

Evaluación de leches UHT comerciales y optimización del proceso industrial

Ricardo Simpson R., Maite Jiménez P., Mauricio Vega F., Alejandro Romero M. y Marcia Costa L.

Universidad Técnica Federico Santa María-Valparaíso, Universidad Católica de Valparaíso,
Universidad Austral de Chile. Chile.

RESUMEN. Desde el punto de vista nutricional la leche es uno de los alimentos más completos de la dieta de los mamíferos. Contiene casi todos los nutrientes necesarios para sostener la vida. Pero, una de sus características más relevantes es que puede deteriorarse muy fácilmente, ya sea por contaminación microbiológica o por reacciones químicas durante el procesamiento y también durante el período de almacenamiento. El objetivo de esta investigación, es evaluar leches UHT de cuatro empresas lácteas chilenas y diseñar un tratamiento UHT modificado para cumplir con el criterio de esterilización comercial y a su vez maximizar la estabilidad del producto durante el período de almacenamiento. Para la búsqueda del proceso UHT modificado se desarrolló un modelo matemático, el cual fue acoplado con una rutina de optimización (método *complex*). En este modelo se consideró, la cinética de inactivación de *Bacillus stearothermophilus* (criterio de esterilización comercial) y distintos factores de calidad. Para el cumplimiento de la función objetivo se analizaron varias leches UHT comerciales y para efectos de la optimización computacional se consideró como función objetivo minimizarla aparición de color por la formación de Hidroxi Metil Fulfulal (HMF). También se incluyó como restricción la inactivación de actividad proteásica y lipásica residual. El método de búsqueda (*complex*) se utilizó para encontrar el tratamiento UHT modificado que garantiza la esterilidad comercial y maximiza la estabilidad del producto en el tiempo. Uno de los tratamientos modificados encontrados a través del proceso de búsqueda fue la combinación de dos pre-tratamientos (3,16 minutos a 62,30°C y 6 minutos a 75°C) y luego un tratamiento UHT (0,75 s a 148,8 °C). Este tratamiento logra la máxima estabilidad de la leche, con un efecto mínimo en la formación de color (la formación de HMF fue menor que 3 mg/mL).

Palabras clave: Leche, UHT, termización y optimización.

SUMMARY. Evaluation of commercial UHT milk and optimization of industrial process. From the nutrition al point of view milk is one of the most complete food in the diet of mammals. It contains nearly all the nutrients necessary to sustain life, but milk can deteriorate very easily, either by microbiological contamination or by biochemical reactions during processing and/or storage. The objective of this research study was to design a modified UHT treatment to achieve commercial sterilization and maximize the stabilization of the heat-treated product during storage. To search for a modified UHT process, a mathematical model coupled with an optimization routine (*complex method*) was developed. The mathematical model considers Kinetics for the inactivation of *Bacillus stearothermophilus* and several quality factors. To attain the objective function, several commercial UHT milk were analyzed and for the computer search the minimization of hidroxy methyl furfural (HMF) formation was considered and also including constraints for protease and lipase inactivation. The *complex optimization* procedure was implemented to search for the optimum modified UHT treatment.. One of the optimum modified UHT treatments was the combination of two pre-treatment (3,16 minutes at 62,30°C and 6 minutes at 75°C) in addition with a UHT treatment (0,75 s at 148,8°C). This treatment attains the maximum product stability with a negligible effect on composition and color formation in the treated milk (HMF formation less than 3 mg/mL).

Key words: Milk, UHT, thermization, and optimization.

INTRODUCCION

En Chile, en las últimas décadas, se ha desarrollado de manera importante la actividad lechera, tanto en sus niveles de producción, como en su industrialización. Este aumento ha llevado consigo una considerable masificación del uso de estanques prediales refrigerados, que han contribuido en gran medida a mejorar la calidad higiénica de la leche cruda al

controlar el desarrollo excesivo de bacterias. Sin embargo, un mal manejo de la leche a ese nivel puede generar una selección de la flora psicotrónica con consecuencias negativas para los productos elaborados a partir de ella.

La leche cruda es un producto que tiene una vida útil extremadamente corta si no es expuesta a tratamientos térmicos adecuados, ya que es un fluido biológico de características bioquímicas complejas susceptible de

experimentar pérdidas en su calidad, pues está formada por glóbulos de grasa suspendidos en una solución que contiene el azúcar de la leche (lactosa), proteínas (fundamentalmente caseína) y sales de calcio, fósforo, cloro, sodio, potasio y azufre. No obstante lo anterior, puede igualmente sufrir cambios deteriorativos, aún después de ser procesada térmicamente debido a recontaminación o por el efecto de la actividad enzimática residual (1).

La actividad enzimática residual es debido a la presencia de proteasas y lipasas de origen tanto endógeno como exógeno. Algunos autores (2) han descrito la termorresistencia de las proteasas nativas de la leche: de la plasmina y especialmente su precursor que es el plasminógeno. Según Walstra y Jenness (3) la plasmina resiste la pasteurización y parcialmente también resiste un tratamiento de esterilización del tipo UHT. Sobre las proteasas de origen leucocitario, importante en leches de vaca con mastitis subclínica, hay poca información aunque también se ha descrito que presentan un cierto nivel de termorresistencia (4). El componente exógeno lo conforman enzimas tales como proteasas y lipasas, secretadas por bacterias psicrotróficas. Estas bacterias se ven favorecidas en su desarrollo por las condiciones de almacenamiento refrigerado previo a los tratamientos térmicos de alta temperatura en planta (5). Estas bacterias presentan una marcada termorresistencia aún después de tratamientos térmicos a temperaturas elevadas (6-8). Debido a ello, el uso masivo de estanques prediales ha tenido la desventaja de seleccionar una flora bacteriana diferente, como es la psicrótrofa, la cual genera enzimas de carácter termorresistente que deterioran finalmente el producto, manifestándose en olores y sabores desagradables, producto de la hidrólisis de la materia grasa, y pérdida de textura (aparición mucilaginosa) producto de la acción proteolítica de algunas enzimas.

Así, la búsqueda de un producto que no sólo posea calidad, sino también estabilidad durante su comercialización, se convierte en un problema tecnológico complejo y se han diseñado procesos térmicos como pasteurización, de alta temperatura por corto tiempo (HTST) y de esterilización de ultra alta temperatura (UHT), entre otros, cuya denominación va a depender de la relación existente entre la temperatura y tiempo aplicada sobre el producto. Como ejemplo, el proceso UHT utiliza temperaturas en un rango de 132 a 155°C por 1 a 5 segundos, con el propósito de reducir drásticamente la carga microbiana (5 a 15 reducciones decimales) y al mismo tiempo minimizando las pérdidas nutricionales y cambios organolépticos. Esto permite extender la vida útil del producto hasta en seis meses, sin embargo, de acuerdo con resultados reportados por Driessen (9) después de un proceso UHT quedaría una actividad lipásica y proteásica residual, la que debe ser reducida si se pretende mantener el producto almacenado por largos períodos de tiempo a temperatura

ambiente. Por ello, la optimización del proceso térmico UHT, es de mucho interés económico para el sector (10). Sin embargo, estudios de optimización dinámica aplicados al proceso UHT son escasos (10-12).

La optimización de un proceso industrial, requiere el desarrollo de un buen modelo matemático del sistema, una correcta función objetivo y la aplicación de un algoritmo acorde con las características del problema (13), en resumen, una metodología de optimización debe ser entendible, flexible y automática si se desea que sus resultados sean aplicables (10).

La búsqueda de un proceso UHT dinámico óptimo, se justifica por los disímiles valores de energía de activación (E_a) entre el microorganismo de referencia para el diseño del tratamiento térmico (*Bacillus stearothermophilus*), los factores de calidad (formación de color, retención de vitaminas, pérdida de lisina, etc.) y los factores que determinan la estabilidad del producto en el tiempo (inactivación de lipasas y proteasas). Estos valores disímiles de energía de activación son los que determinan que dos procesos equivalentes desde el punto de vista de la esterilidad comercial no sean equivalentes en cuanto a la inactivación de lipasas, proteasas y tampoco con respecto a los factores de calidad. Incluso mientras más alta es la temperatura de proceso (para procesos de letalidad equivalente), se asegura una mayor retención de calidad, pero simultáneamente se disminuye la inactivación de lipasas y proteasas, lo que se traducirá en una menor estabilidad del producto durante el período de almacenamiento. Esto permite inferir que un proceso a temperatura variable o en etapas puede simultáneamente satisfacer los requerimientos de esterilización comercial, calidad final y estabilidad temporal.

Esta investigación pretende realizar una evaluación de algunas las leches UHT comerciales chilenas e implementar un programa computacional que permita encontrar las condiciones óptimas de operación (tiempo-temperatura) para el proceso de esterilización. La función objetivo será maximizar la calidad final del producto (formación de HMF) y garantizar su estabilidad en el tiempo (minimización de la actividad lipásica y proteásica residual) sujeto a la condición de cumplir con el criterio de esterilización comercial ($\geq 5 D$, *Bacillus stearothermophilus*).

MATERIALES Y METODOS

Descripción del problema

En la práctica comercial (4 empresas chilenas) los procesos UHT varían aproximadamente desde 140 a 150°C, con tiempos que van desde 2 a 4 s. Normalmente el proceso UHT no va acompañado de un pre-tratamiento y cuando lo hay, éste es realizado en un rango entre 70-72°C por aproximadamente 15 s. De acuerdo a antecedentes

bibliográficos y experimentales (14) este tipo de proceso UHT, aún incluyendo pre-tratamiento(s), garantiza un producto comercialmente estéril pero cuya estabilidad a través del período de almacenamiento está seriamente amenazada por los altos niveles de actividad lipásica y proteásica residual.

En este estudio se realiza una evaluación objetiva (actividad lipásica y proteásica residual) de 4 marcas comerciales chilenas y se propone investigar la aplicación de un proceso UHT modificado (incluyendo pre-tratamiento(s) a 55-75°C). Como el objetivo es obtener un producto comercialmente estéril que además sea estable durante el período de almacenamiento (inactivación de actividad proteásica y lipásica), se propone investigar la aplicación de uno o más pre-tratamientos (previos al proceso UHT). Dado que la estabilidad del producto está correlacionada tanto con los niveles residuales de lipasas como de proteasas, es posible que sea más eficiente la incorporación dos o más pre-tratamientos y de esta forma minimizar el tiempo total de proceso.

Materiales y equipos

Para realizar la simulación y obtención de los perfiles óptimos del modelo UHT se dispuso de la siguiente infraestructura:

- Hardware: Computador 486 DX4 100 mhz
8 Mb en Memoria RAM
Impresora HP 560 c
- Software: Microsoft Windows 95
Microsoft Visual Basic 3.0 Professional Edition

Métodos

Modelo matemático, método de optimización y descripción del procedimiento de búsqueda.

Modelo matemático

Para el cálculo de la letalidad acumulada (*Bacillus stearothermophilus*) y el efecto del tratamiento térmico (pre-tratamientos y proceso UHT) sobre la inactivación de enzimas y formación de HMF, se realizaron varios supuestos que se describen a continuación:

- a) Como los productos alimenticios no se calientan instantáneamente, se asumió una curva temperatura/tiempo dividida en cuatro pasos (15).
- b) Otras simplificaciones fueron considerar un sistema homogéneo y que no hay acumulación de lodo en el sistema de intercambio de calor.
- c) Los modelos cinéticos para la letalidad microbiana, inactivación de enzimas y formación de HMF son los que se presentan a continuación:

Inactivación Microbiana (*Bacillus stearothermophilus*)

$$\frac{dN}{dt} = -K_N N \quad (1)$$

Inactivación de Enzimas (lipasas y proteasas)

$$\frac{dE}{dt} = -K_E E \quad (2)$$

Formación de HMF

$$\frac{d(\text{HMF})}{dt} = K_{\text{HMF}} \text{HMF} \quad (3)$$

Los parámetros cinéticos se presentan en la Tabla 1 (10).

Método de optimización

Varios métodos matemáticos de optimización están disponibles en la literatura de ingeniería de alimentos. Un procedimiento que ha generado mucha atención y ha sido empleado en forma consistente en la optimización de procesos alimentarios es el método de búsqueda Complex (10,16,17). Este es uno de los métodos de búsqueda directa disponibles (18,19).

Datos cinéticos

En la Tabla 1 se presentan los ordenes de reacción y valores de energía de activación, E_a y factores de frecuencia, k_o (también llamados factores pre-exponenciales) que se utilizaron como ecuaciones y parámetros en el método de optimización.

TABLA 1

Datos cinéticos para los cambios de calidad y deterioro consideradas en el modelo

| Reacción | Orden | k (s ⁻¹)** | E _a (J mol ⁻¹) | Ln (k ₀) |
|---|-------|------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| Inactivación de Lipasas | 1 | 0,414 | 23,105 | 3,173 |
| Inactivación de proteasas | 1 | 0,259 | 32,055 | 5,766 |
| Formación de HMF ^a | 0 | 0,22 * | 135,098 | 39,833 |
| Inactivación de <i>Bacillus Stearothermophilus</i> ^b | 1 | 1,1 10 ⁻² | 345,357 | 101,188 |

* μmol L⁻¹ s⁻¹, 120 °C

** 70 °C

a Rivera, R. (14)

b Arteaga, et al. (10)

La energía de activación de una reacción esta directamente relacionada con la sensibilidad de la reacción a los cambios de temperatura. Aunque, una reacción con un alto valor de E_a no necesariamente ocurre más rápido que

una con menor E_a . En efecto, la velocidad de reacción a una determinada temperatura esta dada por la constante de reacción, k a esa temperatura. Por ejemplo las enzimas (lipasas y proteasas) tienen una E_a baja en relación a *Bacillus stearothermophilus* y además tienen valores menores de la constante de reacción -en el rango de temperaturas en estudio- que hace posible destruir *Bacillus stearothermophilus* sin afectar significativamente la actividad residual de estas enzimas. En este concepto se fundamenta y sustenta la hipótesis de efectuar pre-tratamiento(s) (temperaturas 55-75°C) para inactivar significativamente las enzimas y un tratamiento UHT (130-150°C) para inactivar *Bacillus stearothermophilus* a los niveles requeridos para la esterilización comercial.

Procedimiento de búsqueda

Para encontrar el proceso óptimo (UHT modificado) se consideró la evaluación con un pre-tratamiento y con dos pre-tratamientos con un solo proceso UHT. En cada pre-tratamiento (con uno o con dos) se definió un límite máximo de tiempo (10 minutos) y un rango de temperatura entre 55 y 75°C; en el caso del proceso UHT el límite de tiempo fue 30 s con un rango de temperatura entre 130 y 150°C. La función objetivo fue minimizar la formación de HMF y se consideró como restricciones los niveles de inactivación de lipasas y proteasas y también el cumplimiento del criterio de esterilización comercial aplicado al microorganismo patrón *Bacillus stearothermophilus* (5 reducciones decimales).

Evaluación de leches comerciales procesadas mediante UHT

Se escogieron 4 marcas comerciales que son representativas en el mercado chileno de productos lácteos y específicamente en leches UHT. Se contacto a los departamentos técnicos de cada empresa y se obtuvo la información relativa a las variables y condiciones de proceso (ver Tabla 2). Haciendo uso del programa computacional se procedió a evaluar los niveles de actividad enzimática residual, formación de HMF y número de reducciones decimales (criterio de esterilización) aplicadas al microorganismo patrón (*Bacillus stearothermophilus*) para cada lote de las diferentes marcas.

TABLA 2
Condiciones de proceso (UHT) para las 4 marcas comerciales*

| Empresa | Temperatura °C | Tiempo (s) |
|---------|----------------|------------|
| A | 145 | 3,0 |
| B | 149 | 2,5 |
| C | 138 | 4,0 |
| D | 150 | 2,0 |

* Departamentos técnicos de 4 empresas lácteas chilenas.

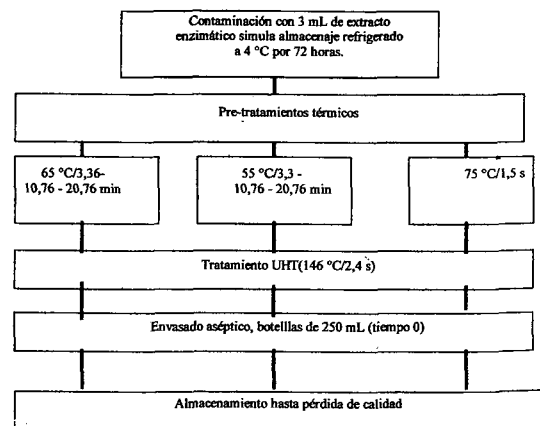
Procedimientos experimentales y analíticos

Para la validación de los resultados obtenidos con el modelo matemático se utilizó los siguientes procedimientos experimentales y analíticos.

Procedimiento experimental

Las muestras de leche cruda recién ordeñadas fueron obtenidas del fundo Vista Alegre y trasladadas al Centro Tecnológico de la Leche (CTL, Valdivia, Chile) para su procesamiento. La cantidad de materia prima a emplear -de acuerdo al diseño experimental- fue de 250 litros por lote (50 litros por cada tratamiento térmico). Esta es la cantidad mínima de materia prima para trabajar en el pasteurizador y pre-esterilizador. Se almacenó el producto en botellas estériles de 250 mL, para ser analizadas en los laboratorios del Instituto de Ciencias y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL) de la Universidad Austral de Chile localizado en la ciudad de Valdivia. La elaboración de leches UHT se realizó de acuerdo al protocolo presentado en la Figura 1. De acuerdo a este protocolo a la leche cruda utilizada se le agregó 3 mL de extractos enzimáticos en cada batch de leche procesada, simulando un almacenaje por 72 horas a una temperatura de 4 °C, tratando de producir los defectos que causaría la flora psicrotrofica. Las leches pretratadas y esterilizadas (UHT) se envasaron en botellas estériles de 250 mL, a las que se adicionó timerosal (0,12%) para evitar el potencial crecimiento microbiano.

FIGURA 1
Protocolo de elaboración de leches UHT



Métodos analíticos

Los análisis físico-químicos se realizaron por triplicado mediante los siguientes métodos:

a) Cuantificación de la actividad proteásica (AP).

Para la determinación de la actividad proteásica se usó el método descrito por Romero y Olano (20), que se basa en la liberación de p-nitroanilina a partir de un sustrato sintético, el cual tiene su máxima absorción a 405 nm.

El procedimiento consiste en mezclar 3 mL de la muestra de leche con 1 mL de solución 6 mM del sustrato sintético leucil-p-nitroanilida en tampón bistris propano 20 mM e incubar a 37°C durante 2 horas. Luego de la incubación se toman 2 mL de la mezcla y se le agregan 4 mL de etanol absoluto, se deja reposar 30 min y se centrifuga a 15.000 rpm a 4°C, luego el sobrenadante es extraído cuidadosamente y leído en el espectrofotómetro a 405 nm.

En forma paralela se debe realizar una curva de calibración con una solución patrón de p-nitroanilina en el rango de 0 - 200 μ moles/L, para así expresar la actividad proteásica como los μ moles de p-nitroanilina liberados en dos horas a 37°C.

b) Cuantificación del grado de proteólisis (GP).

La proteólisis es definida como el incremento de la concentración de grupos amino libres solubles en ácido tricloroacético (TCA) por mililitros de leche (μ moles GAL/mL). Para ello se emplea el método del ácido trinitrobenceno sulfónico (TNBS) (21).

El procedimiento consiste en mezclar 2 mL de la muestra de leche con 4 mL TCA al 12% e incubar a 25°C durante 20 min y filtrar, para luego agregar 0,8 mL de TNBS 5mM y 2 mL borato de potasio 1 M a 0,2 mL de filtrado, e incubar nuevamente durante 30 min a 25°C para luego agregar 2 mL de sulfito de sodio 18 mM en fosfato monosódico 18 mM y leer en el espectrofotómetro a 420 nm. En forma paralela se debe realizar una curva de calibración con una solución patrón de glicina para un rango de concentraciones de 0,2 a 1,2 μ moles de glicina/mL.

c) Cuantificación de la actividad lipásica.

Para determinar la actividad lipásica se usó el método de Egelrud y Olivecroma (22) modificado por Castberg *et al.* (23) y se basa en la titulación de los ácidos grasos liberados en una mezcla de extracción éter dietílico: éter de petróleo (2,75:1) con hidróxido de potasio metanólico.

RESULTADOS Y DISCUSION

Evaluación de leches comerciales y tratamientos preliminares

En las Tablas 3a, 3b, 3c y 3d se presentan los resultados obtenidos de las evaluaciones de las 4 marcas comerciales – empresas chilenas categorizadas como A, B, C y D- de leches UHT. Para efectos de análisis se evaluó el proceso standard (reportado por el departamento técnico de cada empresa) y adicionalmente se consideraron dos modificaciones al proceso

tradicional: a) Proceso standard + pre-tratamiento tipo HTST (72°C/15 s), y b) Proceso standard + pre-tratamiento a baja temperatura por largo tiempo (55°C/10 minutos). En todos los casos, a excepción de la muestra obtenida de la empresa C, se verificó que el tratamiento UHT es efectivo en términos de letalidad microbiana (≥ 5 D). Es importante destacar que los tratamientos térmicos son muy disímiles (en términos de letalidad microbiana) e incluso uno de ellos (empresa C) no cumpliría con el criterio de esterilización comercial establecido en esta investigación (≥ 5 D). A este respecto la legislación chilena no es clara (reglamento sanitario de los alimentos) y para efecto de análisis se ha considerado como criterio de esterilización comercial -a lo menos- 5 reducciones decimales (≥ 5 D). En general los tratamientos térmicos – aunque disímiles- son efectivos para garantizar la estabilidad microbiológica; aunque no presentan una reducción significativa de la actividad enzimática inicial (actividad residual de lipasas y proteasas). En cada uno de los 4 casos analizados, la reducción de la actividad enzimática inicial prácticamente no superó el 10%, lo que no garantizaría la estabilidad del producto en el tiempo (Flores, (23)). También se puede observar (Tabla 3) que el tratamiento térmico acompañado de un pre-tratamiento térmico -utilizado en algunas empresas chilenas- tipo HTST (72 °C por 15 s) no asegura una reducción significativa de la actividad enzimática (reducción $\leq 20\%$). Finalmente un pre-tratamiento (arbitrario) a baja temperatura (55 °C) por un tiempo prolongado (10 minutos) fue efectivo en reducir significativamente la actividad enzimática inicial. Esta reducción alcanzó niveles del 80% en el caso de proteasas y 95% en el caso de lipasas. Este resultado indica que pre-tratamientos a bajas temperaturas (< 65°C) por largo tiempo (> 5 min) serían efectivos en inactivar las enzimas. Incluso el hecho que se quiera reducir el nivel de actividad de dos enzimas, con distintas energías de activación, podría justificar la utilización de dos pre-tratamientos y de esta forma reducir la actividad de ambas enzimas y también el tiempo total del proceso.

De acuerdo con Flores (23) el comportamiento organoléptico se relaciona directamente con parámetros fisicoquímicos, pues a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento, los defectos de sabor se acentuaron en la misma forma como variaron el grado de proteólisis y el pH. Esto apoya la hipótesis de que las enzimas proteolíticas y lipolíticas de naturaleza termorresistente estarían actuando durante el período de almacenamiento de las leches UHT y de esta manera afectando su estabilidad en el tiempo.

TABLA 3
Evaluación de leches UHT provenientes de 4 empresas lácteas chilenas

| EMPRESA A | | | |
|-----------------------------------|----------------------------------|--|--|
| Variable | Proceso Standard (145 °C/3 s) | Proceso Standard + Pre-tratamiento a 72°C/15 s | Proceso Standard + Pretrat. a 55°C/10 min. |
| Actividad Lipásica Residual (%) | 91,1 | 81,3 | 4,5 |
| Actividad Proteásica Residual (%) | 90,9 | 85,0 | 20,1 |
| Formación de HMF mg/mL | 7,9 | 7,9 | 7,9 |
| Reducciones decimales | 8,3 | 8,3 | 8,3 |
| EMPRESA B | | | |
| Variable | Proceso Standard (1459°C/3 s) | Proceso Standard + Pre-tratamiento a 72°C/15 s | Proceso Standard + Pretrat. a 55°C/10 min. |
| Actividad Lipásica Residual (%) | 92,1 | 82,1 | 4,5 |
| Actividad Proteásica Residual (%) | 91,7 | 85,8 | 20,2 |
| Formación de HMF mg/mL | 9,5 | 9,5 | 9,5 |
| Reducciones decimales | 17,6 | 17,6 | 17,6 |
| EMPRESA C | | | |
| Variable | Proceso Standard (138 °C/3 s) | Proceso Standard + Pre-tratamiento a 72°C/15 s | Proceso Standard + Pretrat. a 55°C/10 min. |
| Actividad Lipásica Residual (%) | 89,5 | 79,9 | 4,4 |
| Actividad Proteásica Residual (%) | 89,8 | 83,9 | 19,2 |
| Formación de HMF mg/mL | 5,4 | 5,4 | 5,4 |
| Reducciones decimales | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| EMPRESA D | | | |
| Variable | Proceso Standard (150 °C/3 s) | Proceso Standard + Pre-tratamiento a 72°C/15 s | Proceso Standard + Pretrat. a 55°C/10 min. |
| Actividad Lipásica Residual (%) | 93,5 | 83,4 | 4,6 |
| Actividad Proteásica Residual (%) | 93,2 | 87,1 | 20,6 |
| Formación de HMF mg/mL | 8,3 | 8,3 | 8,3 |
| R. Decimales | 17,8 | 17,8 | 17,8 |

Búsqueda de un proceso UHT modificado con la inclusión de pre-tratamiento(s)

Esta búsqueda está orientada a cumplir con los objetivos de esta investigación y al mismo tiempo minimizar el tiempo total de proceso (UHT + pre-tratamiento(s)). En la Tabla 4 se presenta los resultados del procedimiento de búsqueda. En cada caso (1 ó 2 pre-tratamientos) se consideraron las siguientes restricciones: a) Actividad lipásica y proteásica residual $\leq 20\%$ de la actividad inicial, b) Criterio de esterilización comercial $\geq 5 D$, y c) Formación de HMF no superior a 10 mg/mL.

El procedimiento de búsqueda generó resultados altamente satisfactorios junto con pre-tratamientos muy distintos a los practicados en las empresas chilenas seleccionadas. Así como en las empresas en estudio se favorece un pre-tratamiento a alta temperatura por corto tiempo (tipo HTST), los resultados indican que los pre-tratamientos deben ser de largo tiempo (entre 5 y 10 min) y baja temperatura (55°C). Con miras a una aplicación práctica de los resultados, la búsqueda se orientó a un proceso UHT con un solo pre-tratamiento. También se analizaron procesos UHT con dos pre-tratamientos para efectos comparativos y potencialmente estudiar su factibilidad de implementación.

En la Tabla 4 se muestran los resultados del procedimiento de búsqueda, los que se comparan favorablemente con los resultados presentados en las Tablas 3a, 3b, 3c y 3d. Principalmente por la drástica reducción de los niveles de actividad lipásica y proteásica. Esta reducción a niveles inferiores al 20% de la actividad inicial asegura una mayor estabilidad de la leche durante el período de almacenamiento (14,20). Como se observa en la Tabla 4 el proceso UHT con un pre-tratamiento a baja temperatura (62,29 °C) por largo tiempo (9,16 min) genera un producto que no solo ha reducido fuertemente la actividad enzimática sino que también presenta una disminución significativa en la formación de HMF (4,3 mg/mL). También se exploró la modificación del proceso UHT con la inclusión de dos pre-tratamientos. Esto se fundamenta, principalmente, por la diferencia significativa que presentan los valores de energía de activación de ambas enzimas (Tabla 1). A temperaturas bajas (< 65 °C) se favorece la inactivación de lipasas en relación a la inactivación de proteasas y a temperaturas por sobre 70 °C se favorece la inactivación de proteasas. En la tabla 4, se observa que el proceso UHT modificado con dos pre-tratamientos fue significativamente mejor al proceso con un pre-tratamiento por cuanto se lograron mayores niveles de inactivación enzimática, menor formación de color (menos de 3 mg/mL de HMF) para un mismo tiempo total de proceso.

Ambos casos de estudio (1 y 2 pre-tratamientos) aseguran un producto estéril (más de 5 reducciones decimales aplicadas al microorganismo patrón) y de alta calidad (menos de 5

mg/mL de HMF). Además, los bajos niveles de actividad enzimática residual (lipásica y proteásica) garantizan un producto estable durante el período de almacenamiento (14,20).

TABLA 4

Procedimiento de búsqueda de proceso UHT modificado con uno o dos pre-tratamientos

| Condiciones y variables de proceso | UHT + 1 pre-tratamiento | UHT + 2 pre-tratamientos |
|---|-------------------------|--------------------------|
| Temperatura (°C) y tiempo (minutos) 1 ^{er} Pre-tratamiento | 62,30°C 9,16 min. | 62,30°C 3,16 min. |
| Temperatura (°C) y tiempo (minutos) 2 ^{do} Pre-tratamiento | - | 75,00 °C 6,00 min. |
| Temperatura y tiempo proceso UHT | 145,90°C 1,47 s | 148,80°C 0,75 s |
| Actividad residual lipasas (%) | 4,30 | 2,07 |
| Actividad residual proteasas (%) | 15,90 | 8,57 |
| Formación HMF (mg/mL) | 4,30 | 2,82 |
| Retención de tiamina % | 99,90 | 99,99 |
| Número de reducciones decimales | 5,01 | 5,00 |

Limitaciones

Los valores de los parámetros cinéticos (actividad enzimática y formación de HMF) obtenidos con la leche del fundo Vista Alegre no necesariamente son aplicables a cada una de las leches comerciales. La correcta aplicabilidad de éste estudio implicaría obtener los parámetros cinéticos para la leche cruda que se trata en cada planta. Desde el punto de vista del modelo matemático se podría cuestionar que el efecto térmico sobre los parámetros de calidad y microbiológicos sea la suma de los efectos a distintas temperaturas. Al respecto existe una abundante literatura que valida el supuesto anterior.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las evaluaciones realizadas a leches UHT de 4 empresas chilenas muestran en general que los procesos empleados son satisfactorios desde el punto de vista sanitario (esterilidad comercial) pero no aseguran la estabilidad organoléptica durante el almacenamiento. Esto indica que los pre-tratamientos empleados en el proceso comercial no cumplen el objetivo de reducir significativamente la actividad lipásica y proteásica inicial.

Con el procedimiento de búsqueda fue posible encontrar un proceso UHT modificado (UHT + un pre-tratamiento) que mejora significativamente la calidad del producto tanto en términos de minimizar la formación de HMF como de reducir significativamente la actividad lipásica y proteásica

inicial. Al implementar el procedimiento de búsqueda con la inclusión de dos pre-tratamientos, se encontró un proceso UHT aún más eficiente que el anterior. La formación de HMF fue significativamente menor, la reducción de la actividad enzimática inicial fue mayor para el mismo tiempo total de proceso.

Es posible recomendar a la industria lechera el empleo de este modelo de simulación y optimización. El empleo de este modelo sería un importante apoyo a la toma de decisiones y permitiría obtener productos comercialmente estéril y con una adecuada estabilidad durante el período de almacenamiento. La aplicación de uno o más pre-tratamientos es factible de implementar en la industria láctea dado que gran parte del sector cuenta con plantas de tercera generación. En estas se permiten ciclos regenerativos de calor y por lo tanto es posible implementar uno o más pre-tratamientos.

REFERENCIAS

- Richardson BC. The purification and characterization of a heat stable protease from *Pseudomonas fluorescens* B-52. *New Zealand Journal Dairy Science and Technology*, 1981;13:172-176.
- Snoeren THM, Van der Spec, Dekker R, Both P. Proteolysis during the storage of UHT sterilized whole milk. Experiments with heated by the direct system for 4 second at 142 °C. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 1979;33(1):31-39.
- Walstra P, Jenness R. *Dairy chemistry and physics*. New York, John Wiley, 1984:467 P.
- Verdi RJ. Endogenous proteases in bovine milk and effect of thermal processing on their activity. *Dissertation Abstract International*. - B, 1989;49(9):3527-155 pp.
- Romero A y Rojas M. Desarrollo de lipólisis en leche cruda refrigerada. *Alimentos*, 1984;9(2):5-8.
- Poffe R, Mertens W. Heat - Stable proteases of psychrotrophic bacteria isolated from cooled raw milk. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1988;27(5/6):437-442.
- Fairbairn D, Law BJ. Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. *Journal Dairy Research*, 1986;53:139-177.
- Fox PF. Proteinases in dairy technology. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 1981;35:233-253.
- Driessen FM. Lipases and proteinases in milk. Occurrence, heat inactivation and importance for the keeping quality products. *Agriculture University Wageningen, Netherlands*, 1983.
- Arteaga GE., Vazquez-Arteaga MC y Nakai S. Dynamic optimization of heat treatment of milk. *Food Res. Int.* 1994;27:77-82.
- Peri C, Pagliarini E, Pierucci S. A Study on optimizing heat treatment of milk. I. Pasteurization. *Milchwissenschaft*, 1988;43:636-639.
- Pagliarini E, Fortina MG, Vernile N. Study on optimizing condition for the thermal stabilization on Milk. *Lenbensm. - Wiss. U. - Technol.*, 1991;24:334-337.

13. Evans LB. Optimization theory and its application in food processing. *Food Technology*, 1982;36 (7):88-92.
14. Rivera N. Actividad Proteasica residual como criterio para establecer un tratamiento térmico óptimo en Leches UHT. Valdivia, Chile, UACH, 1995.
15. Reuter H. UHT plants for milk: State of technological development. In *Engineering and Food*. Vol. 2. Processing Applications, de. B. M. McKenna. Elsevier, 1983:651-658.
16. Mishkin M, Karel M, y Saguy I. Applications of optimization in food dehydration. *Food Technol.*, 1982;34(2):86-92.
17. Almonacid S, Simpson R, y Torres JA. Time-variable retort temperature profiles for cylindrical cans: batch process time, energy consumption, and quality retention model. *J. Food Proc. Eng.* 1993;16(4):171-187.
18. Box MJ. A new method of constrained optimization and a comparison with other methods. *The Computer Journal*, 1965;8:42-52.
19. Beveridge GSG, Schechter R S. *Optimization: Theory and practice*. Mc Graw & Hill, New York, 1970
20. Romero A y Olano A. Modificación de un método para determinar la actividad proteásica en leches fluidas. Un resumen de trabajos presentados en el X Congreso de la Sociedad Chilena de ciencias y Tecnología de Alimentos (SOCHITAL); Pucón, Chile, 1993:71.
21. Flores O. Efecto del tratamiento térmico y condiciones de almacenamiento sobre la estabilidad de leche UHT. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, 1990.
22. Egelrud T y Olivecroma T. The purification of a lipoprotein lipase from bovine skim milk. *The Journal of Biological Chemistry*, 1972;247(19):6212-6227.
23. Castberg HB, Solberg P y Egelrud T. Tributyrate as a substrate for the determination of lipase activity in milk. *Journal of Dairy Research*, 1975;42:247-253.

Recibido:15-05-1999

Aceptado:10-07-2000