ya que este genera cantidad de oxígeno disponible así como precaución con la permeabilidad del envase.

Otro aspecto importante es la falta de flavor característico debido a las bajas temperaturas de incubación, crecimiento excesivo de *Streptococcus* o que las cepas de *Lactobacillus* no sean buenas productoras de aroma. También una acidificación insuficiente debido a una adulteración de la materia prima, puede generar productos con poco aroma y sabor.

### **CAPITULO III**

#### **VIDA ÚTIL O SHELF LIFE**

Morales (nd), cita a Charm 2007, quien define que la vida útil se determina al someter a estrés el producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de vida útil mediante utilización de modelos matemáticos (útiles para evaluación de crecimiento y muerte microbiana), pruebas en tiempo real (para alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) en donde el deterioro es acelerado y posteriormente estos valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas.

Para determinar la vida útil es necesario identificar la variable que causa los principales cambios en el alimento y que son detectados por el consumidor. Para el caso del yogur se puede considerar como variable la acidez ya que si esta se incrementa el producto pierde sus características organolépticas y así su calidad.

#### **3.1. Conceptos de Vida útil**

Desde el punto de vista sensorial se puede describir la vida útil de un alimento como el tiempo que transcurre entre la producción/envasado del producto y el punto en el cual se vuelve inaceptable bajo determinadas condiciones ambientales (Ellis, 1994). La vida útil de un alimento finaliza cuando el producto presenta un riesgo para la salud del consumidor o porque las propiedades organolépticas y de calidad se han deteriorado. La evaluación sensorial del alimento es muy importante ya que de esta manera se identifican las características y anomalías dentro del producto.

#### **3.2. Factores que intervienen en la vida útil**

La vida de anaquel de un producto puede ser afectada por diferentes factores clasificados por Kilcast, Subramaniam (2000), en intrínsecos y extrínsecos.

Intrínsecos: incluyen las propiedades del producto final y son afectados por variables como el material de envase, la formulación y estructura del producto.

Estas propiedades son:

- Actividad de agua
- pH
- Potencial Redox (Eh)
- Oxígeno disponible
- Nutrientes
- Microflora natural
- Naturaleza bioquímica de la formulación del producto
- Aditivos en la formulación del producto

Extrínsecos: son aquellas características que posee el producto final y pueden afectar a la composición de este a lo largo de la cadena alimentaria. Pueden interactuar de formas impredecibles. Los factores extrínsecos se describen a continuación:

- Tiempo y temperatura durante el procesamiento, así como el espacio de cabeza del envase.
- Control de la temperatura durante el almacenamiento y distribución.
- Humedad relativa durante el procesado, almacenado y distribuido.
- Exposición a la luz UV durante el procesamiento, almacenamiento y distribución.
- Recuentos microbianos durante el procesamiento, almacenamiento y distribución.
- Composición de la atmósfera al interior del envase.
- Tratamientos térmicos posteriores como por ejemplo tratamientos térmicos como el cocinado antes de su consumo.
- Manejo del consumidor.

### **3.2.1. Factores limitantes de la vida útil**

Para Kilcast, Subramaniam (2000) entre los principales factores que limitan la vida útil de un alimento se encuentran:

Cambios microbiológicos: El crecimiento de microorganismos puede causar deterioros en el producto y pueden ser fácilmente identificados por los cambios sensoriales como por ejemplo el visual ya que el crecimiento de moho, la

generación de malos olores y sabores y los cambios en la textura, frecuentemente son originados por la acción de las enzimas producidas por microorganismos.

**Cambios químicos deteriorativos:** Estos cambios suelen producirse por el alimento o por los componentes del alimento al interactuar con factores externos como el oxígeno. Entre los principales cambios que pueden presentarse se encuentran: la rancidez de los alimentos con altos contenidos de grasa, reacciones de oxidación y de reversión enzimática, hidrólisis química, pardeamiento no enzimático entre otros. También la exposición a la luz, puede causar deterioro en productos derivados de la leche.

**Cambios físicos deteriorativos:** Uno de los principales cambios físicos que se dan, es la transferencia de humedad, aunque también puede darse migración de grasas, estos fenómenos deterioran el alimento. Otro cambio físico es el que se produce a nivel de envase al reaccionar este con la composición del alimento; esta interacción afecta la permeabilidad del envase y consecuentemente se modifica la atmósfera interna del alimento lo que originará contaminación microbiana.

**Cambios deteriorativos a partir de la temperatura:** Este cambio puede ocurrir a temperaturas elevadas o a bajas temperaturas. El aumento de la temperatura, generalmente incrementa la velocidad de las reacciones químicas que pueden dar lugar al deterioro. El aumento de la temperatura puede también cambiar las características de cristalización de los alimentos que contienen jarabe de azúcar.

### **3.3. Cálculo de vida útil**

#### **3.3.1. Paneles sensoriales**

Los cambios sensoriales producidos en el alimento pueden ser medidos por un panel entrenado y capacitado para identificar las características organolépticas del producto conforme avanza el tiempo. El uso de cualquier prueba sensorial requiere de un conjunto apropiado de los procedimientos éticos que están diseñados para proteger la salud de los evaluadores. Las pruebas microbiológicas deben ser realizadas antes de las pruebas sensoriales y se debe omitir la catación en caso de que existan dudas acerca de la calidad del producto.

### **3.3.2. Mediciones físicas**

Las pruebas físicas más comunes miden los cambios en la textura de los productos. Estos cambios pueden ser el resultado de reacciones químicas que se producen en el alimento, tales como las causadas por la interacción de los ingredientes del producto o influencias, como la migración de humedad a través del envase.

### **3.3.3. Mediciones químicas**

Los análisis químicos son importantes en las pruebas de vida útil, ya que pueden ser utilizados ya sea para medir los puntos finales de las reacciones químicas que se producen en los alimentos durante el almacenamiento, o para confirmar los resultados obtenidos por los paneles sensoriales.

### **3.3.4. Mediciones microbiológicas**

Se deben tomar en cuenta dos parámetros importantes en la determinación de la estabilidad microbiológica de un producto:

1. El crecimiento microbiano, lo que produce la descomposición del producto.
2. El crecimiento de patógenos microbianos que afectan a la seguridad del producto.

Factores como: la actividad de agua, temperatura de almacenamiento, el tiempo y el pH pueden ser usados para predecir los microorganismos que son propensos a crecer en el producto. Se puede calcular el tiempo de deterioro de un producto al someterlo a diferentes temperaturas y realizando recuentos microbianos durante su periodo de almacenamiento.

## **3.4. Predicciones sensoriales de vida útil**

### **3.4.1. Métodos de Evaluación sensorial para la determinación de vida útil**

Kilcast (2000), establece que está mal comparar a la evaluación sensorial con el término degustación, ya que este no incluye todos los procesos perceptivos

involucrados con los alimentos. Cuando comemos, percibimos toda una gama de diferentes características relativas a la apariencia, sabor y textura de los alimentos. Las diferencias fisiológicas entre los individuos dan lugar a una serie de respuestas diferentes. Además, las diferencias étnicas y culturales en la experiencia de los alimentos ampliarán aún más la respuesta de los consumidores.

#### **3.4.1.1. Principios de la evaluación sensorial**

Los sentidos: El sentido de la vista es el más importante, ya que el impacto visual generará la primera impresión de un alimento, si hay una percepción negativa, el resto de los sentidos tenderán a rechazar el producto. El sentido del gusto en cambio, está relacionado con la respuesta de la lengua a las distintas sensaciones; sal, dulce, ácido y amargo, estos son detectados por las papilas gustativas de la lengua y envían una respuesta al cerebro. El sentido olfativo es mucho más complejo ya que los olores son detectados por el epitelio olfativo y los receptores pueden ser fácilmente saturados.

Se cree que la amplia gama de posibles respuestas de olor contribuyen a la variedad en la percepción del sabor. La textura es percibida por el sentido del tacto; los estímulos visuales generan una expectativa de propiedades de textura. Los estímulos táctiles pueden surgir de la manipulación de la comida con las manos y los dedos, ya sea directamente o por medio de utensilios como un cuchillo o una cuchara.

Pruebas Sensoriales Discriminativas: Las pruebas de discriminación son las más sencillas y por lo tanto las más utilizadas en la industria. Se pueden utilizar de dos maneras: para determinar si hay una diferencia entre dos muestras, o para determinar si una muestra tiene más o menos de un atributo específico que otro.

Pruebas de aceptación de los consumidores: Estas pruebas otorgan una medición directa sobre la opinión y gusto del consumidor. El objetivo es preguntar a una muestra de catadores la aceptación y percepción del producto acerca del sabor, olor, aspecto y textura.

### 3.5. Pruebas Aceleradas (ASLT)

Este método es de gran ayuda para las empresas que se dedican a la producción de alimentos, ya que les permitirá saber rápidamente la vida útil de un alimento que está próximo a lanzarse. Para realizar estas pruebas se deben conocer claramente las características de almacenamiento del producto. Estas pruebas trabajan conjuntamente con los resultados de productos almacenados a temperatura ambiente y con los resultados de una prueba acelerada. El objetivo de una prueba acelerada es que mediante el cambio de una condición en el almacenamiento, sea químico o físico y que conduce a un deterioro acelerado, la vida útil a temperatura ambiente pueda ser definida. Estas pruebas se aplican a cualquier proceso deteriorativo que posea un modelo cinético, estos procesos pueden ser físicos, químicos o microbiológicos.

#### 3.5.1. Enfoque inicial

Una de las técnicas más sencillas para determinar la vida útil, según establece Mizrahi (2000); es el método de enfoque inicial, y se aplica en casos en el que el proceso de deterioro es supervisado por un método analítico. Este método debe medir los cambios producidos en el alimento tras ser sometido a un periodo corto de almacenamiento, para lo cual es necesario obtener los datos para el cálculo de la velocidad inicial. Para conocer la vida de estante del alimento se necesita evaluar el cambio producido con el paso del tiempo. Cuando la reacción es de orden (n) y existe un cambio en la concentración se interpreta con la siguiente reacción:

$$\frac{dA}{dt} = KAn \quad (1)$$

En donde:

A = Variable de calidad en estudio

t= tiempo

K= Constante dependiente de la temperatura

n= orden de reacción

Si la reacción producida presenta pérdidas la ecuación llevará el signo negativo, pero si existen incrementos la ecuación llevará el signo positivo. (Morales, 2011, cita a Labuza 1982). Las reacciones dentro de los alimentos ocurren a diferentes

velocidades y según estas se obtienen el tipo de reacción, las mismas que se clasifican en:

Reacciones de orden cero: Se consideran reacciones de orden cero a los siguientes procesos: pardeamiento enzimático, oxidación de lípidos, pardeamiento no enzimático, pérdida de calidad en los alimentos congelados.

Reacciones de primer orden: Se consideran reacciones de primer orden a los siguientes fenómenos: crecimiento y destrucción microbiana, pérdida de compuestos nutritivos, pérdida de calidad en enlatados, oxidación de algunos lípidos y pérdida de complejo B.

Para las reacciones de orden cero la tasa de cambio de la variable de interés permanece constante siempre que la temperatura y la actividad de agua también lo sean, y su ecuación es la siguiente:

$$\frac{dA}{dt} = k \quad (2)$$

Integrando (2) para el valor inicial se obtiene:

$$A = A_0 - kt \quad (3)$$

En el caso de las reacciones de primer orden, la tasa de degradación no es constante y sigue un comportamiento exponencial definido por (4), que luego de integrarlo con respecto al tiempo se expresa según (5). (Morales, 2011).

$$-\frac{dA}{dt} = kA^1 \quad (4)$$

$$\ln\left(\frac{A}{A_0}\right) = -kt \quad (5)$$

El método de enfoque inicial tiene la ventaja de que se pueden obtener datos en un tiempo relativamente corto y requiere de un modelo cinético simple con su orden de reacción.

### 3.5.2. Enfoque del modelo cinético

Este método es el más común en las pruebas de vida útil aceleradas y requiere de los siguientes pasos descritos por Mizrahi, (2000):

- Selección de los factores cinéticamente activos deseados para la aceleración del proceso deteriorativo.
- Ejecución del estudio cinético de un proceso deteriorativo para verificar si la tasa de deterioro es lo suficientemente rápida.
- Evaluar los datos del modelo cinético extrapolando los resultados de las condiciones de almacenamiento normales.
- Utilización los datos extrapolados para determinar la vida útil real en condiciones de almacenamiento.

#### 3.5.2.1. Factor sencillo de aceleración

El método más simple y más comúnmente usado de ASLT se basa en el empleo de un único factor a acelerar el proceso de deterioro. La simplicidad de este método está relacionado tanto con el procedimiento experimental y la extrapolación de los datos. Sin embargo el método debe basarse en un conocimiento previo de su validez, el modelo de Arrhenius que relaciona la velocidad de una reacción química con los cambios de temperatura es el mejor ejemplo de que el método ha sido validado. Este modelo se representa con la siguiente ecuación:

$$K=K_0 e \exp\left(\frac{-Ea}{RT}\right) \quad (6)$$

En donde:

$K$ = constante de reacción a cualquier temperatura

$K_0$ = constante de reacción a una temperatura inicial

$e$ = número natural (2,718)

$Ea$ = energía de activación

$R$ = constante universal de los gases (1,986 Cal/mol°k)

$T$ = temperatura absoluta expresada en °k

### **3.5.3. Problemas en las pruebas aceleradas**

Estos problemas pueden clasificarse en tres puntos. El primero es cuando se cree que no existe ningún método cinético para los factores acelerativos que causan la reacción. El segundo se da cuando el modelo existe pero este a su vez es muy complicado y requiere de un gran número de parámetros. El tercer punto está relacionado con la aplicación de las pruebas rápidas.

Efectos dependientes del tiempo: Todos los métodos de aceleración de las pruebas de estabilidad de los productos, tienen como objetivo predecir el progreso de deterioro basado en el orden de la reacción, esta orden de reacción debe ser evaluada por las pruebas rápidas. El proceso puede complicarse cuando otros efectos que también son dependientes del tiempo presentan un rol importante en el proceso deteriorativo. El efecto de cualquier prueba de almacenamiento debe ser evaluado en sus condiciones reales pues no hay como acelerar esos datos.

### **3.6. Predicción de las características de los envases para mejorar la vida de anaquel**

La funcionalidad del envase influye de manera importante en el éxito o en el fracaso de un producto; ya que los alimentos deben enfrentar varias etapas de transporte desde el productor al distribuidor y de este al consumidor, el envase debe garantizar la calidad del alimento que contiene en todas estas etapas. El envase debe proteger al alimento de factores externos tales como: la humedad, el oxígeno y de elementos que puedan contaminar el producto. En los envases elaborados con materiales plásticos es importante evaluar su permeabilidad.

#### **3.6.1. La función de los envases para la ampliación de la vida útil**

##### **3.6.1.1. Humedad**

Este factor es uno de los más indeseables en un producto ya que puede originar cambios en la composición del alimento. Los alimentos que poseen baja humedad generalmente tenderán a la ganancia de esta, mientras que aquellos con una humedad alta al ser colocados en un ambiente seco tenderán a perder humedad. La permeabilidad del empaque dependerá directamente de la humedad de un

producto, es decir para un alimento que tiende fácilmente a ganar humedad como el café el envase a utilizar deberá poseer una alta permeabilidad.

#### **3.6.1.2. Oxígeno**

El oxígeno oxida los componentes grasos causando rancidez la misma que se puede detectar rápidamente con oler o saborear el producto. Por lo tanto un alimento que contenga grasas debe ser envasado en un contenedor que tenga altas barreras contra el oxígeno.

#### **3.6.1.3. Luz**

Los alimentos se encuentran en contacto con la luz natural en varios puntos de la cadena de almacenamiento pero también se exponen a la luz artificial especialmente cuando este se encuentra en percha y cuando el consumidor se lo lleva a su casa. El envase debe intentar prevenir la penetración de la luz al producto ya que esta genera efectos como: pérdida de color del alimento, degradación de la vitamina C, rancidez en productos con altos contenidos grasos ya que la luz acelera el proceso de oxidación.

#### **3.6.1.4. Olores**

En todo producto alimenticio se debe excluir los olores ajenos al producto, este punto no solo es atribuido al envase sino que también se debe evitar colocar el alimento final que ya se encuentra en percha, cerca de productos con olores fuertes como: jabones, desinfectantes, entre otros. El transporte del producto también es un factor influyente ya que el camión de transporte debe estar completamente limpio y sin ningún olor extraño. Antes del proceso de envasado se debe verificar que los envases no sean los que originen olores ajenos al producto. Tintas y adhesivos utilizados en la impresión y laminación de procesos para el envasado de alimentos potencialmente pueden dar lugar a niveles de olor inaceptables y contaminación del producto. Estos deben ser formulados de tal manera que los pigmentos, resinas, disolventes, aceites y cualquier aditivo utilizados sean de bajo olor y especificados para uso alimentario.

### **3.6.1.5. Temperatura**

Los factores mencionados anteriormente son dependientes de la temperatura ya que si esta incrementa estos se intensifican. A medida que la temperatura aumenta, las moléculas del gas o vapor se incrementan por lo tanto el aumento de la permeación es exponencial. Es necesario saber a qué temperaturas estarán expuestos los alimentos durante la cadena de almacenamiento y distribución ya que esto permitirá conocer las necesidades de envase requeridas. Cualquier cambio inadecuado en la temperatura del producto alterará su composición, por lo que es imprescindible realizar mediciones de temperatura constantes durante toda la cadena. Exponer a los alimentos a temperaturas muy bajas también tiene sus consecuencias pues puede afectar tanto al producto y al envase. En el producto se pueden formar emulsiones, grandes cristales rompiendo la textura del alimento, mientras que algunos envases de plástico pueden volverse quebradizos destruyendo así su función conservante.

## **3.7. La integración de los envases con otros métodos para alargar la vida útil**

### **3.7.1. Tratamientos térmicos como medio para extender la vida útil**

La mayoría de microorganismos ya no crecen a temperaturas superiores a 65°C según describe Emblem (2000), por lo tanto este método se basa en usar temperaturas superiores a este valor. Las cantidades de calor requeridas dependen de la temperatura a la que resiste el microorganismo más dañino dentro de un alimento, también de las características que deberá poseer el producto, si es sólido o líquido, su forma, el pH y su vida útil requerida. Entre las desventajas de emplear altas temperaturas es que los alimentos pierden sus características organolépticas iniciales. Los requisitos de un envase para alimentos sometidos a elevadas temperaturas son los siguientes:

- El envase debe soportar los efectos de los tratamientos térmicos y ser completamente estériles.
- Debe presentar una buena barrera a la penetración, ya que el envase será el único medio por el cual el alimento se mantendrá estéril.
- Presentar estabilidad ante cualquier agente que pueda causar el deterioro del producto.

- El envase secundario debe proteger adecuadamente a los envases primarios especialmente de los daños mecánicos que podrían afectar la integridad del envase.

### **3.7.2. Bajas temperaturas como un medio para extender la vida útil**

La reducción de la temperatura de un producto alimenticio ralentiza el crecimiento de microorganismos y la actividad enzimática e incluso mata a algunos microorganismos. El packaging va de la mano con la temperatura adecuada a la cual debe mantenerse el producto, ya que sí el envase presenta las características adecuadas de permeabilidad y barrera, pero el alimento se encuentra a una temperatura incorrecta de almacenamiento se van a observar cambios en la calidad del producto a consecuencia de la temperatura más no a consecuencia del envase. Los requisitos que los envases deben cumplir son:

- El envase debe ser físicamente estable y resistir a los cambios de temperatura, refrigeración, congelación. Esto se aplica también a las tintas de impresión y adhesivos utilizados.
- El envase debe proporcionar una buena barrera contra la humedad, para evitar el cambio de la atmósfera del alimento.
- Los productos que contengan componentes grasos requerirán de un envase que los proteja del oxígeno y de la luz.
- Se requiere de envases herméticos para aquellos alimentos congelados, que sufrirán un proceso de descongelación antes de ser preparados.

### **3.7.3. Los plásticos como una opción de envasado**

Los envases plásticos han sustituido fácilmente a los envases de otros materiales como el vidrio o el metal. En estos casos se ha visto también la reducción de costos al ser los envases tradicionales reemplazados por los envases plásticos. Los envases plásticos resultan de la polimerización de monómeros individuales y sus propiedades de barrera se atribuyen al tipo de monómero o monómeros utilizados y del lugar que ocupan estos dentro la cadena polimérica. Como se vio en el capítulo 1, cuando las cadenas se encuentran ordenadas (cristalina) se mejoran las propiedades de barrera lo que difiere de las cadenas amorfas. El polietileno de alta densidad por ser una molécula ordenada presenta una mejor barrera tanto para el

vapor agua y el oxígeno en comparación con la estructura aleatoria del polietileno de baja densidad. (Emblem, 2000)

Como se describió anteriormente la permeabilidad se ve afectada por la temperatura, por lo que para estudios de permeabilidad, Emblem (2000) considera dos tipos de temperatura y humedad relativa: 25°C con una humedad relativa del 75% y 38°C con una humedad relativa del 90%.

Los plásticos utilizados para envases pueden variar desde ser transparentes como las botellas PET, o botellas de color blanco de polietileno de alta densidad especialmente utilizadas para productos lácteos. Si el alimento necesita una barrera para la luz varios pigmentos pueden ser incluidos durante la fabricación de los envases.

#### **3.7.4. Predicción de las características de envase para alimentos**

Siempre que los valores críticos que causan el deterioro de un alimento es decir el causante de la ganancia o pérdida de humedad, sean conocidos, se puede calcular la vida útil basada en las propiedades de barrera del material.

##### **3.7.4.1. Mecanismo de permeación**

Según Ocampo.J. (2003), el mecanismo de permeabilidad se ve afectado por tres etapas importantes que se describen a continuación:

- La molécula es absorbida por la superficie del polímero a una presión parcial  $p_1$ . Mientras que para presiones de una atmósfera el valor del permeante obedece a la ley de Henry.
- La difusión de una molécula de a través del material de alta concentración a uno de menor concentración según la ley de Fick.
- La desorción del gas sobre la superficie opuesta a una presión  $p_2$ .

##### **3.7.4.2. Transferencia de vapor de agua a través del empaque**

La ecuación utilizada para determinar la transferencia de un gas o un vapor a través de un envase es:

$$\frac{d\omega}{d\sigma} = \frac{K}{x} * A(P1 - P2) \quad (8)$$

En donde:

K/x= Permeancia

P1 = Presión del vapor de agua fuera del envase

P2 = Presión del vapor de agua dentro del envase

A = Área del envase

d $\omega$ / d $\sigma$  = Velocidad de transferencia a través del envase

El análisis más simple de esta ecuación nos lleva a suponer que la permeancia es constante, que la presión de vapor fuera del empaque es constante en temperatura y humedad relativa y que p2 la presión de vapor dentro del empaque sigue alguna función simple del contenido de humedad. Ocampo.J. (2003).

### **3.8. Vida útil de los productos lácteos**

No existe una definición acerca de la vida útil de los productos lácteos ya que la vida de estante difiere entre un producto y otro. Muir, Banks, (2000) describen la vida útil como el período después de la fabricación en el que el producto cumple con las expectativas de los consumidores. Los cambios en los productos lácteos pueden ser: químicos, físico-químicos o bioquímicos. Ejemplos de estos procesos se detallan a continuación:

- Físicoquímicos: descreme de grasa, gelificación de soluciones de proteicas, sinéresis de cuajada y de cristalización de los minerales.
- Química: pardeamiento no enzimático y la oxidación de la grasa.
- Bioquímica: el crecimiento de los microorganismos, la degradación enzimática, la maduración de los quesos y fermentación.

#### **3.8.1. Yogur y leches fermentadas**

En el yogur como se ha descrito en el capítulo 2 las bacterias estérteres son las que dan inicio a la fermentación, transformando la lactosa en ácido láctico y disminuyendo el pH. El yogur es enfriado para inhibir el crecimiento excesivo de las bacterias. Sin embargo microorganismos como levaduras y mohos pueden crecer a estas condiciones causando el deterioro del producto. El yogur puede

principalmente sufrir alteraciones por la fermentación continua que sufre a lo largo de su periodo de almacenamiento, ya que se sigue produciendo ácido láctico lo que incrementa la acidez del yogur y esto puede producir cambios indeseados como la sinéresis, lo que terminará con la vida útil del producto.

## CAPITULO IV MATERIALES Y METODOLOGÍA

### 4.1. Ubicación del experimento

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Lácteos y en el Laboratorio de Biotecnología de la Escuela de Ingeniería en Alimentos perteneciente a la Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad del Azuay.

PROVINCIA	AZUAY
CANTÓN	CUENCA
DIRECCIÓN	AV. 24 DE MAYO 7-77 Y HERNAN MALO

Tabla 4. Localización

#### 4.1.1. Material experimental

En este trabajo se utilizó como materia prima leche cruda, obtenida del sector de Tarqui del cantón Cuenca.

#### 4.1.2. Equipos, materiales e Instalaciones

Los equipos, materiales e instalaciones necesarios para el presente estudio se describen a continuación:

##### 4.1.2.1. Equipos

- Balanza analítica
- Balanza de precisión
- Incubadora
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Refrigeradora

- Estufa

#### **4.1.2.2. Materiales de laboratorio**

- Termómetro
- Lactodensímetro
- Potenciómetro
- Butirómetro
- Higrómetro
- Bomba al vacío
- Pipetas volumétricas
- Pipetas serológicas
- Bureta
- Vasos de precipitación
- Balones de aforo
- Cápsulas de porcelana
- Embudos de separación
- Papel filtro
- Pinzas
- Tubos de ensayo
- Cajas Petri
- Probetas

#### **4.1.2.3. Materiales de planta**

- Mandil
- Cofia
- Mascarilla
- Guantes
- Cocina industrial
- Ollas de aluminio
- Mesa de acero inoxidable
- Recipientes plásticos
- Coladores
- Cucharas
- Envases plásticos naturales y pigmentados

#### **4.1.2.4. Reactivos**

- Ácido sulfúrico, densidad 1,815gr/ml.
- Alcohol amílico
- Hidróxido de sodio 0,1N
- Fenoltaleína
- Agua destilada
- Fehling A
- Fehling B
- Hidróxido de sodio 0,5M
- Ácido clorhídrico 0,1 N
- Agar
- Medio de cultivo MRS
- Agua peptonada

#### **4.1.2.5. Aditivos e insumos**

- Fermento láctico YC-350
- Citrato de sodio
- Tari K-7
- Inulina
- Saborizante de durazno.

#### **4.1.2.6. Instalaciones**

Laboratorio de lácteos, de biotecnología y de microbiología de la Universidad del Azuay, perteneciente a la Escuela de Ingeniería en Alimentos.

### **4.2. Métodos de Análisis**

Durante el estudio realizado se evaluaron los siguientes datos:

#### **4.2.1. Materia prima**

A la leche cruda recibida se le realizaron los análisis que se presentan a continuación:

#### **4.2.1.1. Determinación de densidad**

Se realizó el análisis de densidad de acuerdo a la norma INEN-0011.

Procedimiento: Se coloca la leche previamente homogenizada en la probeta de 250 ml, se sumerge el lactodensímetro suavemente y se espera varios segundos para que este se estabilice, una vez sucedido esto se realiza la lectura directamente. Se debe tomar en cuenta que si la leche no estuvo a la temperatura adecuada de 20°C, de manera obligatoria se realizará la corrección de la densidad con la fórmula establecida por la norma INEN-11.

#### **4.2.1.2. Determinación de acidez titulable**

Este análisis se realizó según establece la norma INEN-0013.

Procedimiento: Se tomaron 10 ml de leche y se valoraron con la disolución de hidróxido de sodio en presencia de fenolftaleína hasta la aparición de una coloración rosada persistente durante treinta segundos. Los resultados se expresan como gramos de ácido láctico por 100 ml o como grados Dornic multiplicando por 10 los mililitros de hidróxido de sodio utilizados.

#### **4.2.1.3. Determinación de grasa**

Se realizó este análisis según establece la norma INEN-0012.

Procedimiento: En un butirómetro se colocaron 10 ml de ácido sulfúrico densidad 1,815g/ml, después se adicionaron 10,94 ml de leche cruda, por último se vertió 1 ml de alcohol amílico, se homogeniza la muestra para después centrifugar por cinco minutos a una temperatura de 60°C, finalmente se realiza la lectura directamente.

#### **4.2.1.4. Determinación de lactosa**

Este análisis fue realizado según el método AOAC 41.

Procedimiento: En un vaso de precipitación de 500ml se pesan 25 g de muestra, se añaden 400 ml de agua destilada se homogeniza bien la muestra y en seguida se adicionan 10ml de Fehling A y 8,8ml de NaOH 0,5M, se traspasa la solución a un balón de aforo de 500ml en donde se completa el volumen se agita bien y se formarán unos pequeños grumos para lo cual la muestra debe ser filtrada.

En otro vaso de 500ml se adicionan 25ml de Fehling A, 25ml de Fehling B y 50ml del filtrado anterior, se lleva a ebullición durante 6 minutos para que precipite el óxido de cobre que se ha formado en la muestra, se filtra en una bomba de vacío, se seca el papel filtro utilizado en la filtración en una estufa a 100°C y se obtiene la cantidad real de óxido de cobre presente en la muestra, resultado con el cual se procederá a ver el contenido de lactosa presente según la tabla que presenta el método.

#### **4.2.2. Producto terminado**

##### **4.2.2.1. Determinación de pH**

Para este análisis se utilizó el pH-metro.

Procedimiento: La determinación del pH se realizó por lectura directa introduciendo el electrodo de un pH-metro, previamente ajustado con tampones de pH conocido 4,00 y 7,00, en la leche, la cual debe ajustarse a 20°C para asegurar un resultado confiable.

##### **4.2.2.2. Determinación de acidez titulable**

Se realizó el análisis según la norma INEN-0013 como se detalló anteriormente.

##### **4.2.2.3. Determinación de lactosa**

Este análisis se determinó según el método AOAC como se describió anteriormente.

##### **4.2.2.4. Análisis microbiológicos**

Se realizó la siembra en un medio de cultivo (MRS), que permita obtener la suma de microorganismos que comprenden el cultivo definido para el yogur, en este caso el número total de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. Estos análisis se realizaron una vez a la semana en todas las 6 muestras que se obtuvieron, durante toda su vida útil para la obtención de datos experimentales, así como en las 4 mejores muestras sometidas a la catación.

Procedimiento: Se preparó el medio de cultivo MRS, según las indicaciones especificadas en el mismo, se adicionó el agar a este medio y se esterilizó en el autoclave por 45 minutos. Se preparó también el agua peptonada suficiente para la dilución de las muestras. Una vez obtenido el agua de peptona y el medio se procedió a la dilución y a la siembra de las muestras, para después incubarlas a una temperatura de 40°C por dos días en donde se pudo observar el crecimiento de las cepas. Se realizaron también los análisis microbiológicos para mohos y levaduras.

Procedimiento: Se preparó agua de peptona para realizar dos diluciones  $10^1$  y  $10^2$ , y sembró directamente en las cajas compact dry para mohos y levaduras.

Finalmente se verificó la inocuidad del producto mediante la siembra de coliformes totales en cajas compact dry para coliformes.

Procedimiento: Se preparó agua peptonada para realizar diluciones  $10^1$ ,  $10^2$  y  $10^3$ . Una vez diluida la muestra se procedió a sembrar directamente en cajas compact dry para coliformes.

#### **4.2.2.5. Análisis sensoriales**

Para los análisis sensoriales se utilizarán las pruebas de aceptación de los consumidores: Estas pruebas otorgan una medición directa sobre la opinión y gusto del consumidor. El objetivo es preguntar a una muestra de catadores la aceptación y percepción del producto acerca del sabor, olor, aspecto y textura,

Procedimiento: Esta prueba consiste en evaluar el gusto y la opinión de los catadores sobre un determinado producto; para lo cual se seleccionó un panel de siete catadores entrenados, los mismos que degustaron el yogur con el mejor diseño experimental, es decir las muestras a 4°C con una vida útil de 23 días para el envase natural y 25 días para el envase pigmentado, de igual manera el panel cató las muestras sometidas a 8°C, debido a que lo ideal sería conservar el producto a 4°C; sin embargo durante la cadena de distribución la temperatura de refrigeración oscila entre los 4°C a 8°C.

#### **4.2.3. Envase**

##### **4.2.3.1. Determinación de permeabilidad**

Este análisis se realizará por el método gravimétrico presentado por Lee.S.D; Yam.K.L; Piergiovanni.L.2008. en el libro Food Packaging Science and Technology. CRC. Pres. p.104.

Procedimiento: Se debe preparar un ambiente con una temperatura controlada y una humedad relativa entre el 90% y 100% para lo cual se utiliza un desecante como el cloruro de potasio o cloruro de calcio, entre otros. Una vez preparado el microambiente se introduce el empaque cuya permeabilidad se requiere determinar y se evalúa la variación del peso del mismo por un lapso de 10 a 12 días, para luego en función de los datos obtenidos, las condiciones del experimento y la ecuación correspondiente a la ley de la velocidad de transmisión de vapor de agua; despejar la constante de permeabilidad correspondiente.

### **4.3. Metodología**

En esta metodología se detallan los procedimientos utilizados para el almacenamiento de las muestras experimentales, así como los experimentos realizados para cumplir con los objetivos planteados en el presente estudio.

#### **4.3.1. Proceso de Elaboración de yogur tipo 1**

Recepción y Control de Calidad: Se recibe la leche cruda e inmediatamente se procede a realizar los análisis físicos químicos de: densidad, temperatura, acidez y grasa; para asegurar que la materia prima es idónea para el proceso.

Adición de sólidos: en la leche cruda completamente fría se agregan los aditivos según se ha establecido en la formulación:

- Citrato de Sodio: 0,5 gr por litro.
- Tari K7: 0,3 gr por litro.

Termizado y mezcla de sólidos: Se termiza la leche a 40°C en donde se adicionará Inulina según la formulación:

Inulina: 1,5gr por litro.

Pasteurización: Sin dejar de agitar la leche se eleva la temperatura de la misma a 85 grados centígrados, una vez alcanzada esta temperatura se dejará en reposo por treinta minutos.

Enfriado: Se debe enfriar la leche hasta llegar a 40°C, en donde se debe tener cuidado para no contaminar la leche.

Inoculación: Se procede a adicionar el fermento YC-350 según las indicaciones, se disuelve por completo mediante agitación.

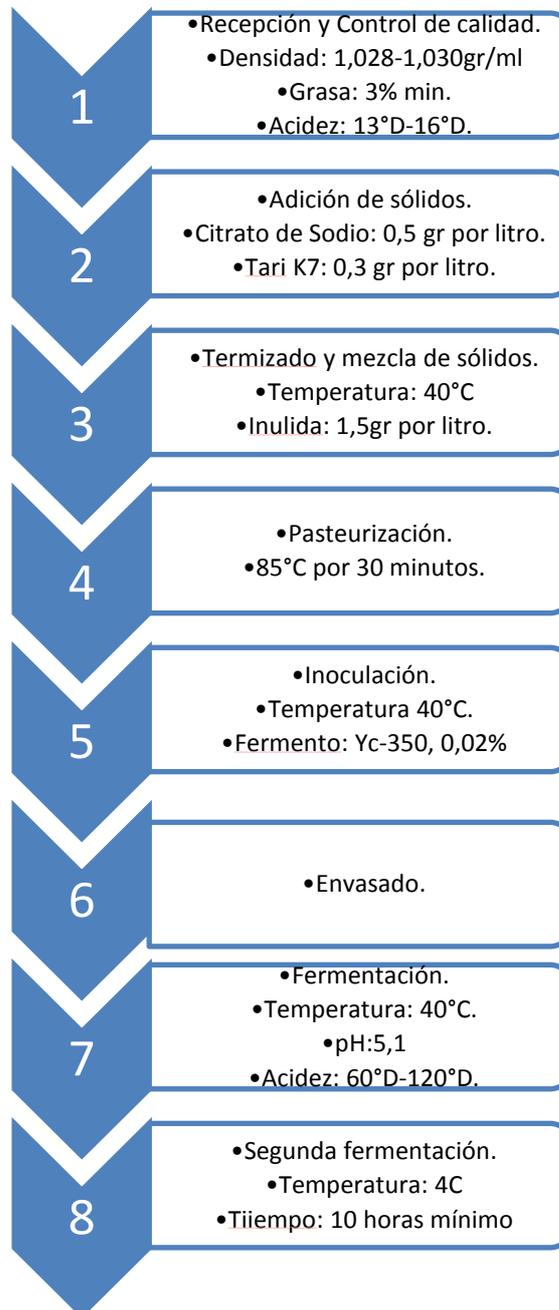
- Yc-350: 0,02%

Envasado: Al ser una fermentación in situ, se debe envasar la leche inoculada en los respectivos envases previamente desinfectados y esterilizados.

Fermentación: Se fermenta la leche en una estufa a 40°C, hasta alcanzar un pH de 5,1 o una acidez de 60°D a 120°D.

Segunda Fermentación: Una vez alcanzado los valores indicados anteriormente, se refrigerará el yogur a 4°C por un tiempo mínimo de 10 horas.

#### 4.3.1.1. Diagrama de flujo



#### 4.3.2. Pruebas de vida de anaquel

##### 4.3.2.1. Pruebas aceleradas

El yogur fue envasado en dos contenedores diferentes uno natural y otro pigmentado y sometido a altas temperaturas, hasta que el producto se considere no

inocuo para el consumo humano según la norma INEN-2395, es decir alcance una acidez de 1,5% expresado como ácido láctico.

- Temperatura 1: 20°C
- Temperatura 2: 32°C
- Temperatura 3: 55°C

#### 4.3.2.2. Pruebas a temperaturas de refrigeración

Como se mencionó anteriormente el yogur envasado en distintos contenedores fue conservado a diferentes temperaturas de refrigeración en donde también se controlaron los parámetros de acidez para garantizar la calidad del producto.

- Temperatura 1: 4°C
- Temperatura 2: 6-8°C

Con los datos obtenidos de tiempo y temperatura de cada una de las muestras se realizará un gráfico tiempo vs temperatura con el cual se podrá determinar la vida de estante así como la vida restante del producto. De igual manera con estos mismos datos se determinará las constantes de reacción para cada temperatura y la energía de activación según la ecuación de Arrhenius.

#### 4.3.3. Establecimiento de la vida de anaquel a través de un diseño experimental

Se estableció un diseño factorial  $2^2$ , es decir con dos factores y dos niveles, dando un total de 4 experimentos como se muestra a continuación:

EXP	X1	X2
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1

Tabla 5. Número de experimentos

Las variables del presente estudio son: tiempo y temperatura, y la variable respuesta será obtenida del valor de la acidez. Se partió de una muestra testigo la

misma que fue almacenada a 8°C por 15 días, durante este periodo de tiempo la muestra presentó buenas características de calidad. A partir de esta muestra testigo se plantearon los parámetros inferiores y superiores de tiempo y temperatura de la siguiente manera:

<b>Variables</b>	<b>Testigo</b>	<b>Min</b>	<b>Máx</b>
X1= Tiempo días	15	5	25
X2= Temperatura °C	8	4	20

Tabla 6. Datos para diseño experimental

A partir de la tabla presentada se realizarán las interacciones para evaluar el mejor experimento. El mejor tratamiento será llevado a las cataciones para ser evaluado durante su vida útil y garantizar la aceptabilidad del producto.

#### **4.3.4. Evaluación de la vida de anaquel a través de métodos físicos químicos**

Se construyeron gráficos del pH vs el tiempo para evaluar el descenso del mismo conforme avanza el tiempo. Se realizaron gráficas del pH obtenido a las cinco temperaturas plateadas anteriormente 4°C, 8°C, 20°C, 32°C, 55°C y del producto envasado en los diferentes contenedores. Se determinó la cantidad de lactosa inicial en el producto y la cantidad de lactosa residual al final de la vida útil de las muestras sometidas a las siguientes temperaturas: 4°C, 8°C y 20°C.

#### **4.3.5. Control microbiológico**

Se realizaron análisis microbiológicos iniciales para saber el contenido de microorganismos en un principio, así como a lo largo de la vida útil de cada una de las muestras a temperaturas de; 4°C, 8°C y 20°C. Con estos resultados se pudo verificar el contenido de microorganismos en una cantidad de  $10^7$  según establece la norma INEN-2395. También se garantizó la inocuidad del producto a través de los datos obtenidos de las siembras para coliformes totales y mohos y levaduras.

#### **4.3.6. Determinación de permeabilidad de los envases**

La permeabilidad del empaque se determinó por el método gravimétrico descrito anteriormente, para lo cual se colocó una cantidad conocida de producto dentro de los diferentes envases los mismos que fueron introducidos en los microambientes

de vidrio, preparados previamente con CIK para mantener una HR del 98% y a una temperatura de 20 °C.

La ganancia de agua se determinó gravimétricamente, pesando los envases en una balanza analítica. A través de un gráfico de la ganancia de peso en función del tiempo se obtuvo la transmisión de vapor de agua denotada por WTA, la misma que es representada mediante la siguiente ecuación obtenida de igualar la ley de Fick con la ley de Henry para generar la ley de transmisión de vapor de agua:

$$\frac{d\omega}{d\sigma} = \frac{K}{x} * A(P1 - P2) \quad (8)$$

En donde:

$K/x$ = Permeancia.

$P1$  = Presión del vapor de agua fuera del envase.

$P2$  = Presión del vapor de agua dentro del envase.

$A$  = Área del envase.

$d\omega/d\sigma$  = Velocidad de transferencia a través del envase.

Despejando de la ecuación anterior  $d\omega$ , se obtiene:

$$d\omega = \frac{K}{x} * A(P2)d\sigma \quad (9)$$

En donde se elimina  $P1$  por considerarse este valor constante según se explicó en el capítulo 3.

Esta ecuación representa el gráfico en donde la variación del tiempo es el eje x y la variación del peso es el eje y, por lo que la pendiente se ve representada por la siguiente ecuación:

$$B = \frac{k}{x} * A * P \quad (10)$$

En donde:

$k/x$  = permeabilidad del envase en  $g/m^2mmHg$

$A$  = Área del envase en  $m^2$ .

$P$  = Presión del vapor de agua fuera del envase en mm Hg.

$B$  = Pendiente en gr.

A partir de esta ecuación y despejando  $k/x$  se puede obtener la permeabilidad del envase.

$$\frac{k}{x} = \frac{B}{A*P} = \frac{g}{m^2mmHg} \quad (11)$$

## CAPITULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1. Materia Prima

##### 5.1.1. Análisis físico-químicos en la materia prima

Los análisis físico-químicos determinados en la materia prima, fueron realizados a partir de los métodos descritos anteriormente.

##### 5.1.2. Densidad

La densidad es aquella medida que se utiliza para determinar la cantidad de masa contenida en un volumen determinado. La densidad medida en la leche utilizada como materia prima fue de:

$$\bar{\delta} = 1,030\text{gr/ml}$$

$$\text{Temperatura} = 8^{\circ}\text{C}$$

Con estos valores se aplicó la fórmula para corregir la densidad, descrita en la norma INEN-0011.

$$\bar{\delta}_{20} = \bar{\delta} + 0,0002 (t-20) \quad (12)$$

En donde:

$\bar{\delta}_{20}$  = densidad relativa a 20°C

$\bar{\delta}$  = densidad aparente

t = temperatura de la muestra durante la determinación.

$$\bar{\delta}_{\text{real}} = 1,030 \text{ g/ml} + 0,0002(8-20)^{\circ}\text{C}$$

$$\bar{\delta}_{\text{real}} = 1,0276 \text{ g/ml}$$

Se obtuvo un resultado de 1,0276gr/ml el mismo que se encuentra dentro de los parámetros de la norma INEN-0011.

### 5.1.3. Acidez

Determina el grado en que una sustancia es ácida, se realizó una titulación volumétrica por duplicado en donde se obtuvieron los siguientes resultados a partir de la ecuación:

$$\%Acidez = \frac{VT * NT * meq \text{ Ac láctico}}{VM} * 100 \quad (13)$$

En donde:

VT: volumen del titulante en ml.

NT: normalidad del titulante.

Meq: miliequivalente del ácido láctico.

VM: volumen de la muestra en ml.

ACIDEZ EN LECHE CRUDA				
VT	NT	VM	meq Ac Lác	%Acidez
4,1	0,1	20	0,09	0,1845
4,1	0,1	20	0,09	0,1845

Tabla 7. Acidez en leche cruda

Se recibió una leche cruda con una acidez de 0,18, valor que se encuentra dentro de lo establecido en la norma INEN-0011.

### 5.1.4. Determinación de grasa

Este análisis se realizó con el butirómetro el mismo que nos permite tener una lectura directa de la cantidad de grasa contenida en la leche. El resultado de grasa en la materia prima fue de 3,5% valor que se encuentra dentro de la norma INEN-0011.



### 5.1.5. Determinación de Lactosa

Se determinó la cantidad de lactosa en la materia prima para saber el valor de partida inicial, ya que la lactosa será consumida por los microorganismos con el transcurso del tiempo.

Lactosa en Leche Cruda				
P1	P2	P3	Lactosa H <sub>2</sub> O	% Lactosa
0,20805	0,37295	0,1649	112,1	4,484

Tabla 8. Lactosa en leche cruda

En donde:

P1: Peso vacío del papel filtro en g.

P2: Peso del papel filtro + muestra en g.

P3: Peso de la muestra (Cu<sub>2</sub>O) en g.

Lactosa en H<sub>2</sub>O: cantidad de lactosa presente en la muestra, en mg.

% Lactosa: Porcentaje de lactosa presente en la leche cruda.

El valor obtenido de 4,48% indica que la cantidad de lactosa de la materia prima se encuentra dentro de lo especificado para lactosa en leche cruda, ya que varias bibliografías señalan un rango de 4,5% a 5% de lactosa en leche.

### 5.2. Producto terminado

Los análisis físico-químicos realizados en el producto nos permitirán obtener datos experimentales a partir de los cuales se determinarán los mejores tratamientos para elaborar el producto final.

## 5.2.1. Análisis físico-químicos en el producto terminado

### 5.2.1.1. pH

El pH se midió durante toda la fermentación del producto hasta alcanzar un valor de 5,1. De igual manera se establecieron las curvas de pH vs tiempo a todas las temperaturas establecidas: 55°C, 32°C, 20°C, 8°C y 4°C.

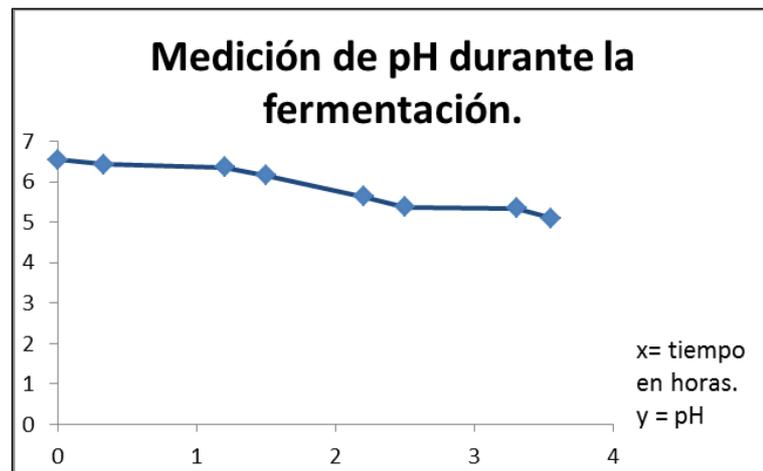


Figura 4. pH durante la fermentación

La obtención de los datos experimentales se realizó a partir de las pruebas de estabilidad del producto. A continuación se muestran los gráficos Tiempo vs pH.

ENVASE NATURAL				ENVASE PIGMENTADO			
T°C	Hora de medición	Tiempo (horas)	pH	T°C	Hora de medición	Tiempo (horas)	pH
4	9:45	0,00	4,38	4	9:45	0,00	4,39
4	9:40	23,55	4,36	4	9:42	23,55	4,36
4	9:35	47,83	4,32	4	9:37	47,83	4,34
4	16:36	54,83	4,28	4	16:38	54,83	4,32
4	8:56	119,16	4,28	4	8:57	119,16	4,25
4	2:18	124,38	4,28	4	2:17	124,38	4,25
4	9:35	143,67	4,25	4	9:35	143,67	4,24
4	9:35	167,67	4,22	4	9:36	167,67	4,24
4	9:35	191,67	4,19	4	9:35	191,67	4,23
4	9:35	215,67	4,19	4	9:35	215,67	4,21
4	9:17	275,5	4,19	4	9:17	275,5	4,21
4	9:28	301,2	4,17	4	9:28	301,2	4,18
4	9:20	325,2	4,16	4	9:20	325,2	4,18
4	9:04	349,2	4,16	4	9:04	349,2	4,16
4	9:15	373,2	4,16	4	9:15	373,2	4,16
4	9:35	397,2	4,16	4	9:35	397,2	4,16
4	9:26	461,28	4,15	4	9:26	461,28	4,16
4	9:19	482,28	4,13	4	9:19	482,28	4,16
4	9:33	506,2	4,13	4	9:33	506,2	4,15
4	9:35	530,2	4,1	4	9:35	530,2	4,15
4	9:38	554,2	4,09	4	9:38	554,2	4,12
4				4	9:22	602,2	4,12

Tabla 9. Valores de pH obtenidos a 4°C

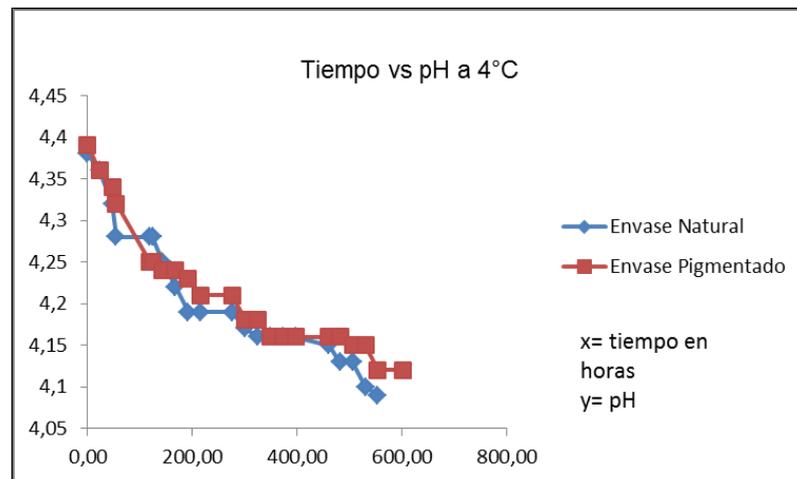


Figura 5. Tiempo vs pH a temperatura de 4°C

ENVASE NATURAL				ENVASE PIGMENTADO			
T°C	Hora de medición	Tiempo (horas)	pH	T°C	Hora de medición	Tiempo (horas)	pH
8	9:48	0,00	4,2	8	9:49	0,00	4,36
8	9:45	23,55	4,19	8	9:46	23,55	4,36
8	9:39	47,83	4,16	8	9:41	47,83	4,31
8	16:40	54,83	4,16	8	16:42	54,83	4,29
8	8:57	119,17	4,09	8	8:58	119,17	4,21
8	2:14	124,36	4,08	8	2:15	124,36	4,21
8	9:38	143,76	4,07	8	9:39	143,76	4,2
8	9:37	167,76	4,07	8	9:37	167,76	4,19
8	9:36	191,76	4,06	8	8:52	191,76	4,17
8	9:36	215,76	4,04	8	9:36	215,76	4,15
8	9:19	275,50	4,03	8	9:19	275,50	4,11
8	9:30	300,00	4	8	9:30	300,00	4,08
8	9:21	324,00	3,98	8	9:21	324,00	4,08
8	9:02	348,00	3,95	8	9:02	348,00	4,08

Tabla 10. Valores de pH obtenidos a 8°C

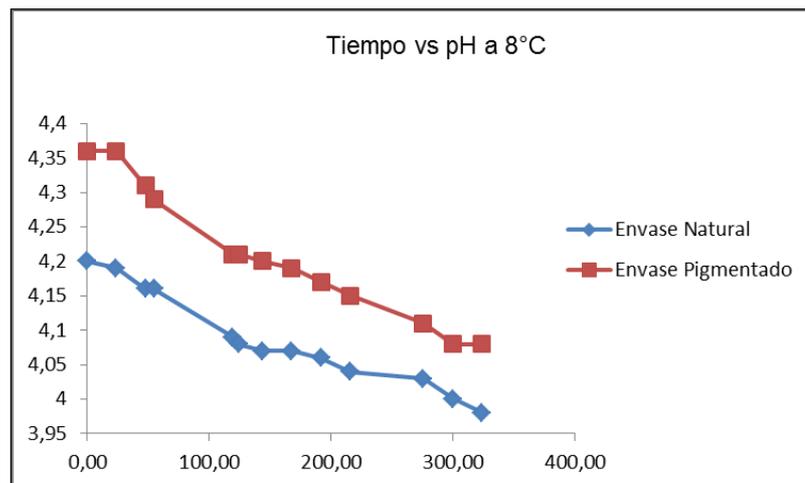


Figura 6. Tiempo vs pH a temperatura de 8°C

ENVASE NATURAL				ENVASE PIGMENTADO			
T°C	Hora de medición	Tiempo (horas)	p H	T°C	Hora de medición	Tiempo (horas)	p H
20	9:51	0,00	3,98	20	9:52	0,00	4,1
20	9:48	23,55	3,87	20	9:50	23,55	3,94
20	9,43	47,83	3,81	20	9:45	47,83	3,86
20	16:44	54,83	3,78	20	16:46	54,83	3,83
20	8:59	119,18	3,72	20	8:59	119,18	3,76

Tabla 11. Valores de pH obtenidos a 20°C

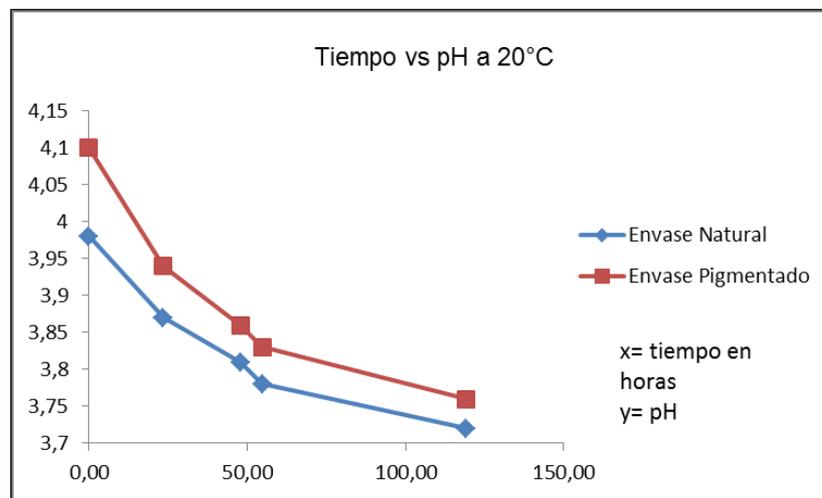


Figura 7. Tiempo vs pH a temperatura de 20°C

ENVASE NATURAL				ENVASE PIGMENTADO			
T°	Hora de medición	Tiempo (horas)	p H	T°	Hora de medición	Tiempo (horas)	p H
32	11:10	0	4,46	32	11:10	0	4,46
32	11:30	0,3333333	4,46	32	11:30	0,33333	4,46
32	12:00	0,8333333	4,37	32	12:00	0,83333	4,39
32	12:30	1,3333333	4,35	32	12:30	1,33333	4,36
32	13:01	2,9833333	4,3	32	13:01	2,98333	4,32
32	13:30	3,4666667	4,28	32	13:30	3,46667	4,3
32	14:10	4,1333333	4,23	32	14:10	4,13333	4,26
32	15:00	4,9666667	4,16	32	15:00	4,96667	4,15
32	16:02	5,0666667	4,15	32	16:02	5,06667	4,15
32	17:16	6,3	4	32	17:16	6,3	4,1

Tabla 12. Valores de pH obtenidos a 32°C

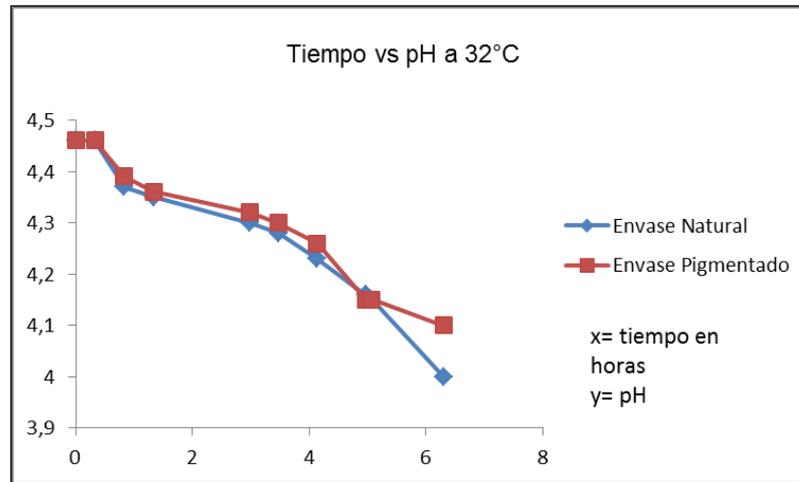


Figura 8. Tiempo vs pH a temperatura de 32°C

ENVASE NATURAL				ENVASE PIGMENTADO			
T°C	Hora de medición	Tiempo (horas)	p H	T°C	Hora de medición	Tiempo (horas)	p H
55	11:53	0	4,46	55	11:53	0	4,46
55	12:37	0,73	4,34	55	12:37	0,73	4,4
55	13:07	1,23	4,28	55	13:07	1,23	4,32
55	13:31	1,63	4,2	55	13:31	1,63	4,23
55	14:11	2,32	4,13	55	14:11	2,32	4,13
55	14:48	2,93	4,06	55	14:48	2,93	4,06
55	15:28	3,60	3,98	55	15:28	3,60	4,01
55	16:28	4,60	3,91	55	16:28	4,60	3,93
55	17:24	5,53	3,75	55	17:24	5,53	3,86

Tabla 13. Valores de pH obtenidos a 55°C

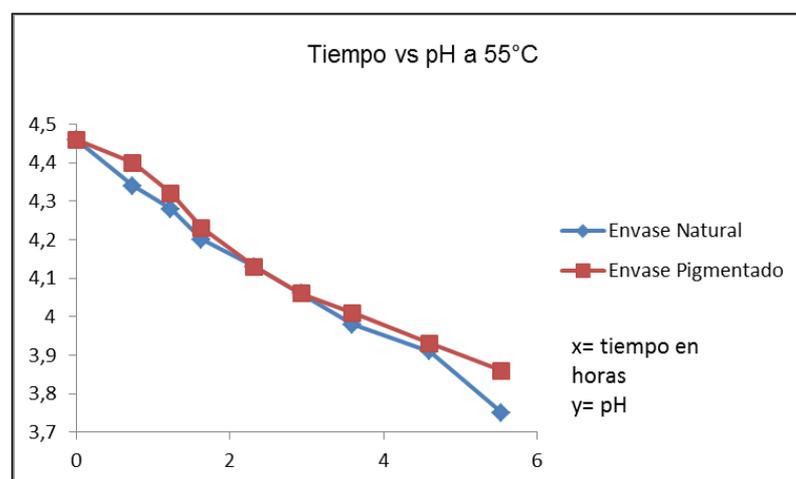


Figura 9. Tiempo vs pH a temperatura de 55°C

Los valores obtenidos de pH a lo largo de la vida útil a cada una de las temperaturas nos ayudan a verificar que la vida de anaquel del producto ha terminado, ya que como se mencionó anteriormente el pH suele disminuir a valores de 4,3 a 4,5 y pHs menores a estos pueden ocasionar daños en la calidad del producto, como la aparición de sinéresis factor considerado como indeseable. Este fenómeno se pudo observar en el producto sometido a altas temperaturas que por su proceso de aceleración el pH disminuyó rápidamente.

De igual manera se puede observar en los gráficos y tablas presentados anteriormente que el envase natural alcanzó pHs menores a los del envase pigmentado en menor cantidad de tiempo, es decir que el producto envasado en un envase plástico natural posee una menor vida útil ya que en el producto sometido a 20°C y 8°C se presentó sinéresis, mientras que a las mismas temperaturas pero en el envase pigmentado no se visualizó esta característica.

#### **5.2.1.2. Acidez**

Se realizó este análisis por duplicado y diariamente en cada una de las muestras a lo largo de toda su vida útil. Se construyeron gráficos tiempo vs acidez para verificar la estabilidad del producto.

ENVASE NATURAL							ENVASE PIGMENTADO						
T°	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	
4	9:45	0	0	7,45	0,6705	74,5	9:51	0	0	7,05	0,6345	70,5	
4	9:57	24,02	1,00	7,75	0,6975	77,5	10:05	24,23	1,01	7,4	0,666	74	
4	9:55	48,17	2,0071	7,8	0,702	78	10:02	48,18	2,0075	7,6	0,684	76	
4	16:48	55,05	2,29	7,8	0,702	78	17:04	55,22	2,30	7,6	0,684	76	
4	9:10	118,42	4,93	8	0,72	80	9:12	119,35	4,97	7,8	0,702	78	
4	2:30	123,75	5,16	8	0,72	80	2:33	124,7	5,20	7,8	0,702	78	
4	9:51	143,1	5,96	8	0,72	80	9:55	144,07	6,00	7,9	0,711	79	
4	9:47	167,05	6,96	8,1	0,729	81	9:51	168	7,00	8,05	0,7245	80,5	
4	9:46	191,05	7,96	8,1	0,729	81	9:50	192	8,00	8,1	0,729	81	
4	9:42	215,05	8,96	8,1	0,729	81	9:44	216	9,00	8,1	0,729	81	
4	12:37	218,05	9,09	8,1	0,729	81	12:43	219	9,13	8,1	0,729	81	
4	9:26	277,78	11,57	8,2	0,738	82	9:29	279	11,63	8,2	0,738	82	
4	12:42	281,05	11,71	8,2	0,738	82	12:43	281	11,71	8,2	0,738	82	
4	9:57	302,28	12,60	8,2	0,738	82	9:59	303,5	12,65	8,2	0,738	82	
4	9:30	326,28	13,60	8,5	0,765	85	9:32	327,5	13,65	8,3	0,747	83	
4	9:18	350,28	14,60	8,7	0,783	87	9:16	351,5	14,65	8,6	0,774	86	
4	9:56	374,28	15,60	9	0,81	90	9:57	375,5	15,65	9	0,81	90	
4	9:47	398,28	16,60	9	0,81	90	9:47	399,5	16,65	9	0,81	90	
4	12:02	461,28	19,22	9	0,81	90	12:02	461,28	19,22	9	0,81	90	
4	9:45	482,28	20,10	9,2	0,828	92	9:45	482,28	20,10	9	0,81	90	
4	9:50	506,2	21,09	9,4	0,846	94	9:50	506,2	21,09	9,1	0,819	91	
4	9:46	530,2	22,09	9,7	0,873	97	9:46	530,2	22,09	9,3	0,837	93	
4	10:01	554,2	23,09	10	0,9	100	10:01	554,2	23,09	9,5	0,855	95	
							9:48	602,2	25,09	9,9	0,891	99	

Tabla 14. Valores de acidez obtenidos a 4°C

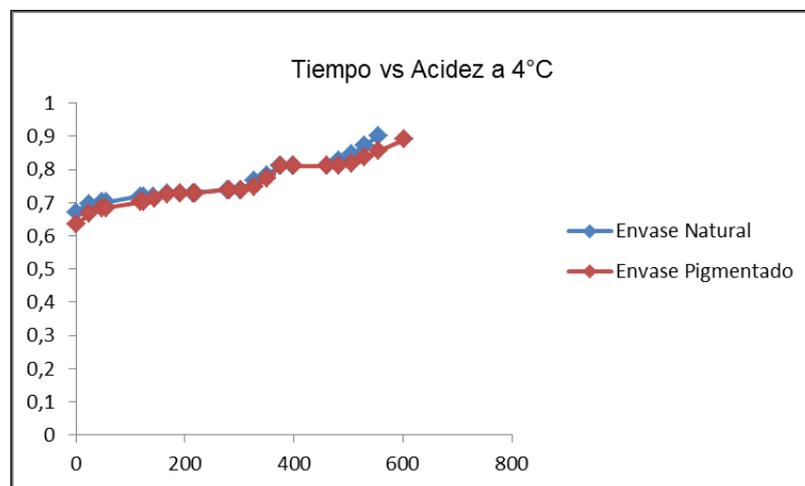


Figura 10. Tiempo vs Acidez a temperatura de 4°C

ENVASE NATURAL							ENVASE PIGMENTADO						
T°	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	
8	9:57	0	0	8,8	0,792	79,2	10:05	0	0	7,45	0,6705	74,5	
8	10:13	24,26	1,01	9	0,81	81	10:19	24,23	1,01	7,75	0,6975	77,5	
8	10:10	48,22	2,00917	9,15	0,8235	82,35	10:18	48,22	2,00917	7,95	0,7155	79,5	
8	17:10	55,22	2,30	9,2	0,828	82,8	17:20	55,25	2,30	7,96	0,7164	79,6	
8	9:20	119,39	4,97	9,2	0,828	82,8	9:27	119,7	4,99	8	0,72	80	
8	2:39	124,71	5,20	9,3	0,837	83,7	2:43	124,97	5,21	8,05	0,7245	80,5	
8	10:00	132,04	5,50	9,45	0,8505	85,05	10:06	134,35	5,60	8,35	0,7515	83,5	
8	9:55	155,96	6,50	9,5	0,855	85,5	10:00	158,45	6,60	8,9	0,801	89	
8	9:54	180,96	7,54	9,55	0,8595	85,95	9:59	182,45	7,60	9,1	0,819	91	
8	9:46	204	8,50	9,55	0,8595	85,95	9:49	206,45	8,60	9,5	0,855	95	
8	12:45	207	8,63	9,55	0,8595	85,95	12:48	214,21	8,93	9,5	0,855	95	
8	9:31	264	11,00	9,9	0,891	89,1	9:32	266,45	11,10	9,6	0,864	96	
8	12:44	267	11,13	10	0,9	90	12:49	269,45	11,23	9,6	0,864	96	
8	10:03	293	12,21	10,6	0,954	95,4	10:05	291	12,13	10	0,9	100	
8	9:41	327	13,63	10,7	0,963	96,3	9:42	327	13,63	10,5	0,945	105	
8	9:13	351	14,63	10,9	0,981	98,1	9:14	351	14,63	10,7	0,963	107	

Tabla 15. Valores de Acidez obtenidos a 8°C

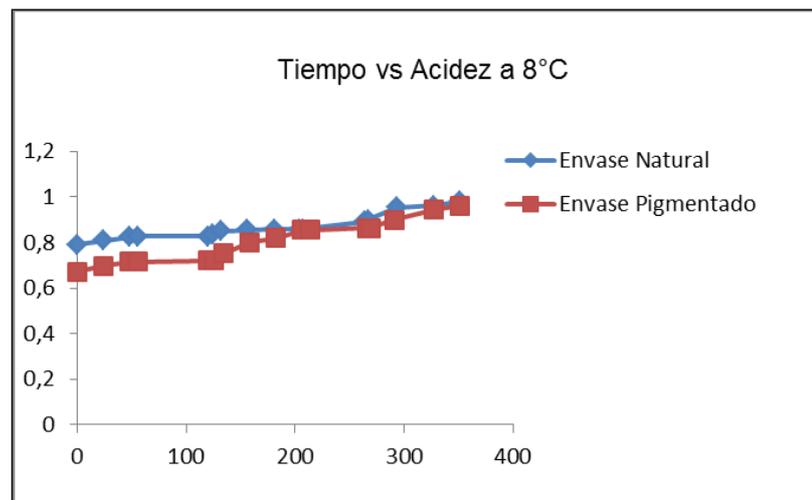


Figura 11. Tiempo vs acidez a temperatura de 8°C

ENVASE NATURAL							ENVASE PIGMENTADO						
T°	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	
20	10:12	0	0	10,6	0,954	106	10:17	0	0	9,35	0,8415	93,5	
20	10:25	24,22	1,00917	11	0,99	110	10:29	24,22	1,00917	10,55	0,9495	105,5	
20	10:25	48,22	2,00917	11,5	1,035	115	10:28	48,22	2,00917	11,1	0,999	111	
20	17:25	55,22	2,30083	11,6	1,044	116	17:25	55,22	2,30083	11,25	1,0125	112,5	
20	9:30	119,3	4,97083	12,7	1,143	127	9:32	119,34	4,9725	12,3	1,107	123	

Tabla 16. Valores de acidez obtenidos a 20°C

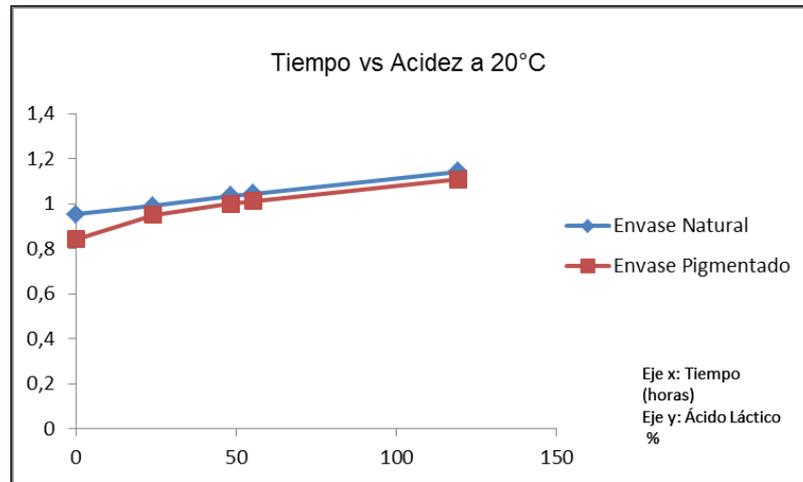


Figura 12. Tiempo vs acidez a temperatura de 20°C

ENVASE NATURAL							ENVASE PIGMENTADO						
T°	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	
32	11:10	0	0	6,5	0,585	65	11:10	0	0	6,5	0,585	65	
32	11:30	0,33	0,014	6,5	0,585	65	11:30	0,33	0,014	6,5	0,585	65	
32	12:00	0,83	0,035	7,8	0,702	78	12:00	0,83	0,035	7,3	0,657	73	
32	12:30	1,33	0,056	8	0,72	80	12:30	1,33	0,056	7,5	0,675	75	
32	13:01	2,98	0,124	8,3	0,747	83	13:01	2,98	0,124	8	0,72	80	
32	13:30	3,47	0,144	8,6	0,774	86	13:30	3,47	0,144	8,6	0,774	86	
32	14:10	4,13	0,172	9,3	0,837	93	14:10	4,13	0,172	9,2	0,828	92	
32	15:00	4,97	0,207	9,5	0,855	95	15:00	4,97	0,207	9,5	0,855	95	
32	16:02	5,07	0,211	9,7	0,873	97	16:02	5,07	0,211	9,7	0,873	97	
32	17:16	6,30	0,263	10,2	0,918	102	17:16	6,30	0,263	9,7	0,873	97	

Tabla 17. Valores de acidez obtenidos a 32°C

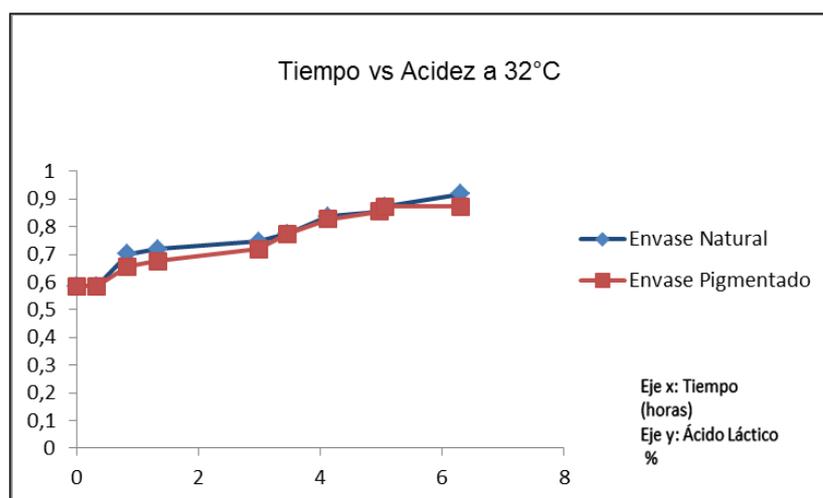


Figura 13. Tiempo vs acidez a temperatura de 32°C

ENVASE NATURAL							ENVASE PIGMENTADO						
T°	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	Hora de Medición	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	
55	11:53	0	0	6,5	0,585	58,5	11:53	0	0	6,5	0,585	58,5	
55	12:37	0,73	0,031	8,5	0,765	76,5	12:37	0,73	0,031	8,3	0,747	74,7	
55	13:07	1,23	0,051	9,2	0,828	82,8	13:07	1,23	0,051	9,1	0,819	81,9	
55	13:31	1,63	0,068	9,3	0,837	83,7	13:31	1,63	0,068	9,3	0,837	83,7	
55	14:11	2,32	0,097	9,7	0,873	87,3	14:11	2,32	0,097	9,7	0,873	87,3	
55	14:48	2,93	0,122	10	0,9	90	14:48	2,93	0,122	9,9	0,891	89,1	
55	15:28	3,60	0,150	10,2	0,918	91,8	15:28	3,60	0,150	10,1	0,909	90,9	
55	16:28	4,60	0,192	11,2	1,008	100,8	16:28	4,60	0,192	10,4	0,936	93,6	
55	17:24	5,53	0,231	11,5	1,035	103,5	17:24	5,53	0,231	10,6	0,954	95,4	

Tabla 18. Valores de acidez obtenidos a 55°C

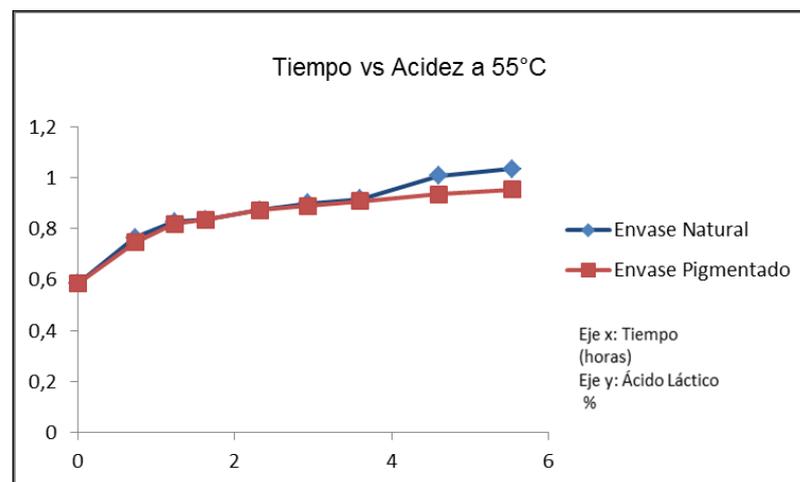


Figura 14. Tiempo vs acidez a temperatura de 55°C

Según la norma INEN 2395:2011, una leche fermentada puede alcanzar parámetros de acidez de hasta 1,2% de ácido láctico, sin embargo en los estudios de acidez realizados se pudo analizar que la mayoría de los experimentos no llegaron a dicha acidez al final de su vida útil, la acidez promedio obtenida fue de 0,99% para el envase natural y de 0,95% para el envase pigmentado. Aunque las muestras aún no habían alcanzado la acidez de 1,2% de ácido láctico, fueron desechadas debido a la presencia de sinéresis en las temperaturas de aceleración así como a las temperaturas de 20°C y 8°C en el envase natural. Cabe recalcar que si el producto ya no es considerado de buena calidad puede finalizar su vida útil.



Las pruebas de estabilidad mostraron que la acidez del producto contenido en el envase natural aumentó rápidamente; de esta manera se verificó en cada uno de los experimentos, que las muestras del envase natural poseían mayor acidez que las muestras contenidas en el envase pigmentado.

### 5.2.1.3. Lactosa

Se determinó la lactosa residual en las muestras sometidas a temperaturas de refrigeración es decir 4°C y 8°C, y también en la muestra de temperatura ambiente. Con estos valores se elaboró una curva tiempo vs lactosa. Se utilizó la misma fórmula aplicada anteriormente.

Lactosa Inicial del Yogur					
Tiempo	P1	P2	P3	Lactosa H2O	% Lactosa
0	0,21499	0,36675	0,15176	103,447	4,138

Tabla 19. Lactosa inicial del yogur

Lactosa en Yogur a 4°C		
Envase	%Lactosa Inicial	%Lactosa Residual
Natural	4,138	3,576
Pigmentado	4,138	3,588

Tabla 20. Lactosa en yogur a temperatura de 4°C

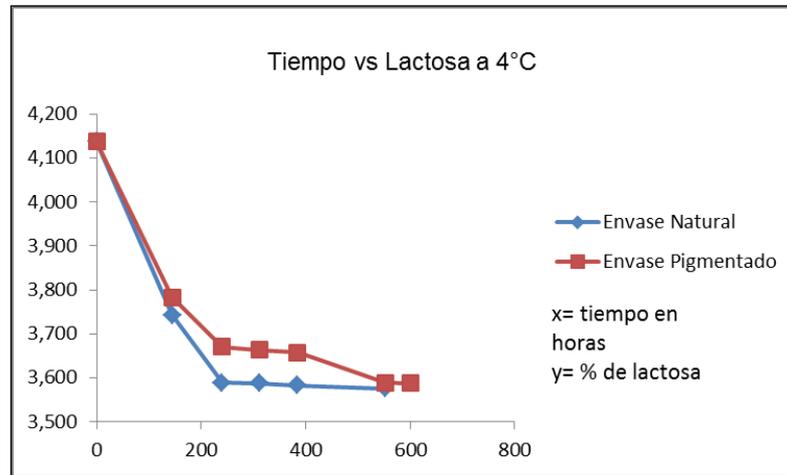


Figura 15. Tiempo vs Lactosa a temperatura de 4°C

Lactosa en Yogur a 8°C		
Envase	%Lactosa Inicial	%Lactosa Residual
Natural	4,138	3,589
Pigmentado	4,138	3,638

Tabla 21. Lactosa en Yogur a temperatura de 8°C

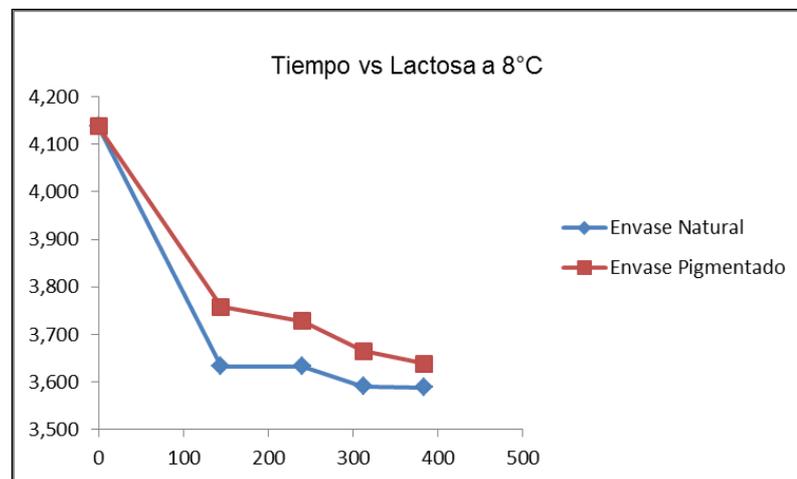


Figura 16. Tiempo vs Lactosa a temperatura de 8°C

Lactosa en Yogur a 20°C		
Envase	%Lactosa Inicial	%Lactosa Residual
Natural	4,138	3,265
Pigmentado	4,138	3,445

Tabla 22. Lactosa en Yogur a temperatura de 20°C

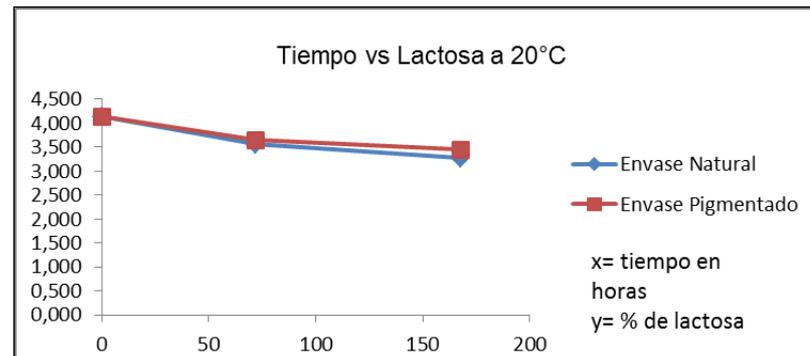


Figura 17. Tiempo vs Lactosa a temperatura de 20°C

Debido a que los microorganismos actúan hidrolizando a la lactosa, se verificó en cada una de las muestras el descenso de lactosa conforme el paso del tiempo; obteniendo un promedio de lactosa residual de 3,47% para las muestras del envase natural, mientras que para las muestras del envase pigmentado se alcanzó un promedio de lactosa residual de 3,55%. Según la bibliografía citada anteriormente se verifica que los productos en los dos envases cumplen con el contenido de lactosa de 3 a 4,5% para yogur sin embargo se debe resaltar que las muestras contenidas en el envase pigmentado siempre presentaron valores de lactosa mayores a aquellas del envase natural.





### 5.2.2. Análisis microbiológicos

Los gráficos que se presentan a continuación indican la presencia de Lactobacillus y Streptococcus durante toda la vida de anaquel de los productos a 4°C, 8°C y 20°C, resultados que garantizan que estos microorganismos son viables según especifica la norma INEN-2395.

Microorganismos a Temperatura 4°C			
ENVASE: NATURAL			
Tiempo	10 <sup>9</sup> UFC	10 <sup>7</sup> UFC	10 <sup>8</sup> UFC
0	46	0	0
144		175	80
240		156	64
312		127	39
384		31	15
552		27	3
ENVASE: PIGMENTADO			
0	46	0	0
144		168	34
240		157	68
312		151	55
384		55	18
552		43	15

Tabla 23. Microorganismos a temperatura de 4°C

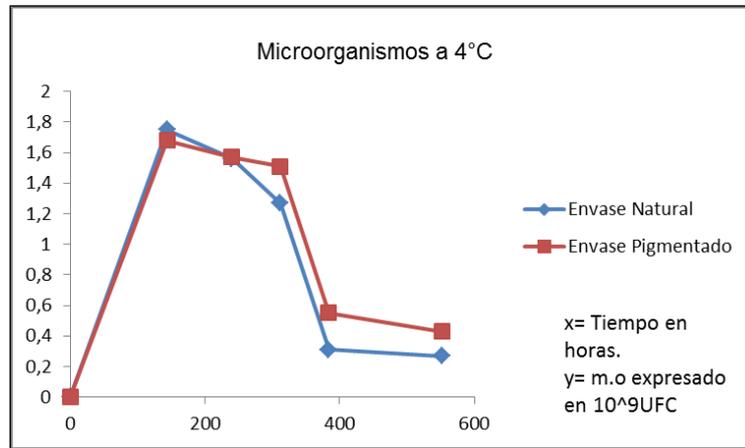


Figura 18. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 4°C

Microorganismos a Temperatura 8°C			
ENVASE: NATURAL			
Tiempo	10 <sup>6</sup> UFC	10 <sup>7</sup> UFC	10 <sup>8</sup> UFC
0	46	0	
144		68	19
240		55	2
312		21	4
384		13	1
ENVASE: PIGMENTADO			
0	46	0	
144		55	15
240		46	9
312		31	5
384		24	2

Tabla 24. Microorganismos a temperatura de 8°C

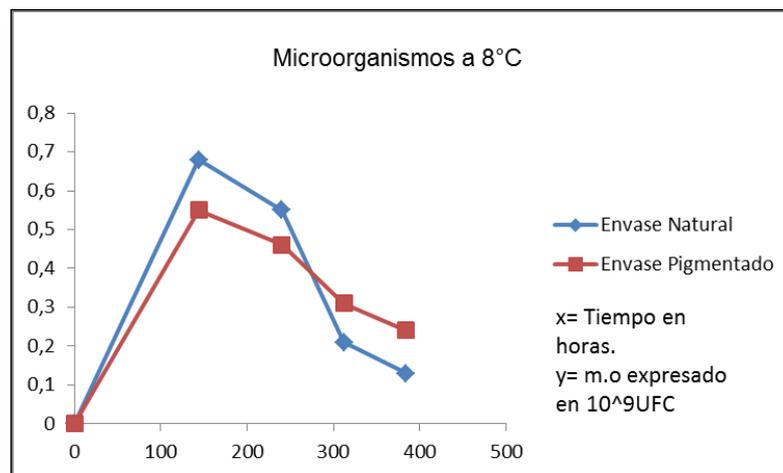


Figura 19. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 8°C

Microorganismos a Temperatura ambiente			
ENVASE: NATURAL			
Tiempo	10 <sup>6</sup> UFC	10 <sup>7</sup> UFC	10 <sup>8</sup> UFC
0	46	0	0
24	202	66	18
120		20	10
ENVASE: PIGMENTADO			
0	46	0	0
24	118	47	1
120		16	7

Tabla 25. Microorganismos a temperatura de 20°C

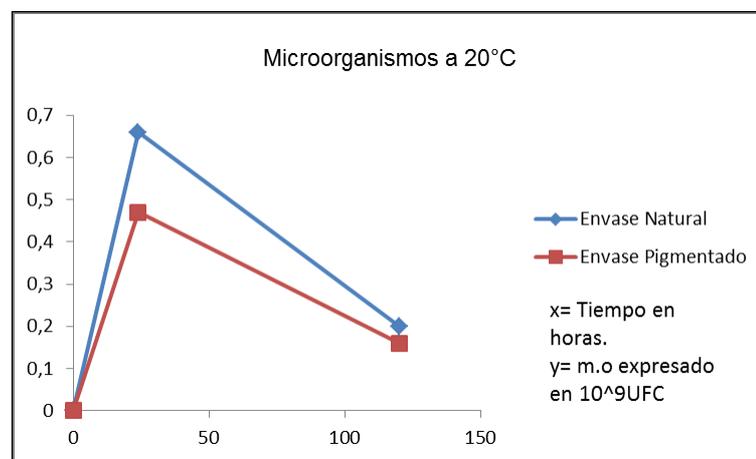


Figura 20. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 20°C

Los envases naturales al encontrarse en contacto directo con la luz facilitan el crecimiento y propagación de microorganismos, y estos transforman la lactosa en ácido láctico como se vio anteriormente; razón por la cual se puede observar mayor cantidad de microorganismos en el envase natural, ya que el envase pigmentado no deja penetrar la luz y no le pone en contacto al alimento con esta.

El efecto de la temperatura en el crecimiento de microorganismos también es muy importante ya que a temperaturas de refrigeración se puede evitar el crecimiento de microorganismos y por lo tanto la acidificación sin embargo se pueden seguir desarrollando varias reacciones así sea de una forma lenta. En las muestras sometidas a temperatura ambiente se vio un rápido crecimiento de microorganismos, mientras que en las muestras refrigeradas a 4°C se observó un crecimiento más lento. El factor microbiológico es la clave para determinar la vida

útil de un alimento ya que si el producto no es inocuo debe ser descartado inmediatamente.

Se garantizó que los microorganismos fueron viables durante toda la vida útil de las muestras estudiadas, así también se realizaron análisis microbiológicos para determinar mohos, levaduras y coliformes en el producto sin embargo no se detectó crecimiento de estos microorganismos asegurando la calidad y la inocuidad del producto.

### 5.2.3. Determinación de vida útil

El siguiente gráfico nos permitirá determinar la vida de estante del producto a cualquier temperatura y viceversa, también nos permite determinar la temperatura a la que se debe mantener el producto si deseamos “x” días de vida útil.

ENVASE NATURAL		ENVASE PIGMENTADO	
x (Temp)	y(vida de estante en días)	x (Temp)	y(vida de estante en días)
4	23,09	4	25
8	14,00	8	16,00
20	4,9725	20	4,9725
32	0,2625	32	0,2625
55	0,230555556	55	0

Tabla 26. Temperatura vs Vida de estante en días

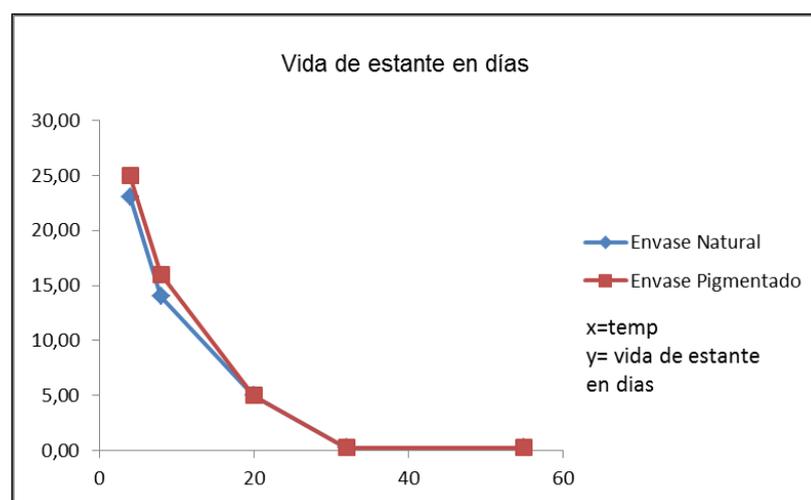


Figura 21. Gráfico para determinar vida de estante

A partir del gráfico 21, se estableció la vida de anaquel del producto en estudio y se observa que el envase que conserva por más días el producto es el envase pigmentado.

#### 5.2.4. Determinación de la vida restante

La vida restante del producto se puede determinar en base al gráfico anterior, adicionando la siguiente fórmula:

$$\Theta_r = fr\Theta_s(t) \quad (14)$$

En donde:

$\Theta_r$  = Tiempo de vida restante.

Fr = Fracción disponible para ser consumida. (1-Fc)

Fc = Fracción consumida total. ( $\sum fci$ )

Fci = Fracción consumida individual ( $\Theta_c / \Theta_s$ )

$\Theta_c$  = Días consumidos por una cadena de distribución.

$\Theta_s$  = Tiempo de vida útil a x temperatura.

DETERMINACIÓN DE VIDA RESTANTE ENVASE NATURAL					
Temp °C	$\theta_c$ (días)	$\theta_s$ (días)	Fc	Fr	$\theta_r$ (días)
4	3	23	0,1304	0,3362	6,0522
8	5	15	0,3333		
20	1	5	0,2000		
		Fc Total	0,6638		
6		18			

Tabla 27. Vida restante en envase natural

DETERMINACIÓN DE VIDA RESTANTE ENVASE PIGMENTADO					
Temp °C	$\theta_c$ (días)	$\theta_s$ (días)	Fc	Fr	$\theta_r$ (días)
4	3	25	0,1200	0,3675	7,3500
8	5	16	0,3125		
20	1	5	0,2000		
		Fc Total	0,6325		
6		20			

Tabla 28. Vida restante en envase pigmentado

Se realizó una simulación de la cadena de distribución, datos con los cuales fue posible calcular la vida restante del producto en cada uno de los envases. El análisis pretendía saber cuántos días de vida útil le queda al producto después de pasar por varios canales de distribución y si se lo iba a refrigerar a 6°C, como se observó que el producto en el envase natural tendría una vida restante de 6 días mientras que el producto en el envase pigmentado tendría una vida restante de 7 días.

### 5.2.5. Determinación de la constante de reacción

La constante de reacción permite determinar la velocidad a la cual se produce una reacción. En el presente estudio se pudo observar que a mayor temperatura existe mayor velocidad de reacción. Se utilizó la ecuación (5) propuesta en el capítulo 3. En donde la acidez es la variable que causa los principales cambios en el alimento y que son detectados por el consumidor, ya que si esta se incrementa el producto pierde sus características organolépticas y así su calidad. Esta reacción es considerada de primer orden y lleva el signo negativo debido al descenso de la acidez.

CONSTANTE DE REACCIÓN					
Envase Natural					
Temp °C	Tiempo Inicial/h	Tiempo Final/h	Acidez Final	Acidez Inicial	K
4	0	554,2	0,9	0,63	0,00064
8	0	351	0,981	0,63	0,00126
20	0	119,3	1,143	0,63	0,00499
Envase Pigmentado					
4	0	600	0,89	0,63	0,00058
8	0	351	0,963	0,63	0,00121
20	0	119,34	1,107	0,63	0,00472

Tabla 29. Determinación de la constante de reacción

Como ya se mencionó a mayor temperatura mayor velocidad de reacción, sin embargo al comparar los diferentes envases se observa que la constante de reacción en el envase pigmentado es menor por lo tanto la velocidad de reacción es más lenta.

### 5.2.6. Determinación de la Energía de activación

La energía de activación es la cantidad mínima de energía requerida para que se desencadene una reacción química. Se determina por la ecuación de Arrhenius.

ENERGÍA DE ACTIVACIÓN					
Envase Natural					
T °C	T°K	1/T°K	ln K	B	EA Cal/Mol °K
4	277	0,00361	-7,34846	-10183	20223,438
8	281	0,00356	-6,67530		
20	293	0,00341	-5,29967		
Envase Pigmentado					
4	277	0,00361	-7,45969	-10385	20624,61
8	281	0,00356	-6,71802		
20	293	0,00341	-5,35523		

Tabla 30. Determinación de la energía de activación

La energía de activación que necesita el envase pigmentado es mayor lo que significa que es necesaria una mayor cantidad de energía para que se desencadene una reacción; mientras menor energía sea necesaria más rápidamente se producirán las diferentes reacciones.

### 5.2.7. Diseño experimental

Mediante el diseño experimental se pudo determinar el tratamiento con la mejor variable respuesta, de la siguiente manera:

Variables	Testigo	Min	Máx
X1= Tiempo días	15	5	25
X2= Temperatura °C	8	4	20

ENVASE NATURAL					
EXP	Bo	X1	X2	x1x2	VR
1	1	-1	-1	1	0,72
2	1	1	-1	-1	0,9
3	1	-1	1	-1	1,143
4	1	1	1	1	1,4

Tabla 31. Mejor tratamiento en envase natural

ENVASE PIGMENTADO						
EXP	Bo	X1	X2	x1x2	VR	
1	1	-1	-1	1	0,702	
2	1	1	-1	-1	0,89	
3	1	-1	1	-1	1,107	
4	1	1	1	1	1,4	

Tabla 32. Mejor tratamiento en envase pigmentado

Por lo presentado en las tablas se observa que tanto para el envase natural y el envase pigmentado la mejor respuesta resulta de la combinación de más días a menor temperatura. Sin embargo para determinar cuál es el envase que presenta una mayor respuesta y aceptación se llevarán estos resultados a la prueba de catación.

### 5.2.8. Determinación de permeabilidad del envase

La permeabilidad del envase se realizó mediante el método gravimétrico, en donde se obtuvo la variación del peso del envase con el transcurso de los días, y mediante la ecuación (11), se determinó la permeabilidad para el envase natural y pigmentado.

$$\frac{k}{x} = \frac{B}{A*P} = \frac{g}{m2mmHg}$$

Datos:

ENVASE NATURAL			ENVASE PIGMENTADO		
Día	Peso en gr	Variación de peso	Día	Peso en gr	Variación de peso
1	327,3	0	1	327	0
2	327,6	0,3	2	327,1	0,1
3	327,6	0,3	3	327,2	0,2
4	327,6	0,3	4	327,2	0,2
5	327,7	0,4	5	327,2	0,2
6	327,7	0,4	6	327,3	0,3
7	327,8	0,5	7	327,3	0,3
8	327,8	0,5	8	327,4	0,4
9	327,9	0,6	9	327,4	0,4
10	327,9	0,6	10	327,4	0,4
11	327,9	0,6	11	327,5	0,5
12	328	0,7	12	327,5	0,5

Tabla 33. Variación de peso en envase natural y pigmentado.

MEDIDAS DEL ENVASE	
Altura en m	0,162
Diámetro int	0,069
Radio	0,0345
TAPA	
Diámetro	0,042
Radio	0,021

Tabla 34. Especificaciones técnicas del envase

Area del cilindro =  $2\pi r(r+h)$

Área del círculo =  $\pi r^2$

Área del envase:  $2\pi r(r+h) - \pi r^2$

Po= Presión de vapor a humedad relativa del 100%

Pv= Presión de vapor a humedad relativa del 98%

Hr= Humedad relativa

k/x= permeabilidad del envase

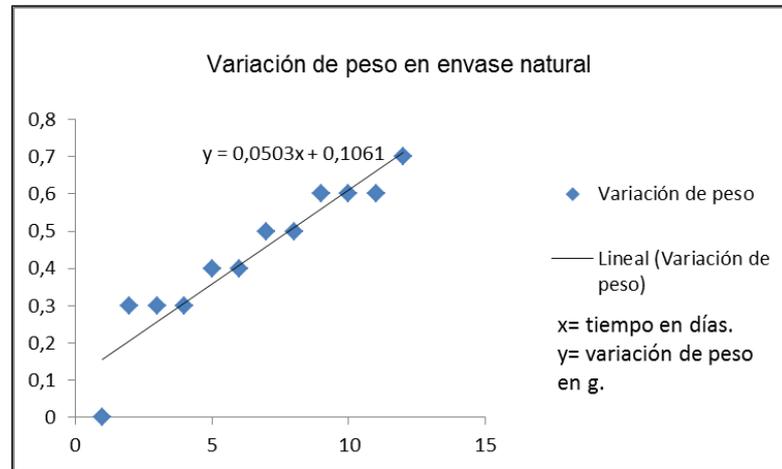


Figura 22. Variación de peso en envase natural

B (pendiente)	0,042	g
Area	0,041	m <sup>2</sup>
Po	17,53	mm Hg
Pv	17,179	mm Hg
Hr	98	%
k/X	0,06	g/m <sup>2</sup> mmHg

Tabla 35. Permeabilidad del envase natural



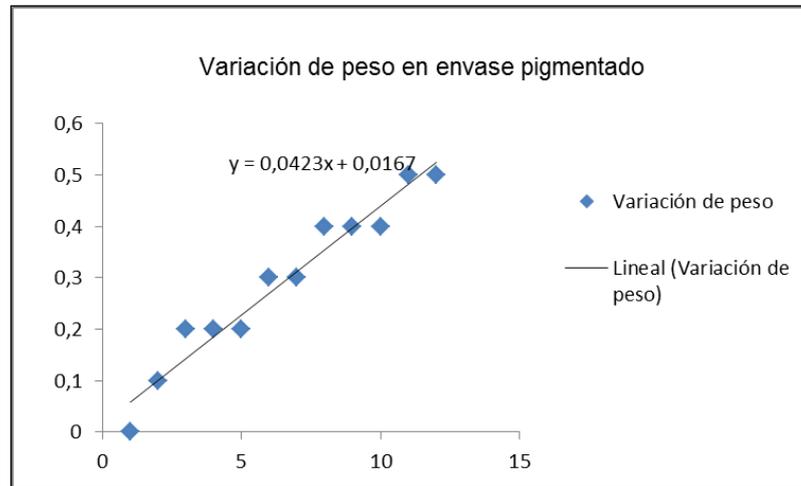


Figura 23. Variación de peso en envase pigmentado

B (pendiente)	0,050	g
Area	0,041	m <sup>2</sup>
Po	17,530	mm Hg
Pv	17,179	mm Hg
Hr	98	%
k/X	0,071	g/m <sup>2</sup> mmHg

Tabla 36. Permeabilidad del envase pigmentado



El envase natural presentó una constante de permeabilidad menor lo que quiere decir que es más susceptible a ganar humedad, razón por la cual también se solventan los resultados obtenidos anteriormente de acidez, pH, lactosa, microbiología, vida de estante, velocidad de reacción y energía de activación, ya

que al ser este envase más permeable al envase pigmentado se desencadenan más rápidamente las reacciones revisadas.

### 5.3. Análisis físico-químicos en los mejores tratamientos

En base a los estudios de estabilidad realizados se eligieron las mejores tratamientos; es decir las muestras de 4°C en el envase natural y en el envase pigmentado sin embargo también fueron considerados los experimentos a temperatura de 8°C, ya que la temperatura de almacenamiento para yogures puede oscilar entre 4°C a 8°C, con los resultados que se muestran a continuación, se podrá establecer la mejor temperatura de conservación y el mejor envase.

#### 5.3.1. pH

ENVASE NATURAL			ENVASE PIGMENTADO		
T°C	Tiempo (horas)	pH	T°C	Tiempo (horas)	pH
4	0	4,2	4	0	4,22
4	24	4,16	4	24	4,18
4	72	4,15	4	72	4,18
4	132	4,11	4	132	4,13
4	180	4,08	4	180	4,12
4	228	4,08	4	228	4,12
4	324	4,07	4	324	4,11
4	372	4,06	4	372	4,09
4	420	4,06	4	420	4,09
4	480	4,05	4	480	4,07
4	528	4,04	4	528	4,07
4	552	4,03	4	552	4,06
			4	600	4,03

Tabla 37. Valores de pH obtenidos a 4°C

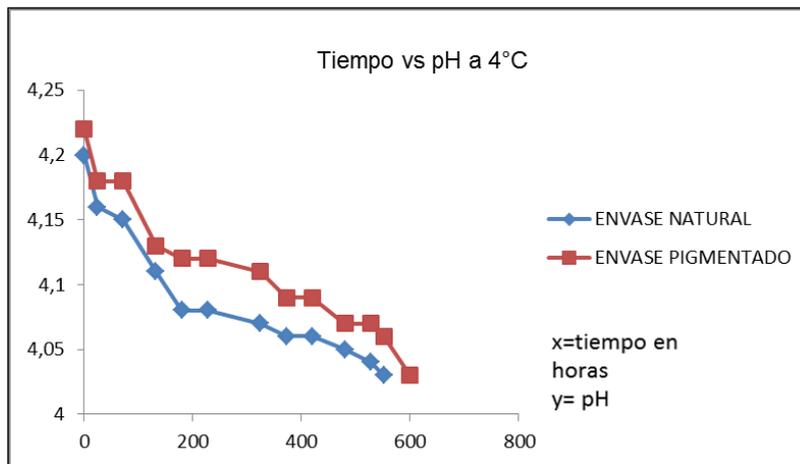


Figura 24. Tiempo vs pH a temperatura de 4°C

ENVASE NATURAL			ENVASE PIGMENTADO		
T°C	Tiempo (horas)	pH	T°C	Tiempo (horas)	pH
8	24	4,22	8	24	4,22
8	48	4,15	8	48	4,17
8	72	4,13	8	72	4,14
8	144	4,08	8	144	4,09
8	180	4,06	8	180	4,07
8	228	4,06	8	228	4,07
8	324	4,04	8	324	4,05

Tabla 38. Valores de pH obtenidos a 8°C

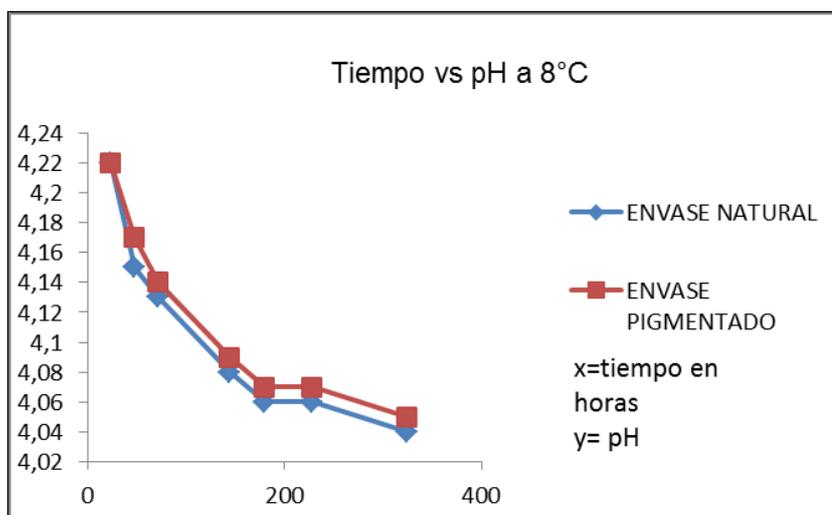


Figura 25. Tiempo vs pH a temperatura de 8°C

Al igual que en las pruebas de estabilidad realizadas, se verifica nuevamente que el descenso del pH en el envase pigmentado sometido a las dos temperaturas de 4°C y de 8°C es más lento.

Haciendo una comparación entre las temperaturas de refrigeración se puede observar que este factor influye enormemente en el descenso de pH ya que a la temperatura de 8°C se alcanzó un pH de 4,04 para el envase natural y de 4,05 en el envase pigmentado; pero en 13 y 15 días respectivamente. Por otro lado las muestras refrigeradas a 4°C alcanzaron un pH de 4,3 a 23 días el producto contenido en el envase natural y a 25 días el producto en el envase pigmentado.

### 5.3.2. Acidez

ENVASE NATURAL						ENVASE PIGMENTADO					
T°	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	T°	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic
4	0	0	7	0,63	70	4	0	0	7	0,63	70
4	24	1,00	8	0,72	80	4	24	1,00	7,8	0,702	78
4	72	3	10	0,86	95	4	72	3	9	0,77	85,5
4	144	6,00	10,1	0,86	95,95	4	132	5,50	9,8	0,84	98
4	180	7,50	10,2	0,87	96,9	4	180	7,50	10	0,86	100
4	228	9,50	10,2	0,87	96,9	4	228	9,50	10,1	0,86	101
4	324	13,50	10,3	0,88	97,85	4	324	13,50	10,1	0,86	101
4	372	15,50	10,5	0,90	99,75	4	372	15,50	10,2	0,87	102
4	420	17,50	10,6	0,91	100,7	4	420	17,50	10,2	0,87	102
4	480	20,00	10,8	0,92	102,6	4	480	20,00	10,4	0,89	104
4	528	22,00	11	0,94	104,5	4	528	22,00	10,5	0,90	105
4	552	23,00	11,2	0,96	106,4	4	552	23,00	10,7	0,91	107
4						4	600	25,00	11	0,94	600

Tabla 39. Valores de acidez obtenidos a 4°C

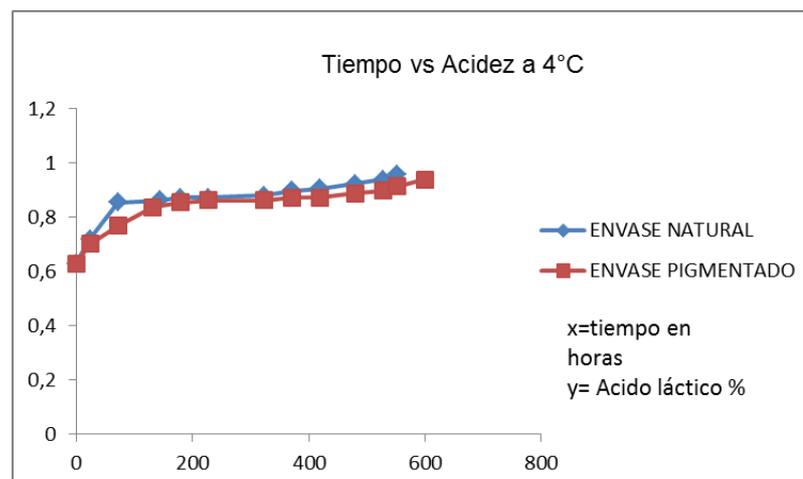


Figura 26. Tiempo vs Acidez a temperatura de 4°C

ENVASE NATURAL						ENVASE PIGMENTADO					
T°	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	Tiempo (horas)	Tiempo (días)	VT (ml)	Acido Láctico (%)	°Dornic	
8	0	0	7	0,63	70	0	0	7	0,63	70	
8	24	1,00	9	0,81	90	24	1,00	9	0,81	90	
8	72	3	10,5	0,90	99,75	72	3	10,3	0,88	97,85	
8	144	6,00	10,8	0,92	102,6	144	6,00	10,5	0,90	105	
8	180	7,50	10,8	0,92	102,6	180	7,50	10,6	0,91	106	
8	228	9,50	10,8	0,92	102,6	228	9,50	10,6	0,91	106	
8	324	13,50	11	0,94	104,5	324	13,50	10,8	0,92	108	

Tabla 40. Valores de acidez obtenidos a 8°C

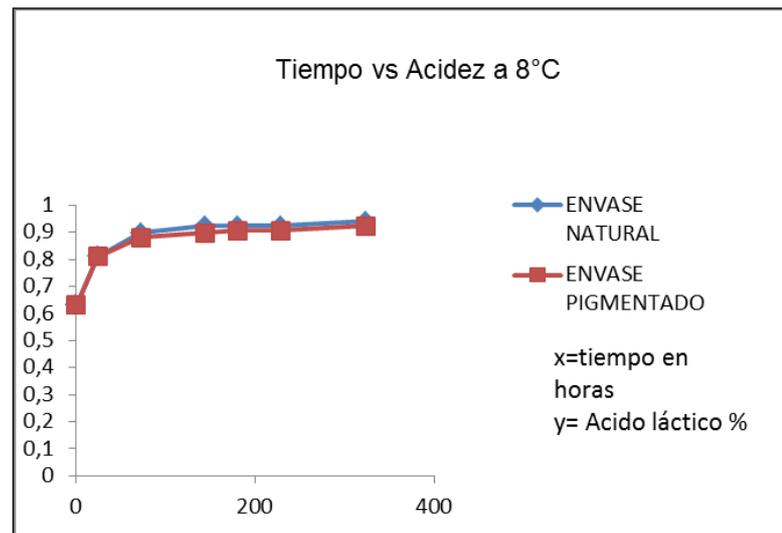


Figura 27. Tiempo vs Acidez a temperatura de 8°C

La acidez también se ve afectada por los diferentes envases y las diferentes temperaturas, alcanzando una mayor acidez el producto contenido en el envase natural y refrigerado a 8°C y una menor acidez el producto envasado en el envase pigmentado a 4°C. Cabe recalcar que la acidez es un factor primordial de la vida útil ya que esta inhibe el crecimiento de microorganismos indeseables.

### 5.3.3. Lactosa

Lactosa en Yogur a 4°C					
ENVASE: NATURAL					
Tiempo	P1	P2	P3	Lactosa H2O	% Lactosa
0	0,21499	0,36675	0,15176	103,447456	4,138
24	0,21981	0,36337	0,14356	97,856	3,914
168	0,21067	0,34558	0,13491	91,957	3,678
324	0,21111	0,33881	0,1277	87,041	3,482
552	0,22246	0,3379	0,11544	78,681	3,147
ENVASE: PIGMENTADO					
0	0,21499	0,36675	0,15176	103,447456	4,138
24	0,20055	0,34678	0,14623	99,677	3,987
168	0,1994	0,33486	0,13546	92,332	3,693
324	0,20641	0,3367	0,13029	88,807	3,552
552	0,2157	0,33527	0,11957	81,497	3,260

Tabla 41. Lactosa en Yogur a 4°C.

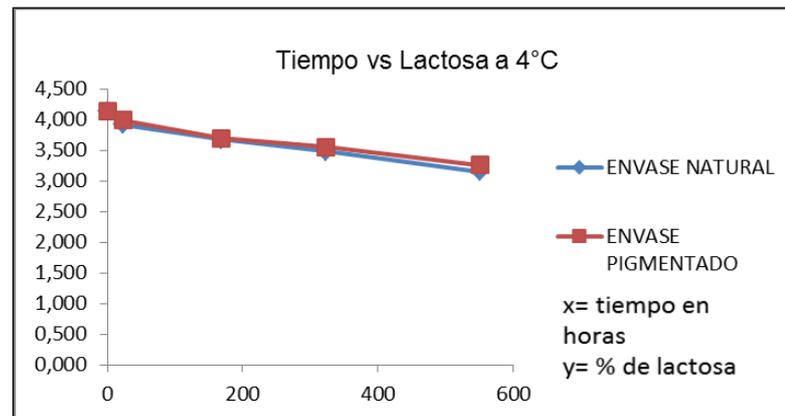


Figura 28. Tiempo vs lactosa a temperatura de 4°C

Lactosa en Yogur a 8°C					
ENVASE: NATURAL					
Tiempo	P1	P2	P3	Lactosa H2O	% Lactosa
0	0,21499	0,36675	0,15176	103,447	4,138
24	0,20195	0,33361	0,13166	89,741	3,590
168	0,20709	0,33546	0,12837	87,498	3,500
324	0,21059	0,33173	0,12114	82,567	3,303
ENVASE: PIGMENTADO					
0	0,21499	0,36675	0,15176	103,447	4,138
24	0,20177	0,33842	0,13665	93,144	3,726
168	0,20901	0,33784	0,12883	87,811	3,512
324	0,21325	0,33879	0,12554	85,568	3,423

Tabla 42. Lactosa en Yogur a 8°C

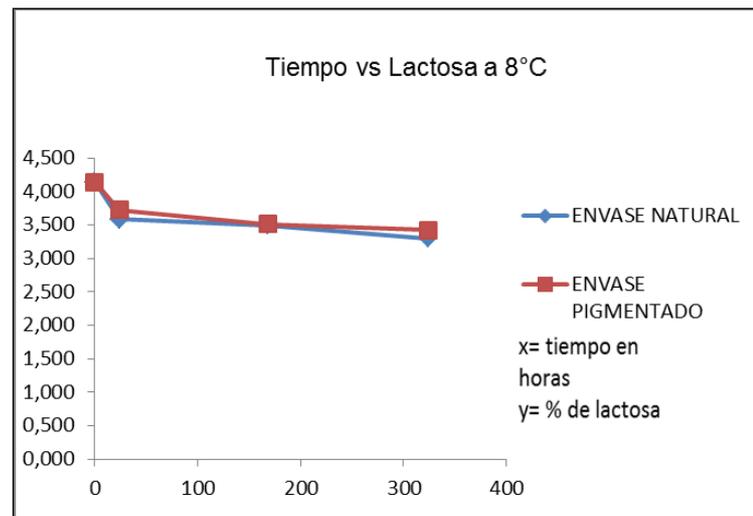


Figura 29. Tiempo vs lactosa a temperatura de 8°C

El contenido de lactosa va de la mano del ácido láctico generado; con estos segundos análisis se pudo verificar nuevamente que las muestras que presentaron mayor acidez, contenían menores cantidades de lactosa.

#### 5.4. Análisis microbiológicos

Microorganismos a Temperatura 4°C			
ENVASE: NATURAL			
Tiempo	10 <sup>6</sup> UFC	10 <sup>7</sup> UFC	10 <sup>8</sup> UFC
0	32	0	0
48	228	25	2
168	76	23	2
348	67	12	1
468	43	11	1
ENVASE: PIGMENTADO			
0	19	0	0
48	125	22	2
168	150	19	2
348	102	12	2
468	60	11	1

Tabla 43. Microorganismos a temperatura de 4°C

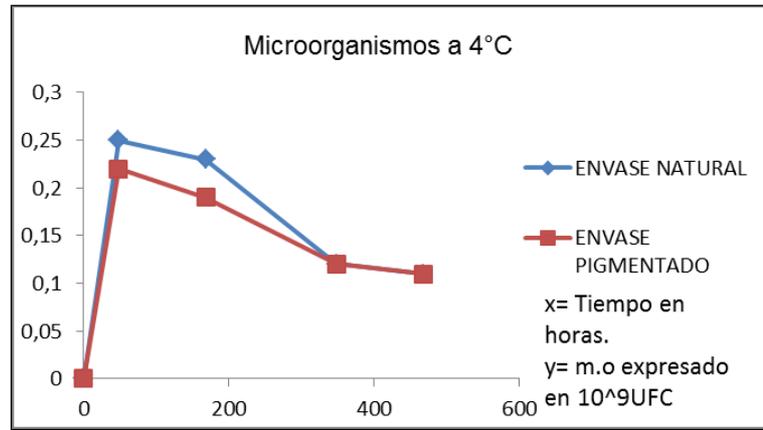


Figura 30. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 4°C

Microorganismos a Temperatura 8°C			
ENVASE: NATURAL			
Tiempo	10 <sup>6</sup> UFC	10 <sup>7</sup> UFC	10 <sup>8</sup> UFC
0	45	0	0
48	157	15	2
168	35	15	0
348	33	7	0
ENVASE: PIGMENTADO			
0	32	0	0
48	151	13	1
168	60	14	2
348	64	10	1

Tabla 44. Microorganismos a temperatura de 8°C

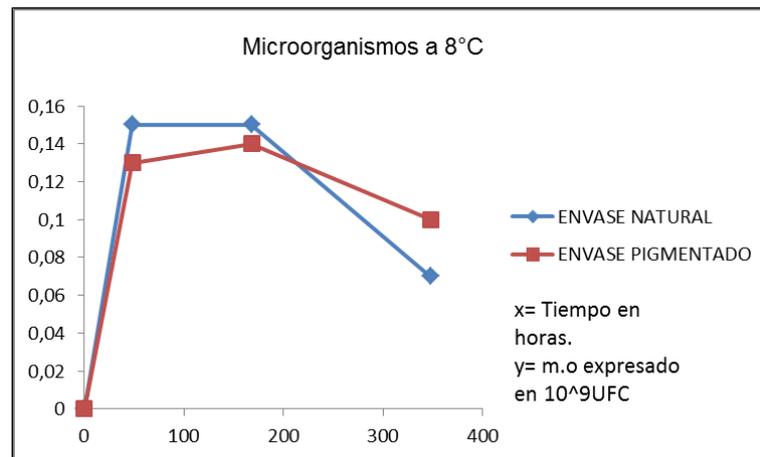
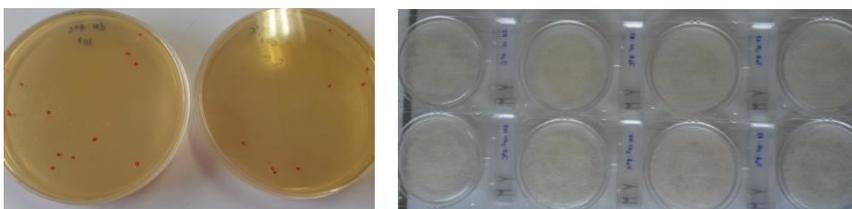


Figura 31. Crecimiento de Microorganismos a temperatura de 8°C

En los gráficos se observa claramente la curva de crecimiento de los microorganismos, en donde se identifican la fase de latencia, la fase exponencial, la fase estacionaria y la fase de declive o muerte. Los microorganismos propios del yogur inhiben el crecimiento de otros microorganismos indeseables tales como mohos, levaduras y coliformes; por este motivo también se considera el fin de la vida útil del producto cuando los *Lactobacillus* y *Streptococcus* mueren puesto que su ausencia aumenta el riesgo de que otros microorganismos crezcan y contaminen el producto.

Se garantizó la inocuidad del alimento ya que durante toda la vida útil hubo ausencia de mohos, levaduras y coliformes.



## 5.5. Análisis sensoriales

Los análisis sensoriales se realizaron partiendo del mejor tratamiento del diseño experimental, siendo este el de menor temperatura y mayor cantidad de días; sin embargo se llevarán a cabo las cataciones también de la prueba testigo es decir

8°C por 15 días ya que el producto elaborado en condiciones óptimas debería mantenerse a 4°C, pero cuando el yogur es comercializado es refrigerado a temperaturas que oscilan entre 4°C a 8°C, razón por la cual se vio necesario este análisis para dichas muestras.

El panel de catación estuvo conformado por 7 personas semi entrenadas, las mismas que evaluaron las características del producto una vez a la semana durante toda la vida útil de cada una de las muestras. Con estos resultados se pudo obtener el producto con mayor porcentaje de aceptación.

Envase Natural 4°C						
TIEMPO	ASPECTO VISUAL	ASPECTO OLFATIVO	TEXTURA BUCAL	ASPECTO GUSTATIVO	APRECIACION GENERAL	PROMEDIO
	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación
Semana 1	92,381	75,714	82,857	84,762	88,571	84,857
Semana 2	90,476	84,286	90,476	89,524	85,714	88,095
Semana 3	86,667	80,000	84,762	83,810	80,000	83,048
Semana 4	74,286	78,571	60,000	60,000	51,429	64,857

Tabla 45. Evaluación sensorial del envase natural a 4°C

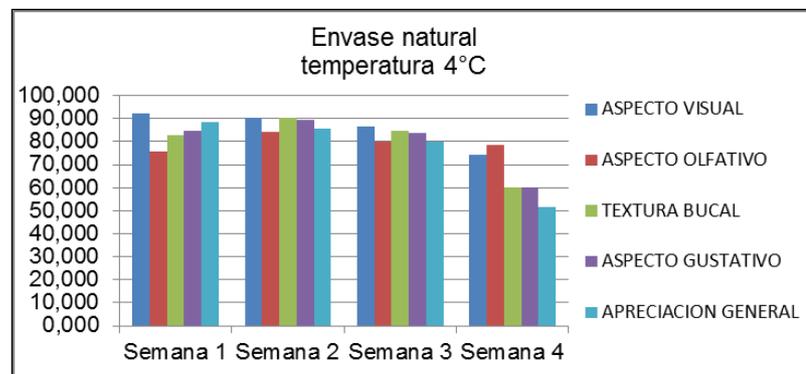


Figura 32. Evaluación sensorial en envase natural a 4°C

Envase Pigmentado 4°C						
TIEMPO	ASPECTO VISUAL	ASPECTO OLFATIVO	TEXTURA BUCAL	ASPECTO GUSTATIVO	APRECIACION GENERAL	PROMEDIO
	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación
Semana 1	96,190	84,286	91,429	87,619	97,143	91,333
Semana 2	96,190	84,286	92,381	97,143	97,143	93,429
Semana 3	92,381	82,857	89,524	88,571	91,429	88,952
Semana 4	80,952	84,286	77,143	68,571	71,429	76,476

Tabla 46. Evaluación sensorial del envase pigmentado a 4°C

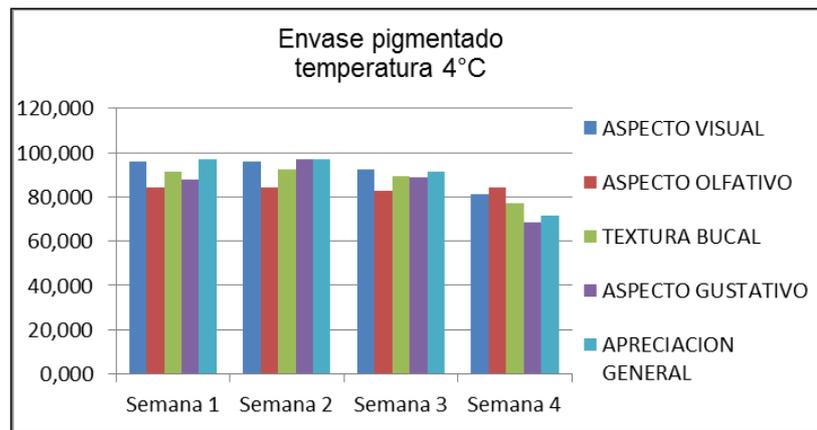


Figura 33. Evaluación sensorial en envase pigmentado a 4°C

Envase Natural 8°C						
TIEMPO	ASPECTO VISUAL	ASPECTO OLFATIVO	TEXTURA BUCAL	ASPECTO GUSTATIVO	APRECIACION GENERAL	PROMEDIO
	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación
Semana 1	80,952	74,286	86,667	78,095	65,714	77,143
Semana 2	81,905	75,714	71,429	82,857	62,857	74,952
Semana 3	74,286	64,286	71,429	68,571	62,857	68,286

Tabla 47. Evaluación sensorial del envase natural a 8°C

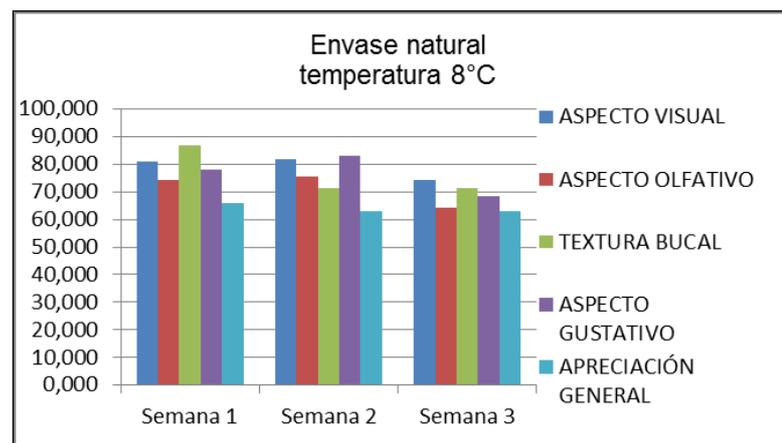


Figura 34. Evaluación sensorial en envase natural a 8°C

Envase Pigmentado 8°C						
TIEMPO	ASPECTO VISUAL	ASPECTO OLFATIVO	TEXTURA BUCAL	ASPECTO GUSTATIVO	APRECIACION GENERAL	PROMEDIO
	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación
Semana 1	83,810	75,714	84,762	80,952	77,143	80,476
Semana 2	86,667	78,571	86,667	86,667	77,143	83,143
Semana 3	82,857	78,571	80,000	78,095	65,714	77,048

Tabla 48. Evaluación sensorial del envase pigmentado a 8°C

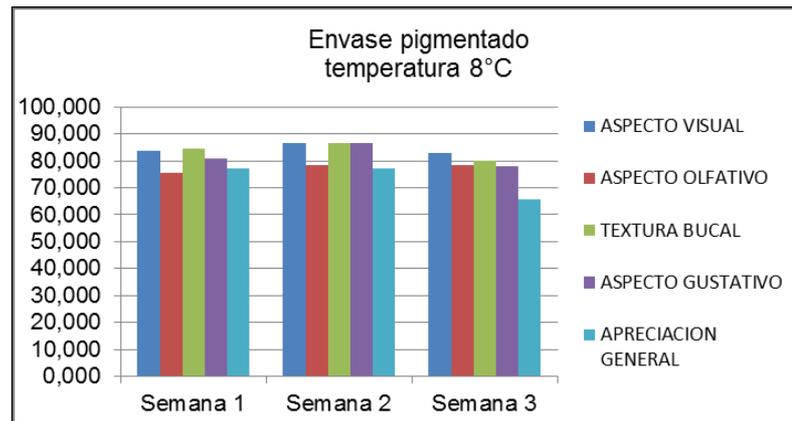


Figura 35. Evaluación sensorial en envase pigmentado a 8°C

ACEPTACIÓN DEL PRODUCTO.				
TIEMPO	ENVASE NATURAL 4°C.	ENVASE PIGMENTADO 4°C.	ENVASE NATURAL 8°C.	ENVASE PIGMENTADO 8°C.
	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación	% Aceptación
Semana 1	84,857	91,333	77,143	80,476
Semana 2	88,095	93,429	74,952	83,143
Semana 3	83,048	88,952	68,286	77,048
Semana 4	64,857	76,476		

Tabla 49. Aceptación del producto

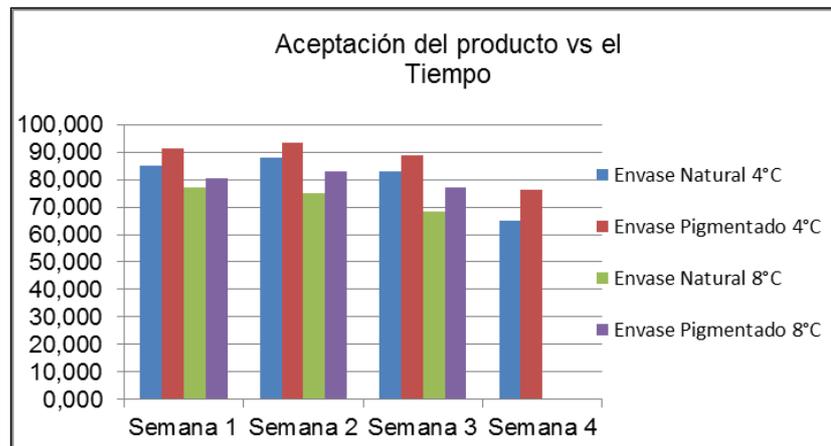


Figura 36. Aceptación del producto vs el tiempo

De las pruebas de catación se obtuvo el producto con mayor aceptación por parte del consumidor. Fue interesante descubrir que el panel de catación pudo identificar la muestra con menor acidez, siendo esta el producto contenido en el envase pigmentado y refrigerado a 4°C. También se pudo observar que el gusto del consumidor por los diferentes productos fue disminuyendo con el transcurso del tiempo. Sin embargo la mayoría de las muestras alcanzaron su nivel máximo de aceptación durante la semana 2, en donde la acidez se encontraba en un rango de 0,86% a 0,9% de ácido láctico, valor al cual la acidez influye en el flavor del producto y fue rechazado en valores de acidez de 0,96% de ácido láctico, lo que finaliza la vida útil del producto. Las cataciones se realizaron después de verificar la inocuidad del producto para así garantizar la salud del consumidor.



## CONCLUSIONES

Después de realizar el estudio de la interacción de los envases plásticos con el yogur tipo 1 se presentan las siguientes conclusiones:

- Los productos envasados en los distintos contenedores se conservaron durante toda su vida útil debido a la combinación de los valores bajos de pH con el ácido láctico producido, siendo el producto contenido en el envase pigmentado y refrigerado a 4°C, el que presentó los mejores resultados de esta combinación alcanzando un pH de 4,12 en las pruebas de estabilidad y un pH de 4,03 en las pruebas con el mejor tratamiento, razón por la cual en este experimento no se observó sinéresis, fenómeno que se produce por la ganancia de humedad y valores de pH menores a 4.
- En cuanto a la evaluación sensorial se puede recalcar que el flavor del producto característica producida por las bacterias, fue identificado por los catadores en la segunda semana de catación en donde se registraron los niveles de aceptación más altos en comparación con las otras semanas.  
Es necesario indicar que valores de pH muy bajos también interfieren en la textura del producto por lo que al descenso de este se registraron bajos porcentajes de aceptación de la textura bucal en todas las muestras.  
Los catadores identificaron la pérdida de calidad de todos los productos al final de la vida útil. Entre las cuatro muestras que se pusieron a consideración del panel de catación, el producto con mayor aceptación durante toda su vida útil fue el producto del envase pigmentado y refrigerado a 4°C con un porcentaje de aceptación del 91,33% en la primera semana, 93,43% en la segunda semana, 88,95% en la tercera semana y 76,48% en la última semana vs al 84,86% en la primera semana, 88,01% en la segunda semana, 83,05% en la tercera semana y 64% en la última semana que obtuvo el producto del envase natural a la misma temperatura.  
Los catadores distinguieron fácilmente los productos refrigerados a una temperatura de 8°C de aquellos refrigerados a 4°C; en donde se evidencia nuevamente la preferencia por el producto del envase pigmentado ya que este presenta porcentajes mayores de aceptación que el producto contenido en el

envase natural. La evaluación sensorial fue la característica que influyó para finalizar la vida útil de cada uno de los experimentos.

- Los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos van acorde a la bibliografía estudiada ya que al inicio de la vida útil del producto se observó un ligero crecimiento de microorganismos lo que se identifica como el crecimiento de los Streptococcus puesto que los bacilos sintetizan factores idóneos para el crecimiento de estos, pero al incrementarse la acidez del producto los Streptococcus se vieron afectados, mientras que los Lactobacillus se pudieron seguir desarrollando por tener la característica de ser más resistentes a la formación de ácido razón por la cual su crecimiento no se detiene.

Se pudo observar en todos los análisis realizados que las curvas de crecimiento de las muestras envasadas en los contenedores naturales poseían mayor cantidad de microorganismos, se atribuye este fenómeno a que el envase natural permite el ingreso de luz ya sea natural o artificial factor que fomenta el desarrollo de los microorganismos. De igual manera se observó la influencia de la temperatura ya que los productos refrigerados a 8°C cumplieron todas las fases de la curva de crecimiento en un menor tiempo que las muestras refrigeradas a 4°C.

Sin embargo todos los productos estudiados cumplieron con los requerimientos microbiológicos establecidos en la Norma INEN 2395:2011. El factor microbiológico para las muestras en estudio no fue el que definió el final de la vida útil de cada uno de ellos ya que microbiológicamente estos productos continuaron siendo aceptables pues no hubo presencia de mohos, levaduras y coliformes en ninguna de las muestras.

- El contenido de lactosa se relaciona con la cantidad de ácido láctico presente, durante los análisis realizados se verificó los cambios producidos en el alimento ya que las muestras más acidificadas poseían menores cantidades de lactosa, por lo que se puede concluir que mientras mayor ácido láctico haya en el producto menor lactosa va a poseer el mismo. En cuanto a los resultados obtenidos de los productos contenidos en los diferentes envases se pudo observar que el envase pigmentado vs el envase natural, presentó mayor cantidad de lactosa en un mismo periodo de tiempo lo que significa que los microorganismos todavía tienen sustrato para producir ácido láctico por lo que la reacción es más lenta razonamiento que se solventa con los resultados de acidez, ya que el envase pigmentado alcanzó niveles de acidez menores a los

del envase natural. De igual manera se explican estos resultados con los valores de las constantes de velocidad de reacción; ya que la velocidad de reacción en envases naturales fue mayor a la velocidad de reacción del producto en envases pigmentados; así mismo se necesita mayor energía de activación para desencadenar la reacción en envases pigmentados lo que no sucede con los envases naturales.

- Por todas las razones mencionadas anteriormente se puede concluir que todas las reacciones químicas, físicas y microbiológicas están estrechamente relacionadas con las características de los envases en estudio así como con la temperatura; se concluyó que a mayor temperatura mayor velocidad de reacción y por lo tanto menor tiempo de vida útil, al igual que a mayor acidez menor cantidad de lactosa residual, que a menor pH se distinguen cambios en la textura del producto así como presencia de sinéresis y por lo tanto menor aceptación del producto. Se concluye también que el envase más idóneo y recomendado para garantizar la calidad del producto es el envase pigmentado debido a que presentó una constante de permeabilidad mayor lo que disminuye la interacción del envase con el alimento.
- Finalmente se concluye que los envases son un factor extremadamente importante a considerar en la vida útil de los productos, estudiar y analizar las características del envase así como sus consecuencias es de vital importancia ya que por los estudios realizados en este proyecto se puede verificar que la vida útil del yogur en un envase natural es menor a la vida útil del yogur en un envase pigmentado al igual que la vida restante, estas características de vida útil es la que a las empresas les interesa pues mientras más tiempo se pueda mantener un producto en el mercado menos pérdidas tendrá la empresa. Realizar pruebas de vida útil debería ser un estudio de vital importancia en todas las fábricas que producen alimentos pues se evitarían gastos innecesarios y a cambio se garantizaría la calidad del alimento.

## **RECOMENDACIONES**

- Después de obtener los resultados del estudio realizado y verificar las diferencias entre un envase y otro, se recomienda hacer análisis de vida de estante de los productos alimenticios en diferentes envases, ya que de esta manera se podrá garantizar la vida útil en el mejor envase así como evitar gastos innecesarios en materiales de empaque que disminuyan la vida de anaquel de un alimento y generen pérdidas a las empresas que los producen.
- De igual manera recomiendo utilizar envases pigmentados para envasar leches fermentadas ya que por lo presentado anteriormente este tipo de envase es el más idóneo al momento de conservar y alargar la vida útil del producto.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AMORES, R. CALVO, A. MAESTRE, JR. MARTINEZ-HERNÁNDEZ, D. 2004. Probióticos. Consultado el 13 de Noviembre de 2013. Universidad Complutense de Madrid. <http://www.seq.es/seq/0214-3429/17/2/131.pdf>
2. ARIOSTI. A. 2009 Tecnología de Empaques. Módulo 4.
3. CABRERA, J. 2011. Estudio de prefactibilidad e impacto ambiental para el establecimiento de una planta de procesamiento lácteos en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas. Caso Lefridersa. S.A. Quito. Consultado el 11 de Noviembre de 2013. Escuela Politécnica Nacional. <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/3978/3/CD-3755.pdf>.
4. CELIS, M. JUAREZ, D. 2009. Microbiología de la leche. Consultado el 13 de Noviembre de 2013. Universidad Tecnológica Nacional. [http://www.edutecne.utn.edu.ar/sem fi qui micrb 09/microbiologia leche.pdf](http://www.edutecne.utn.edu.ar/sem%20fi%20qui%20micrb%2009/microbiologia%20leche.pdf)
5. COLES. R. McDOWELL. D. Kirwan. M.J. 2003. Food Packaging Technology. CRC. Press. Blackwell Publishing. Consultado el 22 de Septiembre de 2013. [http://study.syau.edu.cn/upload/54/attach/2003500026\\_2011101209131912.pdf](http://study.syau.edu.cn/upload/54/attach/2003500026_2011101209131912.pdf)
6. ECUADOR. INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2006). Norma Técnica Ecuatoriana NTE-INEN 9:2006 Primera Revisión. Leches Fermentadas. Requisitos. Primera Edición.
7. ECUADOR. INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2012). Norma Técnica Ecuatoriana NTE-INEN 9:2012 Quinta Revisión. Leche Cruda. Requisitos. Primera Edición.
8. ECUADOR. INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2012). Norma Técnica Ecuatoriana NTE-INEN 2395:2011 Segunda Revisión. Leches Fermentadas. Requisitos. Primera Edición.
9. EMBLEM. A. 2000. Predicting packaging characteristics to improve shelf life. En Kilcast. D. Subramaniam. P. The stability and Shelf life of food. América del Norte y del Sur. CRC, Press. <http://link.springer.com/article/10.1007%2F978-1-4020-1584-208#page-2>
10. FERNANDEZ. C. Piñero.M. nd. Superficies de Respuesta. Métodos y Diseños. Consultado el 23 de Enero de 2014. [http://bellman.ciencias.uniovi.es/d\\_experimentos/d\\_experimentos\\_archivos/sr.pdf](http://bellman.ciencias.uniovi.es/d_experimentos/d_experimentos_archivos/sr.pdf)

11. KILCAST. D. 2000. Sensory evaluation methods for shelf life assessment. En Kilcast. D. Subramaniam. P. The stability and Shelf life of food. América del Norte y del Sur. CRC, Press.
12. KILCAST. D. Subramaniam. P. 2000. The stability and Shelf life of food. América del Norte y del Sur. CRC, Press.
13. KNUT, J. 2008. Bacterias prebióticas en productos fermentados. Características de los productos y microorganismos iniciadores. Consultado el 14 de Noviembre de 2013. [http://www.alimentariaonline.com/media/MLC025\\_PROBIOTICAS.pdf](http://www.alimentariaonline.com/media/MLC025_PROBIOTICAS.pdf)
14. LABUZA.T.P. 2011. Envases y Embalajes de Materiales Plásticos.España. IATA-CSIC.
15. LEES.D; YAM.K.L; PIERGIOVANNI.L. 2008. Food Packaging Science and Technology. CRC. Pres.
16. MANTHON. Y. 2012. Envases y embalajes. 1a ed. San Martín. Consultado el 20 de Septiembre de 2013. Inst. Nacional de Tecnología Industrial - INTI. <http://www.inti.gob.ar/atp/pdf/cuadernilloEnvasesyEmbalajes.pdf>
17. MIZRAHI. S. 2000. Accelerated shelf life tests. En Kilcast. D. Subramaniam. P. The stability and Shelf life of food. América del Norte y del Sur. CRC, Press.
18. MORALES, (nd). Vida útil de alimentos. Consultado el 18 de Noviembre de 2013. <http://www.cita.ucr.ac.cr/Alimentica/EdicionesAnteriores/Volumen%206,2009/Articulo/Vida%20Util.pdf>.
19. MUIR. D. BANKS. J. Milk and Milk products. En Kilcast. D. Subramaniam. P. The stability and Shelf life of food. América del Norte y del Sur. CRC, Press.
20. OCAMPO. J. 2003. Determinación de la vida de anaquel de café soluble elaborado por la empresa Decafé.S.A. y evaluación del tipo de empaque en la conservación del producto. Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. Consultado el 12 de Enero de 2014. <http://www.bdigital.unal.edu.co/1008/1/jaimeandrescampomunoz.2003.pdf>
21. R, E. Hernández, S. Verdalet, I. Revisión: alimentos e ingredientes funcionales derivados de la leche. ALAN [revista en la Internet]. 2003 Dic [citado 2013 Nov 15]; 53(4): 333-347. Consultado el 13 de Noviembre de 2013. [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222003000400002&lng=es](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000400002&lng=es).
22. UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PERÚ. Facultad de Administración y Negocios. 2012 Guía de Envases y Embalajes. Consultado el 22 de Septiembre de 2013. <http://www.yumpu.com/es/document/view/14830043/guia-de-envases-y-embalajes-utp/1>



## **ANEXOS**



Anexo 1.



# **INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN**

Quito - Ecuador

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 9:2012**

**Quinta revisión**

# LECHE CRUDA. REQUISITOS.

## Primera Edición

RAW MILK. REQUIREMENTS.

First Edition

<b>Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria</b>	<b>LECHE CRUDA REQUISITOS</b>	<b>NTE INEN 9:2012</b>
--	-----------------------------------	----------------------------

---

## **1. OBJETO**

**1.1** Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la leche cruda de vaca, destinada al procesamiento.

## **2. ALCANCE**

**2.1** Esta norma se aplica únicamente a la leche cruda de vaca. La denominación de leche cruda se aplica para la leche que no ha sufrido tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación, ni ha tenido modificación alguna en su composición.

## **3. DEFINICIONES**

**3.1** Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:

**3.1.1** *Leche*. Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo.

**3.1.2** *Leche cruda*. Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40°C).

## **4. DISPOSICIONES GENERALES**

**4.1** La leche cruda se considera no apta para consumo humano cuando:

**4.1.1** No cumple con los requisitos establecidos en el Capítulo 5 de la presente norma.

**4.1.2** Es obtenida de animales cansados, deficientemente alimentados, desnutridos, enfermos o manipulados por personas afectadas de enfermedades infectocontagiosas.

**4.5** Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para la leche serán los que determine el Codex Alimentario CAC/MRL 2.

## 5. REQUISITOS

### 5.1 Requisitos específicos

#### 5.1.1 *Requisitos organolépticos* (ver nota 1)

**5.1.1.1 Color.** Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

**5.1.1.2 Olor.** Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

**5.1.1.3 Aspecto.** Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

#### 5.1.2 *Requisitos físicos y químicos*

**5.1.2.1** La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

**TABLA 1. Requisitos fisicoquímicos de la leche cruda.**

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.	MÉTODO DE ENSAYO
Densidad relativa: a 15 °C	-	1,029	1,033	NTE INEN 11
Materia grasa	% (fracción de masa) <sup>4</sup>	3,0	-	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	-	*
Cenizas	% (fracción de masa)	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación	°C	-0,536	-0,512	NTE INEN 15
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno) <sup>***</sup>	h	3	-	NTE INEN 018

Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a paturización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen; y para la leche destinada a ultrapasteurización: No se coagulará por la			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes <sup>1)</sup>	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes <sup>2)</sup>	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes <sup>3)</sup>	-	Negativo		NTE INEN 1500
Grasas vegetales	-	Negativo		NTE INEN 1500
Suero de Leche	-	Negativo		NTE INEN 2401
Prueba de Brucelosis	-	Negativo		Prueba de anillo PAL (Ring
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS <sup>5)</sup>	ug/l	---	MRL, establecidos en el CODEX Alimentarius CAC/MRL 2	Los establecidos en el compendio de métodos de análisis identificados como idóneos para respaldar los LMR del codex <sup>6)</sup>
<p>* Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa.</p> <p>** °C= °H · f, donde f= 0,9656</p> <p>*** Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento</p> <p>1) Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, lactoperoxidasa adicionada y dióxido de cloro.</p>				

NOTA 1. Se podrán presentar variaciones en estas características, en función de la raza, estación climática o alimentación, pero estas no deben afectar significativamente las características sensoriales indicadas.

**5.1.3 Contaminantes.** El límite máximo para contaminantes es el que se indica en la tabla 2.

**TABLA 2. Límites máximo para contaminantes**

Requisito	Límite máximo (LM)	Método de ensayo
Plomo, mg/kg	0,02	ISO/TS 6733
Aflatoxina M1, µg/kg	0,5	ISO 14674

**5.1.4 Requisitos microbiológicos.** La leche cruda debe cumplir con los requisitos especificados en la tabla 3.

**TABLA 3. Requisitos microbiológicos de la leche cruda tomada en hato**

Requisito	Límite máximo	Método de ensayo
Recuento de microorganismos aeróbios mesófilos REP, UFC/cm <sup>3</sup>	1,5 x 10 <sup>6</sup>	NTE INEN 1529:-5
Recuento de células somáticas/cm <sup>3</sup>	7,0 x 10 <sup>5</sup>	AOAC – 978.26

**5.2 Requisitos complementarios.** El almacenamiento, envasado y transporte de la leche cruda debe realizarse de acuerdo a lo que señala el Reglamento de leche y productos lácteos del Ministerio de Salud Pública.

## 6. INSPECCIÓN

**6.1 Muestreo.** El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 4.

**6.2 Aceptación o rechazo.** Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

## APÉNDICE Z

### Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4	<i>Leche y productos lácteos. Muestreo. Primera Revisión.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 11	<i>Leche. Determinación de la densidad relativa. Primera Revisión.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 12	<i>Leche. Determinación del contenido de grasa.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 13	<i>Leche. Determinación de la acidez titulable. Primera Revisión.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 14	<i>Leche. Determinación de sólidos totales y cenizas. Primera Revisión.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 15	<i>Leche. Determinación del punto de congelación.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 16	<i>Leche. Determinación de las proteínas. Primera Revisión.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 18	<i>Leche. Ensayos de reductasas.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1500	<i>Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-5	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos aerobios mesófilos REP. Primera Revisión</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2401	<i>Leche. Determinación de suero de quesería en leche. Método cromográfico</i>
ISO/TS 6733	<i>Milk and milk products -- Determination of lead content -- Graphite furnace atomic absorption spectrometric method</i>
ISO 14674	<i>Milk and milk powder -- Determination of aflatoxin M1 content -- Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by thin-layer chromatography</i>
AOAC 978.26	<i>Somatic Cells in milk, Optical Somatic Cell Counting Method (Fossomatic) Revised First Action 1993</i>
AOAC 988.08	<i>Antimicrobial Drug in Milk. Receptor assay.</i>

	<i>First Action, 1988</i>
CODEX ALIMENTARIO CAC/MRL 1-2001	<i>Lista de Límites Máximos para Residuos de Plaguicidas</i>
CODEX ALIMENTARIO CAC/LMR 02-2005	<i>Límites Máximos del Codex para residuos de Medicamentos Veterinarios</i>
CODEX ALIMENTARIUS Codex Stan 193-1995	<i>Norma General del Codex para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos. United States Department of Agriculture, USDA Regulations Drugs</i>
CODEX ALIMENTARIO CAC/RCP 57-2004	<i>Código de práctica de higiene para la leche y los productos lácteos</i>
Decreto ejecutivo No. 2800 de 1984-08-01	<i>Reglamento de leche y productos lácteos.</i>  <i>Registro oficial No. 802 de 1984-08-07</i>

## Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Andina NA 0063:2009 *Leche cruda. Requisitos.* Comunidad Andina, Lima 2009.

Norma venezolana COVENIN 903.93 (1R) *Leche pasteurizada.* Comisión Venezolana de Normas industriales. Caracas, 1989.

Norma Técnica Colombiana NTC 506:93. *Productos lácteos. Leche entera Pasteurizada.* Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación ICONTEC, Santa Fé de Bogotá. Colombia 1993.  
Asociación of Oficial Analytical Chemists Official Methods of Análisis, última edición.

United States Department of Agriculture Milk for Manufacturing Purposes and its Production and Processing Recommended Requirements Effective. September 1, 2005. □

## INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

TÍTULO: LECHE CRUDA. REQUISITOS

Código:

Documento:

AL 03.01-401

~~NTE INEN 9~~

### Quinta revisión

ORIGINAL:

REVISIÓN:

Fecha de iniciación del estudio:

Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 2008-03-28

Oficialización con el Carácter de Obligatoria por

Resolución No. 071-2008 de 2008-05-19

publicado en el Registro Oficial No. 490 de 2008-12-17

Fecha de iniciación del estudio: 2011-04

Fechas de consulta pública: de

a

---

Subcomité Técnico: LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS

Fecha de iniciación: 2011-07-04

Fecha de aprobación: 2011-07-04

Integrantes del Subcomité Técnico:

### NOMBRES:

Dra. Katya Yépez Dra.  
Viviana Gaibor Ing. Sánchez

Ing. Ernesto Toalombo

Dr. Rafael Vizcarra (Presidente)

Ing. Martha Palacios

Ing. Pablo Herrera Dr.

Hernán Cortes Dr. Hernan

Ing. Alexander Salazar

Riofrío Dra. Rocio Contero

Tlga. Tatiana Gallegos

Ing. Paola Simbaña Dra.

Noela Bautista

Dra. Rosa Rivadeneira

Ing. Orlando Coba

Dra. Teresa Rodríguez

Dra. Mónica Sosa

Ing. María E. Dávalos (Secretaria Técnica)

Dra. María Eufenia Ramón

Sr. Rodrigo Gómez de la Torre

Dr. Christian Muñoz

Dra. Rocío Cobos

Ing. Patricia Guano

Ing. Viviana Salas

Dr. David Villegas

Dr. Marlon Revelo

Ing. Jorge Chávez

Ing. Diego Escudero

Ing. Marco Cevallos

Dra. Indira delgado

Ing. Julio Vera

**INSTITUCIÓN REPRESENTADA:**

MIRAFLORES – ALIMEC  
INEN

CENTRO DE LA INDUSTRIA  
LÁCTEA INLECHE CIA.  
LTDA.

REYBANPAC - LACTEOS

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA –  
SISTEMA ALIMENTOS

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE,  
QUITO INSTITUTO NACIONAL DE  
HIGIEN, Guayaquil INSTITUTO  
NACIONAL DE HIGIENE, Quito  
INDUSTRIAS LACTEAS TONI S.A.  
PRODUCTORES DE LECHE

PFIZER Cia.  
Ltda.  
QUIMIEN  
CIA. LTDA.  
PARMALAT  
DESCALZI

MIPRO

PASTEURIZADOIRA  
QUITO MIPRO

DEL CAMPO  
CIA. LTDA. DEL  
CAMPO DIA.  
LTDA ALPINA  
ECUADOR

DPA –  
NESTL  
É  
NESTL  
É S.A.  
NESTL  
É S.A.

REYBANPAC –  
LACTEOS EL  
SALINERITO  
PARMALAT

PARMALAT

SECRETARIA DE SALUD –  
MUNICIPIO, Quito UNIVERDSIDAD  
POLITÉCNICA SALESIANA  
UNIVERDSIDAD POLITÉCNICA  
SALESIANA UNIVERSIDA TÉCNICA  
PARTICULAR DE LOJA – ECOLAC

---

Otros trámites: Esta NTE INEN 9:2012 (Quinta Revisión), reemplaza a la NTE INEN 9:2008 (Cuarta Revisión). La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma

---

Oficializada como: Obligatoria

Por Resolución No. 11383 de 2011-12-26

Registro Oficial No. 623 de 2012-01-20

Anexo 2.

CDU: 637.146



CIIU: 3112

ICS: 67.100.01

AL 03.01-442

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

<p>▮</p> <p><b>Norma Técnica</b></p> <p><b>Ecuatoriana</b></p>	<p><b>LECHES FERMENTADAS.</b></p>	<p><b>NTE INEN</b></p> <p><b>2395:2011</b></p>
--	-----------------------------------	--

## 1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las leches fermentadas, destinadas al consumo directo.

## 2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a las leches fermentadas naturales: yogur, kéfir, kumis, leche cultivada o acidificada; leches fermentadas con ingredientes y leches fermentadas tratadas térmicamente.

2.2 No se aplican a las bebidas de leches fermentadas

## 3. DEFINICIONES

3.1 Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:

3.1.1 *Leche Fermentada natural.* Es el producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, elaborado a partir de la leche por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoelectrica). Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de vencimiento. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables. Comprende todos los productos naturales, incluida la leche fermentada líquida, la leche acidificada y la leche cultivada y al yogur natural, sin aromas ni colorantes.

3.1.2 *Producto natural.* Es el producto que no está aromatizado, no contiene frutas, hortalizas u otros ingredientes que no sean lácteos, ni está mezclado con otros ingredientes que no sean lácteos.

3.1.3 *Yogur.* Es el producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de esta con derivados lácteos, mediante la acción de bacterias lácticas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Sreptococcus salivaris* subsp. *thermophilus*, pudiendo estar acompañadas de otras bacterias benéficas que por su actividad le confieren las características al producto terminado; estas bacterias deben ser viables y activas desde su inicio y durante toda la vida útil del producto. Puede ser adicionado o no de los ingredientes y aditivos indicados en esta norma.

**3.1.8 Leche fermentada con ingredientes.** Son productos lácteos compuestos, que contienen un máximo del 30 % (m/m) de ingredientes no lácteos (tales como edulcorantes, frutas y verduras así como jugos, purés, pastas, preparados y conservantes derivados de los mismos, cereales, miel, chocolate, frutos secos, café, especias y otros alimentos aromatizantes naturales e inocuos) y/o sabores. Los ingredientes no lácteos pueden ser añadidos antes o luego de la fermentación.

**3.1.9 Leche fermentada concentrada.** Es una leche fermentada cuya proteína ha sido aumentada antes o luego de la fermentación a un mínimo del 5,6%. Las leches fermentadas concentradas incluyen productos tradicionales tales como Stragisto (yogur colado), Labneh, Ymer e Ylette.

**3.1.10 Leche fermentada adicionada con microorganismos probióticos.** Es el producto definido en el numeral 3.1.1 al cual se le han adicionado bacteria vivas benéficas, que al ser ingeridas favorecen la microflora intestinal.

**3.1.11 Microorganismo probiótico.** Microorganismo vivo, que suministrado en la dieta e ingerido en cantidad suficiente ejerce un efecto benéfico sobre la salud, más allá de los efectos nutricionales.

#### 4. CLASIFICACIÓN

**4.1** De acuerdo a sus características las leches fermentadas, se clasifican de la siguiente manera:

**4.1.1** Según el contenido de grasa en:

- a) Entera.
- b) Semidescremada (parcialmente descremada).
- c) Descremada.

**4.1.2** De acuerdo a los ingredientes en:

- a) Natural,
- b) Con ingredientes,

¶

**4.1.3** *De acuerdo al proceso de elaboración en:*

- a) Batido,
- b) Coagulado o aflanado,
- c) Tratado térmicamente
- d) Concentrado,
- e) Deslactosado.

**4.1.4** *De acuerdo al contenido de etanol, el Kéfir se clasifica en:*

- a) suave
- b) fuerte

## **5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS**

**5.1** La leche que se utilice para la elaboración de leches fermentadas debe cumplir con la NTE INEN 09, y posteriormente ser pasteurizada (ver NTE INEN 10) o esterilizada (ver NTE INEN 701) y debe manipularse en condiciones sanitarias según el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura del Ministerio de Salud Pública.

*(Continúa)*

**5.2** Se permite el uso de otras leches diferentes a las de vaca, siempre que en la etiqueta se declare de que mamífero procede.

**5.3** Las leches fermentadas, deben presentar aspecto homogéneo, el sabor y olor deben ser característicos del producto fresco, sin materias extrañas, de color blanco cremoso u otro propio, resultante del color de la fruta o colorante natural añadido, de consistencia pastosa; textura lisa y uniforme.

**5.4** A las leches fermentadas pueden agregarse, durante el proceso de fabricación, crema previamente pasteurizada, leche en polvo, leche evaporada, grasa láctea anhidra y proteínas lácteas.

**5.5** Los residuos de medicamentos veterinarios y sus metabolitos no deben superar los límites establecidos por el Codex Alimentario CAC/LMR 2 en su última edición.

**5.6** Los residuos de plaguicidas, pesticidas y sus metabolitos, no deben superar los límites establecidos por el Codex Alimentario CAC/LMR 1 en su última edición.

**5.7** Se permite el uso de vitaminas, minerales y otros nutrientes específicos, de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1334-2.

## **6. REQUISITOS**

### **6.1 Requisitos específicos**

**6.1.1** A las leches fermentadas podrán añadirse: azúcares o edulcorantes permitidos, frutas frescas enteras o en trozos, pulpa de frutas, frutas secas y otros preparados a base de frutas. El contenido de fruta adicionada no debe ser inferior al 5 % (m/m) en el producto final.

**6.1.2** Se permite la adición de otros ingredientes como: hortalizas, miel, chocolate, cacao, coco, café, cereales, especias y otros ingredientes naturales. Cuando se utiliza café el contenido máximo de cafeína será de 200 mg/kg, en el producto final. El peso total de las sustancias no lácteas agregadas a las leches fermentadas no será superior al 30% del peso total del producto.

**6.1.3** La leche fermentada con frutas u hortalizas, al realizar el análisis histológico deben presentar las características propias de la fruta u hortaliza adicionada.

**6.1.4** Las leches fermentadas, ensayadas de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con lo establecido en la tabla 1.

TABLA 1. Especificaciones de las leches fermentadas

REQUISITOS	ENTERA		SEMIDESCREMADA		DESCREMADA		METODO DE
	Min	Max	Min	Max %	Min	Max %	
Contenido de grasa	2,5	---	1,0	<2,5	---	<1,0	NTE INEN 12
Proteína, % m/m En yogur, kéfir, kumis, leche cultivada	2,7	--	2,7	--	2,7	--	NTE INEN 16
Alcohol etílico, % m/v En kéfir suave	0,5	1,5	0,5	1,5	0,5	1,5	NTE INEN 379
Presencia de adulterantes <sup>1)</sup> Grasa Vegetal Suero de Leche	Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 1500
* Expresado como ácido láctico							

**6.1.5** Las leches fermentadas deben cumplir con los requisitos del contenido mínimo del cultivo del microorganismo específico (*Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivaris* subsp. *thermophilus*; *Lactobacillus acidophilus*, según sea el caso), y de bacterias probióticas, hasta la fecha de vencimiento, de acuerdo con lo indicado en la tabla 2.

**TABLA 2. Cantidad de microorganismos específicos en leche fermentada sin tratamiento térmico posterior a la fermentación**

PRODUCTO	Yogur, kumis, kéfir, leche cultivada, leches fermentadas con ingredientes y leche fermentada concentrada	kéfir y kumis
	Mínimo	Mínimo
Suma de microorganismos que comprenden el cultivo definido para cada producto	$10^7$ UFC/g	
Bacterias probióticas	$10^6$ UFC/g	
Levaduras		$10^4$ UFC/g

### 6.1.6 Requisitos microbiológicos

**6.1.6.1** Al análisis microbiológico correspondiente las leches fermentadas deben dar ausencia de microorganismos patógenos, de sus metabolitos y toxinas.

**6.1.6.2** Las leches fermentadas, ensayadas de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 3.

**TABLA 3. Requisitos microbiológicos en leche fermentada sin tratamiento térmico posterior a la fermentación**

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Coliformes totales, UFC/g	5	10	100	2	NTE INEN 1529-7
Recuento de <i>E. coli</i> , UFC/g	5	<1	-	0	NTE INEN 1529-8
Recuento de mohos y levaduras, UFC/g	5	200	500	2	NTE INEN 1529-10

En donde:

n = Número de muestras a examinar.

m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

(Continúa)

- ▮ M = Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.  
c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

**6.1.6.3** Cuando se analicen muestras individuales se tomaran como valores máximos los expresados en la columna m.

**6.1.6.4** Las leches fermentadas tratadas térmicamente y envasadas asépticamente deben demostrar esterilidad comercial de acuerdo a NTE INEN 2335

**6.1.7** *Aditivos.* Se permite el uso de los aditivos establecidos en la NTE INEN 2074 para estos productos

**6.1.8** *Contaminantes.* El límite máximo de contaminantes no deben superar los límites establecidos por el Codex Stan 193-1995

## **6.2 Requisitos complementarios**

**6.2.1** Las leches fermentadas, siempre que no se hayan sometido al proceso de esterilización, deben mantenerse en refrigeración durante toda su vida útil.

(Continúa)

**6.2.2** Las unidades de comercialización de este producto debe cumplir con lo dispuesto en la Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad.

## **7. INSPECCIÓN**

**7.1 Muestreo.** El muestreo debe realizarse de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 04.

**7.2 Aceptación o rechazo.** Se acepta el lote si cumple con los requisitos establecidos en esta norma; caso contrario se rechaza.

## **8. ENVASADO Y EMBALADO**

**8.1** Las leches fermentadas deben expendirse en envases asépticos, y herméticamente cerrados, que aseguren la adecuada conservación y calidad del producto.

**8.2** Las leches fermentadas deben acondicionarse en envases cuyo material, en contacto con el producto, sea resistente a su acción y no altere las características organolépticas del mismo.

**8.3** El embalaje debe hacerse en condiciones que mantenga las características del producto y aseguren su inocuidad durante el almacenamiento, transporte y expendio.

## **9. ROTULADO**

**9.1** El Rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en el RTE INEN 022

*(Continúa)*

## APÉNDICE Z

### Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4	<i>Leche y productos lácteos. Muestreo</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9	<i>Leche cruda. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 10	<i>Leche pasteurizada. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 12	<i>Leche. Determinación del contenido de grasa.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 13	<i>Leche. Determinación de la acidez titulable.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 16	<i>Leche. Determinación de la proteína</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 19	<i>Leche. Ensayo de fosfatasa.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 379	<i>Conservas vegetales. Determinación de alcohol etílico.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 701	<i>Leche larga vida. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-2	<i>Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1500	<i>Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-7	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del recuento de colonias.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-8	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y escherichia coli.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-10	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de mohos y levaduras viables.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	<i>Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2335	<i>Leche larga vida. Método para control de la esterilidad comercial</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2401	<i>Leche determinación de suero de quesería en leche fluida y en polvo. Método de cromatografía líquida de alta eficacia.</i>

Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022	<i>Rotulado de productos alimenticios procesados, envasados y empaquetados</i>
<i>Ley 2007-76</i>	<i>del Sistema Ecuatoriano de la Calidad. Publicado en el Registro Oficial No. 26 de 2007-02-22.</i>
Decreto Ejecutivo 3253	<i>Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados, Registro Oficial 696 de 4 de Noviembre del 2002</i>
Codex Alimentarius CAC/MRL 1	<i>Lista de límites máximos para residuos de plaguicidas en los alimentos.</i>
Codex Alimentarius CAC/MRL 2	<i>Lista de límites máximos para residuos de medicamentos veterinarios.</i>
<i>Codex Stan 193-1995 Norma General del Codex para los contaminantes y toxinas presentes en los alimentos.</i>	

## Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Andina. NA 078:2009 *Leches fermentadas. Requisitos.* Comunidad Andina, Lima 2009

Norma Técnica Colombiana NCT 805 *Productos Lácteos. Leches Fermentadas.* Bogotá 2000.

Programa Conjunto FAO – OMS *Norma del Codex para leches fermentadas.* Codex Stan 243-2003.

Adoptado 2003. Revisión 2008, 2010

(Continúa)

]

]

Ministerio de Agricultura y de Abastecimiento del Brasil. Resolución No. 5 de 13 de noviembre del 2000. *Especificaciones para las leches fermentadas.*

Secretaría de Salud. Norma Mexicana NOM 185-SSA1-2002 *Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias.* México 2002.

]

