

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
ESCUELA DE POSGRADO
Programa de Doctorado en Ingeniería en Alimentos



**“Estabilización Físico-Química, Microbiológica y funcional
de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento
refrigerado por tratamiento ultrasonico
pre pasterización”**

**Tesis para optar el grado académico de
Doctor en Ingeniería en alimentos**

Autor:

Mg. Solano Cornejo, Miguel Angel

Asesora:

Dra. Rojas Silva, Meliza Lindsay
DNI. N° 47384486
Código ORCID: 0000-0001-5750-8399

Linea de investigación

**Determinación de parámetros funcionales y moleculares predictivos
de la calidad y estabilidad del producto terminado**

Nuevo Chimbote - PERÚ
2023



UNS
ESCUELA DE
POSGRADO

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO DE TESIS

Yo, Dra. Meliza Lindsay Rojas Silva, mediante la presente certifico mi asesoramiento de la Tesis Doctoral titulada: ESTABILIZACION FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL DE LECHE DE VACA (Bos taurus) EN ALMACENAMIENTO REFRIGERADO POR TRATAMIENTO ULTRASÓNICO PRE PASTERIZACIÓN, elaborada por el Mg. Miguel Angel Solano Cornejo para obtener el Grado Académico de Doctor en Ingeniería en Alimentos en la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Santa.

Nuevo Chimbote, mayo del 2023

Dra. Meliza Lindsay Rojas Silva

ASESOR

CODIGO ORCID: 0000-0001-5750-8399

DNI N° 47384486



UNS
ESCUELA DE
POSGRADO

CONFORMIDAD DEL JURADO EVALUADOR

ESTABILIZACION FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL DE
LECHE DE VACA (Bos taurus) EN ALMACENAMIENTO REFRIGERADO POR
TRATAMIENTO ULTRASÓNICO PRE PASTERIZACIÓN

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Revisado y Aprobado por el Jurado Evaluador:

Dr. Jorge Marino Domínguez Castañeda

PRESIDENTE (A)

CODIGO ORCID 0000-0003-0488-5726

DNI N° 32975182

Dr. Williams Esteward Castillo Martínez

SECRETARIA (O)

CODIGO ORCID 0000-0001-6917-1009

DNI N° 40169364

Dra. Meliza Lindsay Rojas Silva

VOCAL

CODIGO ORCID 0000-0001-5750-8399

DNI N° 47384486



UNS
ESCUELA DE
POSGRADO

ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

A los cinco días del mes de mayo del año 2023, siendo las 16.10 horas, en el aula multimedia N° 01 de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Santa, se reunieron los miembros del Jurado Evaluador conformado por los docentes: Dr. Jorge Marino Domínguez Castañeda (Presidente), Dr. Williams Esteward Castillo Martínez (Secretario) y Dra. Meliza Lindsay Rojas Silva (Vocal), designados mediante Resolución Directoral N° 060-2023-EPGUNS de fecha 22 marzo 2023, con la finalidad de evaluar la tesis titulada: **ESTABILIZACION FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL DE LECHE DE VACA (*Bos taurus*) EN ALMACENAMIENTO REFRIGERADO POR TRATAMIENTO ULTRASÓNICO PRE PASTERIZACIÓN**; presentado por el tesista **Miguel Ángel Solano Cornejo**, egresado del programa de **Doctorado en Ingeniería en Alimentos**.

Sustentación autorizada mediante Resolución Directoral N° 081-2023-EPG-UNS de fecha 20 de abril de 2023.


El presidente del jurado autorizó el inicio del acto académico; producido y concluido el acto de sustentación de tesis, los miembros del jurado procedieron a la evaluación respectiva, haciendo una serie de preguntas y recomendaciones al tesista, quien dio respuestas a las interrogantes y observaciones.

El jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como: EXCELENTE asignándole la calificación de: 19.0

Siendo las 17.30 horas del mismo día se da por finalizado el acto académico, firmando la presente acta en señal de conformidad.


Dr. Jorge Marino Domínguez Castañeda
Presidente


Dr. Williams Esteward Castillo Martínez
Secretario


Dra. Meliza Lindsay Rojas Silva
Vocal

RECIBO DIGITAL TURNITIN



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Miguel Angel Solano Cornejo
Título del ejercicio: Tesis de Pregrado
Título de la entrega: ESTABILIZACION FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL DE UN PRODUCTO DE ALIMENTOS
Nombre del archivo: Miguel_Solano_Cornejo_-_Informe_Final_Investigacion_v2.0.d...
Tamaño del archivo: 34.82M
Total páginas: 154
Total de palabras: 32,025
Total de caracteres: 171,658
Fecha de entrega: 07-feb.-2023 12:57p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega: 2008648670



ESTABILIZACION FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL DE LECHE DE VACA (Bos taurus) EN ALMACENAMIENTO REFRIGERADO POR TRATAMIENTO ULTRASONICO PRE PASTERIZACION'

INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

sedici.unlp.edu.ar

Fuente de Internet

1%

2

repositorio.uns.edu.pe

Fuente de Internet

1%

3

helvia.uco.es

Fuente de Internet

<1%

4

idoc.pub

Fuente de Internet

<1%

5

doku.pub

Fuente de Internet

<1%

6

es.scribd.com

Fuente de Internet

<1%

7

hdl.handle.net

Fuente de Internet

<1%

8

www.coursehero.com

Fuente de Internet

<1%

DEDICATORIA

A nuestro Dios, que en su misericordia me ha sostenido con su mano en los tiempos de dificultad e iluminado en la oscuridad.

A mi abuela Josefina Miranda Morales, que en su inmenso amor y ejemplo me dio la luz de lo correcto.

A mis padres Rodolfo y Luzmila por enseñarme y guiarme ayer y hoy a ser quien soy, todo se los debo a ellos.

A mi esposa Silvia por haberme acompañarme en este largo viaje de 36 años en las de Cal y en las de Arena.

A mis hijos Vivian Vanesa, Luz Elena y Julio Diego, maravillosos seres humanos y fuente de mi esperanza en el futuro de nuestra nación.

AGRADECIMIENTOS

A mi Asesora Dra. Meliza Lindsay Rojas Silva, por su constante, oportuno e invaluable apoyo en la realización de esta investigación, ayudándome a centrar ideas, definir objetivos y orientar esfuerzos.

A mis jurados de Proyecto los Drs. Damian Manayay Sanchez y Raul Siche Jara por sus aportes que mejoraron la planificación de la presente investigación.

A mis jurados de Tesis los Drs. Jorge Marino Domínguez Castañeda y Williams Steward Castillo Martínez por sus aportes que ayudaron a mejorar el informe de la presente investigación.

A los Drs. Roberto Agustín Quevedo León y Julio Mauricio Vidaurre Ruiz por sus aportes y sugerencias a lo largo de la investigación.

A los Drs. Cesar Augusto Monteza Arbulú y Luis Antonio Pozo Suclupe por su apoyo y ayuda en la realización de nuestra investigación.

ÍNDICE GENERAL

CONFORMIDAD DEL ASESOR	ii
AVAL DEL JURADO EVALUADOR	iii
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvi
INTRODUCCIÓN	xvii
CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1 Planteamiento y fundamentación del problema	18
1.2 Antecedentes de la investigación	19
1.3 Formulación del problema de investigación	22
1.4 Delimitación del estudio	22
1.5 Justificación e importancia de la investigación	23
1.6 Objetivos de la investigación	24
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1 Fundamentos teóricos de la investigación	25
2.2 Marco conceptual	42
CAPITULO III: MARCO METODOLÓGICO	

3.1. Hipótesis de la investigación	45
3.2. Variables e indicadores de la investigación	45
3.3. Métodos de la investigación	47
3.4. Diseño de la investigación	47
3.5. Población y muestra	48
3.6. Actividades del proceso investigativo	49
3.7. Técnicas, instrumentos y procedimiento de recolección de datos	54
3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	56

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Efecto de diferentes intensidades de energía ultrasónica a 20 kHz bajo temperatura controlada (20 °C) sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y/o funcionales de la leche	59
4.2. Efecto de diferentes tratamientos térmicos de baja temperatura en leche pre sonicada a 20 °C sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y/o funcionales de la leche	70
4.3. Evaluación de la estabilidad en refrigeración de leche pasteurizada con pre tratamiento de ultrasonidos de alta potencia	86

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones	102
5.2. Recomendaciones	104

REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA	105
ANEXOS	
Anexo 1 Sesión fotográfica	118
Anexo 2 Análisis Microbiológico de Muestras	124
Anexo 3 Análisis estadístico objetivo específico 01	136
Anexo 4 Análisis estadístico objetivo específico 02	154
Anexo 5 Análisis estadístico objetivo específico 03	161

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 01:	Tiempo de Pre Tratamiento ultrasónico de leche (Objetivo Especifico 01)	50
Cuadro 02:	Tiempos y Temperaturas de Tratamiento Térmico de Leche Pre Sonicada	52
Cuadro 03:	Tiempos de muestreo microbiológico en proceso térmico de leche pre tratada	52
Cuadro 04:	Composición y características físico químicas de Leche (%)	59
Cuadro 05:	Población de Aerobios Mesófilos Viables (AMV) (log ufc/mL) en leche con tratamiento ultrasónico y térmico	60
Cuadro 06:	Población de Coliformes Totales (CT) (log ufc/mL) en leche con tratamiento ultrasónico y térmico	62
Cuadro 07:	Acidez Titulable (% Ácido Láctico) de leche por tratamiento ultrasónico y térmico	63
Cuadro 08:	pH de leche con tratamiento ultrasónico y térmico	64
Cuadro 09:	Variación de Color CIEL*a*b* (ΔE) en leche por tratamiento ultrasónico y térmico	64
Cuadro 10:	% Sólidos en Sinéresis por tratamiento ultrasónico y térmico	65
Cuadro 11:	Viscosidad (cp) de leche con tratamiento ultrasónico y térmico	66
Cuadro 12:	Turbidez de suero (% sedimento) en leche con tratamiento ultrasónico y térmico	67
Cuadro 13:	Tiempo de Cuajado (segundos) en leche con tratamiento ultrasónico y térmico	69
Cuadro 14:	Características Químicas y Físico Químicas de Leche (%)	71
Cuadro 15:	Aerobios Mesófilos Viables (AMV) (log ufc/mL) en leche pre sonicada y tratada a diferentes temperaturas	72
Cuadro 16:	Parámetros Cinéticos (Modelo de Gompertz y Modelo de Bigelow) para Aerobios Mesófilos Viables (AMV) en leche pre sonicada y tratada a diferentes temperaturas	73

Cuadro 17:	Coliformes Totales (CT) (log ufc/mL) en leche pre sonicada sometida a diferentes tratamientos térmicos	76
Cuadro 18:	Parámetros Cinéticos del Modelo de Bigelow para Coliformes Totales (CT) en leche pre sonicada y diferentes tratamientos térmicos	77
Cuadro 19:	Valor D y z para leche pre sonicada a diferentes temperaturas de Tratamiento Térmico	79
Cuadro 20:	Acidez Titulable (% Ácido Láctico) y pH final en leche pre sonicada post tratamiento térmico	80
Cuadro 21:	Variación de Color CIE L*a*b* (ΔE) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada	81
Cuadro 22:	Color Instrumental (CIEL*a*b*) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada	82
Cuadro 23:	Sinéresis de Sólidos (%) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada	82
Cuadro 24:	Viscosidad (cp) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada	83
Cuadro 25:	Turbidez del Suero (% volumen) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada	85
Cuadro 26:	Sensibilidad al Cuajo (segundos) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada	85
Cuadro 27:	Características Químicas y Físico Químicas de Leche (%)	87
Cuadro 28:	Aerobios Mesófilos Viables (AMV) (log ufc/mL) en leche almacenada a 5 °C	88
Cuadro 29:	Parámetros Cinéticos (Modelo de Weibull) para Aerobios Mesófilos Viables en leche almacenada a 5°C	88
Cuadro 30:	Coliformes Totales (CT) (log ufc/mL) en leche almacenada a 5 °C	90
Cuadro 31:	Parámetros Cinéticos (Modelo de Weibull) para Coliformes Totales en leche almacenada a 5 °C	91
Cuadro 32:	Acidez Titulable (% Ácido Láctico) en leche tratada y almacenada a 5 °C	92
Cuadro 33:	pH en leche tratada y almacenada a 5 °C	94
Cuadro 34:	Variación de Color (ΔE) en leche tratada y almacenada a 5 °C	95

Cuadro 35:	Variación de Sinéresis (% de volumen) en leche tratada y almacenada a 5°C	96
Cuadro 36:	Viscosidad (cp) en leche tratada y almacenada a 5°C	97
Cuadro 37:	Turbidez del Suero (% de volumen) en leche tratada y almacenada a 5 °C	98
Cuadro 38:	Sensibilidad al Cuajo (segundos) en leche tratada y almacenada a 5 °C	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01:	Diseño experimental de investigación	50
Figura 02:	Variación de AMV en leche pre sonicada y tratada a diferentes temperaturas	73
Figura 03:	Pendiente (B) ((log ufc/mL) / min) del modelo de Bigelow en función de la temperatura de tratamiento térmico	74
Figura 04:	Variación de Coliformes por Tratamiento Térmico de leche pre sonicada	77
Figura 05:	Pendientes de Curva de Muerte Térmica (Modelo de Bigelow) por Temperatura (°C) de tratamiento	78
Figura 06:	AMV en leche tratada durante almacenamiento refrigerado	89
Figura 07:	Coliformes en leche tratada durante almacenamiento Refrigerado	91

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Sesión de fotografías	118
Anexo 2	Análisis Microbiológico de muestras	124
Anexo 3	Análisis estadístico objetivo específico 01	136
Anexo 4	Análisis estadístico objetivo específico 02	154
Anexo 5	Análisis estadístico objetivo específico 03	161

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivos estudiar en leche fresca de vaca los efectos de la aplicación de tratamientos de ultrasonidos de alta potencia (UAP, 24 kHz, 20 °C, 0 – 0.5 kJ/mL) individuales y como pretratamiento a tratamientos térmicos de baja temperatura (UAP+TT, 40 – 60 °C); finalmente del mejor tratamiento estudiar su estabilidad como leche pasteurizada UAP+TT en refrigeración a 5 °C; usándose como muestras control leche UAP y leche pasteurizada a 65 °C por 30 min. La aplicación de UAP de 0.5 kJ/mL a 20 °C redujo la población de aerobios mesófilos viables (AMV) y coliformes totales (CT) en 1.4 y 1.7 log ufc/mL respectivamente, este proceso UAP modificó la acidez titulable, color, sinéresis de sólidos y turbidez del suero, pero sin afectar el pH, viscosidad o sensibilidad al cuajo en comparación a la leche cruda. Al evaluar los efectos de procesos UAP+TT, se observó que la inactivación microbiana empezaba a 55.21 °C para AMV y a 49.2 °C para CT; los tratamientos UAP+TT a 60 °C alcanzaron la calidad microbiológica requerida como leche pasteurizada. Los procesos UAP+TT no afectaron la acidez titulable, pH, sinéresis o viscosidad en comparación con la leche cruda; por otro lado, los procesos UAP+TT incrementaron la diferencia de color, y redujeron la turbidez del suero y la sensibilidad al cuajo en comparación a la leche cruda. El estudio de la estabilidad en refrigeración a 5 °C por 12 días mostró que en las leches UAP+TT los AMV permanecieron estables por 9 días declinando posteriormente; mientras que la población de CT se redujo desde el primer día a 5 °C, manteniéndose la calidad microbiológica de leche pasteurizada durante el almacenamiento. Todas las características de la leche pasteurizada UAP+TT en refrigeración a 5 °C se modificaron; se observaron reducciones en el pH, diferencia de color y viscosidad; y aumentos en la acidez, sinéresis, turbidez y sensibilidad al cuajo. En conclusión, se demostró que es posible obtener leche pasteurizada con buenas propiedades aplicando pretratamientos ultrasónicos de 0.5 kJ/mL a 20 °C, seguidos de un tratamiento térmico de 60 °C por 10 minutos, la cual retendrá su calidad microbiológica por 12 días en almacenamiento a 5 °C.

Palabras Claves: Leche de vaca; Ultrasonido; Propiedades funcionales, Pasterización de baja temperatura, Aerobios mesófilos viables, Coliformes.

ABSTRACT

The present investigation had as objectives to study in fresh cow's milk the effects of the application of high power ultrasound treatments (UAP, 24 kHz, 20 °C, 0 – 0.5 kJ/mL) individually and as a pretreatment to low heat treatments. temperature (UAP+TT, 40 – 60 °C); finally, of the best treatment, study its stability as UAP+TT pasteurized milk in refrigeration at 5 °C; using UAP milk and pasteurized milk at 65 °C for 30 min as control samples. The application of UAP of 0.5 kJ/mL at 20 °C reduced the population of viable mesophilic aerobic (AMV) and total coliforms (TC) by 1.4 and 1.7 log cfu/mL respectively, this UAP process modified the titratable acidity, color, syneresis of solids and whey turbidity, but without affecting the pH, viscosity or sensitivity to rennet compared to raw milk. When evaluating the effects of UAP+TT processes, it was observed that microbial inactivation began at 55.21 °C for AMV and at 49.2 °C for CT; the UAP+TT treatments at 60 °C reached the microbiological quality required as pasteurized milk. The UAP+TT processes did not affect the titratable acidity, pH, syneresis or viscosity compared to raw milk; On the other hand, the UAP+TT processes increased the color difference, and reduced whey turbidity and rennet sensitivity compared to raw milk. The study of the stability in refrigeration at 5 °C for 12 days showed that in the UAP+TT milks the AMV remained stable for 9 days, subsequently declining; while the CT population was reduced from the first day at 5 °C, maintaining the microbiological quality of pasteurized milk during storage. All the characteristics of UAP+TT pasteurized milk refrigerated at 5 °C were modified; reductions in pH, color difference, and viscosity were observed; and increases in acidity, syneresis, turbidity and rennet sensitivity. In conclusion, it was shown that it is possible to obtain pasteurized milk with good properties by applying ultrasonic pretreatments of 0.5 kJ/mL at 20 °C, followed by a heat treatment of 60 °C for 10 minutes, which will retain its microbiological quality for 12 days in storage at 5°C.

Keywords: Cow's milk; Ultrasound; Functional properties, Low temperature pasteurization, Viable mesophilic aerobes, Coliforms.

INTRODUCCIÓN

La leche es un alimento nutritivo y perecible, debido a su alto contenido de agua, a su contenido de proteínas de alto valor biológico y carbohidratos (D’Incecco et al., 2021). El tratamiento térmico suele ser el método más usado para preservar la calidad y seguridad de la leche, debiéndose usar temperaturas bajas en su pasteurización para minimizar las pérdidas de calidad (Wang et al., 2021); pero debido a esta limitación en la temperatura hace que la inactivación de bacterias y de enzimas termo resistentes sea limitada reduciendo la vida útil de la leche (Yu et al., 2022).

El uso de tecnologías no térmicas como los ultrasonidos de alta potencia se han estado investigando como reemplazo de tecnologías térmicas en leche y otros productos (Jiménez-Sánchez et al., 2017) sin resultados plenamente definidos, satisfactorios o en algunos casos contradictorios (Lim et al., 2019). Debido a esto, existe la necesidad de abordar la aplicación de ultrasonidos desde un enfoque nuevo, en el que los ultrasonidos sean parte de una tecnología de barreras donde se aproveche sus ventajas (eficiencia energética, ecológicamente amigable, no necesidad de calor para lograr los efectos) (Juraga et al., 2021) y se minimice sus desventajas (producción de compuestos volátiles que generan sabores y olores extraños, producción de radicales libres que aceleran reacciones redox alternado la leche) (Marchesini et al., 2015).

Por lo tanto, la búsqueda de esta conjunción de tecnologías térmicas y no térmicas es la motivación y lo que guía el presente trabajo de investigación. En primera instancia se buscó evaluar la aplicación de ultrasonidos de alta potencia (UAP) regulados a través del nivel de energía aplicada (kJ/mL) y sus efectos microbiológicos, fisicoquímicos y funcionales generados en la leche fresca. En segunda instancia se evaluaron los efectos de la aplicación de ultrasonido seguido de tratamiento térmicos con temperaturas inferiores a las utilizadas en forma industrial (UAP+TT) para estudiar sus impactos en leche y finalmente evaluar su estabilidad en refrigeración a 5 °C.

CAPITULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento y fundamentación del problema de investigación

Las proteínas de la leche son reconocidas por su alta calidad nutricional. Además, las proteínas lácteas intactas se han asociado a una amplia gama de bioactividades *in vitro*, como propiedades saciantes, antimicrobianas, antilipídemicas y anticancerígenas (Nongonierma y FitzGerald, 2015)

Entre estos componentes, las proteínas del suero de la leche son especialmente importantes desde el punto de vista nutricional y proporcionan una amplia gama de funciones biológicas, como la actividad antibacteriana e inmunomoduladora, que contribuye al desarrollo del sistema inmunitario en los neonatos (Minj y Anand, 2020).

La leche al ser un producto fresco (es decir, la leche cruda) tiene una vida útil muy limitada y, por tanto, es propenso a deteriorarse. Hoy en día, la leche se consume en gran cantidad como leche líquida, un producto que, si no se conserva adecuadamente se estropea rápidamente y puede acarrear graves riesgos para la salud (Sakkas et al., 2014).

Por otro lado, los tratamientos térmicos se utilizan ampliamente con el fin de inactivar microorganismos y alargar la vida útil con resultados satisfactorios; sin embargo, diversos estudios han mostrado que el tratamiento térmico podría causar daños por calor y modificaciones químicas en las proteínas sensibles al calor (Liu et al., 2020). Estas modificaciones inducidas por el procesamiento pueden dañar la biodisponibilidad y funcionalidad de las proteínas de la leche (van Lieshout et al., 2020). Así mismo los tratamientos HTST aplicados en leche cruda reducen los niveles de Vitamina A y D en forma significativa (de 31.33 a 1.01 UI y 284.67 a 0.00 respectivamente) (Cappozzo et al., 2015). Un claro ejemplo es que el suero de la leche es sensible a los procesos industriales, como la homogeneización, la pasteurización, la esterilización y el secado (Zhang et al., 2016).

En este contexto la aplicación de tecnologías emergentes como la aplicación de campos eléctricos pulsantes, altas presiones hidrostáticas y/o ultrasonidos de alta potencia es una alternativa al procesamiento térmico. La aplicación de tratamientos de ultrasonido de alta intensidad se presenta como una tecnología de conservación suave en la leche, debido a su capacidad de inactivar microorganismos patógenos y enzimas, y así lograr aumentar su vida útil (Cruz – Cansino et al., 2016). Además varios estudios han señalado las respuestas positivas de los paneles de degustación con grupos de consumidores que prefieren las texturas, el sabor y el aroma de las bebidas tratadas con ultrasonidos por encima de las tratadas con medios convencionales (Abid et al., 2015)(Erkaya et al., 2015).

Es por ello que desarrollar un proceso de estabilización basado en la aplicación de ultrasonidos de alta potencia podría aportar al consumidor un alimento sensorialmente agradable, que aporte salubridad, practicidad, y un producto fiable que presente un proceso de fabricación respetuoso con el medio ambiente.

1.2 Antecedentes de la investigación

Los estudios de Zhou et al., (2021) desarrollaron y evaluaron un sistema de termosonicación por radiación (TS) de 360 grados para la inactivación de *Staphylococcus aureus* en la leche, cuya cinética de inactivación se ajustó mejor con el modelo de Weibull en comparación con los modelos bifásicos y lineales, encontrando que el tiempo de tratamiento, la temperatura de exposición y la potencia de ultrasonido afectan la eficacia bactericida del sistema. Por ejemplo, en el sistema de TS de 200 W y 63 °C durante 7.5 min fue exitoso para lograr la inactivación microbiana por debajo del valor límite de detección en la leche cruda. Este tratamiento mejoró el potencial zeta y disminuyó el tamaño de partícula promedio de la leche.

Los ensayos de Deshpande y Walsh (2020) demostraron que la termosonicación reduce el recuento de bacterias de deterioro de los productos lácteos. Los autores trataron a las células vegetativas y esporas de *Geobacillus*

stearothermophilus, *Anoxybacillus flavithermus* y *Bacillus subtilis* (solo esporas) con calor solo o termosonicación en lotes de 0 a 120 s en caldo de soja trípico y leche con un 2 % de grasa a 72 - 73 °C, encontrando que la reducción máxima en las células vegetativas por termosonicación fue de 1 log después de 30 a 45 s y para las esporas fue de ≤ 0.2 log después de 120 s.

En el estudio de Parreiras et al. (2020) evaluaron la aplicación de la termosonicación para la inactivación de microbios patógenos, su efecto sobre la actividad antioxidante y el nivel de retinol en la leche humana donada. Se evaluó el efecto de la termosonicación sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en leche humana evaluando el tiempo y la temperatura de la termosonicación sobre estos microorganismos usando un diseño central compuesto rotacional. Tanto en termosonicación como en los tratamientos térmicos sin ultrasonido, los recuentos microbianos permanecieron estables a temperaturas más bajas, hallándose las reducciones más altas y continuas en la termosonicación a 53.7, 52.0 y 60.9 °C para *S. aureus*, *E. coli* y *Salmonella*, respectivamente. La termosonicación generó mayores reducciones que los tratamientos térmicos a 60, 48 y 65 °C para *S. aureus*, *E. coli* y *Salmonella*, respectivamente.

La investigación de Kashaninejad y Razavi (2020) estudió los efectos de la termosonicación (TS), indicando que las variables que influyen sobre el tamaño medio de los glóbulos de grasa, estabilidad de la emulsión, viscosidad, dureza, adhesividad, consistencia e índice de blancura de la leche crema de camello son la potencia (30 –90 W a una frecuencia de 24 kHz), tiempo (1–6 min) y temperatura (25–65 °C). Los resultados mostraron que, al aumentar la potencia, el tiempo y la temperatura de la ultrasonificación, disminuye el tamaño promedio de los glóbulos de grasa. Al aumentar la potencia y el tiempo, la estabilidad de la emulsión aumentó mientras al aumentar la temperatura la estabilidad disminuyó. La viscosidad dinámica de las cremas aumentó al aumentar el tiempo y la temperatura de ultrasonificación. Los autores reportaron que las condiciones óptimas de TS para un menor tamaño de glóbulo de grasa, adhesividad y la mayor estabilidad, dureza, consistencia y viscosidad de la emulsión fueron 81 W, 5.9 min (densidad de energía de 285 kJ/L) y 41 °C.

Los ensayos de Ragab et al. (2019) evaluaron la termosonicación de leche cruda de cabra (RGM) usando pasteurización (72 °C por 15 s) (PGM) y tratamientos de ultrasonido (20 kHz a 150 W, 200 W, 300 W y 400 W durante 10 minutos) y su impacto en la carga microbiana, contenido de proteínas, agregación de proteínas, tamaño de partícula de las micelas de grasa y caseína, pH, viscosidad, turbidez, color y los contenidos de calcio y fósforo solubles, mientras que RGM y PGM sirvieron como control. Los autores en sus resultados mostraron que, a 400 W la termosonicación produjo una reducción significativa ($p<0.05$) en la carga microbiana a menos de 2.3 log ufc/mL comparada con las de RGM y leche de cabra pasteurizada (PGM) a 5.94 log ufc/mL y 4.76 log ufc/mL respectivamente. En RGM, el tamaño de la grasa (3.5 μ m) disminuyó a 0.4 μ m a 300 W; las micelas de caseína también disminuyeron de 406 a 256.4 nm a 400 W. Sin embargo, no se observó un efecto significativo en el color y los contenidos de calcio y fósforo solubles de todas las muestras.

El estudio de Li et al. (2019) evaluó el efecto de diferentes secuencias de procesamiento de ultrasonido y calor en inactivación de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en leche; los cambios en el contenido de proteína de suero, tamaño de partícula, potencial zeta, pH, viscosidad y valores de color. Como resultados obtuvieron que el tratamiento con ultrasonido (600 W, 5 min) con postcalentamiento (63 °C, 5 min) redujo *S. aureus* y *E. coli* en 1.58 y 2.02 log ufc/mL, respectivamente, y produjo 0.26 y 0.19 log ufc/mL de *S. aureus* y *E. coli* con daño subletal, mientras que en la leche precalentada a (63 °C, 5 min) y sonicada (600 W, 5 min) se logró reducciones logarítmicas de 1.17 y 1.68 para *S. aureus* y *E. coli*, respectivamente, y las células dañadas subletalmente de *S. aureus* y *E. coli* se redujeron a 0.16 y 0.09 log ufc/mL. Sin embargo, la cavitación en simultáneo con tratamiento térmico (600 W, 63 °C, 5 min) fue más eficaz para eliminar *S. aureus* y *E. coli*, generando reducciones logarítmicas de 1.67 y 2.16, respectivamente, logrando un tamaño de partícula más pequeño y un color más blanco; aunque, este proceso deterioró ligeramente la proteína del suero y los índices de estabilidad de la leche.

1.3 Formulación del problema de investigación

1.3.1 Problema General

¿Es posible estabilizar leche de vaca en refrigeración aplicando ultrasonidos de alta potencia en combinación con pasteurización térmica?

1.3.2 Problemas Específicos

Para brindar solución al problema general, se deben verificar los siguientes problemas específicos:

A. ¿Cuál es el efecto de la aplicación de ultrasonidos con diferentes niveles de energía y en dos formas de aplicación (continua y en forma pulsada) sobre las características físico-químicas, microbiológicas y/o funcionales de la leche?

B. ¿Cuál es el efecto del pretratamiento con ultrasonido seguido de pasteurización térmica sobre las características físico-químicas, microbiológicas y/o funcionales de la leche?

C. ¿Cómo será la estabilidad en refrigeración de leche pasteurizada con pre tratamiento de ultrasonidos de alta potencia?

1.4 Delimitación del estudio

El estudio estuvo circunscrito a los efectos de ultrasonidos de alta potencia sobre leche de vaca (*Bos taurus*) fresca cruda. Los ultrasonidos fueron aplicados con un equipo sonicador de sonda recta en forma continua o pulsada con control de temperatura.

El estudio estuvo centrado en primera instancia en la evaluación de los efectos microbiológicos de los ultrasonidos y las consecuencias de la aplicación de los ultrasonidos sobre las propiedades físico-químicas y funcionales de la leche. En segunda instancia en los mismos efectos sobre leche pre sonicada sometida a tratamientos térmicos de baja temperatura y en tercera instancia en la estabilidad en almacenamiento refrigerado a 5 °C de las características microbiológicas, fisicoquímicas y funcionales de la leche pasteurizada por tratamiento ultrasónico seguido de tratamiento térmico.

1.5 Justificación e importancia de la investigación

Desde el punto de vista nutricional, la leche es una fuente única de nutrientes que contribuye al buen estado nutricional principalmente de la población infantil. Por lo que, este producto puede contribuir a mejorar los problemas de malnutrición.

Según Alvarez Ortega (2019) la población que presenta desnutrición crónica está expuesta a la inseguridad alimentaria, expresada como una limitada disponibilidad de alimentos complementarios a la leche materna en un 36.3% de los casos. Una posible intervención para cubrir esta deficiencia es la leche de ganado que se asemeja a la leche materna (Garas et al., 2016).

Así, asegurar la inocuidad de la leche y aumentar la vida útil con la mínima alteración de sus propiedades nutricionales es crucial. Para ello, se requiere mejorar la estabilidad de la leche fresca aportándole una mayor vida útil sin pérdida de su valor nutritivo o biológico. Así, se podría aumentar la disponibilidad de leche sana y segura, y ayudar a reducir el nivel de desnutrición en el Perú (Flores Bendezú et al., 2015).

Desde el punto de vista de proceso y producto, se necesita disponer una alternativa tecnológica de procesamiento de leche fresca, que asegure la inocuidad de la leche fresca y sin afectar su calidad nutricional. En esta búsqueda, los ultrasonidos de alta potencia (UAP) han mostrado ser la alternativa para conservar alimentos líquidos; pero es necesario aclarar los efectos colaterales surgidos de la aplicación de UAP, como los mencionados anteriormente por Scudino et al. (2020), y Ansari et al., (2017); por ello es necesario comprobar que el procesamiento UAP y su efecto combinado con procesos térmicos moderados serán adecuados para estabilizar leche fresca.

La necesidad de estas precisiones en el tratamiento de leche con ultrasonidos de alta potencia (UAP) se funda también en la existencia de ambigüedades en los resultados de estudios previos respecto a los efectos microbiológicos, químicos o físicos en leche. La razón de estos resultados contradictorios es que probablemente no se controlaron adecuadamente las

condiciones de proceso, lo que no permite realizar comparaciones o tomar conclusiones genéricas. Por ello, en la presente investigación se tendrá el mejor control posible de las condiciones térmicas del procesamiento UAP.

Por otro lado, a la fecha de publicación de esta investigación no se ha demostrado la estabilización de leche fresca con la sola aplicación de tratamientos UAP; por lo que esta investigación complementará la estabilización de la leche con tratamientos térmico de baja temperatura (<65 °C) y con el uso de refrigeración para aumentar la vida útil de la leche fresca sonicada.

1.6 Objetivos de la investigación

1.6.1 Objetivo General

Evaluar la estabilización microbiana, fisicoquímica y funcional de leche de vaca en almacenamiento refrigerado mediante la aplicación de ultrasonidos solos y como pretratamientos de tratamientos térmicos a temperaturas moderadas.

1.6.2 Objetivos Específicos

OE1: Determinar y analizar el efecto de la aplicación de ultrasonidos a 24 kHz sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y/o funcionales de la leche.

OE2: Determinar y analizar el efecto de la pasteurización térmica de baja temperatura (menores a 65°C) en leche pre tratada con ultrasonidos sobre las características físico-químicas, microbiológicas y/o funcionales de la leche.

OE3: Evaluar la estabilidad en almacenamiento refrigerado (5°C) de leche pasteurizada con el mejor tratamiento de baja temperatura y pre tratamiento de ultrasonidos de alta potencia.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Fundamentos teóricos de la investigación

2.1.1. Leche

La leche es el líquido, excretado por las glándulas mamarias tanto de humanos (mujeres) como de mamíferos, que está sirviendo al recién nacido como alimento. Dentro del contexto de la tecnología láctea, se puede decir que la leche es el producto obtenido por ordeño simple o múltiple de mamíferos que se mantienen con el propósito de producir leche. En la mayoría de los casos, este término se utiliza para la leche de vaca, que se produce como materia prima en las instituciones agrícolas y se trata en las lecherías. La leche de otros tipos de animales destinados a la producción de leche está etiquetada específicamente (leche de cabra, leche de oveja, leche de búfala y otras), y los requisitos de calidad son similares a los de la leche de vaca. Aparte de la leche propiamente dicha, una variedad de productos a base de leche es importante para la alimentación de humanos y animales. Los productos lácteos se pueden dividir en productos lácteos y productos lácteos recombinados (Garas et al., 2016).

Los productos lácteos están hechos completamente de leche. En ciertos casos, se pueden usar aditivos durante la fabricación, pero no pueden reemplazar los componentes de la leche ni parcial ni completamente. Los productos lácteos recombinados son productos en los que la leche o sus componentes constituyen una parte importante. Los componentes de la leche no se pueden reemplazar por aditivos (Spreer, 2017).

2.1.2 Deterioro de Leche

La leche es un medio muy complejo y contiene hidratos de carbono en forma de azúcar de leche (lactosa), grasa de leche, citrato, nitrógeno en forma de proteína de leche (caseína) y compuestos nitrogenados no proteicos, y sales minerales. Estos componentes hacen de la leche un alimento perfecto. Desafortunadamente, debido a su composición, la leche también es un medio

ideal para el crecimiento de microorganismos que pueden contaminar y estropear este producto (Poghossian et al., 2019).

La contaminación bacteriana de la leche cruda de vaca depende de numerosos factores: la salud e higiene de las vacas, la higiene de los establos, la preparación de las ubres antes del ordeño y las prácticas de ordeño, la limpieza y desinfección de las máquinas de ordeño y los tanques de leche cruda, la duración del enfriamiento y almacenamiento de la leche, y la higiene del personal. Las fuentes de contaminación más comunes con mohos y levaduras son el aire, las superficies, el equipo, el personal, las materias primas y los ingredientes (Odeyemi et al., 2020).

El deterioro de la leche es un parámetro complejo indefinido y difícil de medir con precisión. Actualmente, los consumidores determinan el deterioro de la leche al verificar las fechas de "vender antes de" y "mejor si se usa antes de" en los envases de leche. Estos datos son estimaciones simples de la vida útil de la leche y, a menudo, son inexactos debido a las condiciones variables de procesamiento, envío y almacenamiento de la leche. Para evitar las consecuencias legales y económicas de que los consumidores se enfermen por beber leche en mal estado, los productores de leche suelen utilizar fechas de caducidad demasiado conservadoras. Los minoristas y los consumidores desechan miles de millones de libras de leche intacta cada año mientras confían en fechas de caducidad poco fiables (Lu et al., 2013).

La calidad del producto lácteo se determina generalmente mediante análisis sensoriales, químicos y microbiológicos. La lista de indicadores específicos utilizados en la industria láctea para predecir la vida útil esperada y estimar las etapas de deterioro microbiano es amplia y diversa. Los ejemplos son: (Poghossian et al., 2019)

- Recuento de células de microorganismos;
- Detección de microorganismos específicos (p. ej., patógenos);
- Detección de contaminantes/residuos (antibióticos, micotoxinas, etc.);
- Composición del producto (p. ej., contenido de lactosa, grasas y proteínas);

- Detección de gases;
- Control de pH, conductividad, temperatura, viscosidad, color, etc.

Dentro de las diversas vías de deterioro de leche fresca; el deterioro microbiológico es el más rápido y notorio. Las bacterias que pueden crecer a temperaturas inferiores a 7 °C se denominan psicrotrófas. La proporción de estos microorganismos varía desde el 10% en la leche producida en buenas condiciones higiénicas hasta el 75% en la leche de mala calidad higiénica. Las bacterias aisladas de la leche cruda enfriada pueden ser Gram-positivas (*Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Microbacterium*, *Lactococcus* y *Lactobacillus*) y Gram-negativas (*Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Chryseobacterium* y *Enterobacteriaceae*) (Odeyemi et al., 2020). El aumento de los recuentos de bacterias psicrotróficas es la razón principal de la vida útil más corta de la leche pasteurizada enfriada. Las bacterias psicrotróficas responsables del deterioro de la leche pasteurizada enfriada podrían sobrevivir a la pasteurización o volver a contaminar la leche después de la pasteurización (Allothman et al., 2017).

Las *Pseudomonas spp.* y *Bacillus spp.* son los miembros más comunes de la microflora de la leche cruda enfriada, las *Pseudomonas* dominan entre los microorganismos de descomposición, ya que pueden crecer a bajas temperaturas (Allothman et al., 2017); así mismo microorganismos formadores de esporas como el *Bacillus spp.* influyen sobre la calidad y seguridad de los productos lácteos, forman parte del entorno normal de la microflora de las materias primas y los ingredientes secos de los alimentos procesados; entre ellos la leche cruda llegando a contener hasta 10⁴ ufc/mL siendo fuentes importantes de contaminación de los productos lácteos (Odeyemi et al., 2020).

2.1.3. Ultrasonidos de Alta Potencia (UAP)

El ultrasonido (US) Se identifica como una onda de sonido con frecuencias más allá del alcance del oído humano. El ultrasonido tiene un rango de frecuencia de 20 kHz a 10 MHz y se divide en dos tipos principales; ultrasonido de baja frecuencia y alta potencia (UAP) con intensidades > 1 W/cm² y

ultrasonido de alta frecuencia y baja potencia con intensidades $<1 \text{ W/cm}^2$ (Wijayanti et al., 2014).

Las ondas de UAP se caracterizan por ser disruptivas y, por lo tanto, inducen efectos considerables sobre las propiedades físicas, bioquímicas y mecánicas de los productos alimenticios en contraste con el ultrasonido de baja potencia. En los UAP, su frecuencia varía de 20 a 100 kHz mientras que las intensidades están en el rango de 10 a 1000 W/cm^2 , se caracteriza por la inducción de cavitación acústica que se produce debido a la producción, el crecimiento posterior y el colapso repentino de burbujas más grandes que liberan una gran cantidad de energía (Bhargava et al., 2021).

Cuando las ondas de ultrasonido viajan a través de un medio líquido, la interacción entre las ondas ultrasónicas, el líquido y el gas disuelto conduce a la "cavitación acústica". Las burbujas de gas disuelto crecerán debido a la difusión rectificadora y la coalescencia burbuja-burbuja. Una burbuja de gas disuelto oscila bajo el impacto de ondas de ultrasonido y experimenta una presión fluctuante. El gas disuelto y el vapor de disolvente (por lo general agua) se difunden dentro y fuera de las burbujas oscilantes dependiendo de si se trata de la fase de expansión o de compresión. Habrá un crecimiento neto de las burbujas si la extensión del vapor de gas - disolvente que se difunde en las burbujas durante la etapa de expansión es mayor que la extensión del vapor de gas / disolvente que se difunde fuera de la burbuja durante la etapa de compresión (Chouliara et al., 2010).

Sin embargo, cuando las burbujas alcanzan el rango de tamaño de resonancia que depende de la frecuencia ultrasónica, crecerán hasta un tamaño máximo y colapsarán violentamente (implosión acústica de las burbujas) liberando una gran cantidad de energía (Bhargava et al., 2021).

La implosión acústica genera en puntos focalizados (microscópicos) altas temperaturas de hasta $10,000 \text{ }^\circ\text{K}$ y alta presión (Ashokkumar, 2011). Además, durante la cavitación acústica, se generan radicales altamente reactivos junto con efectos físicos intensos como ondas de choque, micro chorros, fuerzas de cizallamiento y turbulencia. Los eventos de cavitación transitoria son menos frecuentes en el rango de frecuencia intermedia de ~ 200 a 500 kHz . En

contraste, los fuertes efectos físicos resultan principalmente de la cavitación transitoria en el rango de frecuencia más bajo de ~20–100 kHz (Chandrapala et al., 2014).

Por lo tanto, los UAP modifican las propiedades de los alimentos, incluyendo cambios fisicoquímicos, inactivación de microorganismos y enzimas a través del proceso de cavitación (Natarajan y Ponnusamy, 2020).

Las UAP tienen una amplia aplicación en emulsificación, desespumación, regulación de microestructuras y modificación de atributos texturales de productos grasos, sonocristalización y propiedades funcionales de proteínas alimentarias. También tiene aplicaciones significativas en numerosas operaciones unitarias de congelación, secado, ablandamiento, concentración, descongelación (Bhargava et al., 2021).

2.1.4. Efecto de los UAP en la Leche

2.1.4.1. Efecto de los UAP sobre los Microorganismos

El ultrasonido es un método alternativo prometedor para la conservación de alimentos y también se considera una tecnología ecológica. Su aplicación, combinada con otras tecnologías, es capaz de mejorar la descontaminación de la matriz alimentaria. Este proceso ocurre por los efectos de las expansiones y compresiones generadas por la propagación de las ondas sonoras en el mecanismo de cavitación en medio circundante y en el espacio intracelular (Alves de Aguiar Bernardo et al., 2021).

La generación de cavitación intracelular provoca la inactivación por: (Alves de Aguiar Bernardo et al., 2021)

(i) acción mecánica en la que la membrana celular microbiana se rompe debido a la acción de micro-chorros, alterando la permeabilidad celular.

(ii) inactivación térmica promovida por la generación de puntos calientes, que conducen a la pirólisis del solvente en especies activas.

(iii) reacción química debida a la producción de radicales libres ya la alteración de la actividad de los canales iónicos.

Además, los radicales OH^\cdot se recombinan y forman peróxido de hidrógeno, que tiene un efecto antimicrobiano por diferentes mecanismos, además del adelgazamiento de la membrana celular y el daño del ADN. De esta forma, estos efectos de inactivación ultrasónica pueden incrementarse cuando se combinan a temperaturas idealmente moderadas (termosonicación) en leche cruda y leche procesada (Alves de Aguiar Bernardo et al., 2021).

Debido a la limitada inactivación microbiana con la aplicación de ultrasonido de alta intensidad y temperatura subletal, se han realizado muchas investigaciones usando ultrasonido y temperatura suave juntos (termosonicación). Para comprender mejor por qué se usa la temperatura junto con la sonicación, es importante aclarar y separar los efectos térmicos sobre el daño celular (Ahmad et al., 2019).

En el momento de escribir este proyecto, todavía existen varias teorías sobre los posibles efectos del calor en la muerte celular. La mayor parte de la investigación apunta a un efecto del calor sobre algunos sitios objetivo de la célula que generan la resistencia térmica en algunos microorganismos. Estos sitios son ARN, ribosomas, ácidos nucleicos, enzimas y proteínas. El tratamiento térmico actúa directamente sobre la membrana celular, debilitando esta importante barrera a las condiciones ambientales (Marchesini et al., 2015).

Además, hay una pérdida de iones y nutrientes vitales para la célula. Un estudio realizado con *Listeria innocua* inoculada en leche y tratada bajo pasteurización convencional (63 °C durante 30 min) mostró algunas imágenes de células tratadas térmicamente. Se utilizó microscopía electrónica para estudiar los efectos del calor en las células. Las imágenes mostraron un adelgazamiento de la pared celular después del proceso, haciendo que las células parezcan "transparentes" en comparación con las células no tratadas. Este posible adelgazamiento de la pared celular se atribuyó a la coagulación de proteínas en la membrana debido a la alta temperatura (Bermudez-Aguirre, 2017).

2.1.4.2. Aeróbios Mesófilos Viables (AMV)

Son microorganismos capaces de crecer entre 20 y 45 °C con una óptima de 30 a 40 °C y se determinan para poder estimar la flora total de la leche sin especificar el tipo de microbio presente. Se utiliza para estimar la calidad sanitaria del producto analizado; la cual debe estimarse con cuidado; ya que, un recuento bajo en aerobios mesófilos viables no asegura la ausencia de patógenos o la ausencia de toxinas; de la misma manera un recuento alto no significa la presencia de patógenos (ANMAT, 2014).

Según la Legislación Peruana (Resolución Ministerial 591-2008/MINSA, 2008) su presencia en leche pasteurizada lista para consumo humano está asociada con la vida útil y a la alteración del producto, su número máximo es de 5×10^4 ufc/mL de leche pasteurizada.

La investigación de Balthazar et al. (2019) aplicó UAP en muestras de 40 mL de leche descremada de oveja con una frecuencia de 20 kHz, una potencia de 78 y 104 W por 4, 6 y 8 minutos en pulsos de 4 segundos, iniciando el proceso a 4 °C y manteniendo su temperatura a la temperatura ambiente (22 +/- 2 °C). Ellos determinaron que la reducción poblacional de AMV era directamente proporcional a la energía de UAP aplicada, así a 936 J/mL reportaron reducciones de 3.85 log ufc/mL.

2.1.4.3. *Coliformes Totales (CT)*

Los coliformes totales son bacterias Gram negativas y no formadoras de esporas que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a 35 °C en 48 h. Las bacterias coliformes pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, incluidos los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Los coliformes fecales son un subconjunto de bacterias coliformes totales que pueden crecer a temperaturas más altas de 44.5 a 45.5 °C y también fermentar lactosa, lo que da como resultado la producción de ácido y gas en 48 h. La *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii* y algunas *Enterobacter spp.* se consideran coliformes fecales. Tanto *E. coli* como los Coliformes totales se utilizan a menudo como microorganismos indicadores, por lo que su presencia en los alimentos implica malas prácticas higiénicas y sanitarias (Wanjala et al., 2018).

Según la Legislación Peruana (Resolución Ministerial 591-2008/MINSA, 2008) su presencia en leche pasteurizada lista para consumo humano indica fallas en el tratamiento térmico, fallas en el empaque o altas cargas en materia prima, su número máximo es de 10 ufc/mL de leche pasteurizada.

La investigación de Balthazar et al. (2019) aplicó UAP en muestras de 40 mL de leche descremada de oveja con una frecuencia de 20 kHz, una potencia de 78 y 104 W por 4, 6 y 8 minutos en pulsos de 4 segundos, iniciando el proceso a 4 °C y manteniendo su temperatura a la temperatura ambiente (22 +/- 2 °C). Ellos determinaron que la reducción poblacional de CT era directamente proporcional a la energía de UAP aplicada, así a 936 J/mL reportaron reducciones de 4.60 +/- 0.05 log ufc/mL.

2.1.5. Efecto de los UAP sobre las Propiedades Físico - Químicas

2.1.5.1. Caseína.

El efecto del ultrasonido sobre las caseínas ha mostrado cambios estructurales en el tamaño, la estabilidad física y la capacidad de encapsulación (Carrillo-Lopez et al., 2021). La aplicación de ultrasonido a la leche a diferentes pH alteró el ensamblaje de la micela de caseína en la leche, con mayores efectos a pH 8.0 y frecuencia de 20 kHz. La leche sonicada a 20 kHz causó una mayor alteración de las micelas de caseína provocando la liberación de proteína desde la fase micelar a la fase sérica que cuando se sonicó a 400 y 1600 kHz (Liu et al., 2014).

El uso de pH alcalino y ultrasonificación en la leche fresca se ha utilizado ampliamente para crear nanocápsulas de micelas de caseína natural con una alta eficiencia de nanoencapsulación. Este mantiene su estructura natural y características morfológicas debido a las repulsiones electrostáticas que facilitan las áreas hidrofóbicas interiores (Carrillo-Lopez et al., 2021).

Las micelas de caseína se consideran relativamente estables, pero la composición y el tamaño pueden cambiar durante el procesamiento ya que las altas temperaturas locales y las fuerzas de

cizallamiento creadas por la cavitación podrían alterar físicamente las micelas de caseína. Los informes sobre el tratamiento con UAP son inconsistentes; se ha informado que el tratamiento con UAP no afecta el tamaño de la micela de caseína, mientras que otros estudios informan una reducción en el tamaño de la micela de caseína, excepto para el tratamiento prolongado con UAP a una temperatura $> 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, donde se produce la agregación de las micelas de caseína (Gregersen et al., 2020).

2.1.5.2. Proteínas del Suero

El efecto de los ultrasonidos sobre las proteínas de suero (WP) genera una alteración significativa en los atributos funcionales, reológicos, estructurales, térmicos y morfológicos. Los resultados mostraron la formación de partículas de tamaño más pequeño debido a la ultrasonificación que resultó en una mayor solubilidad y estabilidad térmica de WP. La caracterización estructural utilizando SDS-PAGE y FTIR de WP también validó el impacto positivo de la modificación en WP que muestra una alteración significativa en la estructura molecular y secundaria de WP modificado. El estudio reveló que la ultrasonificación altera significativamente la morfología, el tamaño, la forma y la textura de WP (Khatkar et al., 2018).

El WP modificado tenía una estructura más ligera, más pequeña y regular en comparación con la estructura densa, más grande e irregular del WP sin procesar. Los resultados de este estudio indican que los ultrasonidos es una técnica que puede ser usada para superar los problemas asociados con la termoestabilidad y solubilidad del WP (Khatkar et al., 2018).

2.1.5.3. Grasa Anhidra de Leche (AMF)

Las condiciones de procesamiento, como la temperatura de cristalización y los niveles de potencia acústica, son muy importantes para los efectos sobre las propiedades físicas obtenidas por el tratamiento con UAP. Se ha observado proporcionalidad entre la nucleación y la potencia acústica aplicada, donde un aumento en el último parece estar asociado con un mayor número de burbujas de cavitación. En manteca de cacao y sistemas de lípidos puros, se ha demostrado que UAP permite el control del polimorfismo de los

cristales formados al alterar las condiciones bajo las cuales se aplica UAP (Frydenberg et al., 2013).

Se muestra que UAP afecta la cristalización, un proceso denominado sonocristalización. Esto se muestra para varios sistemas, incluidos los sistemas de sacarosa, lactosa y lípidos. Se informan algunos efectos comunes en estos sistemas, como la reducción del tiempo de inducción para la cristalización y tamaños de cristales más pequeños y uniformes, que muestran que UAP aumenta la dureza de AMF como resultado de una microestructura alterada. Cuando se aplica UAP a un nivel bajo de sobreenfriamiento, es decir, 30 °C, la nucleación aún no ha comenzado y UAP tiene un mayor impacto en la nucleación primaria donde quizás se formen más enlaces, creando una red más flexible que consta de muchos cristales pequeños (Carrillo-Lopez et al., 2021).

Durante su estudio Frydenberg et al., (2013) observaron que el tratamiento con UAP acelera todo el proceso de cristalización provocando un cambio hacia temperaturas más altas. Los factores con influencia son el tipo de cristalización y el grado de sobreenfriamiento; así mismo, demostraron que el tratamiento con UAP afecta el desarrollo de la red de cristales de grasa a nivel de nanoescala, a nivel microscópico y, en consecuencia, a nivel macroscópico. Finalmente, se demostró que los efectos se pueden detectar poco después del tratamiento con UAP y se mantienen o incluso evolucionan más durante el almacenamiento.

2.1.5.4. Enzimas en Leche

El efecto de los tratamientos con ultrasonidos de alta potencia (UAP) sobre las enzimas alimentarias es variable dependiendo del nivel de energía aplicada. Así Rojas et al., (2016) indica que en algunos casos la aplicación de ultrasonidos puede incrementar o decrecer la actividad enzimática; ya que las enzimas necesitan energía (ϵ) para pasar de un estado a otro y cuando esta energía es agregada se produce un cambio conformacional que altera la actividad de la enzima. Estos efectos dependen de la conformación original de la enzima y no es posible generalizar el efecto de los ultrasonidos sobre las enzimas y su actividad (Higuera-Barraza et al., 2016).

La aplicación de ultrasonidos de alta energía modifican las proteínas dependiendo de las condiciones del proceso de sonicación tales como frecuencia, amplitud, tiempo, temperatura, fuerza iónica, pH y concentración, todo lo cual dependerá de las características intrínsecas de la proteína (Higuera-Barraza et al., 2016).

En el caso de la leche fresca ultrasonificada, se determinó que no hubo cambios en el perfil proteico ni de aminoácidos libres, manteniendo la calidad del producto y su idoneidad para la elaboración de productos lácteos (Carrillo-Lopez et al., 2021).

Las condiciones de pasteurización están diseñadas para destruir eficazmente los organismos *Mycobacterium tuberculosis* y *Coxiella burnetii*; como la enzima fosfatasa alcalina se inactiva en rangos de temperatura ligeramente superiores a estos microorganismos, se utiliza como indicador para monitorear buenas condiciones de pasteurización (Soares et al., 2013).

2.1.5.5. pH

El pH en leche denota la concentración de iones hidrógeno producto de la presencia de diferentes compuestos (ácidos, proteínas, sales, etc.) (Fauziah et al., 2020). Cuando la leche se acidifica, el fosfato de calcio coloidal se elimina de las micelas de caseína y aumentan los niveles de Ca sérico. Por otro lado, a pH alcalino, los enlaces disulfuro intramoleculares que ayudan a mantener la estructura secundaria de las proteínas del suero se rompen más fácilmente (Law y Leaver, 2000).

La asociación Caseína – Seroproteínas puede ser; inicialmente, a través de la interacción hidrofóbica, y luego por la formación de enlaces disulfuro con otras proteínas de suero o caseína. Varios estudios han demostrado que los procesos de despliegue y agregación son bastante distintos y ocurren en diferentes grados dependiendo del pH del calentamiento, la concentración de proteína y la fuerza iónica (Law y Leaver, 2000).

Así, al calentar la leche descremada a 80 °C durante 0.5-20.0 min en un rango de pH de 5.2-8.8, el grado de desnaturalización; basado

en la pérdida de solubilidad a pH 4.6, aumentó con el tiempo de calentamiento y generalmente fue del orden inmunoglobulinas > albúmina sérica/ lactoferrina > β -lactoglobulina > α -lactoalbúmina. Las tasas de desnaturalización de las inmunoglobulinas y la fracción de albúmina sérica/lactoferrina fueron más altas en el extremo inferior de este rango de pH, mientras que las de β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina aumentaron en la mayor parte del rango de pH (Law y Leaver, 2000).

Los estudios de Chandrapala et al., (2012) evaluaron la aplicación de UAP sobre leche fresca descremada, caseína micelar reconstituida y caseína en polvo encontró una ligera disminución temporal del pH; pero esta disminución no iba aparejada con un cambio en la concentración del contenido de Calcio soluble; por lo que se asume que la presencia de estos compuestos ácidos no provienen de la modificación estructural de la caseína.

2.1.5.6. Acidez Total Titulable

El valor de la acidez total titulable indica el monto de todas las sustancias acidas presentes en la leche, tanto en su forma disociadas y no disociadas (Fauziah et al., 2020).

La leche se utiliza principalmente para la producción de derivados acidificados (quesos, yogurt, kéfir, etc.) por ello la acidez no solo se basa en sus componentes principales (grasa, proteína y lactosa), sino en su aptitud para la elaboración del queso se vuelve fundamental. Esto es aún más importante cuando la leche se transforma en quesos típicos, a menudo caracterizados por la coagulación del cuajo y por una maduración más o menos prolongada (Calamari et al., 2016).

La acidez es la propiedad de la leche que tiene la mayor influencia en la aptitud de la leche para la coagulación del cuajo. Dada la estricta relación entre el pH y la acidez titulable, esta última característica también es un requisito importante en la valoración de la calidad láctea-tecnológica de la leche, por ello se controla de forma rutinaria incluso en las pequeñas fábricas de queso (Calamari et al., 2016).

Sin embargo, la medida de acidez titulable es el resultado de una titulación y se obtiene agregando, a un volumen fijo de leche, una solución de hidróxido de sodio hasta que el indicador, fenolftaleína, cambie de incoloro a rosa, a pH 8.4. Su evaluación manual es simple y rápida (Calamari et al., 2016).

La investigación de Potoroko et al. (2018) al aplicar UAP (60, 90 y 120 W/L) en leche descremada reconstituida no encontró variaciones en la acidez titulable en la leche. Sin embargo demostró que; la aplicación de los UAP (60 y 90 W/L) como pre tratamiento al proceso de obtención de kéfir generó productos fermentados con menores niveles de acidez total titulable comparados al patrón no sonificado al termino del proceso de fermentación.

2.1.5.7. Color

El color del producto es uno de los principales factores considerados por los consumidores al tomar decisiones de compra, ya que a menudo es un indicador de madurez, frescura, seguridad alimentaria y atractivo en la industria alimentaria. Es bien sabido que el color de la leche influye en las características de color de los productos lácteos posteriores, además de estar relacionado con el contenido de grasa de la leche. Las diferencias en el color de la leche también pueden estar relacionadas con la presencia de anomalías en la leche; por ejemplo, la mastitis atribuible a la infección por *Streptococcus esculina* hace que la leche tenga un color más rojizo/amarillento, mientras que la mastitis por *Streptococcus dysgalactiae* también provoca un cambio en el color de la leche (McDermott et al., 2016).

El color blanco de la leche es una función de la estructura física de la leche; la dispersión tanto de las micelas de caseína como de los glóbulos de grasa en la leche es responsable de la difusión de la luz incidente y está relacionada con la luminosidad (L^*). Las pigmentaciones naturales de los carotenoides, las proteínas y la riboflavina también están asociadas con el color blanco de la leche, o en otras palabras, tiene un mayor valor de índice L^* (Cheng et al., 2018).

El color amarillo (índice de amarillamiento; b^*) de la leche bovina está estrechamente relacionado con el nivel de β -caroteno y el contenido de grasa; un mayor contenido de grasa y β -caroteno en la leche da como resultado un aumento incremental del índice b^* de la leche, por lo que la leche tendrá un color más amarillo (McDermott et al., 2016).

La alimentación y la cría selectiva de vacas pueden usarse para alterar el nivel de carotenoides y, por lo tanto, el color de los productos lácteos. Las vacas alimentadas con ensilaje de pasto tienden a producir leche con grasa más amarilla y mayor contenido de β -caroteno que la leche producida por vacas con una dieta de heno (McDermott et al., 2016).

La investigación de Carrillo-Lopez et al., (2020) determinó que la blancura de la leche aumentaba significativamente a medida que aumentaba la intensidad del tratamiento con UAP. Observaron cambios significativos en los valores de L^* y a^* , lo que aumentó la blancura de la leche. Estos investigadores también encontraron valores negativos en a^* (de -1.75 a -1.5) y valores positivos en b^* (5.6 – 5.7). Los valores positivos en b^* indican una tendencia hacia el amarillo. El tratamiento con UAP resultó en un valor b^* más alto, presumiblemente debido a los carotenoides liberados durante la descomposición de los glóbulos de grasa por los UAP, siendo estos pigmentos los responsables del color amarillo en la leche.

2.1.6. Efecto de los UAP sobre las Propiedades Funcionales

Las propiedades o características funcionales es la forma en la que la leche responde a los aditivos y a los procesos a los que es sometida; estas propiedades funcionales suelen ser la sumatoria de las respuestas funcionales de cada uno de los componentes de la leche. Estos componentes mayoritarios en la leche son las proteínas y la grasa (Auldist, 2022).

2.1.6.1. Sólidos Solubles Totales

Los sólidos solubles en leche fresca indica la cantidad de compuestos disueltos en ella. Los sólidos en leche están compuestos de grasa, proteína, lactosa, vitaminas, sales y otros componentes en solución y que en general son iguales o superiores a 12.5% (Gandhi et al., 2020).

Hernández-Falcón et al., (2018) determinaron que la aplicación de ultrasonidos no afecta la concentración de sólidos totales en leche en forma inmediatamente posterior al tratamiento; pero a partir de 7 días de almacenamiento a 8 °C se aprecia un incremento de los sólidos totales en leche; así como un aumento en la gravedad específica; ello sin un cambio significativo en los sólidos no grasos.

2.1.6.2. Sinéresis

El termino Sinéresis describe el fenómeno no deseado donde se expulsa líquido en alimentos tales como leche y productos lácteos. La sinéresis marca el límite superior de la capacidad de retención de líquidos de los alimentos. Además, la sinéresis determina la actividad de agua máxima para la cual son válidas las isothermas de sorción de los alimentos (Mizrahi, 2010).

La sinéresis es un tema de gran preocupación en la industria láctea. Es una parte esencial del proceso de concentración de sólidos en geles inducidos por cuajo para la elaboración de queso. Sin embargo, también es un defecto importante en los productos basados en geles inducidos por ácido. En ambos casos, la materia prima es leche que contiene un sistema coloidal estable de micelas de caseína, emulsión de grasas, proteínas solubles, azúcar y sales. Al ser el componente principal de la estructura del gel, la caseína debe desestabilizarse para desencadenar la cadena de eventos que conducen a los productos finales deseados (Mizrahi, 2010).

Zhao et al. (2014) determinaron que la leche de vaca y cabra al ser pre tratadas con UAP para la obtención de cuajada, presentaron una relación directamente proporcional entre la energía de UAP aplicados y la sinéresis de ambas leches en estado fresco, observando que la cinética de la sinéresis en función a la energía de los UAP aplicados tiene una constante de velocidad de $0.2035 \pm 0.01 \text{ min}^{-1}$ para leche de cabra y $0.1145 \pm 0.02 \text{ min}^{-1}$ para leche de vaca. La presencia de sinéresis estuvo asociada a cambios en la homogeneidad, presencia de fenómenos de agregación proteica y concentración de la muestra.

2.1.6.3. Viscosidad

La viscosidad en leche fresca nos permite conocer su comportamiento reológico ante esfuerzos de diverso tipo. En la leche no tratada, las micelas de caseína muestran una distribución de tamaño de partícula polidispersa con un diámetro hidrodinámico promedio de 0.05 a 0.50 μm . El recubrimiento de κ -caseína de las micelas de caseína nativa estabiliza su estructura por repulsión tanto estérica como electrostática y, por lo tanto, evita que se agreguen. Es indiscutible que los cambios en la estructura micelar tienen un impacto en las propiedades viscoelásticas (Kieferle et al., 2019).

La viscosidad de la leche bovina se ha relacionado con la presión, la temperatura, el pH, el contenido de grasa, el contenido de proteína, la concentración, la pasteurización y la homogeneización. Se ha demostrado que la leche cruda, tanto descremada como entera, es un fluido no newtoniano que adelgaza por cizallamiento. La variabilidad del comportamiento de la leche fue mayor a bajas presiones. Cuando la leche se pasa repetidamente a través del tubo capilar a una presión constante, la viscosidad de la leche descremada permaneció constante mientras que la viscosidad de la leche entera disminuyó con los ciclos repetidos. La leche entera homogeneizada no mostró cambios con análisis repetidos similares a la leche descremada. Se atribuyen la disminución de la viscosidad en la leche entera sin pasteurizar a la ruptura de grumos de glóbulos de grasa debido a los recorridos repetidos por un capilar (Alatalo y Hassanipour, 2017).

Shanmugam et al. (2012) aplicaron UAP con una potencia de 20 y 41 W a muestras de leche pasteurizada homogeneizada a 22.5 ± 2 °C por 15, 30, 45 y 60 minutos en recirculación y encontraron diferencias no significativas en la viscosidad de las muestras tratadas.

2.1.6.4. Turbidez

La historia térmica durante el procesamiento de leche, como el precalentamiento de la leche, la pasteurización y el secado por aspersion, da como resultado cambios que pueden incluir la desnaturalización de las proteínas del suero, la precipitación del calcio y el fosfato solubles y la

formación de agregados inducidos por el calor, en tanto la fase dispersa como la coloidal (Hanuš et al., 2021).

El grado de desnaturalización de la proteína del suero afecta las propiedades funcionales de los productos de leche en polvo obtenidos, como la solubilidad, la emulsificación, la retención de agua, la formación de espuma y las propiedades gelificantes (Zhao et al., 2019).

En la industria láctea, el índice de nitrógeno de proteína de suero (WPNI) es un método que se basa en el principio de la salificación de la proteína de suero soluble desnaturalizada seguida de la agregación inducida por ácido de las proteínas de suero solubles restantes; este segundo paso provoca un aumento de la turbidez, seguidamente se evalúa la turbidez de la suspensión final frente a una curva estándar y se relaciona con la cantidad de proteína nativa residual, por gramo de polvo, corregido por su contenido de humedad a una humedad de referencia de 3.16%. La leche descremada en polvo se clasifica como SMP de calor bajo, medio o alto en valores de WPNI de >6.0, 1.5 a 6.0 y <1.5 (mg/g de polvo), respectivamente. Se ha demostrado que los valores obtenidos de WPN (distintos de WPNI, que es el índice en mg/g de polvo) para la leche descremada se aproximan a las mediciones cromatográficas (Zhao et al., 2019).

Shanmugam et al. (2012) aplicaron UAP con una potencia de 20 y 41 W a muestras de leche pasteurizada homogenizada a 22.5 +/- 2 °C por 15, 30, 45 y 60 minutos en recirculación y encontraron una disminución significativa en la turbidez de las muestras con tratamientos de UAP; ello asociado a una desnaturalización marcada de las seroproteínas especialmente de la α -Lactoalbúmina y β -Lactoglobulina.

2.1.6.5. Sensibilidad al cuajo

El proceso de elaboración del queso se basa en la actividad proteolítica del cuajo sobre las micelas de caseína. Varios factores como el pH, la temperatura, la composición de la leche y el historial de procesamiento afectan esta reacción crítica. La coagulación de la leche con cuajo se puede

dividir en dos fases, que corresponden a la escisión enzimática de κ -caseína y la agregación/gelificación de micelas cuajadas (Britten y Giroux, 2022).

Los procesos aplicados a la leche fresca pueden alterar su comportamiento durante el proceso de coagulación. Calentar la leche para queso es el enfoque más simple para aumentar el rendimiento del queso a través de una mejor recuperación de las proteínas del suero. Sin embargo, las propiedades de coagulación del cuajo de la leche calentada y la calidad de los quesos se ven afectadas negativamente. La formación de complejos de proteína de suero/ κ -caseína en la superficie de las micelas de caseína o en la fase sérica es el principal factor responsable de la inhibición de la coagulación. El tratamiento térmico también provoca la transferencia de calcio y fosfato de la fase soluble a la fase coloidal de la leche. Este cambio del equilibrio mineral contribuye a las malas propiedades de coagulación de la leche calentada (Britten y Giroux, 2022).

Chávez-Martínez et al. (2020) encontraron que al aplicar termosonicación a leche (alrededor de 50 W) para la producción de queso, esta se hacía más reactiva al cuajo, aparentemente asociado a reducciones en tamaño de los glóbulos de grasa y desnaturalización proteica.

2.2.Marco Conceptual

2.2.1. Acidez Titulable.- Es la cuantificación de los ácidos y sustancias de naturaleza acida que reaccionan con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 N en presencia de fenolftaleína con indicador hasta neutralidad (Lewis, 2022).

2.2.2. Aerobios Mesófilos Viables.- Son microorganismos que siendo inoculados en agar Plate Count o Agar Nutritivo pueden crecer hasta formar colonias visibles a ojo vista en un plazo de 48 horas de incubación a 35 °C y en condiciones de aerobiosis. Son microorganismos que pertenecen a diversas especies de tipo Gram (+) y/o Gram (-) (Maturin y Peeler, 2021).

2.2.3. Coliformes.- Son microorganismos que siendo inoculados en agar Rojo Violeta Bilis (VRBA) pueden crecer hasta formar colonias visibles a ojo vista en un plazo de 48 horas de incubación a 35 °C y en condiciones de

aerobiosis. Son microorganismos Gram (-) pertenecientes a la familia de los Enterobacillaceae; siendo mayormente *Escherichia coli* (Feng et al., 2021).

2.2.4. Color $L^*a^*b^*$.- Es un espacio de color que define un color apartir de 3 parámetros. El parámetro L^* define la luminosidad del color en un rango de 0 (color negro) a 100 (color blanco). El parámetro a^* define la intensidad del color entre rojo o verde, los valores positivos de a^* (0 -128) indican el componente rojo del color; los valores negativos a^* (0 - -128) indican el componente verde del color. El parámetro b^* define la intensidad del color entre amarillo y azul, los valores positivos de a^* (0 -128) indican el componente amarillo del color; los valores negativos a^* (0 - -128) indican el componente azul del color (Milovanovic et al., 2020).

2.2.5. Nivel de Energía.- Es la cantidad de energía ultrasónica absorbida por cada mililitro de la leche, es expresada en Kilojulios; cuando el nivel de energía se expresa por ml de leche (kJ/mL) puede denominarse Densidad Energética, ambas a una temperatura constante (Scudino et al., 2020b). El concepto de Nivel de Energía como origen de los cambios físicos, químicos, microbiológicos, funcionales, estructurales a nivel molecular, etc. que presenta la leche sometida a tratamiento ultrasónico se basa en el concepto de Energía de Activación expresada por Arrhenius en su ecuación, ya que toda reacción requiere de energía (térmica, física, sónica, etc.) para su activación (Ji et al., 2022).

2.2.6. Propiedades Funcionales.- Para el caso de nuestro estudio las propiedades funcionales se refieren a la forma en la que la leche responde a los procesos a los que es sometida, también conocidas como propiedades tecno-funcionales. Estas propiedades suelen ser la sumatoria de las respuestas funcionales de cada uno de los componentes de la leche; siendo los más importantes las proteínas y la grasa. Algunas de ellas son el pH, la Sensibilidad al Cuajo, Sinéresis, Turbidez, Viscosidad entre otras (Auldist, 2022).

2.2.7. pH.- Es el logaritmo inverso de la concentración de iones hidrógenos presentes en la leche medidos en forma potenciométrica. La concentración de los hidrogeniones es una función de los componentes presentes en la leche tanto en su concentración como en su estructura; por ejemplo los compuestos

ácidos y alcalinos orgánicos e inorgánicos presentes en la leche definen el pH de la leche; pero también otros compuestos como los residuos de los aminoácidos expuestos de aminoácidos libres, polipéptidos y proteínas también ayudan a la definición del pH en leche (Romero et al., 2021).

2.2.8. Sensibilidad al Cuajo.- Es el tiempo necesario en segundos para que una solución de quimosina de 500 Unidades Internacionales por mililitro (500 UI/mL) coagulen una muestra de leche a 35 °C. Siendo que la quimosina coagula más rápidamente la caseína en estado nativo, la sensibilidad al cuajo puede ser correlacionada con la estructura de la caseína presente en la leche; así las leches crudas coagulan en menos tiempo que leches tratadas (Amalfitano et al., 2019).

2.2.9. Sinéresis.- Es el porcentaje de sólidos de leche que son separados por centrifugación a 1,790 g en leche enfriada a 5 °C. La sinéresis aporta una idea del estado coloidal de suspensión y del tamaño de partícula de las micelas de Caseína (Li et al., 2022).

2.2.10. Turbidez.- Es el porcentaje de sólidos de leche sedimentados en 24 horas de refrigeración después de la separación de la caseína de la leche por saturación con Sulfato de Amonio y filtración; y posterior a un calentamiento a 80 °C por 5 minutos. La Turbidez indica el estado de las Seroproteínas en la leche; las Seroproteínas en estado nativo presentan altos porcentajes de turbidez; por el contrario, porcentajes bajos de turbidez indican la presencia de Seroproteínas desnaturalizadas (Qin et al., 2021).

2.2.11. Viscosidad.- Es la resistencia que presenta la leche a fluir, se mide en Centipoises (cp) ya que la leche es un fluido newtoniano. La viscosidad de la leche es afectada por la cantidad y da una idea del estado de la materia grasa en estado globular y de las macromoléculas proteicas presentes en la leche (O'Shea et al., 2019).

CAPITULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Hipótesis de la investigación

La aplicación de ultrasonido como pretratamiento al proceso térmico de leche fresca permitirá alcanzar y mantener en el producto procesado los requerimientos microbiológicos legales, además de mejorar la retención de características físico-químicas y funcionales en almacenamiento refrigerado.

3.2. Variables e indicadores de la investigación

3.2.1. Variables e indicadores en el Objetivo Especifico 01

Las variables ensayadas en este objetivo fueron el nivel de Energía (0 a 0.5 kJ/mL) y el modo de aplicación (Pulsada o Continua) a una temperatura constante de 20 °C.

Los indicadores para evaluar los efectos de las variables fueron:

- A. Aerobios Mesófilos Viables (AMV) presentado en log ufc/mL.
- B. Coliformes (CT) presentado en log ufc/mL.
- C. pH presentado en forma adimensional
- D. Acidez total titulable presentado en % de ácido láctico.
- E. Color CIEL *a*b* presentado en su diferencia con el color de la leche cruda (ΔE)
- F. Sinéresis presentado en % de sólidos por centrifugación.
- G. Viscosidad de leche presentada en centipoises (cp).
- H. Turbidez presentado en % de volumen de sedimentos en refrigeración.
- I. Sensibilidad al Cuajo presentado en tiempo (s) para coagulación.

3.2.2. Variables e indicadores en el Objetivo Especifico 02

La variable estudiada en este objetivo fue el tratamiento térmico a temperaturas por debajo de la temperatura mínima de pasteurización de uso industrial; así las temperaturas ensayadas fueron de 40 °C a 60 °C.

La leche utilizada en los ensayos fue leche incubada a 25 °C por 8 horas y tratada con ultrasonidos a un nivel de 0.5 kJ/mL a 20 °C de acuerdo a los resultados del objetivo específico 01.

Los indicadores ensayados para evaluar los efectos de la variable fueron:

- A. Aerobios Mesófilos Viables (AMV) presentado en log ufc/mL.
- B. Coliformes (CT) presentado en log ufc/mL.
- C. pH presentado en forma adimensional
- D. Acidez total titulable presentado en % de ácido láctico.
- E. Color CIEL *a*b* presentado en su diferencia con el color de la leche cruda (ΔE)
- F. Sinéresis presentado en % de sólidos por centrifugación.
- G. Viscosidad de leche presentada en centipoises (cp).
- H. Turbidez presentado en % de volumen de sedimentos en refrigeración.
- I. Sensibilidad al cuajo presentado en tiempo (s) para coagulación.

3.2.3. Variables e indicadores en el Objetivo Especifico 03

La variable estudiada en este objetivo fue el tiempo de almacenamiento a 5 °C por 12 días, para evaluar la estabilidad en almacenamiento de leche ultrasonificada y pasteurizada a baja temperatura.

La leche utilizada en los ensayos fue leche incubada a 25 °C por 8 horas, tratada con ultrasonidos a un nivel de 0.5 kJ/ml a 20 °C de acuerdo a los resultados del objetivo específico 01; y tratada térmicamente a 60 °C por 10 minutos de acuerdo a los resultados del objetivo específico 02.

Los indicadores ensayados para evaluar los efectos del almacenamiento refrigerado a 5 °C fueron:

- A. Aerobios Mesófilos Viables (AMV) presentado en log ufc/mL.
- B. Coliformes (CT) presentado en log ufc/mL.
- C. pH presentado en forma adimensional
- D. Acidez total titulable presentada en % de ácido láctico.
- E. Color CIEL *a*b* presentado en su diferencia con el color de la leche cruda (ΔE)
- F. Sinéresis presentado en % de sólidos por centrifugación.
- G. Viscosidad de leche presentada en centipoises (cp).
- H. Turbidez presentada en % de volumen de sedimentos en refrigeración.
- I. Sensibilidad al cuajo presentada en tiempo (s) para coagulación.

3.3. Métodos de la Investigación

Se empleó el método experimental cuantitativo, en el que se aplicaron variables sobre la unidad de estudio y se obtuvieron datos por medio de ensayos planificados en laboratorio bajo condiciones controladas, los cuales fueron procesados y analizados a través de métodos estadísticos. Los resultados obtenidos fueron evidencias para deducir conclusiones en referencia a la hipótesis planteada en cada ensayo. Además, se realizó la contrastación con los resultados y conclusiones de los trabajos científicos de otros autores en referencia al presente tema de investigación.

3.4. Diseño de la Investigación

La ejecución experimental se presenta en el siguiente gráfico:

APLICACIÓN DE LOS ULTRASONIDOS DE ALTA POTENCIA PARA PRESERVAR LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS Y FUNCIONALES DE LECHE DE VACA (*Bos taurus*)

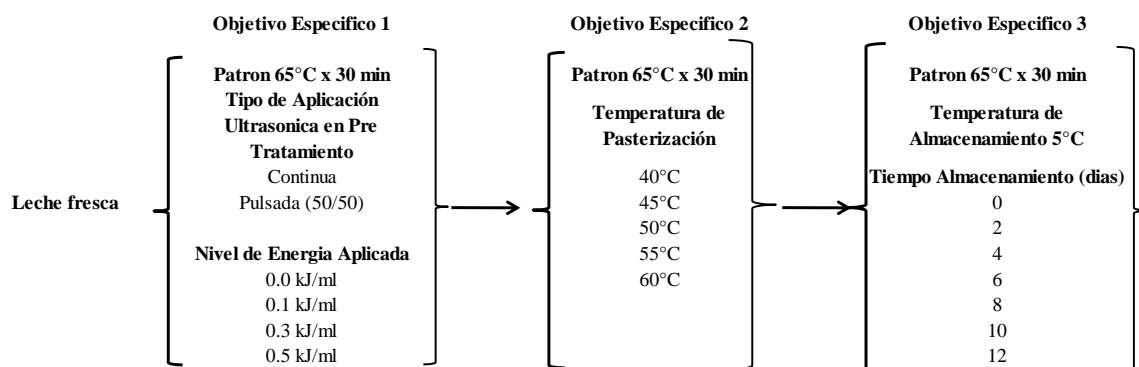


Figura 01
Diseño Experimental de Investigación

Los diseños experimentales que se aplicaron en cada objetivo específico son:

3.4.1. Diseño Experimental Objetivo Especifico 01.- Se empleó un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) con 2 modos de aplicación de ultrasonidos (continua y pulsada), 3 niveles de potencia a temperatura controlada de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, una muestra control sin tratamiento (leche cruda) y una muestra control de pasterización térmica a 65°C por 30 minutos.

3.4.2. Diseño Experimental Objetivo Especifico 02.- Se empleó un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) con 5 niveles de temperatura de tratamiento térmico en muestras de leche pre tratadas con 0.5 kJ/ml a 20°C . Adicionalmente se contó con una muestra control sin tratamiento (leche cruda) y una muestra control de pasterización térmica a 65°C por 30 minutos.

3.4.3. Diseño Experimental Objetivo Especifico 03.- Se empleó un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) con muestras pretratadas con ultrasonidos (0.5 kJ/mL a 20°C), muestras pre tratadas con ultrasonidos seguido de un tratamiento térmico a 60°C por 10 minutos; y una muestra control de pasterización térmica a 65°C por 30 minutos. Evaluando su estabilidad por 12 días de almacenamiento a 5°C , tomando como referencia el tiempo 0 (leche cruda).

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población.- La Población experimental fue leche fresca producida y acopiada en la cuenca lechera de Lambayeque entre los meses de Marzo y Julio del 2,022.

3.5.2. Muestra.- La muestra experimental fue aproximadamente 30 L de leche fresca proporcionada por la compañía Lácteos Niquen EIRL de la ciudad de Lambayeque.

3.5.3. Muestra Experimental.- Los ensayos se realizaron sobre muestras de 250 a 300 mL de leche fresca por ensayo.

3.6. Actividades del proceso investigativo

3.6.1. Objetivo Específico 01.

3.6.1.1. Recepción de Leche Fresca.- Las muestras de leche fueron acopiadas del segundo ordeño de la cuenca lechera de la zona de Lambayeque. Fueron recepcionadas en envases plásticos de primer uso, lavados, secados, esterilizados con alcohol al 70%, secados al ambiente y mantenidos cerrados. Una vez recepcionada la muestra en los envases, esta fue transportada en una caja de tecnopor cerrada con gel de refrigeración a 10 °C y colocadas en refrigeración a 5 °C por no más de 12 horas hasta su uso experimental.

3.6.1.2. Pre Tratamiento con Ultrasonidos.- La muestra general de leche fue porcionada a razón de 250 ml en frascos de vidrio con tapa plástica de 350 ml pre esterilizados a 121 °C por 15 minutos; y en forma aleatoria fueron sometidas a tratamientos de ultrasonidos en un sonicador modelo PZ550LI (Fangxu, Shanghai, China) equipado con sonda de 6 mm de diámetro modelo T1-6AL-4V en acero al titanio, trabajando a 24 kHz, con un aporte de 25 watts de energía ultrasónica real y que trabaja con una amplitud de 100 µm.

Los tratamientos ensayados por duplicado fueron 0, 0.1, 0.3 y 0.5 kJ/mL dosificados en forma continua y en forma pulsada (50/50); los

diferentes niveles de energía entregados se lograron con diferentes tiempos de residencia en el sonicador, según el Cuadro 01.

Las muestras de leche fueron vertidas en un reactor de vidrio de borosilicato enchaquetado de 350 mL de capacidad, pre lavado y esterilizado a 121 °C por 15 minutos y manejado asépticamente.

Cuadro 01:

Tiempo de Pre Tratamiento ultrasónico de leche (Objetivo Especifico 01)

Modo de Aplicación de Ultrasonidos	Densidad Energética (kJ/mL)		
	0.1	0.3	0.5
Continua	16 min 40 s	50 min	83 min y 20 s
Pulsada (50/50)	33 min y 20 s	100 min	166 min y 40 s

El reactor fue conectado a un sistema de enfriamiento que consta de:

A. Bomba de recirculación modelo SC-300 (Syscooling, Shanghai, China) con un flujo de 300 l/h, presión 1.9 m de agua y capacidad de tanque de 150 ml.

B. Refrigerante usado.- Solución de Etanol al 20%, pre enfriada a 0 °C.

C. Enfriador.- Placa Peltier TEC1-12706 acoplada a un disipador de calor de 3 ventiladores y una placa de intercambio de calor de 9 mm de ingreso y salida con una potencia de enfriamiento de 60 watts.

D. Controlador termostático modelo XH-W3001 para trabajar a 220 voltios, con un sensor tipo termopar de punta metálica (sensibilidad +/- 0.1 °C) colocado en la muestra de leche.

E. Fuente de alimentación del sistema (modelo S-120-12) de 10 Amperios; entrada 220 voltio y salida 12 voltios.

La temperatura de los tratamientos ultrasónicos fue de 20 +/- 1 °C, la cual fue monitoreada en forma constante por un datalogger DTM-319 (Tecpel Inc, Taiwan) equipado con una Termocupla TECPEL modelo TPK-03S calibrado de fábrica (SN TP16K2337), que fue colocada dentro de la leche durante el proceso de sonicación. Las temperaturas de la leche fueron monitoreadas constantemente durante el pre tratamiento.

3.6.1.3. Post Tratamiento con Ultrasonidos.- Terminado el pre tratamiento con ultrasonidos, las leches tratadas fueron muestreadas asépticamente para los análisis microbiológicos con jeringas de primer uso estériles de 20 mL, enfriadas en agua nieve a 0 °C y almacenadas a 5 °C para su análisis microbiológico. El resto de la muestra fue vertida asépticamente en frascos roscados esterilizados por 121 °C por 15 minutos, enfriados en agua nieve a 0 °C y almacenados a 5 °C por no más de 12 horas para su análisis.

3.6.2. Objetivo Específico 02.

3.6.2.1. Recepción y Pre Tratamiento Ultrasónico de Leche Fresca.- Las muestras de leche fueron acopiadas en la forma indicada en el acápite 3.4.1.1.; pero debido a la baja carga microbiana encontrada en las muestras de leche, se incluyó una retención de 8 horas a 25 °C para permitir la adaptación de la microbiota natural de la leche; posteriormente la muestra general fue refrigerada a 5 °C por un periodo no mayor de 12 horas antes de ser pre tratadas con ultrasonidos por duplicado como se indica en los ítem 4.4.1.1 y 4.4.1.2.. Las muestras fueron pretratadas con una densidad energética de 0.5 kJ/mL, con una frecuencia de 24 kHz y temperatura constante de 20 +/-1 °C, de acuerdo a los resultados del Objetivo Especifico 01.

3.6.2.2. Tratamiento Térmico.- Las muestras pre tratadas con ultrasonidos a 0.5 kJ/mL fueron tratadas térmicamente según lo indicado en el Cuadro 02.

Las muestras de leche de 250 ml fueron colocadas en frascos de vidrio de 300 ml esterilizados a 121°C por 15 minutos cerrados y un frasco (que no será muestreado) quedo abierto para el monitoreo de la temperatura interna. Los frascos en agitación constante fueron llevados a la temperatura de

tratamiento en un baño maría calibrado a la temperatura de ensayo (cuadro N° 02) y el tiempo empezó a tomarse al llegar a la temperatura de tratamiento.

Durante el tratamiento térmico; la leche en proceso fue muestreada asépticamente para análisis microbiológico en los tiempos indicados en el Cuadro 03.

Cuadro 02:

Tiempos y Temperaturas de Tratamiento Térmico de Leche Pre Sonicada

Temperatura (°C)	Tiempo de Retención (min)
40	24
45	24
50	12
55	12
60	6

Cuadro 03:

Tiempos de muestreo microbiológico en proceso térmico de leche pre tratada

Temperatura (°C)	Tiempo (min)				
40	0	4	8	16	24
45	0	4	8	16	24
50	0	2	4	8	12
55	0	2	4	8	12
60	0	1	2	4	6

Para el muestreo microbiológico se tomó asépticamente una muestra de 20 mL con jeringas estériles de 20 mL de primer uso en el punto central previa agitación de la muestra en tratamiento. La muestra tomada fue enfriada en agua nieve a 0 °C y almacenadas a 5 °C para su análisis microbiológico.

Terminado el proceso térmico, el resto de la muestra fue cerrada asépticamente en sus frascos con tapa de rosca de 300 mL, se enfriaron en agua nieve a 0 °C y almacenadas a 5 °C por no más de 12 horas para su análisis físico-químico y funcional posterior.

3.6.3. Objetivo Específico 03.

3.6.3.1. *Recepción y Pre Tratamiento Ultrasónico de Leche Fresca.*

Las muestras de leche fueron acopiadas en la forma indicada en el acápite 3.6.2.1. y almacenadas a 5 °C por no más de 12 horas antes de ser pre tratadas con ultrasonidos por duplicado como se indica en los ítem 4.4.1.1 y 4.4.1.2.

Las muestras fueron pre tratadas con una densidad energética de 0.5 kJ/mL, a una frecuencia de 24 kHz y con una temperatura constante de 20 +/- 1 °C.

3.6.3.2. *Tratamiento Térmico.*- Las muestras pre tratadas con ultrasonidos a 0.5 kJ/ml fueron tratadas térmicamente a 60 °C por 10 minutos; siendo enfriadas rápidamente en agua corriente y luego almacenadas a 5 °C.

Durante el almacenamiento las muestras de leche fueron analizadas a lo largo de 12 días de almacenamiento. Para el muestreo microbiológico se tomó asépticamente una muestra de 20 mL de leche con jeringas estériles de 20 mL de primer uso previa agitación de la muestra en tratamiento. La muestra tomada fue enfriada en agua nieve a 0 °C y almacenada a 5 °C por no mas de 12 horas hasta su análisis microbiológico.

Posterior al muestreo microbiológico la muestra de leche almacenada fue sometida a análisis físicos químicos y funcionales.

3.7. Técnicas, instrumentos y procedimiento de recolección de datos

La técnica a emplearse en la recolección de datos es experimental a nivel de laboratorio y el instrumento de recolección de datos será el diario de experimentos en forma manual y posteriormente los datos serán acopiados en cuadros en formato Excel.

Las técnicas de análisis de las muestras y procedimiento de recolección de datos fueron:

3.7.1. Análisis proximal de muestra, pH, densidad, sólidos totales y lactosa.- Estos parámetros se determinaron con el Milk Analyzer LAC-SPA (BOECO GmbH, Alemania), según el método propuesto por Zhu et al. (2018).

3.7.2. Aerobios Mesófilos Viables (AMV).- El contenido de gérmenes aeróbios mesófilos viables se determinó tomando muestras de 10 mL de leche tratadas y se prepararon diluciones seriadas decimales con solución salina peptonada (0.1% Peptona de Carne y 0.85% de Cloruro de Sodio en agua destilada esterilizada a 121 °C por 15 minutos) hasta diluciones decimales de 10^{-1} hasta 10^{-5} , se agitaron en un agitador vortex por 15 segundos. Se pipeteó 1 ml de cada dilución que se depositó en una Placa Petri estéril, enseguida se vertió 15 ml de Agar Plate Count (Merck, USA), se dispersó la muestra con movimientos circulares. Las placas solidificadas se incubaron por 48 horas a 35 ± 1 °C. Se retiraron las placas de la incubadora y utilizando un cuenta colonias se determinó el número de colonias formadas; y a partir de la dilución inoculada se calculó el número de ufc/mL de muestra, ello según el método propuesto por Maturin y Peeler (2021).

3.7.3. Coliformes Totales.- El contenido de Coliformes Totales se determinó tomando muestras de 10 ml de leche tratadas y preparándolas en diluciones seriadas decimales con solución salina peptonada (0.1% Peptona de Carne y 0.85% de Cloruro de Sodio en agua destilada esterilizada a 121 °C por 15 minutos) hasta diluciones decimales de 10^{-1} hasta 10^{-5} , se agitó en un agitador vortex por 15 segundos, se pipeteó 1 mL de cada dilución que se depositó en

una Placa Petri estéril, enseguida se vertió 15 mL de Violet Red Bile Agar (VRBA) (Merck, USA), se dispersó la muestra con movimiento circulares. Las placas solidificadas se incubaron por 48 horas a 35 +/- 1 °C. Se retiraron las placas de la incubadora y utilizando un cuenta colonias se determinó el número de colonias formadas; y a partir de la dilución inoculada se calculó el número de ufc/ml de muestra, ello según el método propuesto por Feng et al., (2021).

3.7.4. Acidez Total Titulable.- La acidez titulable se evaluó diluyendo 10 mL de cada muestra en 100 mL de agua destilada. Para la titulación se utilizó una solución estándar de NaOH 0.1 N e indicador de fenolftaleína, según el método propuesto por Rincon et al., (2020)

3.7.5. Color.- La evaluación del color se realizó con la ayuda de un colorímetro de reflectancia LS171 (Shenzhen Linshang Technology Co., Ltd, Shenzhen, China) obteniendo los valores de color del sistema CIELab según lo propuesto por Rincon et al., (2020), con una modificación en un Beaker de vidrio borosilicato de 50 mL se colocó una muestra de leche de 30 mL, el beaker se colocó sobre el colorímetro, se cubrió con una caja negra para evitar la presencia de luz parasita y se procedió a la medición.

3.7.6. Sinéresis.- Esta fue determinada por el método propuesto por Joon, Mishra, Brar, Singh, y Panwar (2017) con una modificación; se transfirieron 15 mL de leche tratada y enfriada a 10 °C a tubos Falcon graduados de 15 mL de capacidad. Los tubos de centrifuga se equilibraron ajustando sus pesos y se centrifugaron a 1,790 g en una centrifuga Modelo 800D (Boeco GmBH, Alemania) durante 20 min. Las fases separadas se registraron en mililitros, y se reportaron las fracciones porcentuales de volumen por fases en % de volumen por fase.

3.7.7. Viscosidad.- Las muestras de leche refrigeradas a 5°C +/- 1°C fueron colocadas en la cubeta del viscosímetro vibracional AND SV-10A (A&D Weighing, Australia), según el método propuesto por Cheng, Barbano, y Drake (2019) y se procedió a medir su viscosidad en Centipoises.

3.7.8. Turbidez.- Las muestras fueron evaluadas según el método propuesto por Rakib et al., (2014) con una modificación. Las muestras de leche

fueron temperadas a 20 °C, de cada tratamiento se tomaron 20 mL de leche en un Erlenmeyer y se disolvieron 4 g de sulfato de amonio, agitándolos hasta total disolución y dejándolos en reposo por 2 minutos, la mezcla fue filtrada en un papel de filtro, se recogieron diez (10) mL de suero y se calentaron a 80 °C por 5 minutos. Terminado el proceso se enfriaron en agua corriente a temperatura ambiente y se dejaron reposar por 12 horas a 5 °C. Se midió el volumen de sedimento y se reportó el % de sedimento sobre el total del suero calentado.

3.7.9. Sensibilidad al Cuajo.- La sensibilidad al cuajo se evaluó según el método propuesto por Bittante et al. (2015) con una modificación; 10 mL de las muestras de leche se calentaron durante 10 min a 35 °C y se mezclaron individualmente con 0.05 mL de solución de cuajo con una potencia de 500 UI/ml (Marca Marschall, Danisco, Holanda) recién diluido en agua destilada. Las muestras con cuajo fueron rotadas de manera manual en un baño de maría a 35 °C. La lectura del tiempo de coagulación se hizo cuando el aspecto de la película de leche sobre la pared interna del tubo cambió de fluido laminar a viscoso con grumos de al menos 0.2 mm.

3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de los datos

3.8.1. Modelamiento matemático de datos microbiológicos

3.8.1.1. Modelo de Gompertz

Los resultados de la evaluación de gérmenes aerobios mesófilos viables (AMV) y de coliformes totales (CT) fueron modelados utilizando el modelo de Gompertz de 3 parámetros (ecuación 1), según lo indicado por Singh (2022).

$$N_t = N_0 + C * \exp(-\exp(-B * (t - M))) \quad (1)$$

Dónde:

N_t = Población microbiana (log ufc/mL) al tiempo *t*

N₀ = Población microbiana inicial (log ufc/mL)

C = Capacidad de Carga del medio (log ufc/mL)

B = Velocidad específica máxima en punto de inflexión de curva (min⁻¹)

$t = \text{Tiempo (min)}$

$M = \text{Tiempo (min) de máxima velocidad específica}$

El cálculo de los parámetros se realizó utilizando una regresión no lineal con ajuste a minimización de función perdida y siguiendo un modelo de regresión Quasi Newton en el software Statistica 7 (TIBCO Software, USA)

3.8.1.2. Modelo de Bigelow

Los resultados de la evaluación de gérmenes aerobios mesófilos viables (AMV) y de coliformes totales (CT); según fuera el caso, fueron modelados utilizando el modelo de Bigelow de temperatura constante (ecuación 2), según lo indicado por Wei et al., (2020) con una modificación.

La ecuación clave del modelo es:

$$Nt = No + (B * t) \quad (2)$$

Dónde:

$Nt = \text{Población microbiana (log ufc/mL) al tiempo } t$

$No = \text{Población microbiana inicial (log ufc/mL)}$

$B = \text{Pendiente de la curva de muerte microbiana ((log ufc/mL) / min)}$

$t = \text{Tiempo (min)}$

El cálculo del parámetro B se realizó utilizando una regresión lineal con ajuste a mínimos cuadrados en el software MS Excel (Microsoft Corporation, USA).

3.8.1.3. Modelo de Weibull

Los resultados de la evaluación de gérmenes aerobios mesófilos viables (AMV) y de coliformes totales (CT) durante el almacenamiento refrigerado fueron modelados utilizando el modelo de Weibull (ecuación 3), según lo indicado por Paswan et al., (2020).

$$Nt = No - (t/\alpha)^\beta \quad (3)$$

Dónde:

$Nt = \text{Población microbiana (log ufc/mL) al tiempo } t$

$No = \text{Población microbiana inicial (log ufc/mL)}$

$t = \text{Tiempo (días)}$

α = *Parámetro de escala de la función de Weibull (día de almacenamiento/log ufc/mL)*

β = *Parámetro de forma de la función de Weibull (adimensional)*

El cálculo de los parámetros se realizó utilizando una regresión no lineal utilizando el Complemento de Excel GINAFit (Geeraerd and Van Impe Inactivation Model Fitting Tool) accesible en <https://frisbeetool.eu/GlnaFit/ginafit.php/> que trabajo con el software MS Excel (Microsoft Corporation, USA).

3.8.2. Técnicas de análisis estadístico

Los valores de las variables respuestas fueron evaluados en su promedio y desviación estándar muestral utilizando el software MS Excel (Microsoft Corporation, USA). Las diferencias significativas dentro de las variables respuesta fueron analizados por medio del Análisis de Varianza ($p=0.05$) y en caso de hallarse diferencias significativas se analizaron por medio de la prueba de Tukey ($p=0.05$) para determinar los Grupos de Significancia homogénea según lo indicado por Andrade Lopes et al., (2020) utilizando el software Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Technologies Inc.; USA)

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Efecto de diferentes intensidades de energía ultrasónica a 20 kHz bajo temperatura controlada (20 °C) sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y/o funcionales de la leche.

4.1.1. Análisis de materia prima.-

La composición y características físico químicas de la leche utilizada en los ensayos se presentan en el Cuadro 04.

Cuadro 04:

Composición y características físico químicas de Leche (%)

ITEM	valor
Grasa	3.235 ± 0.106
Sólidos No Grasos	7.415 ± 0.049
Densidad (g/mL)	1.027 ± 0.000
Proteínas	3.515 ± 0.021
Carbohidratos	4.035 ± 1.280
pH	6.370 ± 0.042
Punto Congelación (°C)	-0.387 ± 0.002
Sales	0.545 ± 0.007
Lactosa	3.345 ± 0.021
Sólidos Totales	10.650 ± 0.057
Prueba de Alcohol	(-)
Prueba de Azul de Metileno	> 5 horas

La composición de la leche utilizada en los ensayos presentó menores contenidos de sólidos grasos y sólidos no grasos que la leche analizada por Nilsson et al. (2019), ya que el contenido graso fue menor; 3.23 % en Lambayeque en comparación a 4.50 % presentado por Nilsson et al. (2019); así mismo los contenidos de sólidos no grasos fue menor que los

presentados por Nilsson, por ejemplo Lactosa (4.63% versus 3.345%) y Proteína (3.515% versus 3.65%).

Así mismo los valores presentados por Nilsson et al. (2019) con referencia al pH fue superior a la leche acopiada en Lambayeque (6.69 y 6.37 respectivamente).

Este bajo contenido de sólidos grasos y sólidos no grasos pueden estar relacionados a diferencias en el contenido nutricional del pienso consumido por el ganado (Culqui Vilca y Rabanal Oyarce, 2022).

4.1.2. Efecto de tratamiento sobre la población de Aerobios Mesófilos Viables (AMV).

El efecto de diferentes niveles de Energía sobre la población de Aerobios Mesófilos Viables (AMV) en la leche tratada por ultrasonidos y térmicamente se presenta en el Cuadro 05.

Cuadro 05:

Población de Aerobios Mesófilos Viables (AMV) (log ufc/mL) en leche con tratamiento ultrasónico y térmico

Nivel de energía (kJ/mL)	Tipo de aplicación	
	Continua	Pulsada
0.1	3.42 ± 0.263 b/A * α	3.34 ± 0.225 b/A * α
0.3	2.87 ± 0.041 a/A *	2.99 ± 0.125a/A *
0.5	2.65 ± 0.069 a/A *	2.69 ± 0.125 a/A *
Cruda	4.09 ± 0.013	
Pasterización	2.45 ± 0.213	

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Nivel de Energía; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Tipo de Aplicación. El () indica diferencias significativas de cada uno de los tratamientos de US con la leche cruda y (α) indica diferencias significativas con leche pasterizada, según Test Tukey ($p < 0.05$).*

En el Cuadro se puede observar que los niveles alcanzados de inactivación de AMV dependen del nivel de energía aplicada ($p < 0.05$), por el contrario no

depende de la forma de aplicación de la energía ($p>0.05$). Esto se sustenta en el hecho que toda reacción (física, química, enzimática, etc.) necesita de cierto nivel de energía (sónica, térmica, etc.) para que la reacción tenga lugar. Un concepto relacionado es el expresado por Arrhenius como Energía de Activación (E_a); esta es la energía necesaria para determinar la dinámica de los procesos químicos, bioquímicos, microbiológicos y que al alterar la estructura de las moléculas; logra su transición de una molécula en estado de equilibrio a otro de transición y por ende reactivo (Davidenko et al., 2020).

De ello se pudo comprobar que la forma de la forma de aplicación de energía (Continua o Pulsada) no presenta diferencias significativas entre sí ($p>0.05$), sino que los efectos están directamente relacionados a los niveles de energía absorbidos por las moléculas o microorganismos para que el efecto se presente.

Se pudo comprobar que conforme los niveles de Densidad Energética se incrementan; la viabilidad de los AMV se reduce; efecto ya observado por Balthazar et al., (2019) quienes al tratar leche con densidades acústicas de entre 0.17 y 0.225 kJ/mL alcanzaron reducciones de entre 1.25 y 3.85 log ufc/mL, las cuales son ligeramente superiores a las alcanzadas en nuestros ensayos de 1.22 y 1.34 log ufc/mL. Esta diferencia se debe a que Balthazar et. al. (2019) no ejerció control de la temperatura la cual alcanzo hasta los 54 y 69 °C; mientras que en nuestro caso la temperatura de los ensayos no superó los 21 °C.

Finalmente, es importante mencionar que la leche sometida a tratamiento ultrasónico a nivel de 0.5 kJ/mL y 20 °C alcanzó los requisitos legales microbiológicos de una leche de pasteurización comercial (RM 591-2008/MINSA), que indica que una leche pasteurizada para consumo puede contener como máximo en AMV 4.6 log ufc/mL.

4.1.3. Efecto de tratamiento sobre la población de Coliformes Totales (CT).

El efecto de diferentes niveles de Energía sobre la población de Coliformes Totales (CT) en la leche tratada por ultrasonidos y térmicos se presenta en el Cuadro 06.

Cuadro 06:**Población de Coliformes Totales (CT) (Log ufc/ml) en leche con tratamiento ultrasónico y térmico**

Nivel de energía (kJ/mL)	Tipo de aplicación	
	Continua	Pulsada
0.1	2.45 ± 0.213 b/A α	2.50 ± 0.281 b/A α
0.3	2.16 ± 0.198 b/A α	2.07 ± 0.157 b/A * α
0.5	1.15 ± 0.213 a/A * α	1.09 ± 0.125 a/A * α
Cruda	2.87 ± 0.125	
Pasterización	-1.00 ± 0.000	

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Nivel de Energía; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Tipo de Aplicación. El () indica diferencias significativas de cada uno de los tratamientos de US con la leche cruda y (α) indica diferencias significativas con leche pasterizada, según Test Tukey ($p < 0.05$).*

En forma similar a lo observado en los AMV, la reducción poblacional de los CT no está influenciado por la forma de aplicación de los ultrasonidos (Continuos o Pulsados); sino por la Nivel de Energía aplicado (kJ/mL) ($p < 0.05$).

Los CT presentaron menores índices de viabilidad conforme el nivel de Energía se incrementó. A partir de 0.1 kJ/mL de US existen efectos antimicrobianos, los que se incrementan conforme aumenta la energía aplicada ($p < 0.05$). Estos resultados coinciden con los presentados por Li et al., (2019b) quienes al tratar leche a 0.3 kJ/mL alcanzó una reducción de 1.06 log ufc/mL reducciones similares a las alcanzadas en nuestros ensayos de 0.71 y 0.80 log ufc/mL en forma Continua y Pulsada respectivamente.

La leche sometida a tratamiento ultrasónico en los valores ensayados no alcanzó los requisitos legales microbiológicos de una leche de pasterización comercial (RM 591-2008/MINSA) con referencia a los contenidos de

Coliformes. Aunque la tendencia de resultados indica que con valores superiores de energía US podría alcanzarse los niveles requeridos.

4.1.4. Efecto de tratamiento sobre la Acidez Total Titulable.

El efecto de diferentes niveles de Energía sobre la acidez total titulable se presenta en el Cuadro 07.

Cuadro 07

Acidez Titulable (% Ácido Láctico) de leche por tratamiento ultrasónico

Nivel de energía (kJ/mL)	Tipo de aplicación	
	Continua	Pulsada
0.1	0.325 ± 0.010 a/A * α	0.300 ± 0.004 a/A * α
0.3	0.329 ± 0.017 a/A * α	0.311 ± 0.005 a/A * α
0.5	0.322 ± 0.010 a/A * α	0.309 ± 0.003 a/A * α
Cruda	0.263 ± 0.010	
Pasterización	0.250 ± 0.015	

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Nivel de Energía; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Tipo de Aplicación. El () indica diferencias significativas de cada uno de los tratamientos de US con la leche cruda y (α) indica diferencias significativas con leche pasterizada, según Test Tukey ($p = 0.05$).*

La acidez titulable se incrementó con la aplicación de ultrasonido, aunque sin diferencia significativa en todas las niveles de Energía ultrasónicas ensayadas ($p > 0.05$).

Esta subida de la acidez titulable por sonicación es probablemente debida a dos fenómenos:

(1) Formación de ácidos por sonicación.- Los ensayos de Li et. al. (2019) indicaron que la sonicación genera la síntesis térmica de ácido nítrico en leche en la zona caliente de las burbujas de cavitación, lo que puede aumentar el contenido de ácidos en leche.

(2) Exposición de residuos ácidos de aminoácidos en cadena proteica.- La investigación de Sun et al., (2022) evidenció que los UAP al disgregar micelas de Caseína exponen los residuos de los aminoácidos que los componen, sin romper sus enlaces peptídicos. Estos residuos son de naturaleza acida siendo detectados a través de la acidez titulable.

4.1.5. Efecto de tratamiento sobre el pH.

El efecto de diferentes niveles de Energía sobre el pH de la leche se presenta en el Cuadro 08.

Cuadro 08

pH de leche con tratamiento ultrasónico

Nivel de energía (kJ/mL)	Tipo de aplicación	
	Continua	Pulsada
0.1	6.38 ± 0.099 a/A	6.44 ± 0.339 a/A
0.3	6.32 ± 0.191 a/A	6.48 ± 0.311 a/A
0.5	6.46 ± 0.332 a/A	6.48 ± 0.382 a/A
Cruda	6.37 ± 0.000	
Pasterización	6.58 ± 0.000	

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Nivel de Energía; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Tipo de Aplicación. El () indica diferencias significativas de cada uno de los tratamientos de US con la leche cruda y (α) indica diferencias significativas con leche pasterizada, según Test Tukey ($p = 0.05$).*

La alteración de la acidez titulable observada (Cuadro 07) no estuvo acompañada de un cambio significativo en el valor del pH ($p > 0.05$), según se observa en el Cuadro 08. Esto debido a la capacidad buffer de las proteínas en la leche (caseínas y suero proteínas), lo cual es indicado por Mennah-Govela y Bornhorst (2021).

4.1.6. Efecto de tratamiento sobre el Color.- El efecto de diferentes niveles de Energía sobre el color de la leche tratada se presenta en el Cuadro 09.

Cuadro 09

Variación de Color CIEL*a*b* (ΔE) en leche por tratamiento ultrasónico

Nivel de energía (kJ/mL)	Tipo de aplicación	
	Continua	Pulsada
0.1	2.00 ± 1.400 a/A	1.06 ± 0.083 a/A
0.3	2.48 ± 0.269 a/A *	2.03 ± 0.383 a/A
0.5	3.35 ± 0.144 a/A * α	2.40 ± 0.344 a/A *
Cruda	0.00 ± 0.000	

Pasterización

0.74 ± 0.011

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Nivel de Energía; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Tipo de Aplicación.

El () indica diferencias significativas de cada uno de los tratamientos de US con la leche cruda y (x) indica diferencias significativas con leche pasteurizada, según Test Tukey ($p = 0.05$).*

Se determinó presencia de cambio de color al aplicar el procesamiento con ultrasonido o procesamiento térmico tomando como referencia los parámetros de color de la leche fresca. Las muestras de leche tratadas con ultrasonidos cambiaron de color significativamente ($p < 0.05$) conforme el nivel de energía se incrementó, observándose una tendencia creciente en cuanto al cambio de color.

Por otro lado, los valores L^* suben de 74.24 a 77.53 y los valores b^* disminuyen de 2.98 a 2.14. Li (2019) en ensayos de sonicación de leche a densidades de 0.3 kJ/mL encontró que los valores de L^* se incrementaron y los valor b^* disminuyeron; lo cual es concordante con nuestros resultados.

Estos cambios en los parámetros de color se deben a modificaciones en la reflexión de la luz en leche debido a reducciones de tamaño en los glóbulos de grasa y a la desnaturalización de la proteína soluble (Cheng et al., 2018); siendo que ambos efectos también se evidenciaron en el presente trabajo tal como se muestran en los resultados de los ensayos de sinéresis (con aparición de grasa libre) y turbidez (con un aumento en los sólidos no coagulables por Sulfato de Amonio).

4.1.7. Efecto de tratamiento sobre el Contenido de Sólidos por Sinéresis.

El efecto de diferentes niveles de Energía sobre el contenido de sólidos insolubles por sinéresis en la leche tratada se presenta en el Cuadro 10.

Cuadro 10:

% de Sólidos en Sinéresis por tratamiento ultrasónico

Nivel de energía (kJ/mL)	Tipo de aplicación	
	Continua	Pulsada
0.1	0.21 ± 0.016 a/A * x	0.27 ± 0.004 a/B * x
0.3	0.14 ± 0.012 b/A * x	0.49 ± 0.031 b/B x

0.5	0.21 ± 0.081 c/A * α	0.68 ± 0.016 c/B
Cruda	0.58 ± 0.005	
Pasterización	0.64 ± 0.011	

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Nivel de Energía; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para Tipo de Aplicación.

El () indica diferencias significativas de cada uno de los tratamientos de US con la leche cruda y (α) indica diferencias significativas con leche pasterizada, según Test Tukey ($p = 0.05$).*

Los resultados muestran que la cantidad de sólidos en sinéresis de leche son más altos ($p < 0.05$) cuando los UAP son aplicados en forma continua; así mismo se determinó que conforme el nivel de Energía aumenta la cantidad de sólidos que se solubilizan es mayor ($p < 0.05$).

Esto es consistente con lo indicado por Yanjun Sun et al., (2014), quien indica que los cambios en la estructura de las proteínas globulares incrementan el número de grupos amino y carboxilo y que bajo estas condiciones las interacciones agua-proteína se incrementan debido a mayores fuerzas electrostáticas que mantiene o pueden incrementar la solubilidad de las proteínas en leche.

Así mismo Shokri et al. (2022) hace hincapié en el efecto reductor del tamaño de partícula que poseen los UAP lo que mejora la resistencia a la sedimentación de las partículas, lo cual se evidencia en la reducción de la sinéresis de la leche cruda cuando se aplican niveles de Energía de 0.1 a 0.5 kJ/mL.

4.1.8. Efecto de tratamiento sobre la Viscosidad.

El efecto de diferentes niveles de Energía sobre la viscosidad en la leche tratada se presenta en el Cuadro 11.

Cuadro 11

Viscosidad (cp) de leche con tratamiento ultrasónico

Nivel de energía (kJ/mL)	Tipo de aplicación	
	Continua	Pulsada
0.1	5.51 ± 0.198 a/A	5.71 ± 0.856 a/A
0.3	5.50 ± 0.757 a/A	5.42 ± 0.651 a/A
0.5	5.66 ± 0.700 a/A	5.46 ± 0.827 a/A
Cruda	5.88 ± 0.424	
Pasterización	5.71 ± 0.163	

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$) para Nivel de Energía; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$) para Tipo de Aplicación. El () indica diferencias significativas de cada uno de los tratamientos de US con la leche cruda y (α) indica diferencias significativas con leche pasteurizada, según Test Tukey ($p<0.05$)*

Los resultados muestran que la viscosidad en la leche fresca no es afectada por el nivel de Energía aplicada o el tipo de aplicación ($p>0.05$).

La viscosidad de la leche cruda está influenciada por estado micelar de las caseínas y los glóbulos de grasa presentes en la leche; y aunque los UAP han probado su capacidad de generación de sub micelas de caseína (Liu et al., 2014b) y romper los glóbulos de grasa (Shokri et al., 2022), ambos efectos no afectaron significativamente la viscosidad ($p>0.05$) para los niveles de densidad energética ensayadas.

4.1.9. Efecto de tratamiento sobre la Turbidez.

El efecto de diferentes niveles de Energía sobre la turbidez del suero en la leche tratada se presenta en el Cuadro 12.

Cuadro 12

Turbidez del Suero (% de Sedimento) en leche por tratamiento ultrasónico

Nivel de energía (kJ/mL)	Tipo de aplicación	
	Continua	Pulsada
0.1	6.54 ± 0.174 c/A * α	5.93 ± 0.099 c/A * α
0.3	5.46 ± 0.357 b/A * α	5.73 ± 0.151 b/A * α
0.5	4.08 ± 0.118 a/A * α	4.55 ± 0.354 a/A * α
Cruda	2.82 ± 0.182	
Pasteurización	0.00 ± 0.000	

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$) para Nivel de Energía; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$) para Tipo de Aplicación. El () indica diferencias significativas de cada uno de los tratamientos de US con la leche cruda y (α) indica diferencias significativas con leche pasteurizada, según Test Tukey ($p=0.05$).*

Comparado al % de sedimento en la leche fresca cruda, se observó la presencia de mayores contenidos de Turbidez en los tratamientos de sonicación en todos los niveles ($p<0.05$), lo cual indica una mayor turbidez del suero. Así mismo, se observó que conforme el nivel de Energía aumentó a 0.5

kJ/mL, el contenido de sedimentos disminuyó ($p<0.05$); pero sin alcanzar los niveles de la leche cruda.

En la prueba de turbidez la caseína es acomplejada por medio de Sulfato de Amonio en exceso; pero las seroproteínas no son afectadas, siempre y cuando hayan conservado su estado nativo; y por tanto su inactividad frente a la κ -Caseína.

Cuando se aplica los UAP, esta energía inicia la desnaturalización de una parte de las seroproteínas (muy probablemente de la β -Lactoglobulina), causando dos efectos; (1) Aumento de disponibilidad de enlaces disulfuro y (2) Aumento de su hidrofobicidad (Carrillo-Lopez et al., 2021). El primero de ellos en presencia de membranas de los glóbulos de grasa también activadas y/o fragmentadas por los UAP (Sun, et. al.; 2022) se unen entre sí por medio de enlaces disulfuro (Jukkola, 2017).

Por otro lado, la aplicación de UAP afecta la integridad de las micelas de caseína creando micelas de menor peso molecular (PM) y podrían exponer secciones de alta hidrofobicidad (puntos en la submicela de caseína no coberturados por la κ -Caseína). Lo anterior unido al efecto de mayor hidrofobicidad de las seroproteínas por efecto de los UAP (Carrillo-Lopez et al., 2021) propicia su interacción con porciones hidrofóbicas de seroproteínas o grasa expuesta de los glóbulos de grasa rotos por efecto de los UAP en uniones de tipos hidrofóbico; creando de esta manera agregados que son resistentes al efecto deshidratante del Sulfato de Amonio que sí afecta a las micelas nativas de Caseína (Silva, et. al., 2018); de ahí que las leches tratadas con UAP inicialmente aumentan en su grado de Turbidez.

Pero al aumentar el nivel de Energía; los agregados hidrofóbicos van disminuyendo su presencia; mientras que los agregados vía puentes de disulfuro se mantienen; de manera que en el efecto global del proceso de UAP disminuye la cantidad de Turbidez presente.

4.1.10. Efecto de tratamiento sobre la Sensibilidad al Cuajo.

El efecto de diferentes niveles de Energía sobre la sensibilidad al cuajo (minutos para cuajado) en la leche tratada se presenta en el Cuadro 13.

Los ensayos muestran que no existen diferencias significativas en la sensibilidad al cuajo entre las leches crudas y sometidas a tratamiento ultrasónico hasta 0.5 kJ/mL ($p>0.05$).

Cuadro 13

Tiempo de Cuajado (segundos) en leche con tratamiento ultrasónico

Nivel de energía (kJ/mL)	Tipo de aplicación	
	Continua	Pulsada
0.1	14.28 ± 3.083 a/A α	13.78 ± 0.530 a/A α
0.3	12.19 ± 2.956 a/A α	16.28 ± 2.751 a/A α
0.5	15.63 ± 0.240 a/A α	15.11 ± 3.267 a/A α
Cruda	13.95 ± 2.178	
Pasterización	48.75 ± 20.294	

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$) para Nivel de Energía; diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$) para Tipo de Aplicación. El () indica diferencias significativas de cada uno de los tratamientos de US con la leche cruda y (α) indica diferencias significativas con leche pasterizada, según Test Tukey ($p=0.05$).*

Las muestras con diferentes niveles de Energía mantuvieron la sensibilidad al cuajo de la leche fresca ($p>0.05$); mientras que la leche pasterizada aumentó en más de 3 veces su resistencia al cuajo.

Según Guinee (2021) los procesos de pasterización desnaturalizan las seroproteínas que al interactuar con la κ -Caseína impiden la fusión de las para- κ -Caseína e impiden el proceso de fusión durante la gelificación y sinéresis de la cuajada.

De ahí que la sonicación a los niveles de Energía ensayadas contribuye a reducir las poblaciones microbianas, pero no afectarían las seroproteínas a un nivel tal que la leche tratada con UAP mantiene la capacidad gelificante de la leche UAP en una forma muy similar a la forma nativa.

En resumen, en el desarrollo del objetivo específico 01 se demostró que los tratamientos isotérmicos UAP a 20 °C y 24 kHz lograron reducir las poblaciones microbianas de AMV y CT en 1.4 y 1.7 log ufc/mL, logrando

alcanzar los requerimientos legales necesarios para considerarse una leche fresca pasteurizada solo en el caso de los AMV.

Los efectos microbianos, fisicoquímicos y funcionales observados en la leche como consecuencia de los tratamientos isotérmicos UAP no presentaron diferencias significativas según el tipo de aplicación (continua o pulsada); salvo en el caso de la sinéresis de sólidos, donde la aplicación continua de UAP aumento la solubilidad de sólidos en leche. Los efectos observados en la leche UAP solo fueron afectados por las niveles de Energía (kJ/ml) ensayadas.

Los tratamientos isotérmicos UAP en todas las densidades ensayadas no ejercieron efectos significativos ($p>0.05$) sobre el pH, viscosidad o sensibilidad al cuajo. Por el contrario, las niveles de Energía ensayados incrementaron significativamente ($p<0.05$) la acidez titulable (% de Ácido Láctico); la solubilidad de sólidos y generó cambios en el color CIEL*a*b* por incremento en los parámetros L* y b*; e incrementó la turbidez del suero de la leche fresca.

4.2. Efecto de diferentes tratamientos térmicos de baja temperatura en leche pre sonicada a 20 °C sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y/o funcionales de la leche.

Habiendo analizado el efecto de los UAP sobre leche fresca, se consideró que los tratamientos se aplicaron sobre leche fresca (menos de 1 hora de ser ordeñada); lo cual no es una práctica común en la industria lechera; por lo que en el objetivo específico 02 se consideró evaluar la aplicación de los tratamientos UAP seguido de un tratamiento térmico (UAP+TT) en leche que hubiera sido retenida a temperatura ambiente por 8 horas, simulando una práctica lechera habitual en el Perú; sirviendo esta retención intencional como desafío para la tecnología en investigación.

4.2.1. Análisis de materia prima.

Las características de composición y físico químicas del lote de leche utilizada en los ensayos del OE2 se presentan en el Cuadro 14.

El análisis de la leche utilizada en el objetivo específico 02 no presenta diferencias marcadas con la leche utilizada en el objetivo específico 01; salvo en el pH que descendió de 6.370 a 5.497; ello debido a la incubación de 8 horas a 25 °C que se realizó previa al almacenamiento refrigerado a 5 °C antes de la elaboración de las muestras.

Cuadro 14:

Características Químicas y Físico Químicas de Leche (%)

ITEM	Promedio
Grasa	3.670 ± 0.099
Sólidos No Grasos	7.813 ± 0.217
Densidad (g/mL)	1.026 ± 0.001
Proteínas	2.870 ± 0.099
Carbohidratos	4.105 ± 0.149
pH	5.497 ± 0.039
Punto Congelación (°C)	-0.513 ± 0.007
Sales	0.614 ± 0.022
Lactosa	3.754 ± 0.136
Sólidos Totales	11.483 ± 0.316
Prueba de Alcohol	(-)
Prueba de Azul de Metileno	> 5 horas

4.2.2. Efecto de tratamiento térmico sobre la población de Aerobios Mesófilos Viables (AMV) en leche pre sonicada.

El efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre la población de Aerobios Mesófilos Viables (AMV) en la leche pre tratada por ultrasonidos se presenta en el Cuadro 15.

La concentración de poblacional de Aerobios Mesófilos Viables (AMV) en leche pre sonicada (0.5 kJ/mL) durante el tratamiento térmico a diferentes temperaturas fue modelada usando el Modelo de Gompertz de 3

parámetros (40 y 45 °C) y el Modelo de Bigelow de temperatura constante (50, 55 y 60 °C); debido al mejor grado de ajuste (R^2). Los parámetros cinéticos para los modelos se presentan en el Cuadro 16.

Cuadro 15:

Aerobios Mesófilos Viabiles (AMV) (log ufc/mL) en leche pre sonicada y tratada a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tiempo (min) a temperatura constante				
	0	4	8	16	24
40	2.876 ± 0.053	2.999 ± 0.424	3.185 ± 0.464	3.015 ± 0.158	3.122 ± 0.205
45	2.839 ± 0.075	3.141 ± 0.029	3.31 ± 0.029	3.195 ± 0.115	3.403 ± 0.017
	0	2	4	8	12
50	2.895 ± 0.02	2.473 ± 0.421	2.778 ± 0.137	3.132 ± 0.301	3.068 ± 0.281
55	2.823 ± 0.014	2.462 ± 0.116	2.777 ± 0.041	2.898 ± 0.120	2.665 ± 0.402
	0	1	2	4	6
60	2.854 ± 0.128	2.816 ± 0.005	2.610 ± 0.314	2.278 ± 0.393	1.716 ± 0.337

Al ensayar los dos modelos de cinética microbiana el modelo de Gompertz ajusto mejor la cinética microbiana en los ensayos a 40 y 45 °C. Sin embargo, al aumentar la temperatura y acercarse a la temperatura de inicio de inactivación, el modelo de Gompertz perdió precisión en su predicción de población (Dato no mostrado).

Se observó que por encima de 45 °C el modelo de Bigelow de temperatura constante mostró un mejor ajuste en su predicción de población, aunque a temperaturas entre 50 y 55 °C se presentaron valores de R^2 relativamente bajos (0.27 a 0.276); pero a 60 °C el efecto inactivador de la temperatura ya era manifiesto con un valor de R^2 alto (0.929). Este cambio en el coeficiente de regresión en el rango entre 50 y 55 °C, indica que la temperatura crítica (temperatura a la que se inicia el efecto inactivador) se halla en ese rango.

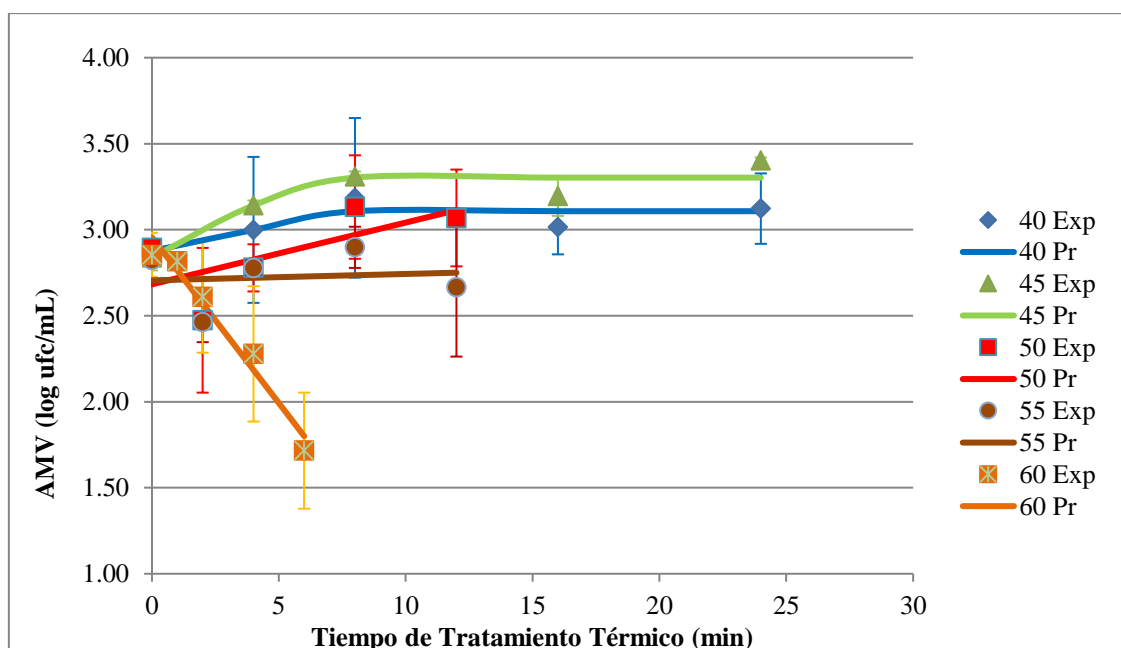
Cuadro 16:

Parámetros Cinéticos (Modelo de Gompertz y Modelo de Bigelow) para Aerobios Mesófilos Viables (AMV) en leche pre sonicada y tratada a diferentes temperaturas

Parámetros Cinéticos (*)	Modelo de Gompertz		Parámetros Cinéticos (**)	Modelo de Bigelow		
	40°C	45°C		50°	55°C	60°
No	2.876 ± 0.053	2.839 ± 0.075	A	2.683 ± 0.020	2.706 ± 0.028	2.956 ± 0.104
C	0.286 ± 0.145	0.474 ± 0.027	B	0.036 ± 0.047	0.004 ± 0.029	-0.193 ± 0.051
B	2.840 ± 3.787	2.674 ± 3.194	R ²	0.270 ± 0.316	0.276 ± 0.225	0.929 ± 0.049
M	9.646 ± 9.180	3.451 ± 0.402				
R	0.754 ± 0.039	0.936 ± 0.049				
R ²	0.570 ± 0.059	0.876 ± 0.092				

(*) Parámetros Cinéticos: No = log ufc/ml; C = log ufc/ml; B = min⁻¹; M = min. Parámetros Cinéticos (**): A = log ufc/ml; B = (log ufc/ml) / min

El modelamiento del efecto del tratamiento térmico posterior a la sonicación en leche se muestra en la Figura 02.



(*) Los datos experimentales se presentan con marcadores y los datos predichos se presentan en líneas continuas.

Figura 02

Variación de AMV en leche pre sonicada y tratada a diferentes temperaturas (*)

Se encontró que conforme la temperatura de tratamiento aumentó, los AMV fueron decreciendo y también a medida que el tiempo de tratamiento isotérmico se prolongaba. Este cambio de una tasa de variación poblacional positiva a negativa es concordante con lo reportado por Myer et al., (2016) para *P. fluorescens* y *L. fermentum* en pasterización de Corto Tiempo y Baja Temperatura (BTBT); quien indica que conforme la temperatura de tratamiento aumenta la población descende; efecto que se presentó en *P. fluorescens* y *L. fermentum* que son considerados AMV en leche.

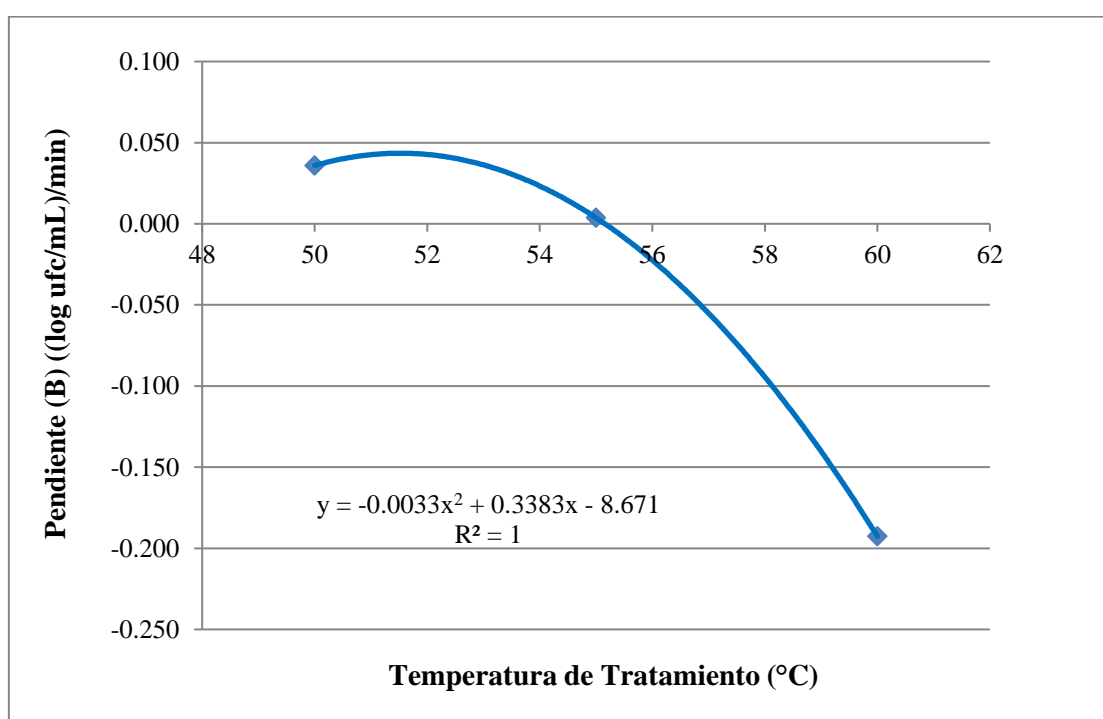


Figura 03
Pendiente (B) ((log ufc/mL) / min) del modelo de Bigelow en función de la temperatura de tratamiento térmico

Para determinar la temperatura crítica, se observó que conforme la temperatura de tratamiento térmico se incrementaba, la pendiente (B) de la recta del modelo de Bigelow empezaba a declinar a partir de los tratamientos a 51.26 °C como puede observarse en la figura 03, obteniendo y resolviendo la primera derivada de la ecuación de la curva. Así, la pendiente de la recta (B) permitirá determinar la temperatura crítica. Por lo que, graficando la pendiente en función de la temperatura, se obtuvo que la temperatura crítica para iniciar

el efecto antimicrobiano por tratamiento térmico en AMV es de 55.21 °C (Figura 03).

Uno de los microorganismos más frecuentes dentro de las AMV es el *Staphylococcus aureus* que fue estudiado por Li et al., (2017) encontrando que tratamientos de termosonicación a 55 °C por 15 minutos (UAP+TT) lograban reducciones poblacionales de 5.98 log ufc/mL en caldo tripticase de soya (TSA) con sal; mientras que en nuestros ensayos tratamientos en leche pre sonicada a 55 °C alcanzamos reducciones de 0.687 log ufc/mL. Esta diferencia en el efecto inactivador puede ser explicada por un lado por la presencia de sal en el TSA, que afecta la actividad microbiana en productos lácteos y aumenta el efecto antimicrobiano de la termosonicación de acuerdo a Zonoubi y Goli (2021); y por otro lado en nuestro ensayo la presencia de proteínas lácteas en estado coloidal y glóbulos de grasa podrían crear un efecto protector en los AMV ya que absorben o reflejan la energía sónica de acuerdo a lo indicado por Li et al. (2019a) .

4.2.3. Efecto de tratamiento térmico sobre la población de Coliformes totales (CT).

El efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre la población de Coliformes Totales (CT) en la leche tratada por ultrasonidos y térmicos se presenta en el Cuadro 17.

La concentración poblacional de Coliformes Totales (CT) en leche pre sonicada (0.5 kJ/mL) durante el tratamiento térmico a diferentes temperaturas fue modelada usando el Modelo de Bigelow de temperatura constante; y los parámetros cinéticos determinados se presenta en el Cuadro 18.

Cuadro 17:**Coliformes Totales (CT) (log ufc/mL) en leche pre sonicada sometida a diferentes tratamientos térmicos**

Temperatura (°C)	Tiempo (min) a temperatura constante				
	0	4	8	16	24
40	2.009 ± 0.149	2.414 ± 0.047	2.582 ± 0.128	2.803 ± 0.077	3.029 ± 0.170
45	1.988 ± 0.047	2.203 ± 0.038	2.476 ± 0.162	2.492 ± 0.241	2.594 ± 0.633
	0	2	4	8	12
50	1.929 ± 0.036	1.923 ± 0.110	1.866 ± 0.125	1.916 ± 0.019	1.690 ± 0.125
55	1.938 ± 0.337	1.889 ± 0.157	1.739 ± 0.056	1.540 ± 0.088	1.423 ± 0.172
	0	1	2	4	6
60	1.943 ± 0.139	1.690 ± 0.125	1.389 ± 0.125	1.000 ± 0.426	0.588 ± 0.157

El modelo de Bigelow a temperatura constante es un modelo cinético robusto para modelar el efecto del tratamiento térmico sobre el número de coliformes sobrevivientes con valores de R^2 encima de 0.89 entre los 40 °C y 60 °C; sin embargo, el modelo reduce su precisión entre 45 °C y 50 °C; por lo que la temperatura crítica para inicio del efecto inactivador debe hallarse en este rango.

El modelamiento del efecto del tratamiento térmico posterior a la sonicación en leche se puede apreciar en la Figura 04.

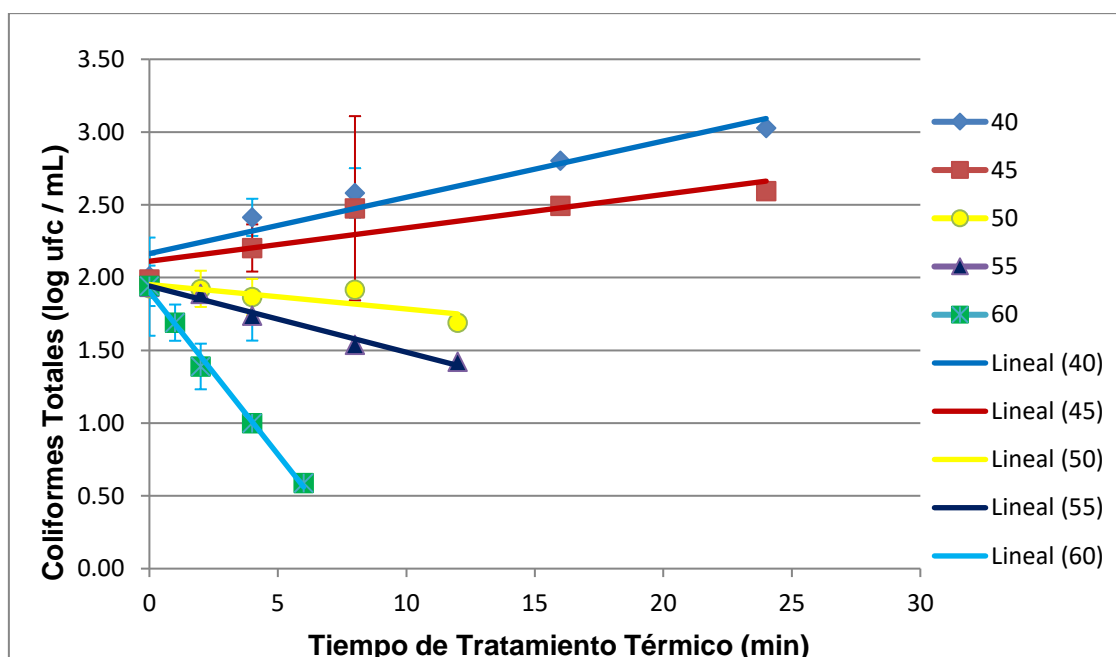
Se observó que conforme la temperatura de tratamiento térmico se incrementaba la pendiente de la curva de muerte térmica (B) se reducía a partir de los tratamientos a 40 °C.

Cuadro 18:

Parámetros Cinéticos del Modelo de Bigelow para Coliformes Totales (CT) en leche pre sonicada y diferentes tratamientos térmicos

Temperatura (°C)	Intercepto (No) (log ufc)	Pendiente (B) (log ufc/min)	R ²
40	2.165 ± 0.091	0.039 ± 0.001	0.891 ± 0.046
45	2.112 ± 0.052	0.023 ± 0.025	0.512 ± 0.590
50	1.952 ± 0.012	-0.017 ± 0.010	0.466 ± 0.131
55	1.942 ± 0.213	-0.046 ± 0.010	0.892 ± 0.005
60	1.904 ± 0.139	-0.224 ± 0.021	0.970 ± 0.004

Para determinar la temperatura crítica a partir de la cual la temperatura de tratamiento empieza a ejercer efecto antimicrobiano en leche con pre tratamiento ultrasónico se utilizó la pendiente de la curva graficada en función de la temperatura.



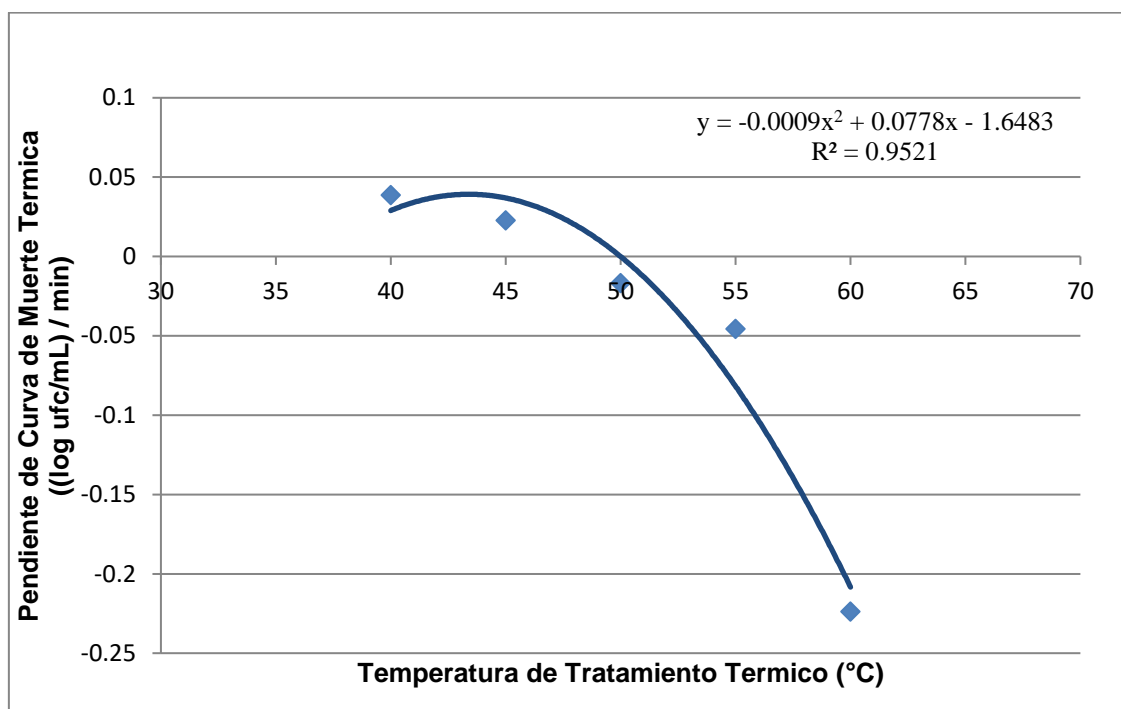
(*) Los datos experimentales se presentan con marcadores y los datos predichos se presentan en líneas continuas.

Figura 04

Variación de Coliformes por Tratamiento Térmico de leche pre sonicada (*)

Determinando así que la temperatura crítica para Coliformes Totales durante tratamientos térmicos en leche pre sonicada es de 49.282 °C como se evidencia en la Figura 05.

De los valores obtenidos de la aplicación del Modelo de Bigelow a temperatura constante (Cuadro 18) es posible calcular los valores D y el valor z para Coliformes tal como se presenta en el Cuadro 19 y de acuerdo a lo indicado por Solano-Cornejo (2013) y Dash et al., (2022).



(*) Los datos experimentales se presentan con marcadores y los datos predichos se presentan en curva continua.

Figura 05
Pendientes de Curva de Muerte Térmica (Modelo de Bigelow) por Temperatura (°C) de tratamiento (*)

Los valores D para poblaciones de coliformes en leche pre sonicada y sometida a tratamiento térmico indican una alta sensibilización al calor por efecto de los ultrasonidos, ello es visible al compararlos con los valores D reportados por Peng et al. (2014) en los cuales los valores $D_{60^{\circ}\text{C}}$ en leche cruda sin pre tratamiento de UAP para *E. coli* están en el rango de 21.9 a 80.5 min; mientras que en leche pre sonicadas el valor $D_{60^{\circ}\text{C}}$ es de 4.49 min. Según lo

reportado por Liao et al., (2018) este efecto de sensibilización al calor está centrado en la presencia de células microbianas dañadas subletalmente por efecto de los UAP; también determinó que conforme el tratamiento ultrasónico se prolongaba la proporción de células dañadas subletalmente aumentaba (Liao et al., 2018).

Cuadro 19:

Valor D y z para leche pre sonicada a diferentes temperaturas de Tratamiento Térmico

T (°C)	Valor D (min)	Log D
50	71.585 ± 41.77	1.702
55	22.498 ± 4.836	1.367
60	4.490 ± 0.428	0.646
Valor z (°C)	8.767 ± 1.719	
R ²	0.948 ± 0.069	

Por otro lado los valores z obtenidos por Peng et al. (2014) para la aplicación de tratamientos térmicos puros fueron entre 3.4 y 6.1 °C para rangos de temperaturas de 60 a 70 °C para diversas cepas de *E. coli* recuperadas de queso; mientras que el valor z obtenido en leche presonicada y tratada térmicamente fue de 8.76 °C. Es necesario indicar que los valores z pueden variar dependiendo del rango de temperaturas ensayadas para su determinación; y de la determinación de coliformes; si bien mayormente enumera *E. coli* también determina la presencia de otros miembros de la familia de Enterobacillaceae lo que podría alterar los valores z.

4.2.4. Efecto de tratamiento sobre la Acidez Total Titulable y pH.

El efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre la acidez total titulable final y el pH en leche pre sonicada se presenta en el Cuadro 20.

Se observó que, comparado a la acidez de la leche cruda, en las leches pre sonicadas y sometidas a tratamiento térmico la acidez se incrementó pero de manera no significativa ($p>0.05$). En los tratamientos a 40 y 45 °C se incrementó; por otro lado, los niveles de acidez de los tratamientos a

60 °C de leche pre sonicada y de pasteurización (65 °C por 30 minutos) fueron inferiores a la leche cruda.

Cuadro 20:

Acidez Titulable (% Ácido Láctico) y pH final en leche pre sonicada post tratamiento térmico (*)

Temperatura (°C)	Acidez Titulable (% Ácido Láctico)	pH
Leche cruda	0.298 ± 0.014 a	5.497 ± 0.039 a,b
40	0.377 ± 0.018 a	5.272 ± 0.152 a
45	0.395 ± 0.011 a	5.455 ± 0.049 a,b
50	0.327 ± 0.002 a	5.616 ± 0.204 a,b
55	0.328 ± 0.018 a	5.848 ± 0.082 b
60	0.291 ± 0.004 a	5.790 ± 0.014 b
Leche pasteurizada	0.275 ± 0.013 a	5.447 ± 0.117 a,b

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas (p<0.05)*

Los procesos de UAP y térmicos tienden a desdoblar las seroproteínas y ello expone residuos de aminoácidos que pueden tener naturaleza acida (Pan et al., 2022) y así acidificar la leche sin necesariamente aumentar la presencia de ácidos en la leche, tal como se indica en el ítem 4.1.4..

En las temperaturas de tratamiento ensayadas se presenta crecimiento, retención o reducción de viabilidad microbiana (AMV y CT) (ver Figuras 2 y 4), cuya principal e inicial fuente de energía son los carbohidratos de la leche, produciendo ácido láctico como subproducto mayoritario como indica Schwab et al. (2019). Paralelo al incremento de acidez titulable, el pH se modificó ($p<0.05$) debido a la proteólisis microbiana y al fraccionamiento de macromoléculas (Pan et al., 2022) que afecta la capacidad buffer de la leche fresca.

4.2.5. Efecto de tratamiento sobre el Color.

El efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre el color final de la leche pre sonicada se presenta en el Cuadro 21.

Cuadro 21:

Variación de Color CIE L*a*b* (ΔE) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada (*)

Tratamiento Térmico	Promedio
Cruda	0.000 \pm 0.000 a
40	2.760 \pm 0.115 b
45	2.963 \pm 0.701 b
50	2.947 \pm 0.043 b
55	3.299 \pm 0.117 b
60	3.697 \pm 0.088 b
Pasterizada	0.435 \pm 0.096 a

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)*

Se observó que las muestras de leche con tratamientos UAP+TT presentaron una mayor diferencia de color conforme la temperatura de tratamiento térmico se incrementaba, habiendo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las leches cruda y pasterizada y las leches UAP+TT. Los parámetros L*, a* y b* son analizados en el Cuadro 22.

Como se observa en el Cuadro 22, la diferencia de color fue principalmente debido a un incremento en la Luminosidad (tendencia al blanco) y una tendencia al azul (disminución en el parámetro b*) que presentaron las leches UAP+TT, siendo este fenómeno indicativo de una reducción en el tamaño de los glóbulos de grasa y de modificación del peso molecular de la micela de Caseína por efecto ultrasónico, fenómeno óptico que concuerda con lo reportado por Cheng et al., (2019).

Cuadro 22:**Color Instrumental (CIEL*a*b*) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada (*)**

Tratamiento		Promedio		
Térmico	L*	a*	b*	
Cruda	74.205 ± 0.163 a	0.255 ± 0.007 b	1.995 ± 0.035 a	
40°C	76.920 ± 0.042 b	0.440 ± 0.071 a	1.540 ± 0.028 c	
45°C	77.125 ± 0.884 b,c	0.410 ± 0.099 a	1.540 ± 0.028 c	
50°C	77.095 ± 0.205 b,c	0.315 ± 0.064 a,b	1.425 ± 0.036 d	
55°C	77.455 ± 0.049 b,c	0.240 ± 0.014 b	1.430 ± 0.000 d	
60°C	77.840 ± 0.255 c	0.270 ± 0.071 b	1.325 ± 0.021 e	
Pasterizada	74.325 ± 0.021 a	0.045 ± 0.007 c	1.645 ± 0.035 b	

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) dentro de las columnas.*

4.2.6. Efecto de tratamiento sobre el Contenido de Sólidos por Sinéresis.

El efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre el contenido de sólidos por sinéresis en la leche pre sonicada se presenta en el Cuadro 23.

Cuadro 23:**Sinéresis de Sólidos (%) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada (*)**

Tratamiento	Promedio
Térmico	
Cruda	2.200 ± 0.495 a
40	2.150 ± 0.071 a
45	1.795 ± 0.205 a
50	1.775 ± 0.035 a
55	1.690 ± 0.014 a
60	1.595 ± 0.007 a
Pasterizada	1.380 ± 0.113 a

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)*

En los resultados presentados se observa que conforme la intensidad de la energía se incrementaba, la sinéresis de sólidos por centrifugación decrecía pero no de una manera significativa ($p>0.05$).

Ello indica que probablemente conforme las micelas de caseína son afectadas en su tamaño de partícula por el tratamiento UAP (Shanmugam et al., 2012), las seroproteínas se desdoblaban por acción del calor y se unirían a la Caseína vía puentes de disulfuro (Pan et al., 2022). Ambos procesos pudieron haber incrementado la solubilidad y la estabilidad en suspensión de la caseína en el plasma de la leche, reduciendo su sinéresis.

4.2.7. Efecto de tratamiento sobre la Viscosidad.

El efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre la Viscosidad de la leche pre sonicada se presenta en el Cuadro 24.

Como se puede apreciar en el Cuadro 24, los tratamientos térmicos en leche fresca pre sonicadas afectan la viscosidad pero de manera no significativa ($p>0.05$) comparada a la leche cruda.

Cuadro 24:

Viscosidad (cp) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada (*)

Tratamiento Térmico	Promedio
Cruda	7.262 ± 0.102 a,b
40	7.391 ± 0.268 b
45	7.100 ± 0.000 a,b
50	7.480 ± 0.000 b
55	7.125 ± 0.050 a,b
60	6.776 ± 0.048 a
Pasterizada	7.052 ± 0.243 a,b

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$)*

La viscosidad de la leche con tratamientos a 60 °C presentaron las menores viscosidad y los tratamientos a 40 °C presentaron las mayores viscosidades; ello probablemente debido al cambio de predominancia de la

unión Caseína-Seroproteínas a baja temperatura fuerzas hidrofóbicas y a temperaturas superiores predominancia de enlaces disulfuro, según lo reportado por Pan et al. (2022).

4.2.8. Efecto de tratamiento sobre la Turbidez.

El efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre la Turbidez del suero de la leche pre sonicada se presenta en el Cuadro 25.

Cuadro 25:

Turbidez del Suero (% volumen) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada (*)

Tratamiento Térmico	Promedio
Cruda	7.667 ± 0.471 a
40	7.382 ± 0.154 a
45	5.109 ± 0.262 b
50	4.571 ± 0.269 b
55	3.860 ± 0.198 c
60	1.857 ± 0.067 d
Pasterizada	0.000 ± 0.000 e

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)*

Los resultados muestran que conforme la temperatura de tratamiento térmico se va incrementando el % de Turbidez va disminuyendo ($p < 0.05$).

Esto podría deberse a un aumento en la desnaturalización de las seroproteínas según lo indicado por Freire et al. (2022) lo que expondría sus grupos hidrofóbicos e incrementaría su unión con la micela de caseína a través de puentes disulfuro irreversibles con la κ -Caseína, tal como afirma Pan et al. (2022); disminuyendo así las seroproteínas disponibles después de la insolubilización de la micela de caseína por acción del Sulfato de Amonio

(Shokri et al., 2022); lo que se evidencia en una disminución en la turbidez del suero.

4.2.9. Efecto de tratamiento sobre la Sensibilidad al Cuajo.

El efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre la Sensibilidad al cuajo de la leche pre sonicada se presenta en el Cuadro 26.

Cuadro 26:

Sensibilidad al Cuajo (segundos) después de tratamiento térmico en leche pre sonicada (*)

Tratamiento Térmico	Promedio
Cruda	9.958 ± 0.260 a
40	13.804 ± 0.143 a
45	14.273 ± 0.102 b
50	14.982 ± 0.255 b,c
55	17.088 ± 0.235 c
60	21.632 ± 0.369 d
Pasterizada	27.026 ± 0.889 e

(*) Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Los resultados del Cuadro 26 muestran que conforme el nivel de Energía aumenta los tiempos de coagulación o sensibilidad al cuajo aumentan ($p < 0.05$) en forma directamente proporcional.

En el proceso de coagulación la Quimosina separa la κ -Caseína de la micela; y la micela de α y β -Caseína se agregan por fuerzas hidrofóbicas separándose del suero en forma de cuajada (Britten y Giroux, 2022). Este proceso se presenta en forma más rápida conforme la caseína y las seroproteínas se mantienen en estado nativo y se ve afectada por la temperatura en cierto rango donde al subir la temperatura la velocidad del proceso de coagulación aumenta. Por el contrario, según Hovjecki et al. (2022)

por encima de 42 °C el proceso de cuajado se ve ralentizado, de tal manera que las leches pasteurizadas tienen tiempos de coagulación más prolongados como se observa en el Cuadro 26.

En resumen, durante la investigación del objetivo específico 02 se pudo demostrar que en AMV a temperaturas debajo de 55 °C en tratamientos UAP no se presenta efecto inactivador; siendo que la temperatura crítica (temperatura apartir de la cual se presenta la disminución población) fue determinada en 55.21 °C. En cuanto a CT el efecto de reducción poblacional en tratamientos UAP+TT se presenta a partir de 49.2 °C. En ambos casos (AMV y CT) con el tratamiento UAP+TT a 60 °C se alcanzaron los requerimientos legales necesarios para considerarse como leche fresca pasteurizada.

Por otra parte, ninguno de los tratamientos UAP+TT afectaron significativamente ($p>0.05$) la acidez titulable, pH, sinéresis o la viscosidad de la leche. Se pudo comprobar que los tratamientos UAP+TT incrementaron la diferencia de color a la leche cruda debido a incrementos en la Luminosidad (L^*) y reducción de parámetro b^* ; y conforme la temperatura de tratamiento se incrementaba la turbidez y sensibilidad al cuajo decrecieron.

4.3. Evaluación de la estabilidad en refrigeración de leche pasteurizada con pre tratamiento de ultrasonidos de alta potencia.

El objetivo específico 02 logró demostrar que los tratamientos UAP+TT logran pasteurizar la leche fresca con variado efecto sobre sus características microbiológicas, físico-químicas y funcionales inmediatamente después del proceso. Pero se evidencio la necesidad de monitorear la estabilidad en almacenamiento refrigerado (5 °C) de la leche pasteurizada UAP+TT por lo que se ejecutaron ensayos para lograr el objetivo específico 03.

4.3.1. Análisis de materia prima.

Las características de composición y físico químicas de la leche fresca incubada por 8 horas a 25 °C antes de ser refrigerada a 5 °C y antes de ser utilizada en los ensayos del OE03 se presentan en el Cuadro 27.

Cuadro 27:**Características Químicas y Físico Químicas de Leche (%)**

ITEM	Promedio
Grasa	3.190 ± 0.085
Sólidos No Grasos	7.415 ± 0.078
Densidad (g/mL)	1.026 ± 0.000
Proteínas	2.675 ± 0.078
Carbohidratos	4.310 ± 0.028
pH	5.565 ± 0.087
Punto Congelación (°C)	-0.509 ± 0.004
Sales	0.625 ± 0.007
Lactosa	4.160 ± 0.028
Sólidos Totales	10.800 ± 0.113
Prueba de Alcohol	(-)
Prueba de Azul de Metileno	> 5 horas

Los análisis de la leche de vaca utilizada en los ensayos del objetivo específico 03 no difieren de los resultados obtenidos del análisis de la leche utilizada en el objetivo específico 02, debido a que proceden de la misma zona de acopio y fueron manipuladas de la misma manera (ver ítem 3.2.2 y 3.2.3)

4.3.2. Aerobios Mesófilos Viables (AMV) en almacenamiento refrigerado.

La variación de la población de AMV en leche pre sonicada (UAP) (0.5 kJ/ml a 20 °C); leche pre sonicada y sometida a tratamiento térmico (UAP+TT) (60 °C por 10 minutos) y leche pasteurizada (PAST) (65 °C por 30 minutos) almacenadas a 5 +/- 1 °C se presentan en el Cuadro 28.

Los resultados muestran que los AMV presentes en leches tratadas con UAP solo o combinado con tratamiento térmico leve mostraron una población similar hasta el día 10 de almacenamiento refrigerado; mientras que las muestras que recibieron tratamiento térmico único mostraron un declive de población constante durante todo el almacenamiento refrigerado.

Cuadro 28:**Aerobios Mesófilos Viables (AMV) (log ufc/mL) en leche almacenada a 5 °C**

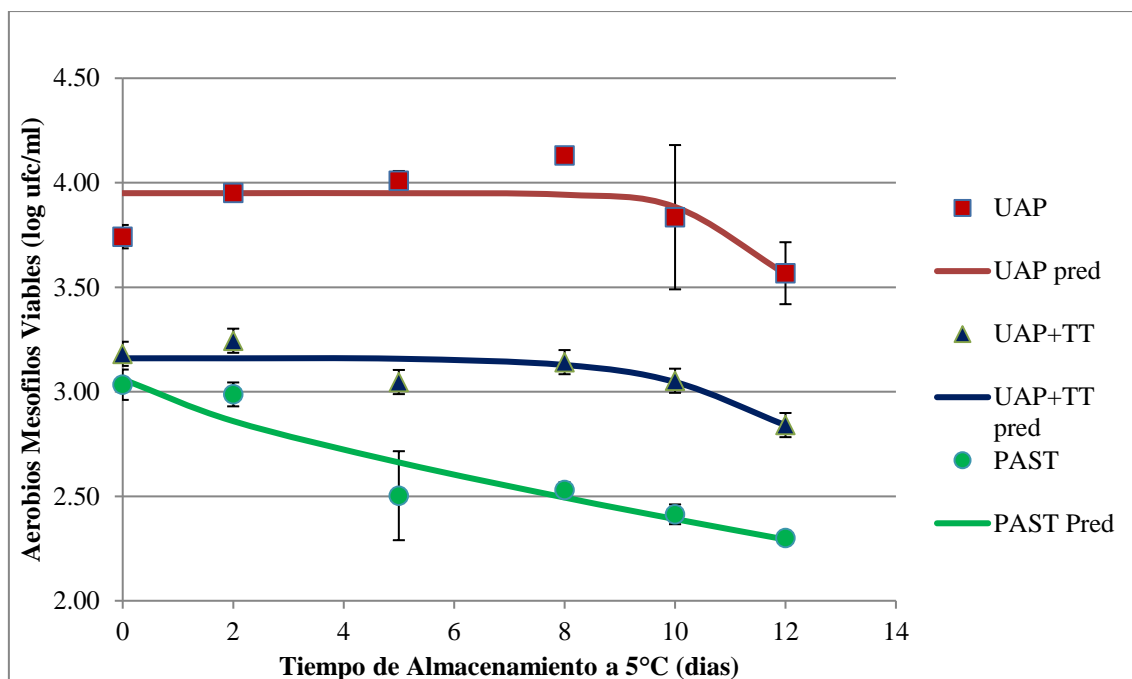
Tratamiento	Días de almacenamiento					
	0	2	5	8	10	12
Leche Cruda	5.322 ± 0.006					
UAP	3.742 ± 0.056	3.952 ± 0.017	4.009 ± 0.047	4.130 ± 0.023	3.835 ± 0.345	3.567 ± 0.148
UAP+TT	3.181 ± 0.494	3.244 ± 0.302	3.047 ± 0.036	3.142 ± 0.049	3.053 ± 0.087	2.841 ± 0.088
PAST	3.034 ± 0.073	2.987 ± 0.057	2.503 ± 0.213	2.531 ± 0.036	2.414 ± 0.047	2.300 ± 0.031

La evolución de la población de AMV en almacenamiento refrigerado fue modelada usando el Modelo de Weibull y los parámetros cinéticos se presentan en el Cuadro 29.

El modelamiento de la evolución de la población de AMV durante el almacenamiento a 5 °C se presenta en la Figura 06.

Cuadro 29:**Parámetros Cinéticos (Modelo de Weibull) para Aerobios Mesófilos Viables en leche almacenada a 5°C**

Parámetros Cinéticos	Tratamientos		
	UAP	UAP+TT	PAST
No (log ufc/mL)	3.95	3.16	3.06
A (Día /(log ufc/mL))	13.23	14.66	17.10
β (Adimensional)	9.71	5.69	0.75
R ²	0.5842	0.7992	0.9062



(*) Los datos experimentales se presentan con marcadores y los datos predichos se presentan en curvas continuas.

Figura 06: AMV en leche tratada durante almacenamiento refrigerado (*)

Las investigaciones de Li et al., (2019a) y Liao et al. (2018) revelaron que la aplicación de UAP causa un efecto inactivador acompañado del efecto colateral de generar una población microbiana dañada subletalmente, lo cuales concordante con nuestros resultados. Los procesos de UAP producen debilitamiento de la pared celular microbiana dificultando la homeostasis celular lo que; aunado al tratamiento térmico ligero puede generar inestabilidad en la membrana celular y durante el almacenamiento refrigerado conducen a la inactivación. Por lo tanto, el efecto combinado de estos dos obstáculos (UAP+TT) sumado a la temperatura de refrigeración se manifiesta con una reducción poblacional en el tiempo de almacenamiento (Mahmoud et al., 2022).

Este fenómeno de reducción poblacional de AMV durante el almacenamiento refrigerado a 5 °C es más notoria a partir del día 8 de almacenamiento refrigerado, lo cual coincide con lo reportado recientemente por Duarte et al. (2022) quienes indican una reducción poblacional de AMV a partir del día 7 de almacenamiento refrigerado debido a la presencia de

bacterias dañadas subletalmente producto de los tratamientos aplicados en la leche.

4.3.3. Coliformes Totales (CT) en almacenamiento refrigerado.

La variación de la población de CT en leche cruda; pre sonicada (UAP); leche pre sonicada y tratamiento térmico (UAP+TT) (60 °C por 10 minutos) y leche pasteurizada (PAST) (65 °C por 30 minutos) almacenadas a 5 +/- 1 °C se presentan en el Cuadro 30.

Cuadro 30:

Coliformes Totales (CT) (log ufc/mL) en leche almacenada a 5 °C

Tratamiento	Días de almacenamiento					
	0	2	5	8	10	12
Leche Cruda	3.756 ± 0.011					
UAP	2.789 ± 0.192	2.712 ± 0.188	2.573 ± 0.041	2.579 ± 0.144	2.443 ± 0.088	2.136 ± 0.081
UAP+TT	1.239 ± 0.088	1.230 ± 0.000	0.801 ± 0.144	0.952 ± 0.069	0.889 ± 0.157	0.699 ± 0.000
PAST	1.548 ± 0.213	1.778 ± 0.675	1.000 ± 0.000	1.239 ± 0.088	1.145 ± 0.044	1.109 ± 0.095

Los resultados muestran que la población de CT en leche tratadas con UAP solo o combinado con tratamiento térmico leve evidenciaron reducción poblacional de células viables desde el primer día de almacenamiento refrigerado; mientras que las muestras que recibieron tratamiento térmico único mostraron un declive de población constante a partir del día 2 de almacenamiento refrigerado, coincidiendo con lo reportado por Soltani et al. (2022) quien indica que hay un decrecimiento de viabilidad durante el almacenamiento de leche tratada por ultrasonidos.

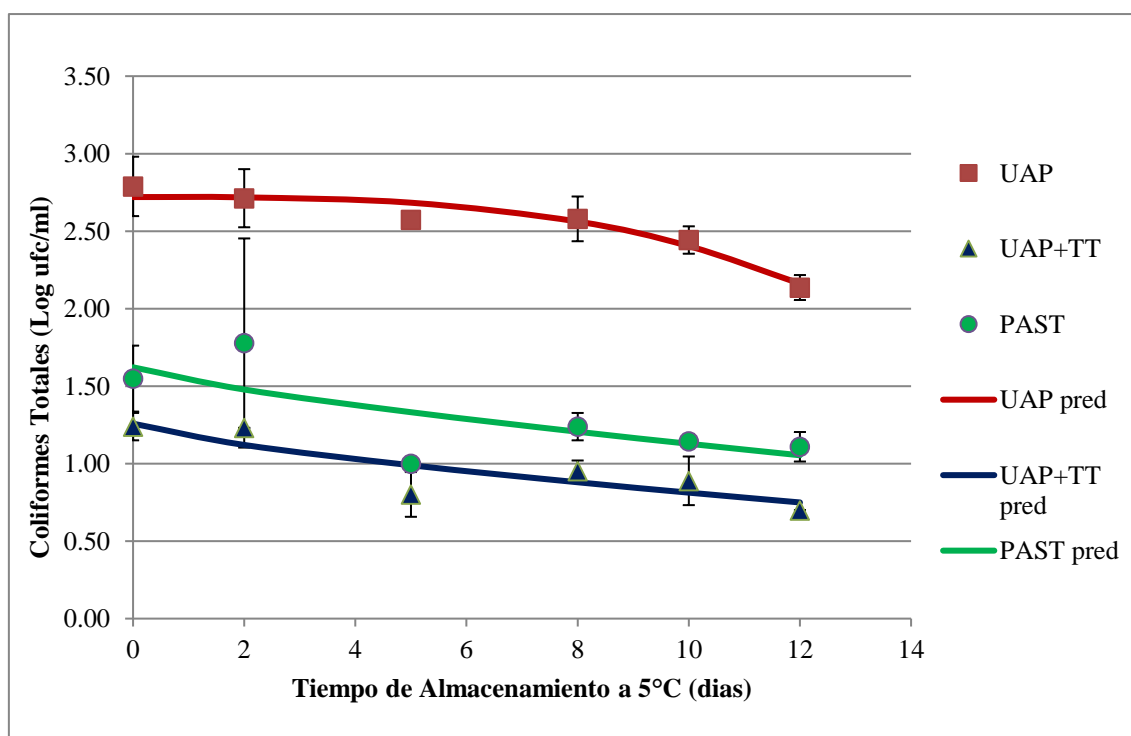
La evolución de la población de CT durante el almacenamiento refrigerado fue modelada usando el Modelo de Weibull y los parámetros cinéticos se presentan en el Cuadro 31.

Cuadro 31:

Parámetros Cinéticos (Modelo de Weibull) para Coliformes Totales en leche almacenada a 5 °C

Parámetros	Tratamientos		
Cinéticos	UAP	UAP+TT	PAST
No (log ufc/mL)	2.72	1.26	1.62
A (Día /(log ufc/mL))	14.47	30.30	25.10
β (Adimensional)	3.11	0.73	0.77
R^2	0.9281	0.7527	0.5283

El modelamiento de la evolución de la población de CT durante el almacenamiento a 5 °C se presenta en la Figura 07.



(*) Los datos experimentales se presentan con marcadores y los datos predichos se presentan en curvas continuas.

Figura 07: Coliformes en leche tratada durante almacenamiento refrigerado (*)

La reducción progresiva de Coliformes durante almacenamiento refrigerado probablemente se deba a la presencia de células dañadas subletalmente por los tratamiento UAP que son más sensibles a condiciones ambientales adversas como lo indica Duarte et al. (2022); lo que unido a la indicación de Li et al. (2017) que un tratamiento térmico ligero lleva a una inactivación progresiva de células microbianas, nos lleva a la conclusión que las células de coliformes dañadas subletalmente en el proceso UAP+TT no pueden recuperar su homeostasis a temperaturas por debajo de su óptimo.

Recordemos que los coliformes por definición desarrollan a temperaturas cercanas a 37 °C; de ahí que durante el almacenamiento refrigerado a 5 °C su viabilidad decrezca en el tiempo; lo cual es consistente con los datos presentados por Balthazar et al. (2019) quien también reporto un declive paulatino de coliformes en almacenamiento refrigerado en leche sometida a tratamiento UAP.

4.3.4. Evolución de la Acidez Total Titulable.

La evolución de la Acidez Titulable Total en almacenamiento refrigerado de leche pre sonicada y tratamiento térmico se presenta en el Cuadro 32.

Cuadro 32:

Acidez Titulable (% Ácido Láctico) en leche tratada y almacenada a 5 °C (*)

Tratamiento	Días de Almacenamiento				
	0	3	6	9	12
Leche Cruda	0.265 ± 0.005 b,c				
UAP	0.295 ± 0.005 b,c	0.350 ± 0.010 d	0.435 ± 0.015 e	0.525 ± 0.015 f	0.625 ± 0.015 g
UAP+TT	0.265 ± 0.005 b,c	0.240 ± 0.010 a,b	0.265 ± 0.005 b,c	0.300 ± 0.000 b,c	0.435 ± 0.015 e
PAST	0.220 ± 0.010 a	0.240 ± 0.020 a,b	0.270 ± 0.020 b,c	0.300 ± 0.010 b,c	0.340 ± 0.020 c,d

(*) Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Los resultados del análisis de la acidez titulable en leche evidencian que durante el almacenamiento refrigerado la leche tratada con UAP presentó un incremento sostenido a lo largo de todo el almacenamiento

($p<0.05$) lo cual es consistente con el incremento de la población microbiana presente en la leche (Figura 6 y 7) que también se incrementó a lo largo del almacenamiento.

En los ensayos de tratamiento UAP, la población de AMV al inicio del almacenamiento fue de 3.74 log ufc/mL y ello ocasiona que la acidez se incremente desde el primer día. Esto es consistente con lo reportado por Ziyaina et al. (2018) quien reportó que el inicio de los incrementos de acidez titulable se presentó cuando las poblaciones microbianas de AMV en almacenamiento a 5 °C alcanzaron niveles de 4 log ufc/mL. Ello confirma la relación entre la población microbiana activa y el incremento de la acidez en leche en almacenamiento.

En el caso de leches con tratamiento UAP+TT la población microbiana de AMV se mantuvo estable los 10 primeros días; mientras que la leche pasteurizada mostró un decline poblacional desde el primer día de almacenamiento; aunque en ambos casos la acidez titulable se mantuvo sin diferencias significativas ($p>0.05$). Por el contrario, la acidez se incrementó de forma significativa en el día 12 a pesar de que la población de AMV descendió, lo cual indica que el nivel de actividad microbiana acidificante se mantiene aunque el nivel poblacional descienda, ello es consistente con la relación entre actividad microbiana y acidez reportado por Edwards et al. (2021) para leche en almacenamiento refrigerado.

4.3.5. Evolución del pH.

La evolución del pH en almacenamiento refrigerado de leche UAP, UAP+TT y PAST se presenta en el Cuadro 33.

Cuadro 33:**pH en leche tratada y almacenada a 5 °C (*)**

Tratamiento	Días de Almacenamiento				
	0	3	6	9	12
Leche Cruda	5.495 ± 0.025 d,e,f				
UAP	5.575 ± 0.035 e,f,g	5.495 ± 0.045 d,e,f	5.205 ± 0.055 c	5.060 ± 0.060 b,c	4.805 ± 0.105 a
UAP+TT	5.585 ± 0.015 e,f,g	5.660 ± 0.040 g,h	5.475 ± 0.055 d,e	5.385 ± 0.075 d	4.970 ± 0.060 b
PAST	5.640 ± 0.040 f,g,h	5.760 ± 0.030 h	5.575 ± 0.075 e,f,g	5.490 ± 0.030 d,e,f	5.445 ± 0.085 d,e,f

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)*

Los resultados nos indican que la leche tratada con UAP mostró un declive paulatino del pH desde el sexto día de almacenamiento refrigerado; mientras que la leche tratada con UAP+TT presentó un declive paulatino a partir del 3 día de almacenamiento ($p < 0.05$); por el contrario que la leche pasteurizada mostró una estabilidad relativa en su pH.

La actividad microbiana en leche pasteurizada en refrigeración se manifiesta primordialmente por variación en la acidez titulable que conducen finalmente a cambios en el pH (Edwards et al., 2021). Sin embargo, el cambio en el pH también está relacionado a la presencia y actividad modificadora de enzimas presentes en la leche, las cuales afectan la conformación y propiedades de las proteínas en cuanto a su solubilidad, propiedades de gelificación, etc. (Shokri et al., 2022).

Por otro lado, la capacidad buffer de las proteínas lácteas está en relación directa y lineal con el contenido de materia seca, caseínas y seroproteínas de la leche; especialmente del contenido de los aminoácidos Ácido Glutámico y Ácido Aspártico (Mennah-Govela y Bornhorst, 2021), los cuales son consumidos por los microbios activos en leche (Hameed et al., 2021); lo cual terminaría afectando la capacidad buffer de la leche pasteurizada. Esto se puede apreciar en los datos de la tabla 33, en la cual se observa que la modificación del pH podría indicar una bajada en la capacidad buffer debido a los incrementos de acidez titulable. Pudiendo concluirse que la actividad microbiana remanente en la leche UAP y UAP+TT podría reducir la capacidad buffer comparado con la leche pasteurizada.

4.3.6. Evolución del Color.

La evolución del Color en almacenamiento refrigerado de leche procesada con los diferentes tratamientos se presenta en el Cuadro 34.

Los resultados de variación de color en el almacenamiento mostrados en la Tabla 34 indican que la aplicación de UAP solo o acompañado de TT producen cambios en el color de la leche fresca; mientras que la pasteurización produce cambios de color de menor cuantía, todos con referencia a la leche cruda ($p<0.05$). Así mismo se puede observar que los cambios en el tratamiento UAP tienden a ser continuos a lo largo de almacenamiento; diferente a los cambios por UAP+TT y PAST que tienden a mantenerse estables durante el almacenamiento refrigerado.

Cuadro 34:

Variación de Color (ΔE) en leche tratada y almacenada a 5 °C (*)

Tratamiento	Día de Almacenamiento				
	0	3	6	9	12
Leche Cruda	0.00 \pm 0.00 a				
UAP	2.73 \pm 0.08 e,f	2.69 \pm 0.17 e,f	2.13 \pm 0.12 d	0.80 \pm 0.15 c	0.49 \pm 0.11 b,c
UAP+TT	2.68 \pm 0.12 e,f	2.55 \pm 0.07 e,f	2.77 \pm 0.17 f	2.59 \pm 0.09 e,f	2.43 \pm 0.13 d,e
PAST	0.72 \pm 0.06 c	0.56 \pm 0.08 b,c	0.68 \pm 0.07 c	0.66 \pm 0.11 c	0.35 \pm 0.10 a,b

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$)*

Según Cheng et al. (2019) el color de la leche entera está relacionada a la integridad de los glóbulos de grasa y de la micela de Caseína; el primero de estos modificado por el tratamiento UAP y el segundo de ellos alterado en forma continua por la actividad metabólica de los microorganismos presentes y activos en la leche refrigerada como se puede observar en las figuras 6 y 7. Esta actividad requiere de energía obtenida mayormente de carbohidratos; lo que derivará en la producción de ácidos durante la refrigeración (ver Cuadro 32). Para que los microorganismos puedan obtener energía requieren de sintetizar enzimas a partir de los aminoácidos de la proteína contenida en la leche; ósea través de la digestión de las caseínas y/o seroproteínas contenidas en la leche; tal como indica Ziyaina et al. (2018) al reportar la actividad de proteasas en leche refrigerada.

Esta modificación constante de la caseína y/o seroproteínas genera la modificación constante del color, lo que lleva a concluir que la pasteurización con tratamientos previos de UAP al nivel energético evaluado no estabiliza el color de la leche en almacenamiento refrigerado y; a la vez, podrían suponerse modificaciones considerables en la cantidad y conformación de las proteínas en leche durante el almacenamiento refrigerado.

4.3.7. Evolución del Contenido de Sólidos por Sinéresis de Leche.

La evolución del contenido de sólidos por sinéresis en almacenamiento refrigerado de leche pre sonicada y tratamiento térmico se presenta en el Cuadro 35.

Cuadro 35:

Variación de Sinéresis (% de volumen) en leche tratada y almacenada a 5°C (*)

Tratamiento	Día de Almacenamiento				
	0	3	6	9	12
Leche Cruda	2.19 ± 0.14 e				
UAP	1.90 ± 0.10 d,e	1.05 ± 0.05 a	1.74 ± 0.07 b,c,d,e	1.45 ± 0.11 a,b,c,d	2.93 ± 0.07 f
UAP+TT	1.15 ± 0.15 a,b	1.23 ± 0.23 a,b,c	2.23 ± 0.43 e	1.98 ± 0.03 d,e	1.84 ± 0.18 d,e
PAST	1.39 ± 0.06 a,b,c,d	0.96 ± 0.29 a	1.90 ± 0.10 d,e	1.83 ± 0.13 c,d,e	1.25 ± 0.43 a,b,c,d

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas (p<0.05)*

Los resultados de la sinéresis nos indican que los tratamientos UAP y UAP+TT mejoran la solubilidad de la proteína en leche ($p<0.05$) reduciendo la sinéresis por centrifugación. Esto probablemente debido a la activación ultrasónica de la unión de caseína y seroproteínas primero por efecto hidrofóbico y posteriormente por formación de un enlace disulfuro irreversible (Shokri et al., 2022); mientras que en el caso de leche pasteurizada la unión caseína-suero proteína se forma principalmente por puentes disulfuro de las seroproteínas desnaturalizadas con la κ -Caseína (Pan et al., 2022).

Sin embargo; esta mejora en la estabilidad de las lactoproteínas se va perdiendo a lo largo del almacenamiento debido a la actividad proteolítica de la flora microbiana viable (figura 6 y 7), cuya actividad metabólica se evidencia en un aumento de la acidez titulable (Cuadro 32) y que

contribuye al deterioro de grado de suspensión proteica tal como indica Ziyaina et al. (2018).

4.3.8. Evolución de la Viscosidad en Leche.

La evolución de la viscosidad en leche tratada durante almacenamiento refrigerado a 5 °C se presenta en el Cuadro 36.

Cuadro 36:

Viscosidad (cp) en leche tratada y almacenada a 5 °C (*)

Tratamiento	Días de Almacenamiento				
	0	3	6	9	12
Leche Cruda	7.27 ± 0.04 f,g				
UAP	7.49 ± 0.02 h,i	7.70 ± 0.02 k	7.54 ± 0.02 i,j	7.32 ± 0.03 g	7.64 ± 0.12 j,k
UAP+TT	7.38 ± 0.00 g,h	6.82 ± 0.02 d	6.61 ± 0.01 c	6.65 ± 0.02 c	7.09 ± 0.04 e
PAST	7.16 ± 0.04 e,f	6.67 ± 0.03 c	6.34 ± 0.03 b	6.03 ± 0.06 a	7.12 ± 0.06 e

(*) *Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)*

Los resultados del análisis de viscosidad de las leches tratadas al inicio de refrigeración mostraron que la leche que recibió UAP evidenció un aumento en su viscosidad ($p < 0.05$) en comparación a la leche cruda; mientras que la leche que recibió UAP+TT o pasterizada mostraron una viscosidad inferior a la leche cruda a lo largo del almacenamiento ($p < 0.05$).

El aumento de la viscosidad de la leche está relacionada al nivel de agregación de la caseína con las seroproteínas y la grasa de los glóbulos fragmentados por efectos de hidrofobicidad activada por la ruptura ultrasónica (Carrillo-Lopez et al., 2021) de ahí el aumento de viscosidad en la leche UAP. En este caso, la viscosidad muestra una tendencia general a incrementarse durante el almacenamiento a 5 °C ($p < 0.05$). Además, Li et al. (2020) evidenció que la leche almacenada en refrigeración muestra procesos de reasociación entre la κ -Caseína, β -Lactoglobulina y α -Lactoalbúmina en su fase micelar lo que podría explicar el incremento general de la viscosidad.

Sin embargo, en presencia de calor el efecto de hidrofobicidad en la agregación con Caseína pierde preponderancia y la agregación se torna paulatinamente más dependiente de los enlaces disulfuro que del efecto de

hidrofobicidad, de ahí que al aumentar el calor aplicado a la leche (en los tratamientos UAP+TT y PAST) la viscosidad disminuye a niveles similares a los de la leche cruda después de los tratamientos ($p>0.05$).

Por otro lado, a lo largo del almacenamiento refrigerado, las leches UAP+TT y PAST mostraron una tendencia a la disminución de la viscosidad ($p<0.05$). Martin et al. (2021) evidenciaron que las leches pasteurizadas, aunque microbiológicamente segura no eliminan la existencia de enzimas microbianas termo resistentes (lipasas y proteasas). En el presente trabajo, los tratamientos UAP+TT y PAST aún retienen un cierto nivel de microorganismos que mantienen actividad metabólica y por ende están degradando los componentes de la leche; entre ellas las proteínas; de ahí que es posible que los agregados proteicos caseína-seroproteínas creados durante los tratamientos UAP+TT y PAST estén siendo desagregados por acciones de proteasas aún presentes en la leche tratada (Sterniša et al., 2019). Este proceso de desagregación enzimática paulatina explicaría la reducción de la viscosidad en leche pasteurizada UAP+TT y PAST en almacenamiento refrigerado.

4.3.9. Evolución de la Turbidez en leche.

La evolución de la turbidez del suero en la leche almacenada a 5 °C se presenta en el Cuadro 37.

Cuadro 37:

Turbidez del Suero (% de volumen) en leche tratada y almacenada a 5 °C (*)

Tratamiento	Días de Almacenamiento				
	0	3	6	9	12
Leche Cruda	6.91 ± 0.24 f,g				
UAP	7.21 ± 0.10 g	6.42 ± 0.06 f	5.51 ± 0.13 e	10.90 ± 0.37 h	14.81 ± 0.37 i
UAP+TT	2.76 ± 0.09 c	3.72 ± 0.03 d	1.98 ± 0.42 b	5.43 ± 0.27 e	3.67 ± 0.14 d
PAST	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a

(*) Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$)

Los resultados del análisis de turbidez del suero al inicio del almacenamiento refrigerado mostraron que la leche UAP y la leche cruda no mostraron diferencias significativas ($p>0.05$); lo cual también fue observado y analizado en el ítem 4.1.9.

Así mismo se pudo observar que el aporte de energía en forma de calor (UAP+TT y PAST) generó el descenso de la turbidez del suero ($p<0.05$). Este descenso está relacionado a la interacción de las seroproteínas con la κ -Caseína a través de puentes disulfuro por acción térmica indicado por Carrillo-Lopez et al. (2021) y Li et al. (2020), lo que explica este descenso de turbidez post tratamiento térmico.

En el caso de la leche UAP se muestra una tendencia general al incremento de la turbidez en suero a lo largo del almacenamiento ($p<0.05$). En el inicio del almacenamiento refrigerado las seroproteínas pueden considerarse en estado similar al nativo para las niveles de Energía UAP aplicadas (ítem 4.1.9). Sin embargo, conforme el almacenamiento progresa dos fenómenos parecen progresar en forma simultánea; por un lado hay un proceso de ruptura de caseínas y seroproteínas por la actividad de proteasas presentes en leche (ítem 4.38) de acuerdo a Sterniša et al. (2019); y por otro lado hay un proceso de agregación en almacenamiento en frío entre κ -Caseína de las submicelas fragmentadas por los UAP y las seroproteínas (primordialmente β -Lactoglobulina) tal como plantea Li et al. (2020). Por lo tanto, la ocurrencia de ambos fenómenos en simultáneo generan agregados proteicos que por su hidrofobicidad no son sensibles al efecto deshidratante del Sulfato de Amonio saturado, de manera que al no precipitar, no pueden ser retenidos durante la filtración, incrementando los sedimentos del suero en la prueba de turbidez.

Finalmente, en el caso de las leches UAP+TT el % de turbidez también se mantiene inferior al de la leche cruda aunque tiende a incrementarse a lo largo del almacenamiento ($p<0.05$) pero en un grado menor al de las leches UAP; por ende debemos concluir que los fenómenos presentados en la leche UAP indicados en el párrafo anterior; también se presentan en la leche UAP+TT pero en grado menor debido principalmente a

su menor carga microbiana activa (ítem 4.3.2 y 4.3.3) y por ende menor actividad enzimática sobre las proteínas.

4.3.10. Evolución de la Sensibilidad al Cuajo en almacenamiento.

La evolución de la sensibilidad al cuajo en leche tratada almacenada a 5°C se presenta en el Cuadro 38.

El tiempo de coagulación de las leches post tratamiento de pasteurización mostraron un aumento significativo ($p<0.05$) conforme aumentaba la energía térmica aplicada (Leche cruda < UAP < UAP+TT < PAST).

Cuadro 38:

Sensibilidad al Cuajo (segundos) en leche tratada y almacenada a 5 °C (*)

Tratamiento	Días de Almacenamiento				
	0	3	6	9	12
Leche Cruda	12.30 ± 0.96 b,c				
UAP	14.81 ± 0.43 c	18.46 ± 0.99 d	14.63 ± 1.07 c	10.00 ± 0.40 a,b	7.76 ± 0.57 a
UAP+TT	21.48 ± 1.16 e	25.65 ± 1.09 f	21.77 ± 0.91 e	14.88 ± 1.60 c	8.07 ± 0.58 a
PAST	39.41 ± 0.89 h	39.62 ± 0.74 h	28.23 ± 1.18 f,g	30.20 ± 0.40 g	30.50 ± 1.18 g

(*) Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p<0.05$)

Este aumento del tiempo de coagulación se debe al mayor grado de interacción entre la κ -Caseína y las seroproteínas por el aporte energético del proceso térmico (Britten y Giroux, 2022), que perturba la acción de la quimosina alargando los tiempos de coagulación tal como indica Hovjecki et al. (2022).

Los resultados también nos muestran que las leches UAP y UAP+TT mostraron una tendencia general a la reducción de los tiempos de coagulación a lo largo del almacenamiento ($p<0.05$), ello es concordante a una reducción del pH en las leches UAP y UAP+TT por acción microbiana (ítem 4.3.5); ya que como sostiene Bansal y Veena (2022) conforme el pH de la leche se acerca del punto isoelectrico de la caseína los tiempos de coagulación se reducen. Por lo tanto, en las leches UAP y UAP+TT conforme el almacenamiento refrigerado

progresas, el pH se reduce y con ello los tiempos de coagulación también se reducen; fenómeno que también ha sido reportado por Martin et al. (2021).

En resumen, la realización de los ensayos del objetivo específico 03 demostró que; en cuanto a los AMV los tratamientos UAP y UAP+TT estabilizaron la población post tratamiento hasta el día 09 de almacenamiento refrigerado; mientras que la pasteurización convencional (PAST) mostró un declive poblacional desde el primer día. Con referencia a los coliformes, todos los tratamientos evidenciaron reducciones poblacionales desde el primer día de almacenamiento refrigerado a 5 °C. Solo los tratamientos UAP+TT y PAST retuvieron la calidad microbiana necesaria para ser considerada leche pasteurizada.

Todos los tratamientos presentaron variaciones significativas ($p < 0.05$) durante el tiempo de almacenamiento refrigerado. En cuanto a la acidez titulable, la sinéresis y la turbidez se incrementaron en el tiempo, excepto en el caso de la leche PAST donde la turbidez se mantuvo constante. Mientras que, en el caso del pH, la variación de color CIEL*a*b* y la sensibilidad al cuajo decrecieron durante el almacenamiento refrigerado para todos los tratamientos.

En el caso de la viscosidad, los tratamientos UAP presentaron incremento en la viscosidad durante el almacenamiento, mientras que los tratamientos UAP+TT y PAST presentaron descenso en su viscosidad durante el almacenamiento refrigerado.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Los tratamientos isotérmicos a 20 °C de ultrasonidos de alta potencia a 24 kHz entre 0.1 y 0.5 kJ/ml redujeron las poblaciones microbiana en gérmenes aerobios mesófilos viables (AMV) y coliformes (CT) en la leche; alcanzando los niveles finales requeridos para ser considerada una leche pasteurizada, solo en el caso de Aerobios Mesófilos Viables. Los tratamientos no afectaron significativamente ($p>0.05$) el pH, la sinéresis de sólidos, la viscosidad o la sensibilidad al cuajo de la leche en los niveles de Energía ensayados (0.1 – 0.5 kJ/mL); mientras que incrementaron significativamente la acidez titulable, la diferencia de color en comparación a la leche cruda y la turbidez del suero conforme el nivel de Energía se incrementó. Estas modificaciones en las características funcionales se debieron muy probablemente a modificaciones a nivel de los macro nutrientes de la leche.

Cuando la leche fresca fue pre tratada con UAP a 0.5 kJ/ml y 20 °C, seguida de tratamientos térmicos entre 50 y 60 °C (UAP+TT), se evidenciaron reducciones en los AMV y CT de manera que se alcanzaron las características microbiológicas de una leche pasteurizada. Las temperaturas mínimas de tratamiento térmico post sonicación para presentar efecto inactivador microbiano para AMV y CT fueron de 55.21 y 49.2 °C respectivamente. Los tratamientos UAP+TT no afectaron significativamente ($p>0.05$) la acidez titulable, el pH, la sinéresis o la viscosidad de la leche. El tratamiento UAP+TT incrementó la acidez titulable de la leche; pero conforme la temperatura se incrementó entre 40 y 60 °C este incremento en la acidez fue menor. La diferencia de color en comparación a leche cruda se incrementó conforme la temperatura de tratamiento se incrementaba; así mismo se observó que la turbidez del suero y la sensibilidad al cuajo que se redujeron conforme la temperatura de tratamiento UAP+TT se incrementaba.

Durante el almacenamiento refrigerado a 5 °C por 12 días de leche UAP+TT se observó que el número de AMV en la leche refrigerada

permanecieron estables por 9 días y posterior a ello empezaron a reducir su número; por otro lado, el número de CT en leche se redujo desde el primer día de almacenamiento. De esta manera la leche UAP+TT a 5 °C retuvo la calidad microbiológica de leche pasteurizada hasta el final del almacenamiento. Las características físico-químicas y funcionales de la leche UAP+TT se modificaron significativamente ($p<0.05$) a lo largo del almacenamiento a 5 °C; así la acidez titulable, la sinéresis, la turbidez del suero y la sensibilidad al cuajo se incrementaron durante el almacenamiento; mientras que el pH, la diferencia de color con leche cruda y la viscosidad se redujeron en almacenamiento refrigerado. Estos cambios en la leche pasteurizada UAP+TT podrían estar correlacionado con la actividad metabólica de la microflora viable presente en leche.

Por los resultados obtenidos el mejor tratamiento de pasteurización es la combinación de tratamiento ultrasónico (UAP) (0.5 kJ/mL) seguido de tratamiento térmico a 60 °C por 10 minutos debido a que su acidez titulable, pH y sinéresis de sólidos al término del almacenamiento refrigerado es similar al de la leche cruda, su color es más blanco que la leche cruda; mientras que su turbidez de suero y sensibilidad al cuajo es superior a la leche pasteurizada térmicamente; por otro lado las reducciones de AMV y CT en refrigeración aseguraron que la calidad microbiológica como leche pasteurizada se mantenga durante su almacenamiento.

5.2. RECOMENDACIONES

Se recomiendan investigaciones futuras centradas en el análisis de la microflora de leche que es resistente por su capacidad de afectar la estabilidad de leche pasteurizada por UAP+TT.

Se recomienda hacer investigaciones para establecer la secuencia de desnaturalización de las seroproteínas y sus interacciones con compuestos grasos y micelas de Caseína (enteras o fraccionadas) en leche entera bajo tratamiento de UAP solo o en combinación con tratamiento térmico de baja temperatura por su capacidad de alterar las propiedades funcionales de la leche fresca.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS Y VIRTUALES

- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Hu, B., Saeeduddin, M., y Zeng, X. (2015). Qualitative Assessment of Sonicated Apple Juice during Storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1299–1308. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12348>
- Ahmad, T., Butt, M. Z., Aadil, R. M., Inam-ur-Raheem, M., Abdullah, Bekhit, A. E., Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Rocha, R. S., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Silva, M. C., Sameen, A., y Cruz, A. G. (2019). Impact of nonthermal processing on different milk enzymes. *International Journal of Dairy Technology*, 72(4), 481–495. <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=139189607&lang=es&site=ehost-live>
- Alatalo, D., y Hassanipour, F. (2017). An experimental study on human milk viscosity. *Proceedings of the ASME 2016 International Mechanical Engineering Congress and Exposition IMECE2016 November 11-17, 2016, Phoenix, Arizona, USA, IMECE2016-*, 1–9.
- Allothman, M., Lusk, K. A., Silcock, P., y Bremer, P. J. (2017). Comparing PTR-MS profile of milk inoculated with pure or mixed cultures of spoilage bacteria. *Food Microbiology*, 64, 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.01.001>
- Alvarez Ortega, L. G. (2019). Desnutrición infantil, una mirada desde diversos factores. *Investigación Valdizana*, 13(1), 15–26. <https://doi.org/10.33554/riv.13.1.168>
- Alves de Aguiar Bernardo, Y., Kaic AlvesdDo Rosario, D., y Adam Conte-Junior, C. (2021). Ultrasound on Milk Decontamination: Potential and Limitations Against Foodborne Pathogens and Spoilage Bacteria. *Food Reviews International*. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1906696>
- Amalfitano, N., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Malacarne, M., Summer, A., y Bittante, G. (2019). Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis. *Journal of Dairy Science*, 102(4), 2903–2917. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15524>
- Andrade Lopes, A. L., de Siqueira Ferraz Carvalho, R., Stela Santos Magalhães, N., Suely Madruga, M., Julia Alves Aguiar Athayde, A., Araújo Portela, I., Eduardo Barão, C., Colombo Pimentel, T., Magnani, M., y Christina Montenegro Stamford, T. (2020). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-05 and incorporation in vegan milks: Physicochemical characteristics and survival during storage, exposure to stress conditions, and simulated gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 135(March), 109295. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109295>
- ANMAT. (2014). *Análisis Microbiológico de los Alimentos*. http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf

- Ansari, J. A., Ismail, M., y Farid, M. (2017). Investigation of the use of ultrasonication followed by heat for spore inactivation. *Food and Bioprocess Technology*, 104, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.04.005>
- Ashokkumar, M. (2011). The characterization of acoustic cavitation bubbles - An overview. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 864–872. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.016>
- Auldist, M. J. (2022). Milk Quality and Udder Health: Effect on Processing Characteristics. In Paul L. H. McSweeney y J. P. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences, Volumen 2* (Segunda Ed, pp. 225–231). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00003-9>
- Balthazar, C. F., Santillo, A., Guimarães, J. T., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Caroprese, M., Marino, R., Esmerino, E. A., Silva, M. C., Raices, R. S. L., Freitas, M. Q., Cruz, A. G., y Albenzio, M. (2019). Ultrasound processing of fresh and frozen semi-skimmed sheep milk and its effects on microbiological and physical-chemical quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51(September 2018), 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.017>
- Bansal, V., y Veena, N. (2022). Understanding the role of pH in cheese manufacturing: general aspects of cheese quality and safety. *Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05631-w>
- Bermudez-Aguirre, D. (2017). *Utrasound Advances in Food Processing and Preservation* (D. Bermudez-Aguirre (ed.); Segunda Ed). Elsevier Inc.
- Bhargava, N., Mor, R. S., Kumar, K., y Sharanagat, V. S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70(July 2020), 105293. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105293>
- Bittante, G., Cipolat-Gotet, C., Malchiodi, F., Sturaro, E., Tagliapietra, F., Schiavon, S., y Cecchinato, A. (2015). Effect of dairy farming system, herd, season, parity, and days in milk on modeling of the coagulation, curd firming, and syneresis of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 98(4), 2759–2774. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8909>
- Britten, M., y Giroux, H. J. (2022). Rennet coagulation of heated milk: A review. *International Dairy Journal*, 124. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105179>
- Calamari, L., Gobbi, L., y Bani, P. (2016). Improving the prediction ability of FT-MIR spectroscopy to assess titratable acidity in cow's milk. *Food Chemistry*, 192, 477–484. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.103>
- Cappozzo, J. C., Koutchma, T., y Barnes, G. (2015). Chemical characterization of milk after treatment with thermal (HTST and UHT) and nonthermal (turbulent flow ultraviolet) processing technologies. *Journal of Dairy Science*, 98(8), 5068–5079. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9190>

- Carrillo-Lopez, L M, Juarez-Morales, M. G., Garcia-Galicia, I. A., Alarcon-Rojó, A. D., y Huerta-Jimenez, M. (2020). The Effect of High-Intensity Ultrasound on the Physicochemical and Microbiological Properties of Mexican Panela Cheese. *FOODS*, 9(3).
- Carrillo-Lopez, Luis M., Garcia-Galicia, I. A., Tirado-Gallegos, J. M., Sanchez-Vega, R., Huerta-Jimenez, M., Ashokkumar, M., y Alarcon-Rojó, A. D. (2021). Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: Effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105467. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105467>
- Chandrapala, J., Bui, D., Kentish, S., y Ashokkumar, M. (2014). Heat stability and acid gelation properties of calcium-enriched reconstituted skim milk affected by ultrasonication. *Journal of Dairy Research*, 81(2), 238–244. <https://doi.org/10.1017/S0022029914000132>
- Chandrapala, J., Martin, G. J. O., Zisu, B., Kentish, S. E., y Ashokkumar, M. (2012). The effect of ultrasound on casein micelle integrity. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 6882–6890. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5318>
- Chávez-Martínez, A., Reyes-Villagrana, R. A., Rentería-Monterrubio, A. L., Sánchez-Vega, R., Tirado-Gallegos, J. M., y Bolivar-Jacobo, N. A. (2020). Low and High-Intensity Ultrasound in Dairy Products: Applications and Effects on Physicochemical and Microbiological Quality América. *Foods*, 9(1688), 1–27.
- Cheng, N., Barbano, D. M., y Drake, M. A. (2018). Hunter versus CIE color measurement systems for analysis of milk-based beverages. *Journal of Dairy Science*, 101(6), 4891–4905. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14197>
- Cheng, N., Barbano, D. M., y Drake, M. A. (2019). Effect of pasteurization and fat, protein, casein to serum protein ratio, and milk temperature on milk beverage color and viscosity. *Journal of Dairy Science*, 102(3), 2022–2043. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15739>
- Chouliara, E., Georgogianni, K. G., Kanellopoulou, N., y Kontominas, M. G. (2010). Effect of ultrasonication on microbiological, chemical and sensory properties of raw, thermized and pasteurized milk. *International Dairy Journal*, 20(5), 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.12.006>
- Culqui Vilca, J., y Rabanal Oyarce, R. (2022). Células somáticas y composición nutricional de la leche en tanque, Bongara Amazonas, Perú, 2021. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 4(3), 57. <https://doi.org/10.25127/ucni.v4i3.809>
- D’Incecco, P., Limbo, S., Hogenboom, J. A., y Pellegrino, L. (2021). Novel technologies for extending the shelf life of drinking milk: Concepts, research trends and current applications. *Lwt*, 148(May), 111746. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111746>
- Dash, K. K., Fayaz, U., Dar, A. H., Shams, R., Manzoor, S., Sundarsingh, A., Deka, P., y Khan, S. A. (2022). A comprehensive review on heat

- treatments and related impact on the quality and microbial safety of milk and milk-based products. *Food Chemistry Advances*, 1(January), 100041. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100041>
- Davidenko, I. V., Moliboga, E. A., y Ivanov, D. M. (2020). Thermodynamic evaluation of the stabilization indicators of milk quality as influenced by a complex protector. *E3S Web of Conferences*, 161. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202016101112>
- Deshpande, V. K., y Walsh, M. K. (2020). Effect of thermosonication in a batch system on the survival of spore-forming bacteria. *International Journal of Dairy Technology*, 73(3), 486–493. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12685>
- Duarte, R. V., Pinto, C. A., Gomes, A. M., Delgadillo, I., y Saraiva, J. A. (2022). A microbiological perspective of raw milk preserved at room temperature using hyperbaric storage compared to refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 78(April). <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103019>
- Edwards, K. M., Badiger, A., Heldman, D. R., y Klein, M. S. (2021). Metabolomic markers of storage temperature and time in pasteurized milk. *Metabolites*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/metabo11070419>
- Erkaya, T., Başlar, M., Şengül, M., y Ertugay, M. F. (2015). Effect of thermosonication on physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of ayran during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23, 406–412. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.08.009>
- Fauziah, R., Malaka, R., y Yulianti, F. N. (2020). Titratable acidity and pH changes of pasteurized milk by addition of Roselle flower extract in the refrigerator storage. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 492(1), 3–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/492/1/012057>
- Feng, P., Weagant, S. D., y Grant, M. A. (2021). *BAM Chapter 4: Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria*. Bacteriological Analytical Manual (BAM). <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>
- Flores BendeZú, J., Calderón, J., Rojas, B., Alarcón Matutti, E., y Gutiérrez, C. (2015). Desnutrición crónica y anemia en niños menores de 5 años de hogares indígenas del Perú – Análisis de la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar 2013. *Anales de La Facultad de Medicina*, 76(2), 135. <https://doi.org/10.15381/anales.v76i2.11139>
- Freire, P., Zambrano, A., Zamora, A., y Castillo, M. (2022). Thermal Denaturation of Milk Whey Proteins: A Comprehensive Review on Rapid Quantification Methods Being Studied, Developed and Implemented. *Dairy*, 3(3), 500–512. <https://doi.org/10.3390/dairy3030036>
- Frydenberg, R. P., Hammershøj, M., Andersen, U., y Wiking, L. (2013). Ultrasonication affects crystallization mechanisms and kinetics of anhydrous milk fat. *Crystal Growth and Design*, 13(12), 5375–5382.

<https://doi.org/10.1021/cg4012923>

- Gandhi, K., Sharma, R., Gautam, P. B., y Mann, B. (2020). Quality Assessment of Processed Milk. In *Chemical Quality Assurance of Milk and Milk Products* (Primera Ed). Springer Nature Singapore Pte Ltd. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-4167-4>
- Garas, L. C., Feltrin, C., Kristina Hamilton, M., Hagey, J. V., Murray, J. D., Bertolini, L. R., Bertolini, M., Raybould, H. E., y Maga, E. A. (2016). Milk with and without lactoferrin can influence intestinal damage in a pig model of malnutrition. *Food and Function*, 7(2), 665–678. <https://doi.org/10.1039/c5fo01217a>
- Gregersen, S. B., Wiking, L., Metto, D. J., Bertelsen, K., Pedersen, B., Poulsen, K. R., Andersen, U., y Hammershoj, M. (2020). Hydrodynamic cavitation of raw milk: Effects on microbial inactivation, physical and functional properties. *INTERNATIONAL DAIRY JOURNAL*, 109.
- Guinee, T. P. (2021). Effect of high-temperature treatment of milk and whey protein denaturation on the properties of rennet–curd cheese: A review. *International Dairy Journal*, 121, 105095. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105095>
- Hameed, A. M., Elkhtab, E., Mostafa, M. S., Refaey, M. M. M., Hassan, M. A. A., Abo El-Naga, M. Y., Hegazy, A. A., Rabie, M. M., Alrefaei, A. F., Abdulaziz Alfi, A., Alessa, H., Alsimaree, A. A., El-Bahy, S. M., Aljohani, M., Kadasah, S., y Aly, A. A. (2021). Amino Acids, Solubility, Bulk Density and Water Holding Capacity of Novel Freeze-Dried Cow's Skimmed Milk Fermented with Potential Probiotic *Lactobacillus plantarum* Bu-Eg5 and *Lactobacillus rhamnosus* Bu-Eg6. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(8), 103291. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103291>
- Hanuš, O., Kučera, J., Samková, E., Němečková, I., Čítek, J., Kopec, T., Falta, D., Nejeschlebová, H., Rysová, L., Klimešová, M., y Elich, O. (2021). Raw cow milk protein stability under natural and technological conditions of environment by analysis of variance. *Foods*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/foods10092017>
- Hernández-Falcón, T. A., Monter-Arciniega, A., Cruz-Cansino, N. del S., Alanís-García, E., Rodríguez-Serrano, G. M., Castañeda-Ovando, A., García-Garibay, M., Ramírez-Moreno, E., y Jaimez-Ordaz, J. (2018). Effect of thermoultrasound on aflatoxin M1 levels, physicochemical and microbiological properties of milk during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48(March), 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.06.018>
- Higuera-Barraza, O. A., Del Toro-Sanchez, C. L., Ruiz-Cruz, S., y Márquez-Ríos, E. (2016). Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 558–562. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.02.007>
- Hovjecki, M., Miloradovic, Z., Barukčić, I., Blažić, M., y Miocinovic, J. (2022). Rheological Properties of Goat Milk Coagulation as Affected by Rennet

- Concentration, pH and Temperature. *Fermentation*, 8(6).
<https://doi.org/10.3390/fermentation8060291>
- Ji, F., Sun, J., Sui, Y., Qi, X., y Mao, X. (2022). Microbial inactivation of milk by low intensity direct current electric field: Inactivation kinetics model and milk characterization: Microbial inactivation of milk by DC LIEF. *Current Research in Food Science*, 5(July), 1906–1915.
<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.10.015>
- Jiménez-Sánchez, C., Lozano-Sánchez, J., Segura-Carretero, A., y Fernández-Gutiérrez, A. (2017). Alternatives to conventional thermal treatments in fruit-juice processing. Part 1: Techniques and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(3), 501–523.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2013.867828>
- Joon, R., Mishra, S. K., Brar, G. S., Singh, P. K., y Panwar, H. (2017). Instrumental texture and syneresis analysis of yoghurt prepared from goat and cow milk. *The Pharma Innovation Journal*, 6(7), 971–974.
www.thepharmajournal.com
- Juraga, E., Vukušić Pavičić, T., Gajdoš Kljusurić, J., Brnčić, M., Juraga, T., y Herceg, Z. (2021). Properties of milk treated with high-power ultrasound and bactofugation. *Food Technology and Biotechnology*, 59(1), 92–102.
<https://doi.org/10.17113/ftb.59.01.21.6721>
- Kashaninejad, M., y Razavi, S. M. A. (2020). Influence of thermosonication treatment on the average size of fat globules, emulsion stability, rheological properties and color of camel milk cream. *LWT - Food Science & Technology*, 132, N.PAG-N.PAG.
<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=145739960&lang=es&site=ehost-live>
- Khatkar, A. B., Kaur, A., Khatkar, S. K., y Mehta, N. (2018). Characterization of heat-stable whey protein: Impact of ultrasound on rheological, thermal, structural and morphological properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 49, 333–342. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.08.026>
- Kieferle, I., Hiller, K., Kulozik, U., y Germann, N. (2019). Rheological properties of fresh and reconstituted milk protein concentrates under standard and processing conditions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 537, 458–464. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.11.048>
- Law, A. J. R., y Leaver, J. (2000). Effect of pH on the thermal denaturation of whey proteins in milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 672–679. <https://doi.org/10.1021/jf981302b>
- Lewis, M. J. (2022). Advanced dairy chemistry. In P.L.H. McSweeney, J. A. O'Mahony, y A. L. Kelly (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry* (Vol. 3). Springer Cham. <https://doi.org/10.1007/978-0-30-92585-7-12>
- Li, J., Suo, Y., Liao, X., Ahn, J., Liu, D., Chen, S., Ye, X., y Ding, T. (2017). Analysis of *Staphylococcus aureus* cell viability, sublethal injury and death induced by synergistic combination of ultrasound and mild heat. *Ultrasonics*

- Li, J., Wang, J., Zhao, X., Wang, W., Liu, D., Chen, S., Ye, X., y Ding, T. (2019a). Inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in milk by different processing sequences of ultrasound and heat. *Journal of Food Safety*, 39(2), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfs.12614>
- Li, J., Wang, J., Zhao, X., Wang, W., Liu, D., Chen, S., Ye, X., y Ding, T. (2019b). Inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in milk by different processing sequences of ultrasound and heat. *Journal of Food Safety*, 39(2). <https://doi.org/10.1111/jfs.12614>
- Li, R., Czaja, T. P., Glover, Z. J., Ipsen, R., Jæger, T. C., Rovers, T. A. M., Simonsen, A. C., Svensson, B., van den Berg, F., y Hougaard, A. B. (2022). Water mobility and microstructure of acidified milk model gels with added whey protein ingredients. *Food Hydrocolloids*, 127(December 2021), 107548. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107548>
- Li, X., Li, L., Ma, Y., Wang, R., Gu, Y., y Day, L. (2020). Changes in protein interactions in pasteurized milk during cold storage. *Food Bioscience*, 34(March 2019), 100530. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100530>
- Liao, X., Li, J., Suo, Y., Chen, S., Ye, X., Liu, D., y Ding, T. (2018). Multiple action sites of ultrasound on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Human Wellness*, 7(1), 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.01.002>
- Lim, S. Y., Benner, L. C., y Clark, S. (2019). Neither thermosonication nor cold sonication is better than pasteurization for milk shelf life. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 3965–3977. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15347>
- Liu, Y., Zhang, W., Han, B., Zhang, L., y Zhou, P. (2020). Changes in bioactive milk serum proteins during milk powder processing. *Food Chemistry*, 314(January), 126177. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126177>
- Liu, Z., Juliano, P., Williams, R. P. W., Niere, J., y Augustin, M. A. (2014a). Ultrasound improves the renneting properties of milk. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(6), 2131–2137. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.03.034>
- Liu, Z., Juliano, P., Williams, R. P. W., Niere, J., y Augustin, M. A. (2014b). Ultrasound improves the renneting properties of milk. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(6), 2131–2137. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.03.034>
- Lu, M., Shiau, Y., Wong, J., Lin, R., Kravis, H., Blackmon, T., Pakzad, T., Jen, T., Cheng, A., Chang, J., Ong, E., Sarfaraz, N., y Wang, N. S. (2013). Milk Spoilage: Methods and Practices of Detecting Milk Quality. *Food and Nutrition Sciences*, 04(07), 113–123. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.47a014>
- Mahmoud, M. Z., Fagiry, M. A., Davidson, R., y Abdelbasset, W. K. (2022). The benefits, drawbacks, and potential future challenges of the most commonly

- used ultrasound-based hurdle combinations technologies in food preservation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 15(1), 206–212. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2022.03.006>
- Marchesini, G., Fasolato, L., Novelli, E., Balzan, S., Contiero, B., Montemurro, F., Andrighetto, I., y Segato, S. (2015). Ultrasonic inactivation of microorganisms: A compromise between lethal capacity and sensory quality of milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.03.015>
- Martin, N. H., Torres-Frenzel, P., y Wiedmann, M. (2021). Invited review: Controlling dairy product spoilage to reduce food loss and waste. *Journal of Dairy Science*, 104(2), 1251–1261. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19130>
- Maturin, L., y Peeler, J. T. (2021). *BAM Chapter 3: Aerobic Plate Count*. Bacteriological Analytical Manual (BAM). <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-3-aerobic-plate-count>
- McDermott, A., Visentin, G., McParland, S., Berry, D. P., Fenelon, M. A., y De Marchi, M. (2016). Effectiveness of mid-infrared spectroscopy to predict the color of bovine milk and the relationship between milk color and traditional milk quality traits. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3267–3273. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10424>
- Mennah-Govela, Y. A., y Bornhorst, G. M. (2021). Food buffering capacity: quantification methods and its importance in digestion and health. *Food and Function*, 12(2), 543–563. <https://doi.org/10.1039/d0fo02415e>
- Milovanovic, B., Djekic, I., Miocinovic, J., Djordjevic, V., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Mörllein, D., y Tomasevic, I. (2020). What is the color of milk and dairy products and how is it measured? *Foods*, 9(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods9111629>
- Minj, S., y Anand, S. (2020). Whey Proteins and Its Derivatives: Bioactivity, Functionality, and Current Applications. *Dairy*, 1(3), 233–258. <https://doi.org/10.3390/dairy1030016>
- Mizrahi, S. (2010). Syneresis in food gels and its implications for food quality. In *Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages* (Primera Ed, pp. 324–348). Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781845699260.2.324>
- Myer, P. R., Parker, K. R., Kanach, A. T., Zhu, T., Morgan, M. T., y Applegate, B. M. (2016). The effect of a novel low temperature-short time (LTST) process to extend the shelf-life of fluid milk. *SpringerPlus*, 5(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2250-1>
- Natarajan, S., y Ponnusamy, V. (2020). A review on the applications of ultrasound in food processing. *Materials Today: Proceedings*, xxxx. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.09.516>
- Nilsson, K., Stålhammar, H., Stenholdt Hansen, M., Lindmark-Månsson, H., Duchemin, S., Fikse, F., de Koning, D. J., Paulsson, M., y Glantz, M.

- (2019). Characterisation of non-coagulating milk and effects of milk composition and physical properties on rennet-induced coagulation in Swedish Red Dairy Cattle. *International Dairy Journal*, 95, 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.03.006>
- Nongonierma, A. B., y FitzGerald, R. J. (2015). Bioactive properties of milk proteins in humans: A review. *Peptides*, 73, 20–34. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.08.009>
- O'Shea, N., O'Callaghan, T. F., y Tobin, J. T. (2019). The application of process analytical technologies (PAT) to the dairy industry for real time product characterization - process viscometry. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 55(October 2018), 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.05.003>
- Odeyemi, O. A., Alegbeleye, O. O., Strateva, M., y Stratev, D. (2020). Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 311–331. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526>
- Pan, Z., Ye, A., Dave, A., Fraser, K., y Singh, H. (2022). Kinetics of heat-induced interactions among whey proteins and casein micelles in sheep skim milk and aggregation of the casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 105(5), 3871–3882. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21444>
- Parreiras, P. M., Vieira Nogueira, J. A., Rodrigues da Cunha, L., Passos, M. C., Gomes, N. R., Breguez, G. S., Falco, T. S., Bearzoti, E., y Menezes, C. C. (2020). Effect of thermosonication on microorganisms, the antioxidant activity and the retinol level of human milk. *Food Control*, 113(October 2019), 107172. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107172>
- Paswan, R., Mishra, A., y Park, Y. W. (2020). Survivability of Salmonella Pathogens and Physicochemical Characteristics of Powder Goat Milk Stored under Different Storage Treatment Regimens. *Dairy*, 1(3), 269–283. <https://doi.org/10.3390/dairy1030018>
- Peng, S., Hummerjohann, J., Stephan, R., y Hammer, P. (2014). Erratum to “Short communication: Heat resistance of Escherichia coli strains in raw milk at different subpasteurization conditions” (J. Dairy Sci. 96:3543-3546). *Journal of Dairy Science*, 97(10), 6623. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-97-10-6623>
- Resolucion Ministerial 591-2008/MINSA, Pub. L. No. NTS 071-MINSA-DIGESA-V.01 Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiologicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano, 1 (2008). https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimento s/RM591MINSANORMA.pdf
- Poghossian, A., Geissler, H., y Schöning, M. J. (2019). Rapid methods and sensors for milk quality monitoring and spoilage detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 140(January), 111272. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.04.040>

- Potoroko, I., Kalinina, I., Botvinnikova, V., Krasulya, O., Fatkullin, R., Bagale, U., y Sonawane, S. H. (2018). Ultrasound effects based on simulation of milk processing properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 463–472. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.06.019>
- Qin, Y. S., Jiang, H., Wang, C. F., Cheng, M., Wang, L. L., Huang, M. Y., Zhao, Q. X., y Jiang, H. H. (2021). Physicochemical and functional properties of goat milk whey protein and casein obtained during different lactation stages. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 3936–3946. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19454>
- Ragab, E. S., Lu, J., Pang, X. Y., Nassar, K. S., Yang, B. Y., Zhang, S. W., y Lv, J. P. (2019). Effect of thermosonication process on physicochemical properties and microbial load of goat's milk. *Journal of Food Science and Technology*, 56(12), 5309–5316. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85070646228&doi=10.1007%2Fs13197-019-04001-3&partnerID=40&md5=2de471ec4c8a7bcabab1d53b6235ee63>
- Rakib, M., Habib, R., Hassan, M., Imam, M., y Hassan, M. (2014). Development of turbidity index as field method to detect mixing of heated milk with raw milk. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 43(2), 123–127. <https://doi.org/10.3329/bjas.v43i2.20708>
- Rincon, L., Braz Assunção Botelho, R., y de Alencar, E. R. (2020). Development of novel plant-based milk based on chickpea and coconut. *Lwt*, 128. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109479>
- Rojas, M. L., Hellmeister Trevilin, J., y Esteves Duarte, P. E. (2016). The ultrasound technology for modifying enzyme activity. *Scientia Agropecuaria*, 07(02), 145–150. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.02.07>
- Romero, A., Sharp, J. L., Dawson, P. L., Darby, D., y Cooksey, K. (2021). Evaluation of two intelligent packaging prototypes with a pH indicator to determine spoilage of cow milk. *Food Packaging and Shelf Life*, 30(July), 100720. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100720>
- Sakkas, L., Moutafi, A., Moschopoulou, E., y Moatsou, G. (2014). Assessment of heat treatment of various types of milk. *Food Chemistry*, 159, 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.020>
- Schwab, C., Voney, E., Ramirez Garcia, A., Vischer, M., y Lacroix, C. (2019). Characterization of the Cultivable Microbiota in Fresh and Stored Mature Human Breast Milk. *Frontiers in Microbiology*, 10(November), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02666>
- Scudino, H., Silva, E. K., Gomes, A., Guimarães, J. T., Cunha, R. L., Sant'Ana, A. S., Meireles, M. A. A., y Cruz, A. G. (2020a). Ultrasound stabilization of raw milk: Microbial and enzymatic inactivation, physicochemical properties and kinetic stability. *Ultrasonics Sonochemistry*, 67. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85085390550&doi=10.1016%2Fj.ultsonch.2020.105185&partnerID=40&md5=2de471ec4c8a7bcabab1d53b6235ee63>

5=798b6a66c5501327814c95f53d274ac9

- Scudino, H., Silva, E. K., Gomes, A., Guimarães, J. T., Cunha, R. L., Sant'Ana, A. S., Meireles, M. A. A., y Cruz, A. G. (2020b). Ultrasound stabilization of raw milk: Microbial and enzymatic inactivation, physicochemical properties and kinetic stability. *Ultrasonics Sonochemistry*, 67. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85085390550&doi=10.1016%2Fj.ultsonch.2020.105185&partnerID=40&md5=798b6a66c5501327814c95f53d274ac9>
- Shanmugam, A., Chandrapala, J., y Ashokkumar, M. (2012). The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 251–258. <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=84192013&lang=es&site=ehost-live>
- Shokri, S., Javanmardi, F., Mohammadi, M., y Mousavi Khaneghah, A. (2022). Effects of ultrasound on the techno-functional properties of milk proteins: A systematic review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 83, 105938. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105938>
- Silva, M., Bogda, Z. y Chandrapala, J.; (2018). Influence of low-frequency ultrasound on the physico-chemical and structural characteristics of milk systems with varying casein to whey protein ratios, *Ultrasonics Sonochemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.08.015>
- Soares, C. F., Fonseca, L. M., Leite, M. O., y Oliveira, M. C. P. P. (2013). Application of Schärer's quantitative method for the determination of residual alkaline phosphatase activity in standard Minas cheese. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65(4), 1223–1230. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000400039>
- Solano-Cornejo, M. A. (2013). Modelamiento de la cinética de desinfección superficial de tomates (*Lycopersicum esculentum*) frescos usando soluciones de cloro Modeling surface disinfection kinetics of fresh tomato (*Lycopersicum esculentum*) using chlorine solutions *Scientia Agropecuaria*. *Scientia Agropecuaria*, 4, 27–35.
- Soltani, M., Sardari, H., Soofiabadi, M., y Hosseinpour, S. (2022). Ultrasound assisted processing of milk: Advances and challenges. *Journal of Food Process Engineering*, July, 1–20. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14173>
- Spreer, E. (2017). *Milk and Dairy Product Technology* (Second Edi). Marcel Dekker Inc.
- Sterniša, M., Čargo, M., y Možina, S. S. (2019). Spoilage bacteria pseudomonas - Production of hydrolytic enzymes and ability to grow at 5 °C. *Acta Periodica Technologica*, 50, 278–285. <https://doi.org/10.2298/APT1950278S>
- Sun, Yanjun, Chen, J., Zhang, S., Li, H., Lu, J., Liu, L., Uluko, H., Su, Y., Cui, W., Ge, W., y Jiaping, L. (2014). Effect of power ultrasound pre-treatment on the physical and functional properties of reconstituted milk protein

- concentrate. *Journal of Food Engineering*, 124, 11–18.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.09.013>
- Sun, Yue, Yu, X., Hussain, M., Li, X., Liu, L., Liu, Y., Ma, S., Kouame, K. J. E. parfait, Li, C., Leng, Y., y Jiang, S. (2022). Influence of milk fat globule membrane and milk protein concentrate treated by ultrasound on the structural and emulsifying stability of mimicking human fat emulsions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 82, 105881.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105881>
- van Lieshout, G. A. A., Lambers, T. T., Bragt, M. C. E., y Hettinga, K. A. (2020). How processing may affect milk protein digestion and overall physiological outcomes: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(14), 2422–2445.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1646703>
- Wang, Y., Han, X., Chen, X., y Deng, Y. (2021). Potential harmful of extracellular proteases secreted by *Pseudomonas fluorescens* W3 on milk quality. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), 1–8.
<https://doi.org/10.1111/jfpp.15192>
- Wanjala, W. N., Nduko, J. M., y Mwende, M. C. (2018). Coliforms contamination and hygienic status of milk chain in emerging economies. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 5(1), 3–10.
<https://doi.org/10.29252/jfqhc.5.1.3>
- Wei, X., Lau, S. K., Chaves, B. D., Danao, M. G. C., Agarwal, S., y Subbiah, J. (2020). Effect of water activity on the thermal inactivation kinetics of *Salmonella* in milk powders. *Journal of Dairy Science*, 103(8), 6904–6917.
<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18298>
- Wijayanti, H. B., Bansal, N., y Deeth, H. C. (2014). Stability of Whey Proteins during Thermal Processing: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1235–1251. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12105>
- Yu, T., Zhang, X., Feng, R., Wang, C., Wang, X., y Wang, Y. (2022). Comparison of the Effects of High Hydrostatic Pressure and Pasteurization on Quality of Milk during Storage. *Foods*, 11(18), 1–19.
<https://doi.org/10.3390/foods11182837>
- Zhao, L., Zhang, S., Uluko, H., Liu, L., Lu, J., Xue, H., Kong, F., y Lv, J. (2014). Effect of ultrasound pretreatment on rennet-induced coagulation properties of goat's milk. *Food Chemistry*, 165, 167–174.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.081>
- Zhao, Z., Corredig, M., y Gaygadzhiev, Z. (2019). Short communication: Determination of the whey protein index in milk protein concentrates. *Journal of Dairy Science*, 102(9), 7760–7764.
<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16547>
- Zhou, J., Sheng, L., Lv, R., Liu, D., Ding, T., y Liao, X. (2021). Application of a 360-Degree Radiation Thermosonication Technology for the Inactivation of

- Staphylococcus aureus in Milk. *Frontiers in Microbiology*, 12(November), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.771770>
- Zhu, Y., Wang, J., y Wang, C. (2018). Research on the preparation, uniformity and stability of mixed standard substance for rapid detection of goat milk composition. *Animal Science Journal*, 89(5), 794–801. <https://doi.org/10.1111/asj.12985>
- Ziyaina, M., Govindan, B. N., Rasco, B., Coffey, T., y Sablani, S. S. (2018). Monitoring Shelf Life of Pasteurized Whole Milk Under Refrigerated Storage Conditions: Predictive Models for Quality Loss. *Journal of Food Science*, 83(2), 409–418. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13981>
- Zonoubi, R., y Goli, M. (2021). The effect of complete replacing sodium with potassium, calcium, and magnesium brine on sodium-free ultrafiltration Feta cheese at the end of the 60-day ripening period: Physicochemical, proteolysis–lipolysis indices, microbial, colorimetric, and sensory . *Food Science and Nutrition*, 9(2), 866–874. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2050>

ANEXO 01. SESION FOTOGRAFICA

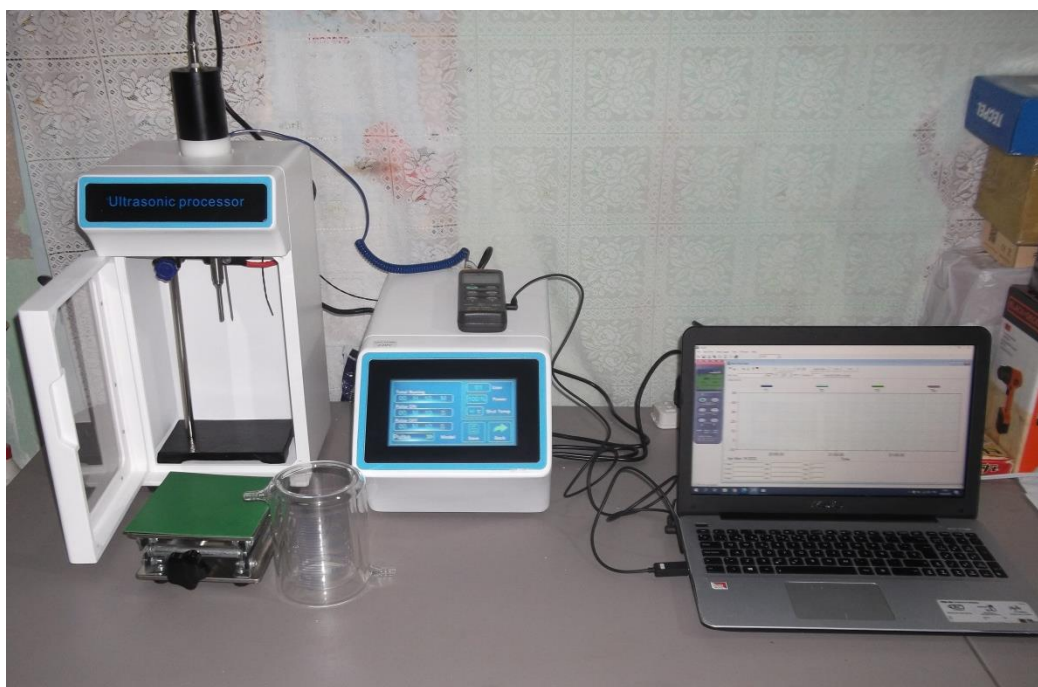


Imagen 1A1. Sonicador PZ550LI, Termocupla TCP319, Reactor enchaquetado y computadora para termoregistro de calibración y tratamientos.



Imagen 2A1. Equipo de ultrasonidos montado y en proceso de calibración de potencia entregada



Imagen 3A1. Posición de la sonda en el reactor y posiciones relativas de los sensores térmicos del equipo sonicador y del termoregistrador.



Imagen 4A1. Sonicador con equipo de refrigeración de reactor y termoregistrador en tratamiento ultrasónico isotérmico de leche.



Imagen 5A1. Detalle del Sonicador cargado y programado para tratamiento ultrasónico isotérmico de leche.



Imagen 6A1. Sonicación Isotérmica de leche (Octubre 2022)



Imagen 7A1. Viscosímetro AND Modelo SV-10A



Imagen 8A1. LactoScan BOECO trabajando muestra de leche



Imagen 9A1. Prueba de Sensibilidad al Cuajo

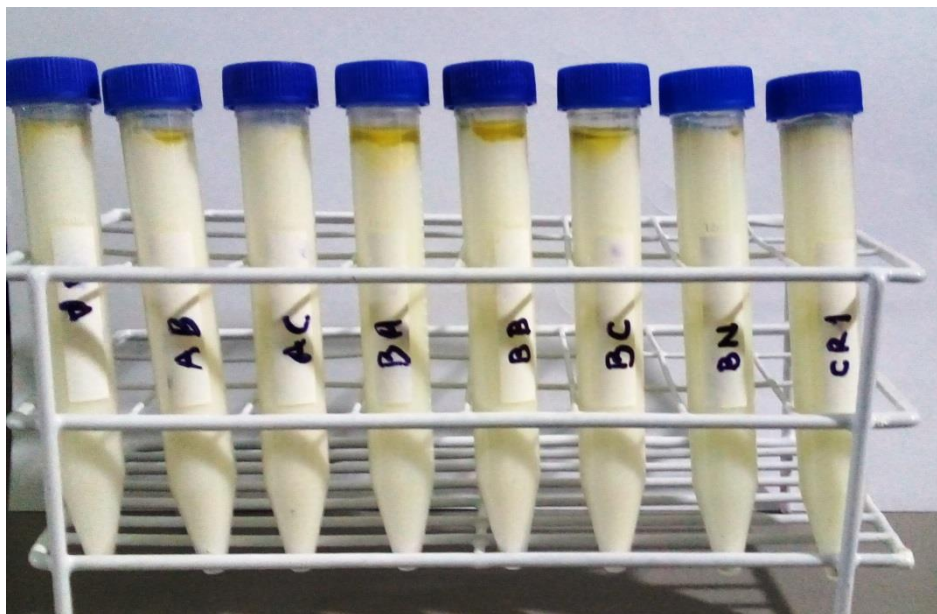


Imagen10A1. Prueba de Sinéresis

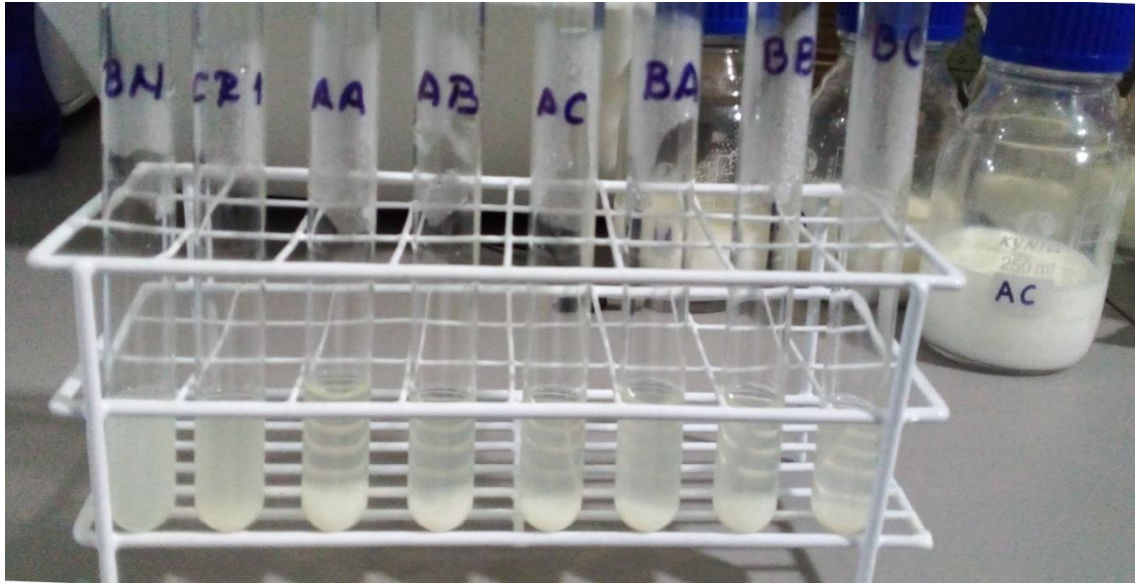


Imagen 11A1. Prueba de Turbidez en Suero




Imagen 12A1. pH metro tipo lapicero y colorímetro LS 171

ANEXO 02. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS

A.1. Análisis microbiológico – Muestra 01 - Aeróbios Mesófilos Viables (AMV) – Objetivo Específico 01



LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU



INFORME DE ENSAYO N° 726

I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:

"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
Estado del envase : Bueno
Naturaleza del envase : Plástico
Temperatura : 6 °C
Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
Códigos de las muestras : CR1;PT1;AA;AB;AC;BA;BB;BC
Llegada al laboratorio : 08-06-2022
Fecha de análisis : 08-06-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO

-Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
-Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 3: Aerobic Plate Count.Bacteriological Analytical Manual (BAM)

VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida CR1	Leche fresca fluida PT1	Leche fresca fluida AA	Leche fresca fluida AB	Leche fresca fluida AC	Leche fresca fluida BA	Leche fresca fluida BB	Leche fresca fluida BC
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	12,000	200	4,000	800	500	3,120	1,200	400


Dr. Fernando C. Caballero Caputo
Director General


Lambayeque, Junio del 2022

Correo: contacto@microservilab.com Cel: 949019545

A.2. Análisis microbiológico – Muestra 02 - Aeróbios Mesófilos Viables (AMV) – Objetivo Especifico 01



LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU



INFORME DE ENSAYO N° 727

I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:
"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres	: Leche fresca fluida
Forma de presentación	: Jeringa de 20 ml
Estado del envase	: Bueno
Naturaleza del envase	: Plástico
Temperatura	: 6 °C
Procedencia	: Lambayeque-Lambayeque
Códigos de las muestras	: CR2;PT2;CA;CB;CC;DA;DB;DC
Llegada al laboratorio	: 10-06-2022
Fecha de análisis	: 10-06-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO


V. DOCUMENTO NORMATIVO

- Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
- Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 3: Aerobic Plate Count.Bacteriological Analytical Manual (BAM)

VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida CR2	Leche fresca fluida PT2	Leche fresca fluida CA	Leche fresca fluida CB	Leche fresca fluida CC	Leche fresca fluida DA	Leche fresca fluida DB	Leche fresca fluida DC
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	12,500	400	1,700	700	400	1,500	800	600



Dr. Fernando S. Chacón Capurra
Gerente General

Lambayeque, Junio del 2022

Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

A.3. Análisis microbiológico – Muestra 01 – Coliformes Totales (CT) – Objetivo Especifico 01



LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU

INFORME DE ENSAYO N° 728



I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:
"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
 Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
 Estado del envase : Bueno
 Naturaleza del envase : Plástico
 Temperatura : 7 °C
 Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
 Códigos de las muestras : CR1;PT1;AA;AB;AC;BA;BB;BC
 Llegada al laboratorio : 08-06-2022
 Fecha de análisis : 08-06-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO
 -Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
 - Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological Analytical Manual (BAM)

VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida CR1	Leche fresca fluida PT1	Leche fresca fluida AA	Leche fresca fluida AB	Leche fresca fluida AC	Leche fresca fluida BA	Leche fresca fluida DB	Leche fresca fluida DC
Coliformes totales (UFC/ml)	600	0	400	200	10	500	150	10



Dr. Fernando Chacón Capuray
Microbiólogo

Lambayeque, Junio del 2022

Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

A.4. Análisis microbiológico – Muestra 02 – Coliformes Totales (CT) –

Objetivo Especifico 01



LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU

INFORME DE ENSAYO N° 729



I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:
"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
 Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
 Estado del envase : Bueno
 Naturaleza del envase : Plástico
 Temperatura : 7 °C
 Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
 Códigos de las muestras : CR2;PT2;CA;CB;CC;DA;DB;DC
 Llegada al laboratorio : 10-06-2022
 Fecha de análisis : 10-06-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO
 -Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
 - Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological Analytical Manual (BAM)

VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida CR2	Leche fresca fluida PT1	Leche fresca fluida AA	Leche fresca fluida AB	Leche fresca fluida AC	Leche fresca fluida BA	Leche fresca fluida DB	Leche fresca fluida DC
Coliformes totales (UFC/ml)	900	0	200	105	20	200	90	15



 (Dr. Fernando S. Chacabaz Córdova)
 Director General

Lambayeque, Junio del 2022


Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

B.1. Análisis microbiológico – Muestra 01 - Aeróbios Mesófilos Viables (AMV) – Objetivo Especifico 02



**LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"**
LAMBAYEQUE – PERU
INFORME DE ENSAYO N° 730



I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:
"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
 Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
 Estado del envase : Bueno
 Naturaleza del envase : Plástico
 Temperatura : 5 °C
 Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
 Códigos de las muestras : CR3;PT3;40A0;40A4;40A8; 40A16; 40A24
 45A0;45A4;45A8; 45A16; 45A24; 50A0;50A2;50A4;
 50A8; 50A12; 55A0;55A2;55A4;55A8; 55A12;
 60A0;60A1;60A2; 60A4; 60A6
 Llegada al laboratorio : 08-07-2022
 Fecha de análisis : 08-07-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO
 -Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
 -Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 3: Aerobic Plate
 Count.Bacteriological Analytical Manual (BAM)


VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiológicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida CR3	Leche fresca fluida PT3	Leche fresca fluida 40A0	Leche fresca fluida 40A4	Leche fresca fluida 40A8	Leche fresca fluida 40A16	Leche fresca fluida 40A24	Leche fresca fluida 45A0	Leche fresca fluida 45A4
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	3,460	20	820	1,990	3,260	1,340	1,850	610	1,450

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida 45A8	Leche fresca fluida 45A16	Leche fresca fluida 45A24	Leche fresca fluida 50A0	Leche fresca fluida 50A2	Leche fresca fluida 50A4	Leche fresca fluida 50A8	Leche fresca fluida 50A12	Leche fresca fluida 55A0
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	2,140	1,300	2,460	760	150	480	2,210	1,850	650

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida 55A2	Leche fresca fluida 55A4	Leche fresca fluida 55A8	Leche fresca fluida 55A12	Leche fresca fluida 60A0	Leche fresca fluida 60A1	Leche fresca fluida 60A2	Leche fresca fluida 60A4	Leche fresca fluida 60A6
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	240	640	650	240	580	660	240	100	30



 Dr. Fernando S. Chalque Capuray
 Director General

Lambayeque, Julio del 2022


Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

B.2. Análisis microbiológico – Muestra 02 - Aeróbios Mesófilos Viables (AMV) – Objetivo Especifico 02



**LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU
INFORME DE ENSAYO N° 731**



I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:

"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
 Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
 Estado del envase : Bueno
 Naturaleza del envase : Plástico
 Temperatura : 5 °C
 Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
 Códigos de las muestras : CR4;PT4;40B0;40B4;40B8; 40B16; 40B24
 45B0;45B4;45B8; 45B16; 45B24; 50B0;50B2;50B4;
 50B8; 50B12; 55B0;55B2;55B4;55B8; 55B12;
 60B0;60B1;60B2; 60B4; 60B6

Llegada al laboratorio : 11-07-2022
 Fecha de análisis : 11-07-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO

- Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
- Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 3: Aerobic Plate Count.Bacteriological Analytical Manual (BAM)

VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos


Muestra Ensayo	Leche fresca fluida CR4	Leche fresca fluida PT4	Leche fresca fluida 40B0	Leche fresca fluida 40B4	Leche fresca fluida 40B8	Leche fresca fluida 40B16	Leche fresca fluida 40B24	Leche fresca fluida 45B0	Leche fresca fluida 45B4
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	4580	42	690	500	720	800	950	780	1320
Muestra Ensayo	Leche fresca fluida 45B8	Leche fresca fluida 45B16	Leche fresca fluida 45B24	Leche fresca fluida 50B0	Leche fresca fluida 50B2	Leche fresca fluida 50B4	Leche fresca fluida 50B8	Leche fresca fluida 50B12	Leche fresca fluida 55B0
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	1950	1890	2600	810	590	750	830	740	680
Muestra Ensayo	Leche fresca fluida 55B2	Leche fresca fluida 55B4	Leche fresca fluida 55B8	Leche fresca fluida 55B12	Leche fresca fluida 60B0	Leche fresca fluida 60B1	Leche fresca fluida 60B2	Leche fresca fluida 60B4	Leche fresca fluida 60B6
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	350	560	960	890	880	650	690	360	90

Lambayeque, Julio del 2022


Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

B.3. Análisis microbiológico – Muestra 01 – Coliformes Totales (CT) – Objetivo Especifico 02



LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU
INFORME DE ENSAYO N° 732



I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:

"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
 Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
 Estado del envase : Bueno
 Naturaleza del envase : Plástico
 Temperatura : 7 °C
 Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
 Códigos de las muestras : CR3;PT3;40A0;40A4;40A8; 40A16; 40A24
 45A0;45A4;45A8; 45A16; 45A24; 50A0;50A2;50A4;
 50A8; 50A12; 55A0;55A2;55A4;55A8; 55A12;
 60A0;60A1;60A2; 60A4; 60A6

Llegada al laboratorio : 08-07-2022
 Fecha de análisis : 08-07-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO

-Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
 -Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological Analytical Manual (BAM)


VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida CR3	Leche fresca fluida PT3	Leche fresca fluida 40A0	Leche fresca fluida 40A4	Leche fresca fluida 40A8	Leche fresca fluida 40A16	Leche fresca fluida 40A24	Leche fresca fluida 45A0	Leche fresca fluida 45A4
Coliforme (UFC/ml) totales	220	0	80	240	310	720	810	90	170

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida 45A8	Leche fresca fluida 45A16	Leche fresca fluida 45A24	Leche fresca fluida 50A0	Leche fresca fluida 50A2	Leche fresca fluida 50A4	Leche fresca fluida 50A8	Leche fresca fluida 50A12	Leche fresca fluida 55A0
Coliformes (UFC/ml) totales	230	210	140	80	100	60	80	40	50

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida 55A2	Leche fresca fluida 55A4	Leche fresca fluida 55A8	Leche fresca fluida 55A12	Leche fresca fluida 60A0	Leche fresca fluida 60A1	Leche fresca fluida 60A2	Leche fresca fluida 60A4	Leche fresca fluida 60A6
Coliformes(UFC/ml) totales	60	50	30	20	70	40	20	5	3



Dr. Fernando S. Chalko Capuray
Director General


Lambayeque, Julio del 2022

Correo: contacto@microservilab.com


Cel: 949019545

B.4. Análisis microbiológico – Muestra 02 – Coliformes Totales (CT) –

Objetivo Especifico 02



**LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"**
LAMBAYEQUE – PERU
INFORME DE ENSAYO N° 733



I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:
"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
 Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
 Estado del envase : Bueno
 Naturaleza del envase : Plástico
 Temperatura : 7 °C
 Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
 Códigos de las muestras : CR4;PT4;40B0;40B4;40B8; 40B16; 40B24
 45B0;45B4;45B8; 45B16; 45B24; 50B0;50B2;50B4;
 50B8; 50B12; 55B0;55B2;55B4;55B8; 55B12;
 60B0;60B1;60B2; 60B4; 60B6
 Llegada al laboratorio : 11-07-2022
 Fecha de análisis : 11-07-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO
 -Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
 -Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological Analytical Manual (BAM)


VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiológicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida CR4	Leche fresca fluida PT4	Leche fresca fluida 40B0	Leche fresca fluida 40B4	Leche fresca fluida 40B8	Leche fresca fluida 40B16	Leche fresca fluida 40B24	Leche fresca fluida 45B0	Leche fresca fluida 45B4
Coliformes (UFC/ml) totales	380	0	130	280	470	560	1410	105	150

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida 45B8	Leche fresca fluida 45B16	Leche fresca fluida 45B24	Leche fresca fluida 50B0	Leche fresca fluida 50B2	Leche fresca fluida 50B4	Leche fresca fluida 50B8	Leche fresca fluida 50B12	Leche fresca fluida 55B0
Coliformes (UFC/ml) totales	390	460	1100	90	70	90	85	60	150

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida 55B2	Leche fresca fluida 55B4	Leche fresca fluida 55B8	Leche fresca fluida 55B12	Leche fresca fluida 60B0	Leche fresca fluida 60B1	Leche fresca fluida 60B2	Leche fresca fluida 60B4	Leche fresca fluida 60B6
Coliformes (UFC/ml) totales	100	60	40	35	110	60	30	20	5




Dr. Fernando B. Chalcohu Capuñay
Jefe General

Lambayeque, Julio del 2022


Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

C.1. Análisis microbiológico – Muestra 01 - Aeróbios Mesófilos Viables (AMV) – Objetivo Específico 03



**LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"**
LAMBAYEQUE – PERU
INFORME DE ENSAYO N° 734



I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:

"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
 Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
 Estado del envase : Bueno
 Naturaleza del envase : Plástico
 Temperatura : 5 °C
 Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
 Códigos de las muestras : POA;P1A0;P1A2;P1A5; P1A8; P1A10;P1A12
 P2A0;P2A2;P2A5; P2A8; P2A10;P2A12;
 PTA0;PTA2;PTA5; PTA8; PTA10;PTA12.

Llegada al laboratorio : 07-08-2022
 Fecha de análisis : 07-08-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO

- Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
- Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 3: Aerobic Plate Count.Bacteriological Analytical Manual (BAM)


VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida POA	Leche fresca fluida P1A0	Leche fresca fluida P1A2	Leche fresca fluida P1A5	Leche fresca fluida P1A8	Leche fresca fluida P1A10	Leche fresca fluida P1A12
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	207,900	5,040	8,715	11,025	14,000	3,900	2,900

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida P2A0	Leche fresca fluida P2A2	Leche fresca fluida P2A5	Leche fresca fluida P2A8	Leche fresca fluida P2A10	Leche fresca fluida P2A12
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	680	1,073	1,180	1,500	1,300	800

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida PTA0	Leche fresca fluida PTA2	Leche fresca fluida PTA5	Leche fresca fluida PTA8	Leche fresca fluida PTA10	Leche fresca fluida PTA12
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	960	885	225	320	280	210




Dr. Fernando S. Chacón Corvalán
Director General

Lambayeque, Agosto del 2022


Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

C.2. Análisis microbiológico – Muestra 02 - Aeróbios Mesófilos Viables (AMV) – Objetivo Especifico 03



LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU
INFORME DE ENSAYO N° 735



I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:

"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
 Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
 Estado del envase : Bueno
 Naturaleza del envase : Plástico
 Temperatura : 5 °C
 Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
 Códigos de las muestras : POB0;P1B0;P1B2;P1B5; P1B8; P1B10;P1B12
 P2B0;P2B2;P2B5; P2B8; P2B10;P2B12;
 PTB0;PTB2;PTB5; PTB8; PTB10;PTB12.

Llegada al laboratorio : 14-08-2022
 Fecha de análisis : 14-08-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO

-Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
 -Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 3: Aerobic Plate Count.Bacteriological Analytical Manual (BAM)


VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida POB	Leche fresca fluida P1B0	Leche fresca fluida P1B2	Leche fresca fluida P1B5	Leche fresca fluida P1B8	Leche fresca fluida P1B10	Leche fresca fluida P1B12
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	212,300	6,048	9,198	9,450	13,000	12,000	4,700

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida P2B0	Leche fresca fluida P2B2	Leche fresca fluida P1B5	Leche fresca fluida P1B8	Leche fresca fluida P1B10	Leche fresca fluida P1B12
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	3,392	2,867	1,050	1,280	980	600

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida PTB0	Leche fresca fluida PTB2	Leche fresca fluida PTB5	Leche fresca fluida PTB8	Leche fresca fluida PTB10	Leche fresca fluida PTB12
Aerobios (UFC/ml) mesofilos viables	1,216	1,066	450	360	240	190



Dr. Fernando Chalque Capur
Director General

Lambayeque, Agosto del 2022

Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

**LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU
INFORME DE ENSAYO N° 736**

I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:
" Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización "

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
Estado del envase : Bueno
Naturaleza del envase : Plástico
Temperatura : 4 °C
Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
Códigos de las muestras : POA;P1A0;P1A2;P1A5; P1A8; P1A10;P1A12
P2A0;P2A2;P2A5; P2A8; P2A10;P2A12;
PTA0;PTA2;PTA5; PTA8; PTA10;PTA12.

Llegada al laboratorio : 07-08-2022
Fecha de análisis : 07-08-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO
-Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
-Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological Analytical Manual (BAM)

VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida POA	Leche fresca fluida P1A0	Leche fresca fluida P1A2	Leche fresca fluida P1A5	Leche fresca fluida P1A8	Leche fresca fluida P1A10	Leche fresca fluida P1A12
Coliformes (UFC/ml) totales	5,600	840	700	400	480	320	120
Muestra Ensayo	Leche fresca fluida P2A0	Leche fresca fluida P2A2	Leche fresca fluida P2A5	Leche fresca fluida P2A8	Leche fresca fluida P2A10	Leche fresca fluida P2A12	
Coliformes (UFC/ml) totales	15	17	5	8	6	5	
Muestra Ensayo	Leche fresca fluida PTA0	Leche fresca fluida PTA2	Leche fresca fluida PTA5	Leche fresca fluida PTA8	Leche fresca fluida PTA10	Leche fresca fluida PTA12	
Coliformes (UFC/ml) totales	25	180	10	15	13	11	


LABORATORIO DE ANÁLISIS
FÍSICO-QUÍMICO, MICROBIOLÓGICO Y FUNCIONAL
"MICROSERVILAB"
Ing. Fernando B. Chacabarro Caputo
Director General

Lambayeque, Agosto del 2022


Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

C.4. Análisis microbiológico – Muestra 02 – Coliformes Totales (CT) – Objetivo Especifico 03



LABORATORIO DE
ENSAYOS TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU
INFORME DE ENSAYO N° 737



I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Msc. Miguel Angel Solano Cornejo

II. PROYECTO:

"Estabilización físico-química, microbiológica y funcional de leche de vaca (*Bos taurus*) en almacenamiento refrigerado por tratamiento ultrasónico pre pasteurización"

III. DATOS DE LA MUESTRAS

Nombres : Leche fresca fluida
 Forma de presentación : Jeringa de 20 ml
 Estado del envase : Bueno
 Naturaleza del envase : Plástico
 Temperatura : 4 °C
 Procedencia : Lambayeque-Lambayeque
 Códigos de las muestras : POB;P1B0;P1B2;P1B5; P1B8; P1B10;P1B12
 P2B0;P2B2;P2B5; P2B8; P2B10;P2B12;
 PTB0;PTB2;PTB5; PTB8; PTB10;PTB12.

Llegada al laboratorio : 14-08-2022
 Fecha de análisis : 14-08-2022

IV. TIPO DE ENSAYOS
MICROBIOLOGICO

V. DOCUMENTO NORMATIVO

- Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)
- Food and Drug Administration (FDA), BAM Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological Analytical Manual (BAM)


VI. RESULTADO DEL ENSAYOS

1. Determinación de criterios microbiologicos

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida POB	Leche fresca fluida P1B0	Leche fresca fluida P1B2	Leche fresca fluida P1B5	Leche fresca fluida P1B8	Leche fresca fluida P1B10	Leche fresca fluida P1B12
Coliformes (UFC/ml) totales	5,800	450	380	350	300	240	156

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida P2B0	Leche fresca fluida P2B2	Leche fresca fluida P2B5	Leche fresca fluida P2B8	Leche fresca fluida P2B10	Leche fresca fluida P2B12
Coliformes (UFC/ml) totales	20	17	8	10	10	5

Muestra Ensayo	Leche fresca fluida PTB0	Leche fresca fluida PTB2	Leche fresca fluida PTB5	Leche fresca fluida PTB8	Leche fresca fluida PTB10	Leche fresca fluida PTB12
Coliformes (UFC/ml) totales	50	20	10	20	15	15



Dr. Fernando S. Chacón Capuray
Director General

Lambayeque, Agosto del 2022

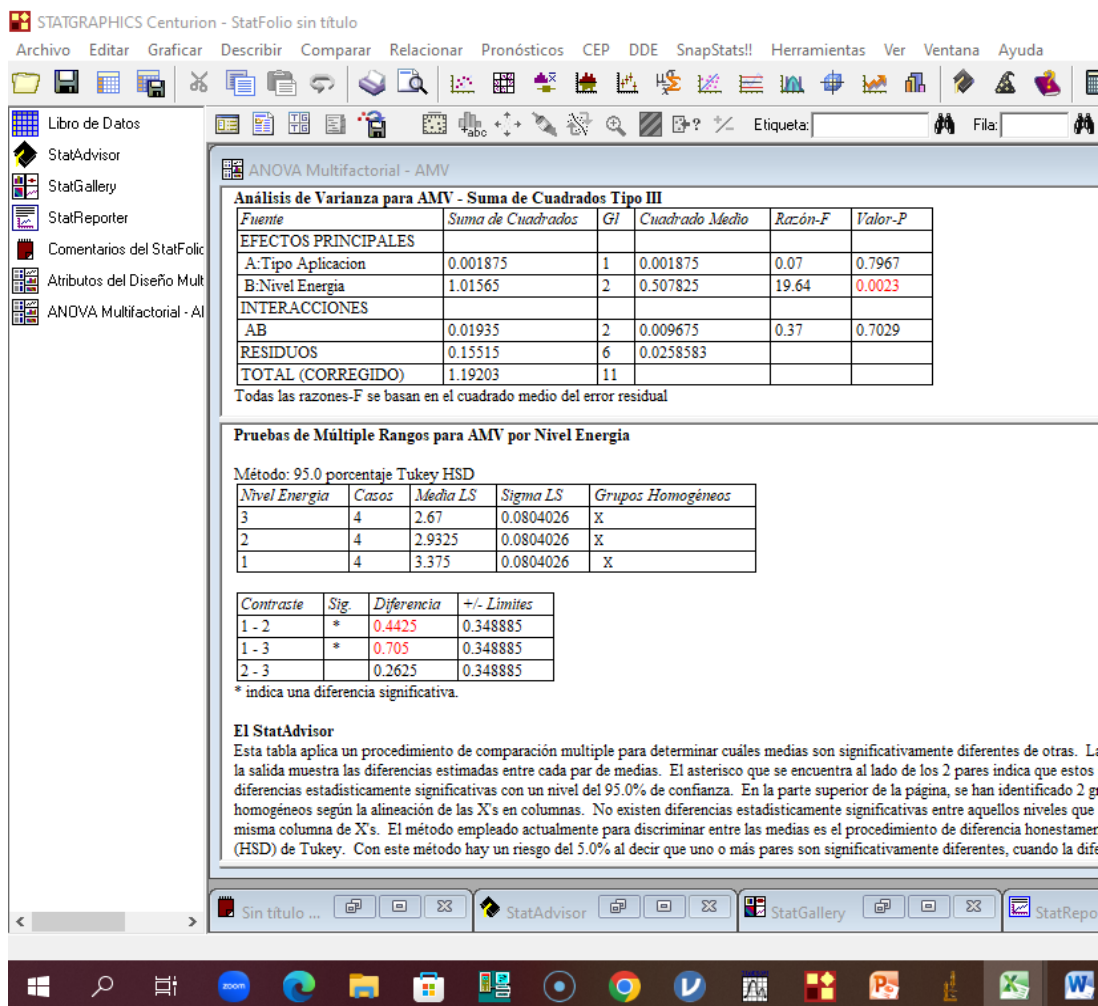
Correo: contacto@microservilab.com

Cel: 949019545

ANEXO 03. ANALISIS ESTADISTICO OBJETIVO ESPECIFICO 01

A.1. Aerobios Mesófilos Totales (AMV) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para efecto de tratamiento ultrasónico

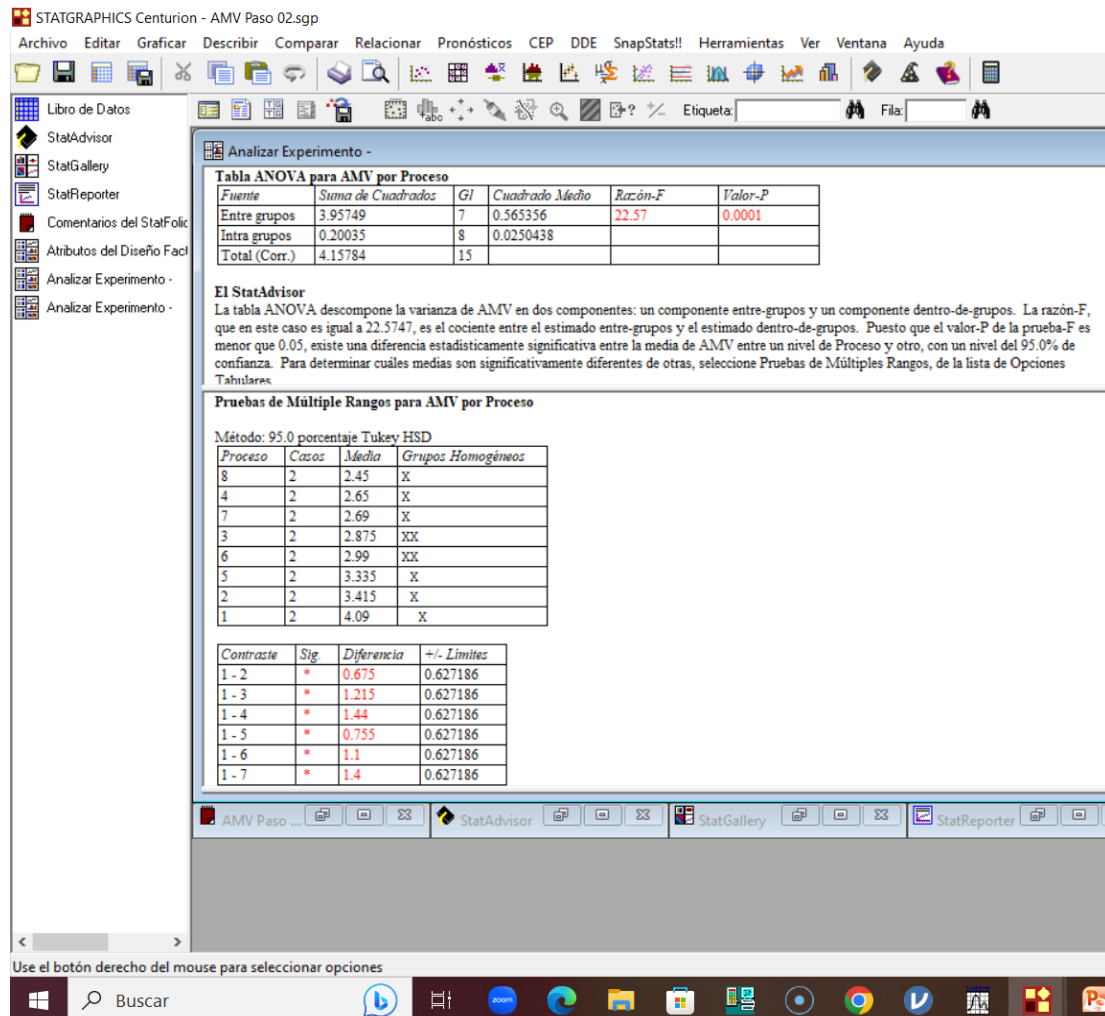


(*) Leyenda

Tipo de Aplicación de UAP	Nivel de Energía de Proceso
1= Continua	1= 0.1 kJ/mL
2= Pulsada	2= 0.3 kJ/mL
	3= 0.5 kJ/mL

A.2. Aerobios Mesófilos Totales (AMV) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para determinar diferencias entre muestras con tratamiento ultrasónico y muestras de leche cruda y pasteurizada



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso Pulsado a 0.1 kJ/mL
2= Proceso Continuo a 0.1 kJ/ml	6= Proceso Pulsado a 0.3 kJ/mL
3= Proceso Continuo a 0.3 kJ/ml	7= Proceso Pulsado a 0.5 kJ/mL
4= Proceso Continuo a 0.5 kJ/ml	8= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)

B.1. Coliformes Totales (CT) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para efecto de tratamiento ultrasónico

STATGRAPHICS Centurion - StatFolio sin título

Archivo Editar Graficar Describir Comparar Relacionar Pronósticos CEP DDE SnapStats! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos StatAdvisor StatGallery StatReporter Comentarios del StatFolio Atributos del Diseño Mult ANOVA Multifactorial - C

ANOVA Multifactorial - CT

Análisis de Varianza para CT - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo Aplicacion	0.003675	1	0.003675	0.09	0.7773
B:Nivel Energia	3.93665	2	1.96833	46.89	0.0002
INTERACCIONES					
AB	0.01145	2	0.005725	0.14	0.8751
RESIDUOS	0.25185	6	0.041975		
TOTAL (CORREGIDO)	4.20362	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para CT por Nivel Energia

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel Energia	Cacos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	4	1.12	0.102439	X
2	4	2.1125	0.102439	X
1	4	2.475	0.102439	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Limites
1 - 2		0.3625	0.444506
1 - 3	*	1.355	0.444506
2 - 3	*	0.9925	0.444506

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es

Sin título ... StatAdvisor StatGallery StatReporter

(*) Leyenda

Tipo de Aplicación de UAP	Nivel de Energía de Proceso
1= Continua	1= 0.1 kJ/mL
2= Pulsada	2= 0.3 kJ/mL
	3= 0.5 kJ/mL

B.2. Coliformes Totales (CT) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para determinar diferencias entre muestras con tratamiento ultrasónico y muestras de leche cruda y pasteurizada

STATGRAPHICS Centurion - StatFolio sin título

Archivo Editar Graficar Describir Comparar Relacionar Pronósticos CEP DDE SnapStats! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos StatAdvisor StatGallery StatReporter Comentarios del StatFolio Atributos del Diseño Facilitador ANOVA Simple - CT por Proceso

ANOVA Simple - CT por Proceso

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	21.7127	7	3.10181	93.18	0.0000
Intra grupos	0.2663	8	0.0332875		
Total (Corr.)	21.979	15			

El StatAdvisor
La tabla ANOVA descompone la varianza de CT en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 93.1826, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de CT entre un nivel de Proceso y otro, con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos para CT por Proceso

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Proceso	Casos	Media	Grupos Homogéneos
8	2	-1.0	X
7	2	1.09	X
4	2	1.15	X
6	2	2.065	X
3	2	2.16	XX
2	2	2.45	XX
5	2	2.5	XX
1	2	2.865	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.415	0.723082
1 - 3		0.705	0.723082
1 - 4	*	1.715	0.723082
1 - 5		0.365	0.723082
1 - 6	*	0.8	0.723082
1 - 7	*	1.775	0.723082

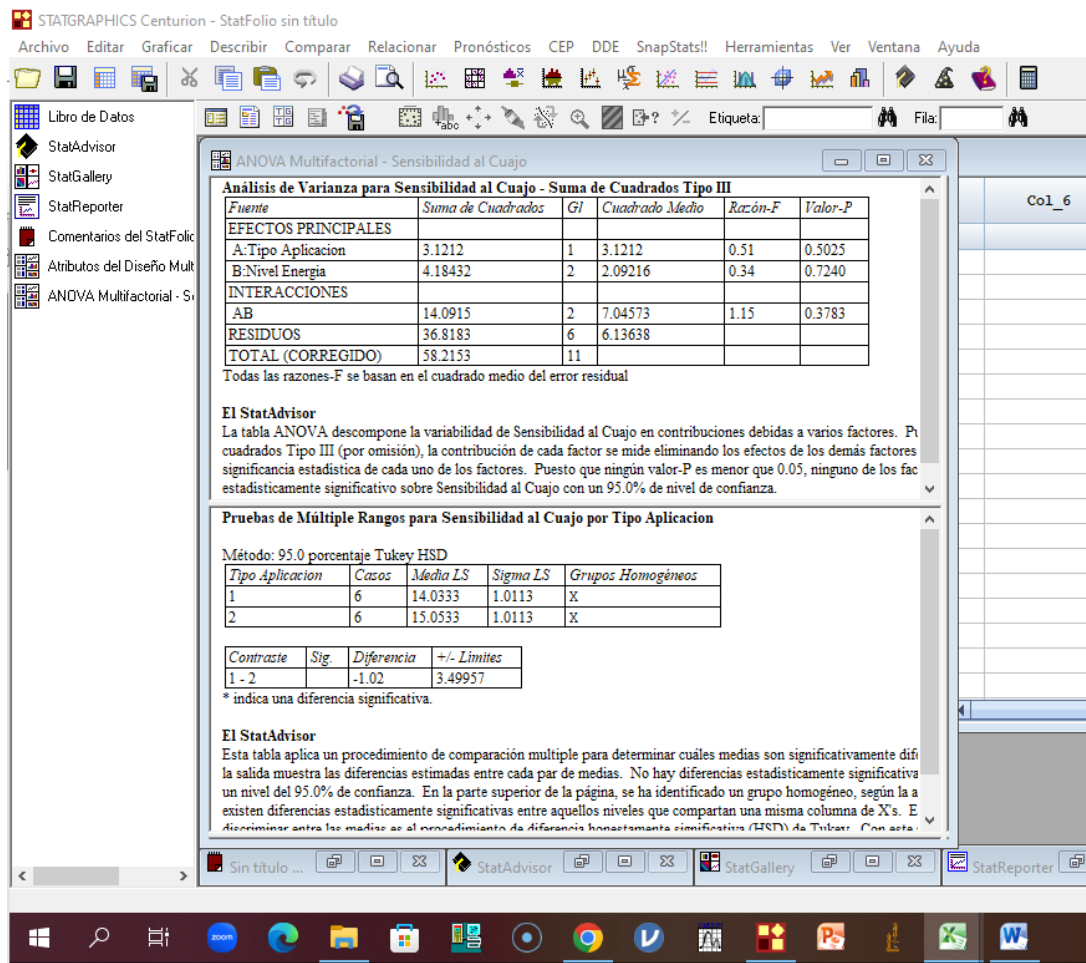
Sin título ... StatAdvisor StatGallery StatReporter

(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso Pulsado a 0.1 kJ/mL
2= Proceso Continuo a 0.1 kJ/ml	6= Proceso Pulsado a 0.3 kJ/mL
3= Proceso Continuo a 0.3 kJ/ml	7= Proceso Pulsado a 0.5 kJ/mL
4= Proceso Continuo a 0.5 kJ/ml	8= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)

C.1 Acidez Titulable (% Ácido Láctico) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para efecto de tratamiento ultrasónico

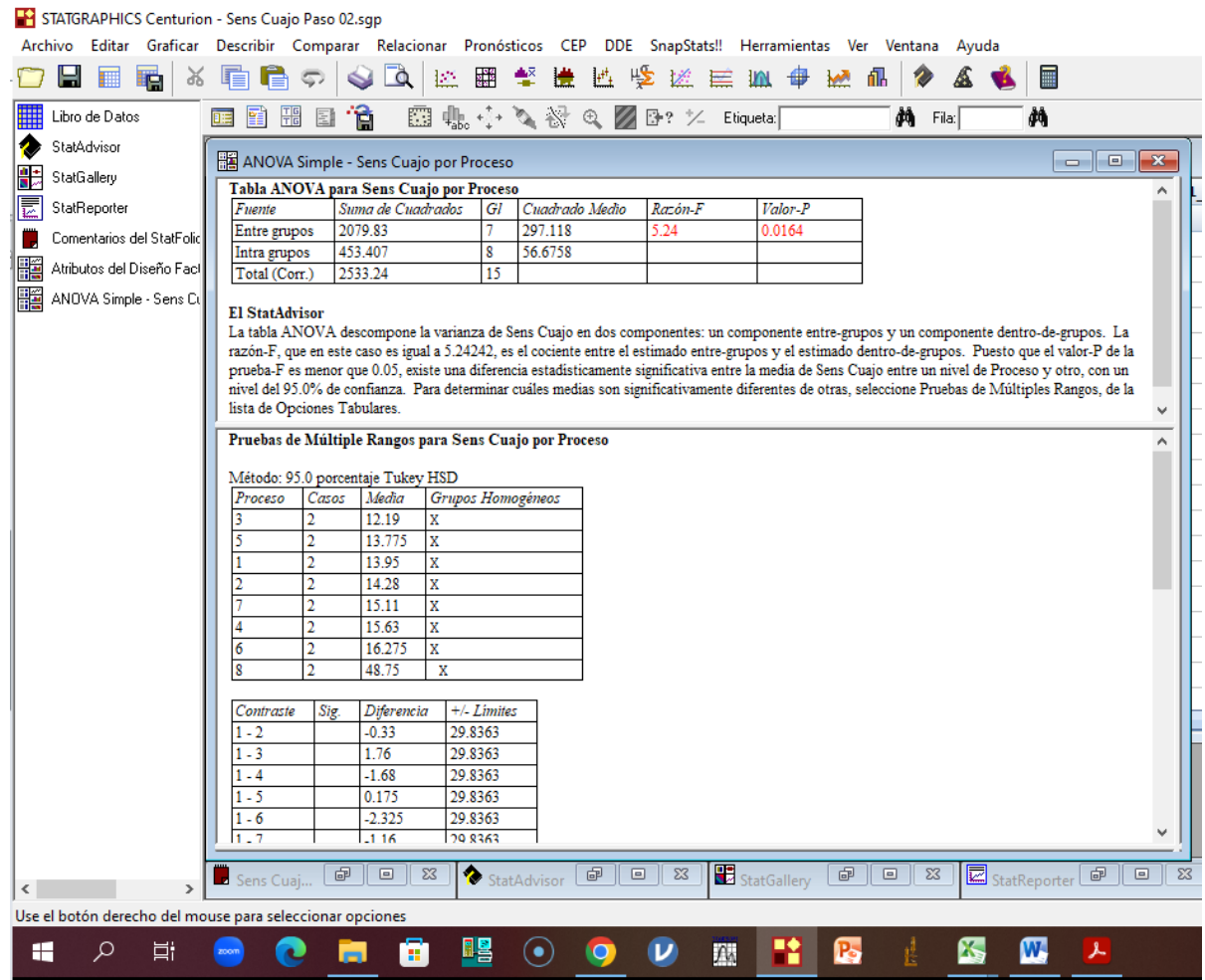


(*) Leyenda

Tipo de Aplicación de UAP	Nivel de Energía de Proceso
1= Continua	1= 0.1 kJ/mL
2= Pulsada	2= 0.3 kJ/mL
	3= 0.5 kJ/mL

C.2. Acidez Titulable (% Ácido Láctico) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para determinar diferencias entre muestras con tratamiento ultrasónico y muestras de leche cruda y pasteurizada

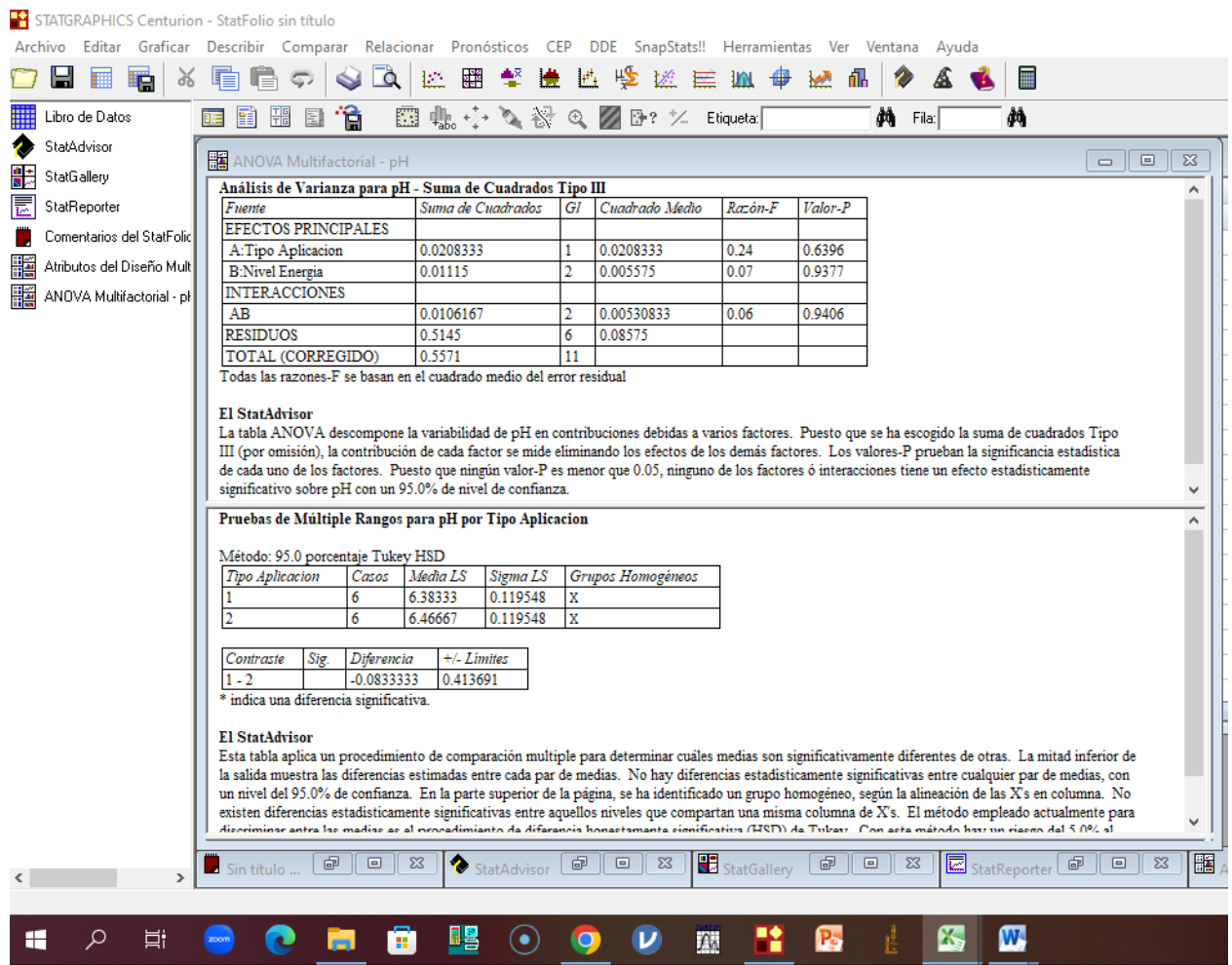


(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso Pulsado a 0.1 kJ/mL
2= Proceso Continuo a 0.1 kJ/ml	6= Proceso Pulsado a 0.3 kJ/mL
3= Proceso Continuo a 0.3 kJ/ml	7= Proceso Pulsado a 0.5 kJ/mL
4= Proceso Continuo a 0.5 kJ/ml	8= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)

D.1. pH (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para efecto de tratamiento ultrasónico



(*) Leyenda

Tipo de Aplicación de UAP	Nivel de Energía de Proceso
1= Continua	1= 0.1 kJ/mL
2= Pulsada	2= 0.3 kJ/mL
	3= 0.5 kJ/mL

D.2. pH (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para determinar diferencias entre muestras con tratamiento ultrasónico y muestras de leche cruda y pasteurizada

STATGRAPHICS Centurion - StatFolio sin título

Archivo Editar Graficar Describir Comparar Relacionar Pronósticos CEP DDE SnapStats! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos StatAdvisor StatGallery StatReporter Comentarios del StatFolio Atributos del Diseño Fact ANOVA Simple - pH por Proceso

ANOVA Simple - pH por Proceso

Tabla ANOVA para pH por Proceso

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0913937	7	0.0130562	0.19	0.9802
Intra grupos	0.55835	8	0.0697938		
Total (Corr.)	0.649744	15			

El StatAdvisor
La tabla ANOVA descompone la varianza de pH en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.187069, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de pH entre un nivel de Proceso y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Proceso

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Proceso	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	2	6.315	X
1	2	6.37	X
2	2	6.38	X
5	2	6.44	X
4	2	6.455	X
7	2	6.48	X
6	2	6.48	X
8	2	6.575	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.01	1.04702
1 - 3		0.055	1.04702
1 - 4		-0.085	1.04702
1 - 5		-0.07	1.04702
1 - 6		-0.11	1.04702
1 - 7		-0.11	1.04702
1 - 8		-0.205	1.04702

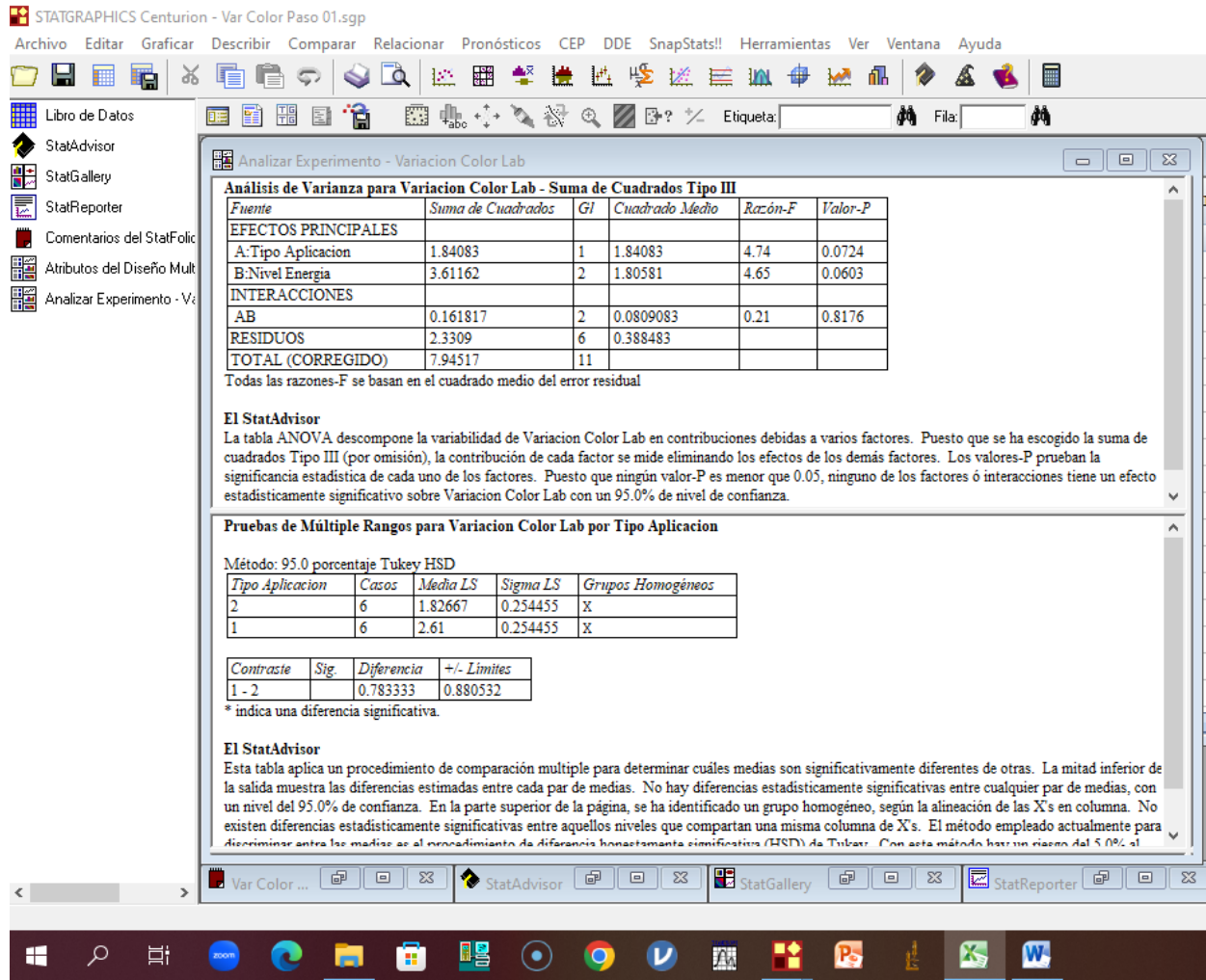
Sin título ... StatAdvisor StatGallery StatReporter

(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso Pulsado a 0.1 kJ/mL
2= Proceso Continuo a 0.1 kJ/ml	6= Proceso Pulsado a 0.3 kJ/mL
3= Proceso Continuo a 0.3 kJ/ml	7= Proceso Pulsado a 0.5 kJ/mL
4= Proceso Continuo a 0.5 kJ/ml	8= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)

E.1. Variación de Color CIEL*a*b* (ΔE) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para efecto de tratamiento ultrasónico

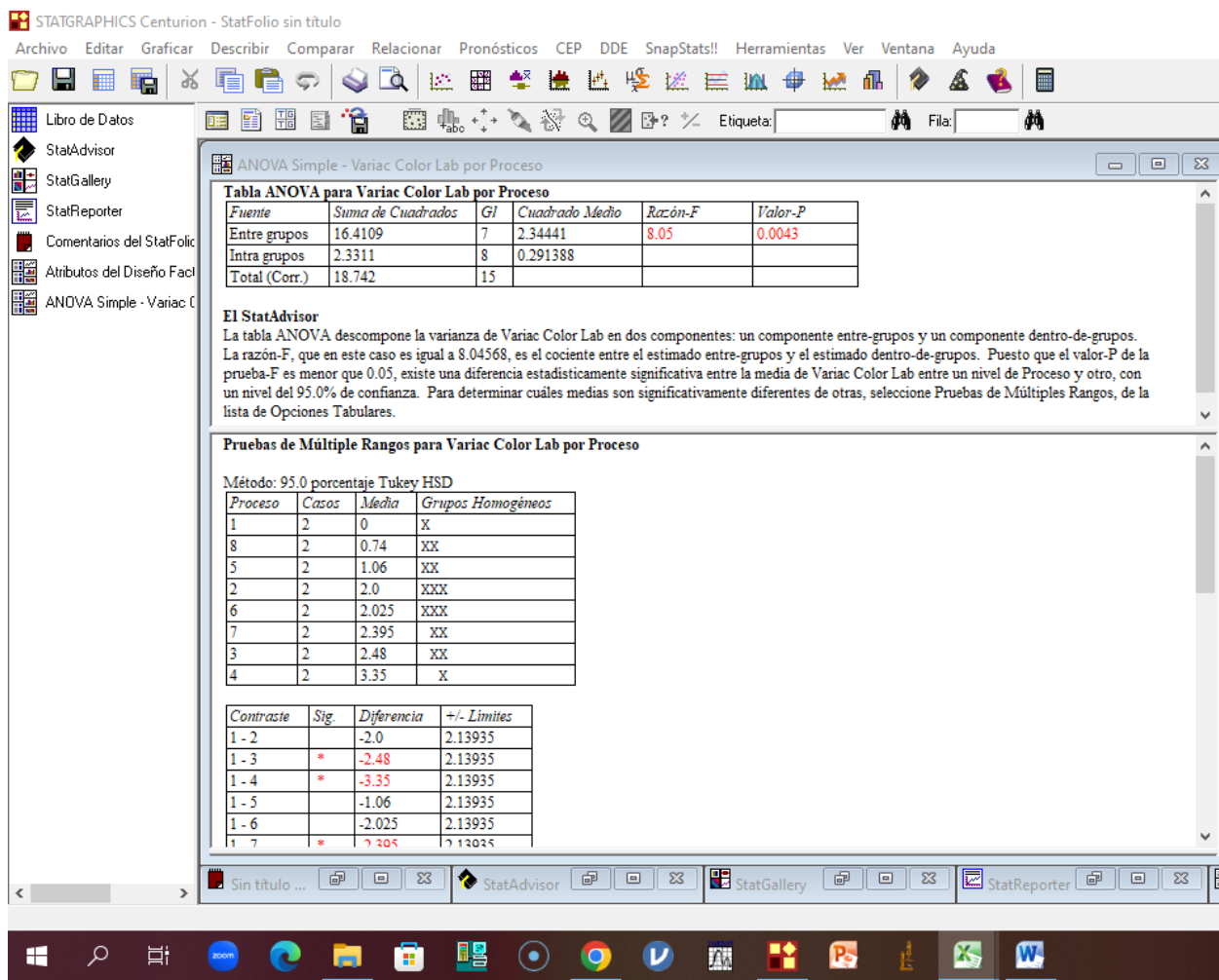


(*) Leyenda

Tipo de Aplicación de UAP	Energía de Proceso
1 Continua	1 0.1 kJ/mL
2 Pulsada	2 0.3 kJ/mL
	3 0.5 kJ/mL

E.2. Variación de Color CIEL*a*b* (ΔE) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para determinar diferencias entre muestras con tratamiento ultrasónico y muestras de leche cruda y pasteurizada

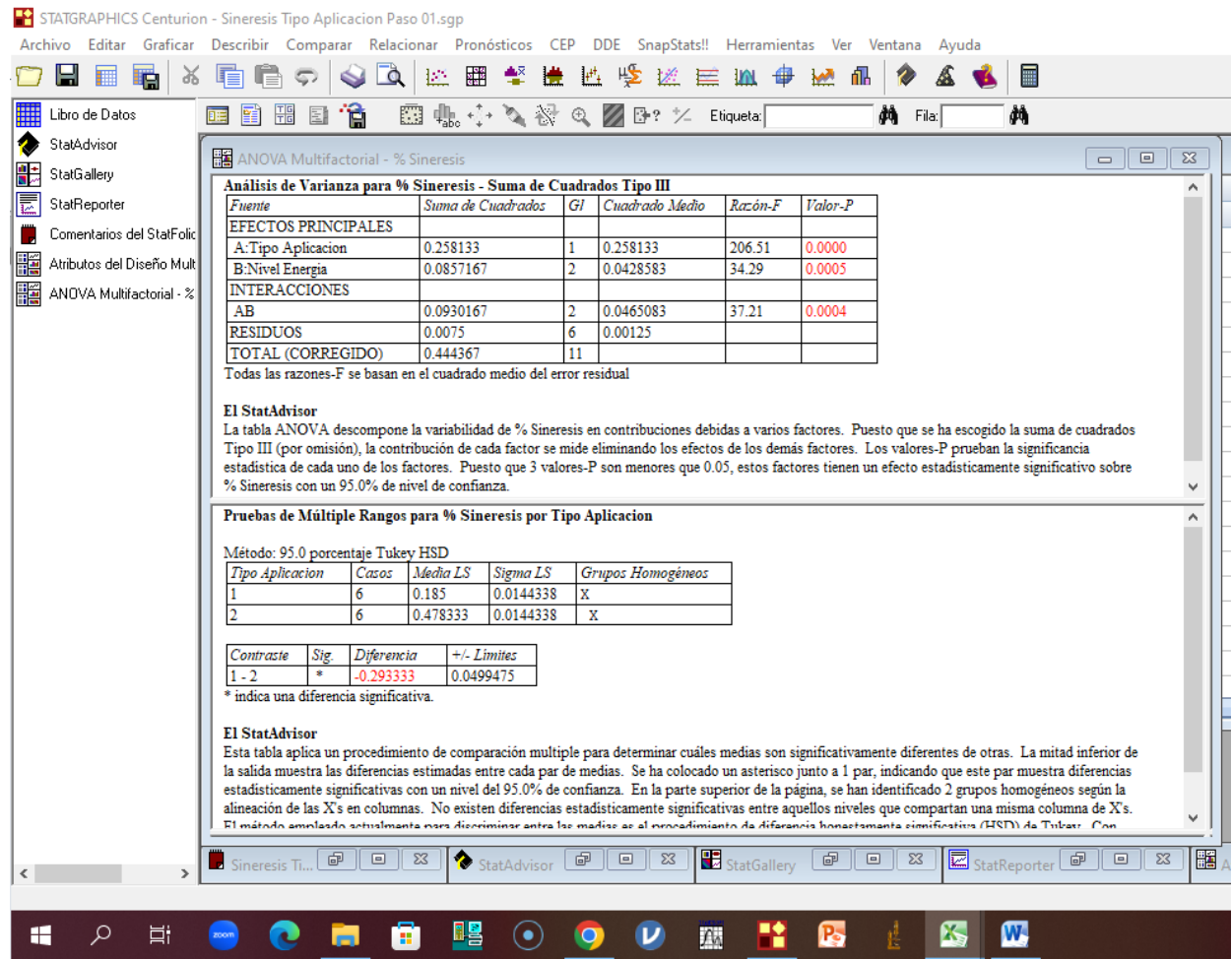


(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso Pulsado a 0.1 kJ/mL
2= Proceso Continuo a 0.1 kJ/ml	6= Proceso Pulsado a 0.3 kJ/mL
3= Proceso Continuo a 0.3 kJ/ml	7= Proceso Pulsado a 0.5 kJ/mL
4= Proceso Continuo a 0.5 kJ/ml	8= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)

F.1. % de Sinéresis de Sólidos (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para efecto de tratamiento ultrasónico

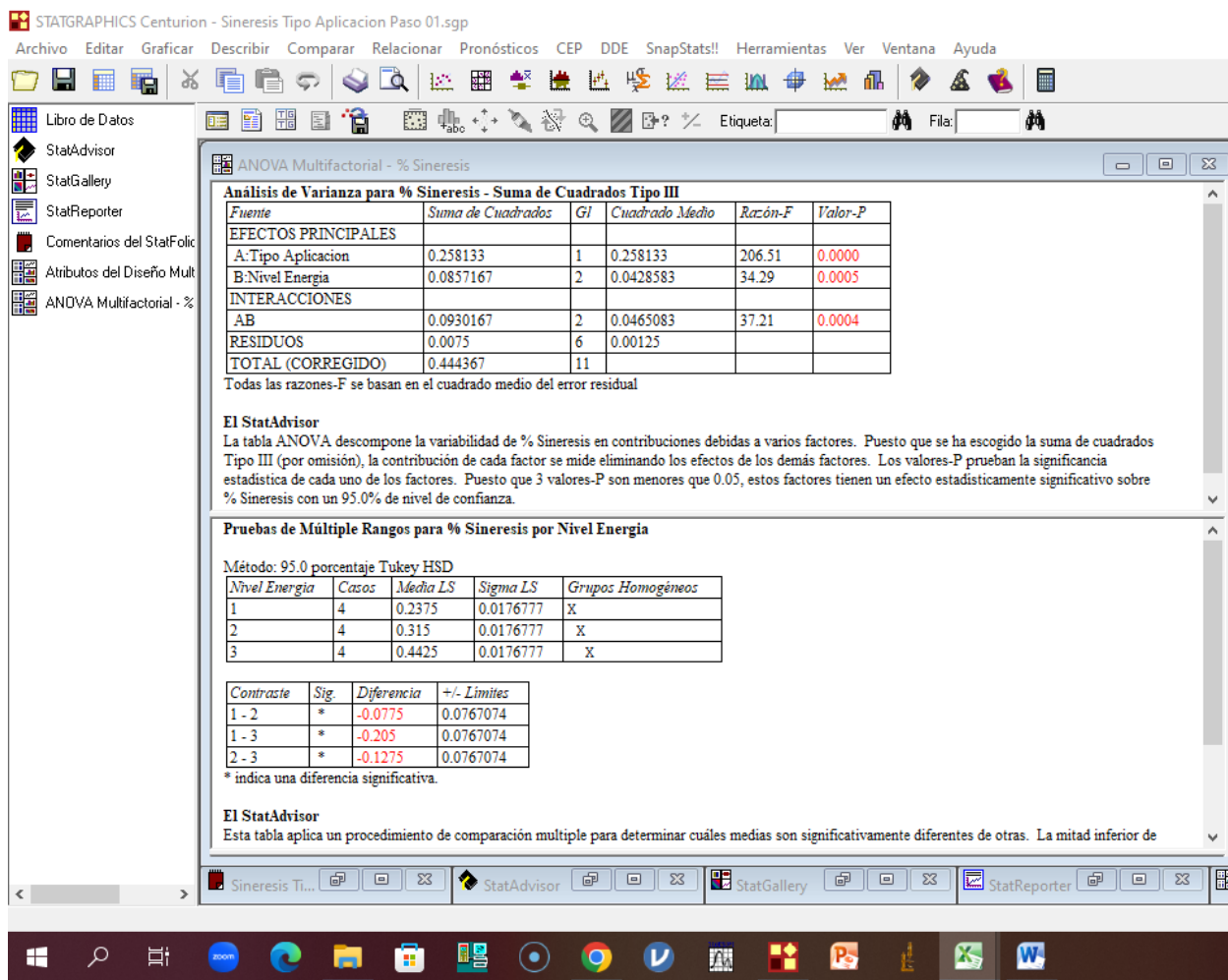


(*) Leyenda

Tipo de Aplicación de UAP	Energía de Proceso
1 Continua	1 0.1 kJ/mL
2 Pulsada	2 0.3 kJ/mL
	3 0.5 kJ/mL

F.2. % de Sinéresis de Sólidos (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para determinar diferencias entre muestras con tratamiento ultrasónico y muestras de leche cruda y pasteurizada



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso Pulsado a 0.1 kJ/mL
2= Proceso Continuo a 0.1 kJ/ml	6= Proceso Pulsado a 0.3 kJ/mL
3= Proceso Continuo a 0.3 kJ/ml	7= Proceso Pulsado a 0.5 kJ/mL
4= Proceso Continuo a 0.5 kJ/ml	8= Leche Pasteurizada (65 °C por 30 min)

G.1. Viscosidad (cp) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para efecto de tratamiento ultrasónico

STATGRAPHICS Centurion - Viscosidad Paso 01.sgp

Archivo Editar Graficar Describir Comparar Relacionar Pronósticos CEP DDE SnapStats!! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos StatAdvisor StatGallery StatReporter Comentarios del StatFolio Atributos del Diseño Mult Analizar Experimento - Vi

Analizar Experimento - Viscosidad

Análisis de Varianza para Viscosidad - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo Aplicacion	0.00213333	1	0.00213333	0.00	0.9495
B:Nivel Energia	0.04635	2	0.023175	0.05	0.9542
INTERACCIONES					
AB	0.0815167	2	0.0407583	0.08	0.9213
RESIDUOS	2.9414	6	0.490233		
TOTAL (CORREGIDO)	3.0714	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor
La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Viscosidad en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que ningún valor-P es menor que 0.05, ninguno de los factores o interacciones tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Viscosidad con un 95.0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para Viscosidad por Tipo Aplicacion

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Tipo Aplicacion	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	6	5.52667	0.285842	X
1	6	5.55333	0.285842	X

Contraste	Sig	Diferencia	+/- Limites
1 - 2		0.0266667	0.989146

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor
Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre los medios es el procedimiento de diferencias honestamente significativas (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al

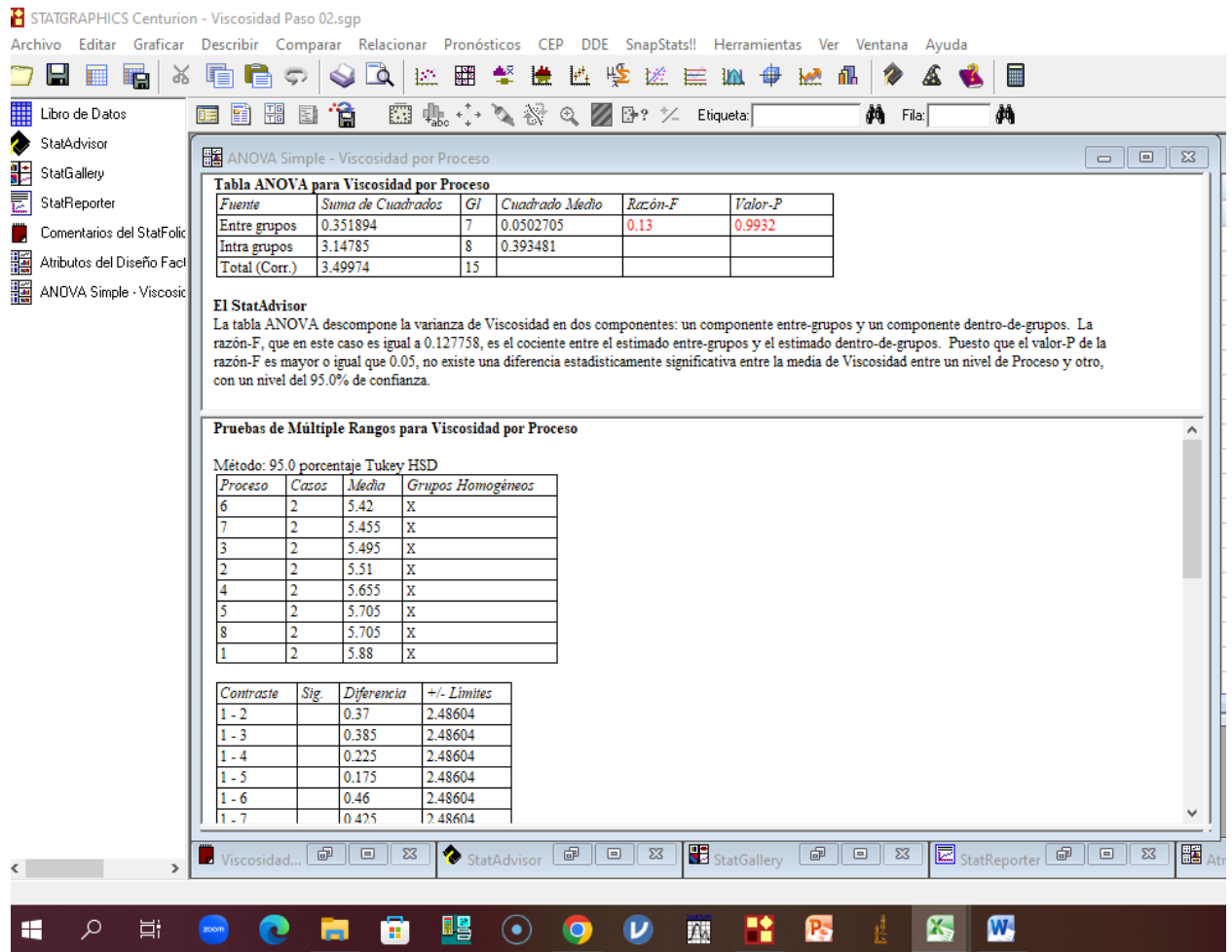
Viscosidad... StatAdvisor StatGallery StatReporter

(*) Leyenda

Tipo de Aplicación de UAP	Energía de Proceso
1 Continua	1 0.1 kJ/mL
2 Pulsada	2 0.3 kJ/mL
	3 0.5 kJ/mL

G.2. Viscosidad (cp) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para determinar diferencias entre muestras con tratamiento ultrasónico y muestras de leche cruda y pasteurizada

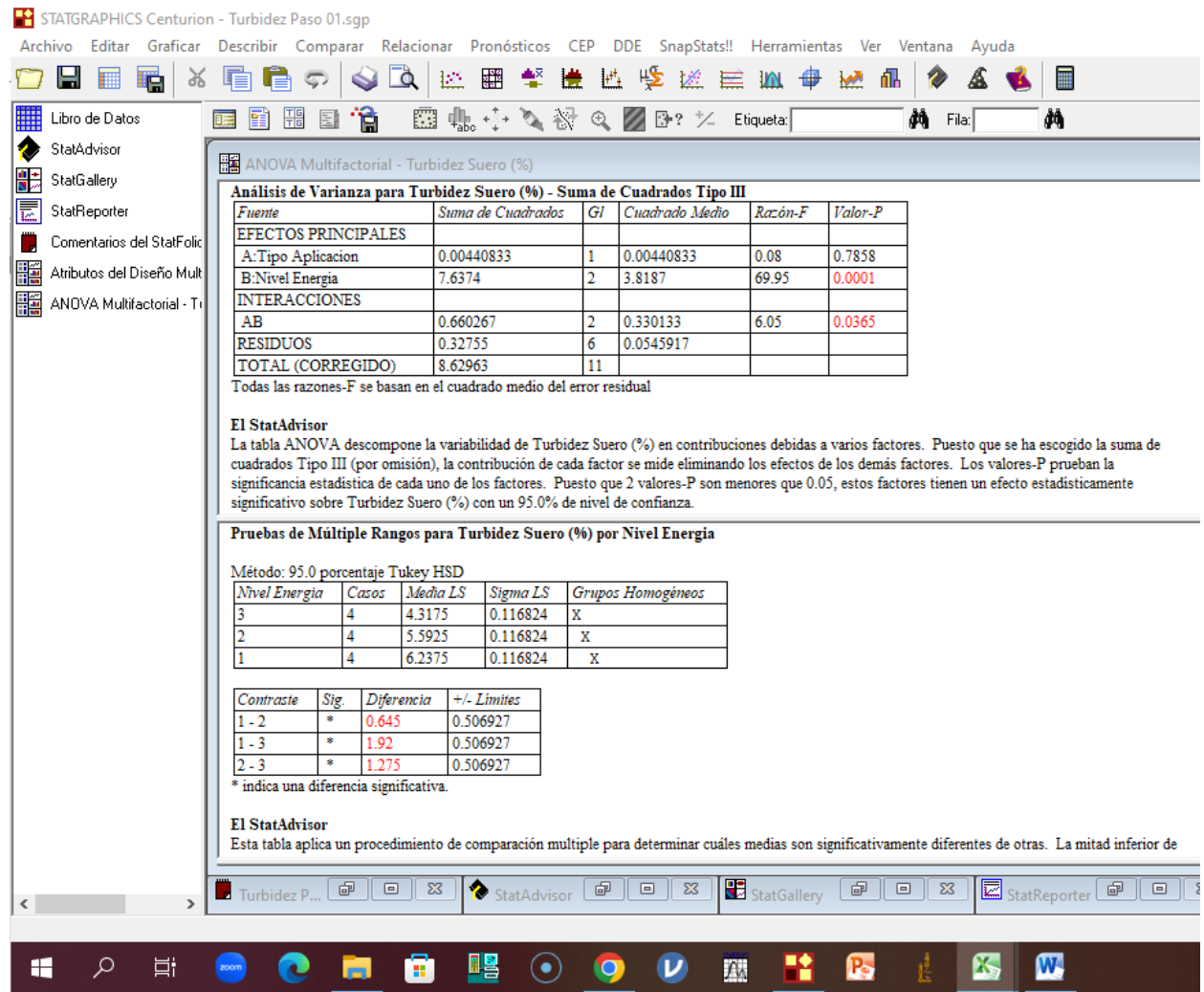


(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso Pulsado a 0.1 kJ/mL
2= Proceso Continuo a 0.1 kJ/ml	6= Proceso Pulsado a 0.3 kJ/mL
3= Proceso Continuo a 0.3 kJ/ml	7= Proceso Pulsado a 0.5 kJ/mL
4= Proceso Continuo a 0.5 kJ/ml	8= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)

H.1. Turbidez de Suero (% de Sedimento en volumen) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para efecto de tratamiento ultrasónico

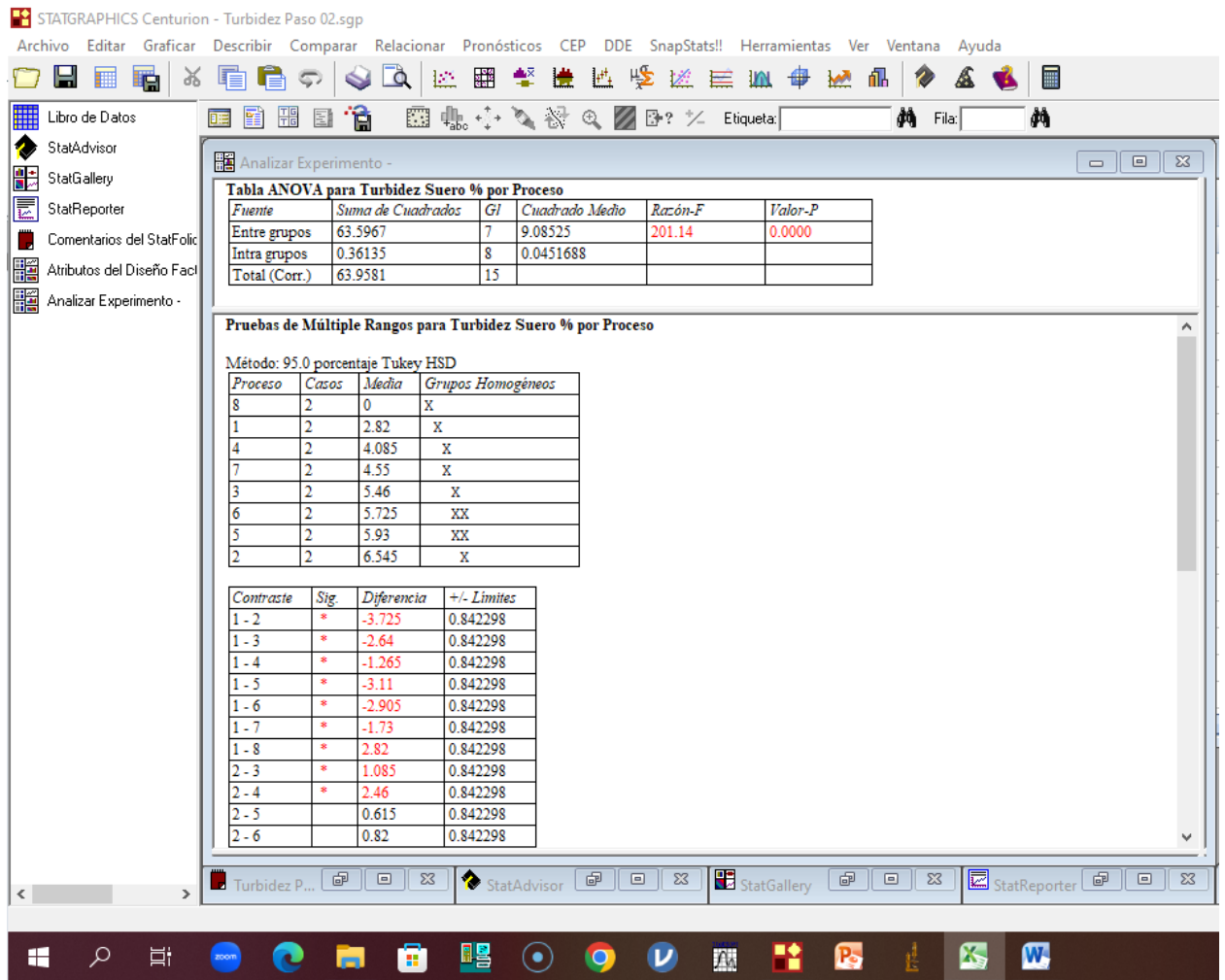


(*) Leyenda

Tipo de Aplicación de UAP	Energía de Proceso
1 Continua	1 0.1 kJ/mL
2 Pulsada	2 0.3 kJ/mL
	3 0.5 kJ/mL

H.2. Turbidez de Suero (% de Sedimento en volumen) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para determinar diferencias entre muestras con tratamiento ultrasónico y muestras de leche cruda y pasteurizada

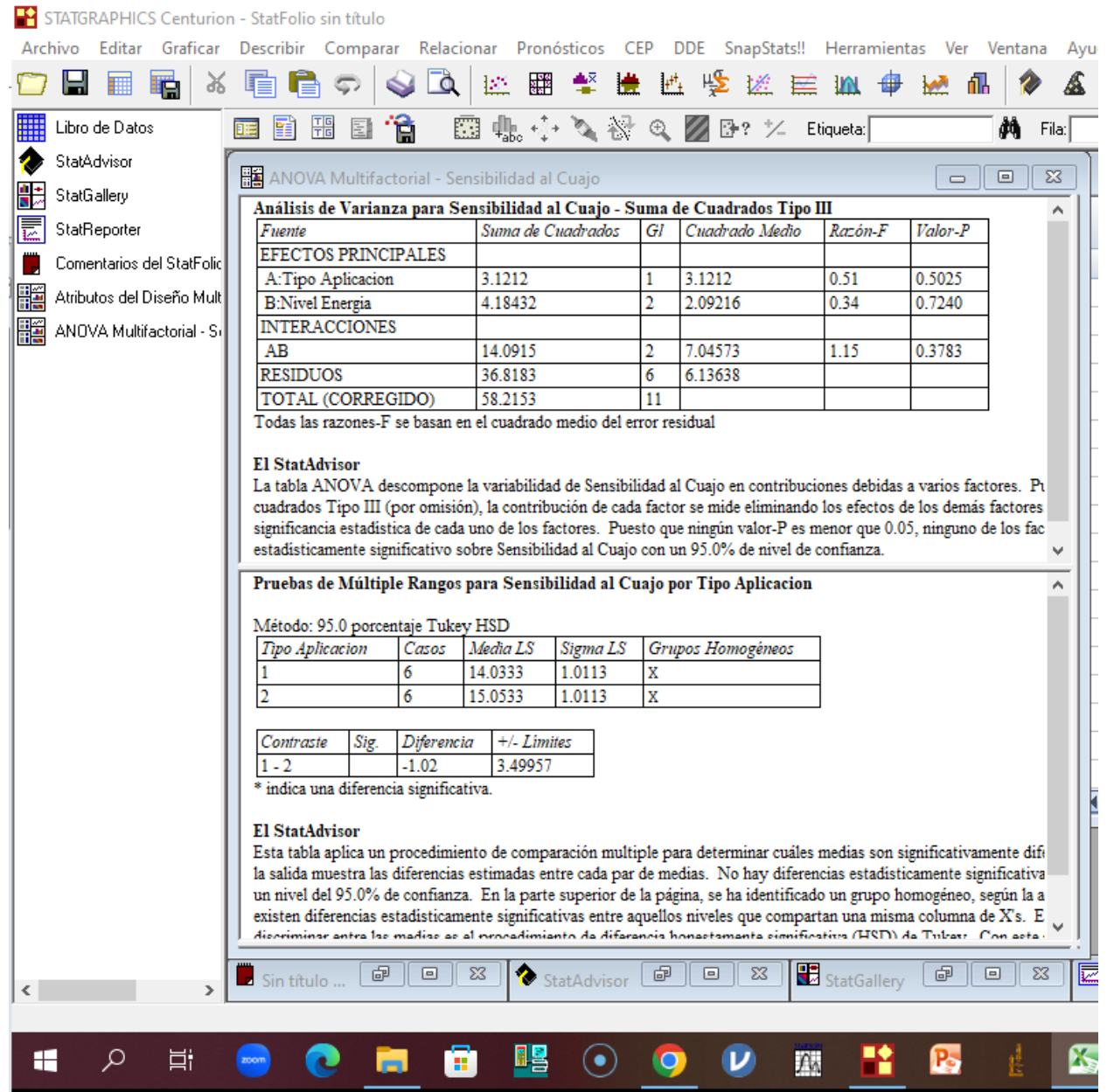


(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso Pulsado a 0.1 kJ/mL
2= Proceso Continuo a 0.1 kJ/ml	6= Proceso Pulsado a 0.3 kJ/mL
3= Proceso Continuo a 0.3 kJ/ml	7= Proceso Pulsado a 0.5 kJ/mL
4= Proceso Continuo a 0.5 kJ/ml	8= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)

I.1. Sensibilidad al Cuajo (segundos para cuajado) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para efecto de tratamiento ultrasónico

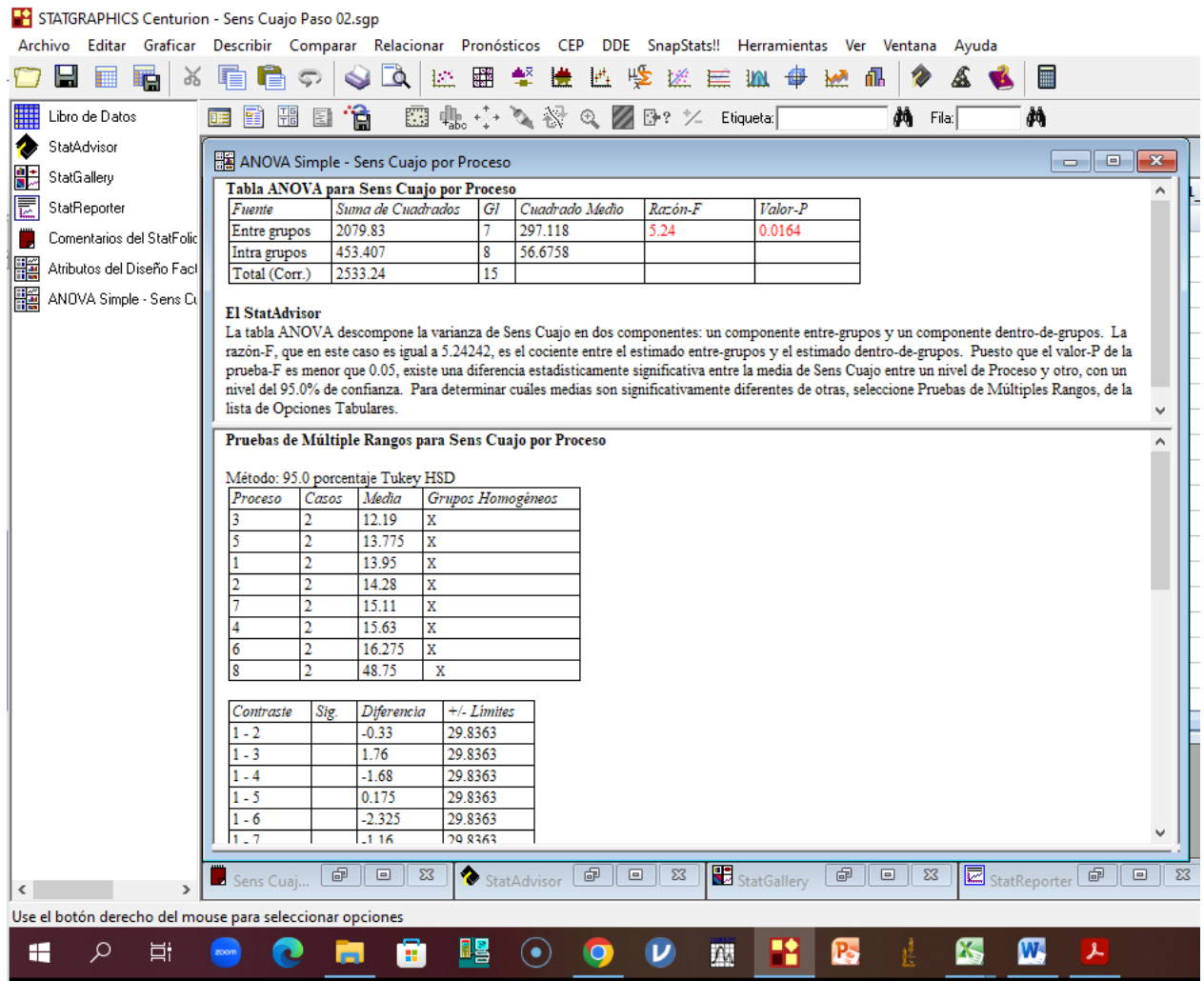


(*) Leyenda

Tipo de Aplicación de UAP	Energía de Proceso
1 Continua	1 0.1 kJ/mL
2 Pulsada	2 0.3 kJ/mL
	3 0.5 kJ/mL

I.2. Sensibilidad al Cuajo (segundos para cuajado) (*)

ANOVA y Prueba de Tukey para determinar diferencias entre muestras con tratamiento ultrasónico y muestras de leche cruda y pasteurizada

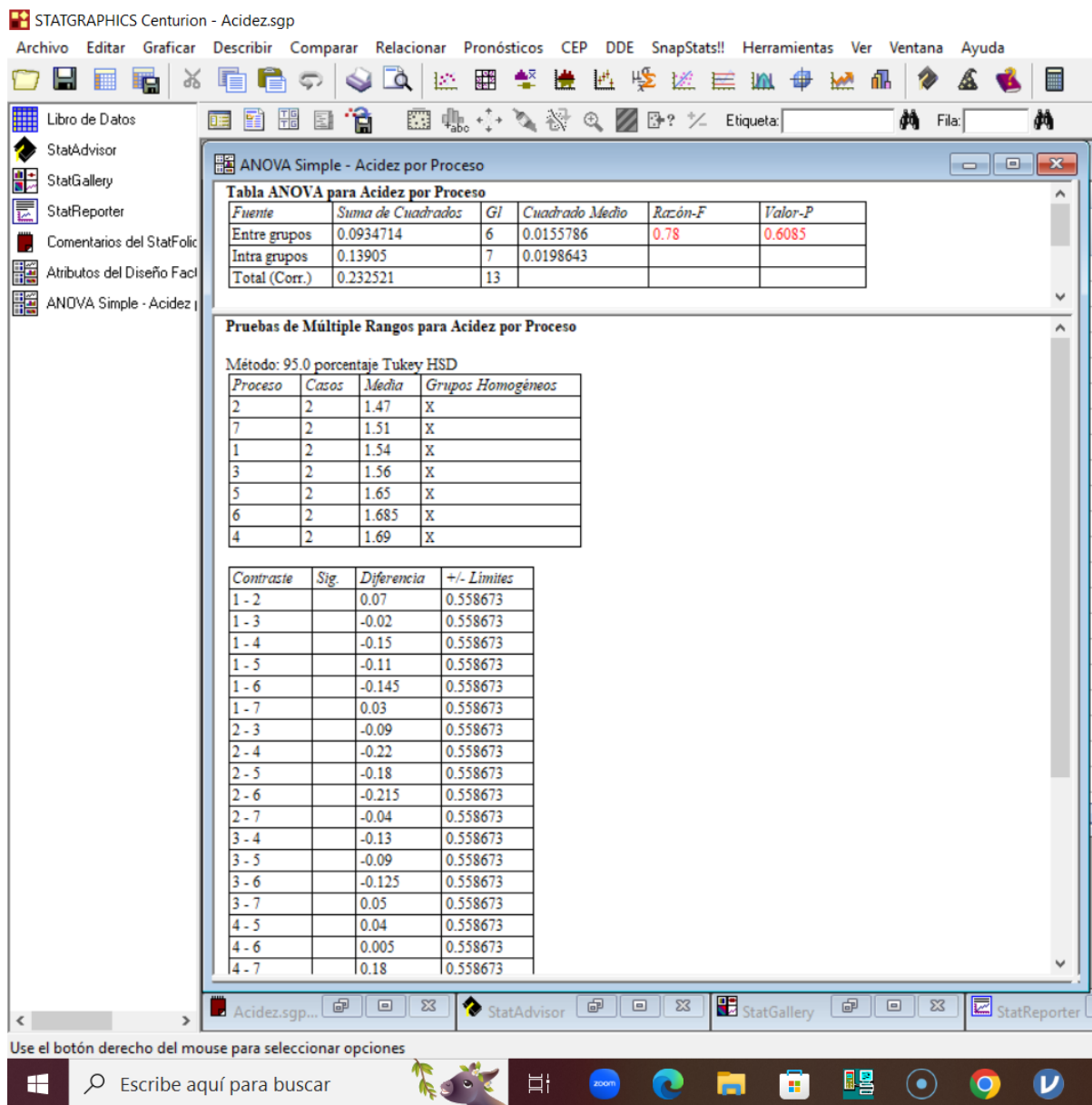


(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso Pulsado a 0.1 kJ/mL
2= Proceso Continuo a 0.1 kJ/ml	6= Proceso Pulsado a 0.3 kJ/mL
3= Proceso Continuo a 0.3 kJ/ml	7= Proceso Pulsado a 0.5 kJ/mL
4= Proceso Continuo a 0.5 kJ/ml	8= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)

ANEXO 04. ANALISIS ESTADISTICO OBJETIVO ESPECIFICO 02

A. ANOVA y Prueba de Tukey en Acidez Titulable (% Ácido Láctico) (*)



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso 55 °C
2= Proceso 40 °C	6= Proceso 60 °C
3= Proceso 45 °C	7= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)
4= Proceso 50 °C	

B. ANOVA y Prueba de Tukey en pH (*)

STATGRAPHICS Centurion - StatFolio sin título

Archivo Editar Graficar Describir Comparar Relacionar Pronósticos CEP DDE SnapStats!! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos StatAdvisor StatGallery StatReporter Comentarios del StatFolio Atributos del Diseño Facilitador ANOVA Simple - pH por l

ANOVA Simple - pH por Proceso

Tabla ANOVA para pH por Proceso

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.5052	6	0.0842	6.42	0.0137
Intra grupos	0.0918	7	0.0131143		
Total (Corr.)	0.597	13			

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Proceso

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Proceso	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	2	5.27	X
7	2	5.445	XX
3	2	5.455	XX
1	2	5.495	XX
4	2	5.615	XX
6	2	5.79	X
5	2	5.85	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.225	0.453935
1 - 3		0.04	0.453935
1 - 4		-0.12	0.453935
1 - 5		-0.355	0.453935
1 - 6		-0.295	0.453935
1 - 7		0.05	0.453935
2 - 3		-0.185	0.453935
2 - 4		-0.345	0.453935
2 - 5	*	-0.58	0.453935
2 - 6	*	-0.52	0.453935
2 - 7		-0.175	0.453935
3 - 4		-0.16	0.453935
3 - 5		-0.395	0.453935
3 - 6		-0.335	0.453935
3 - 7		0.01	0.453935
4 - 5		-0.235	0.453935
4 - 6		-0.175	0.453935
4 - 7		0.17	0.453935
5 - 6		0.06	0.453935
5 - 7		0.015	0.453935
6 - 7		0.065	0.453935

Use el botón derecho del mouse para seleccionar opciones

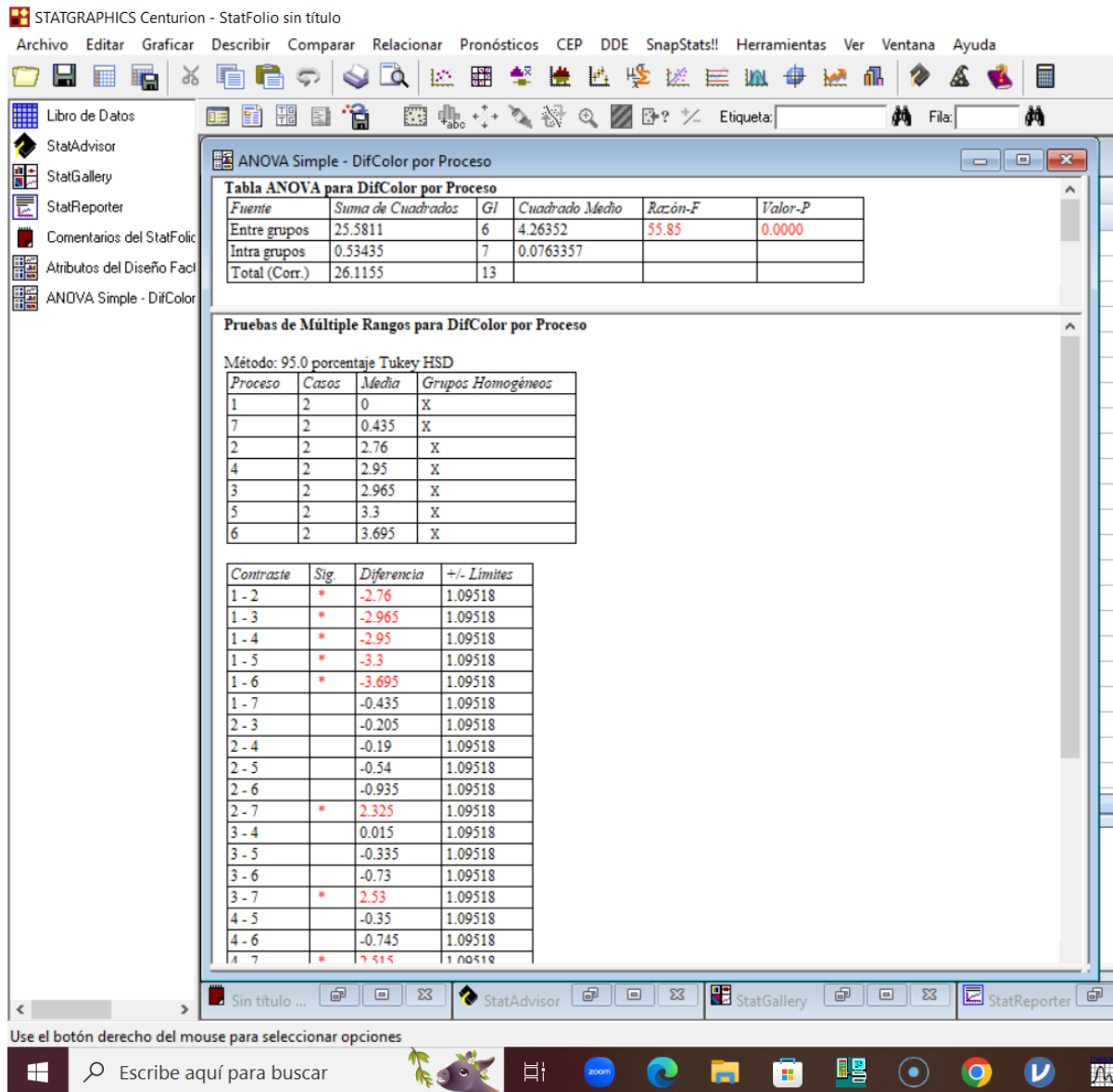
Sin título ... StatAdvisor StatGallery StatReporter

Escribe aquí para buscar

(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso 55 °C
2= Proceso 40 °C	6= Proceso 60 °C
3= Proceso 45 °C	7= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)
4= Proceso 50 °C	

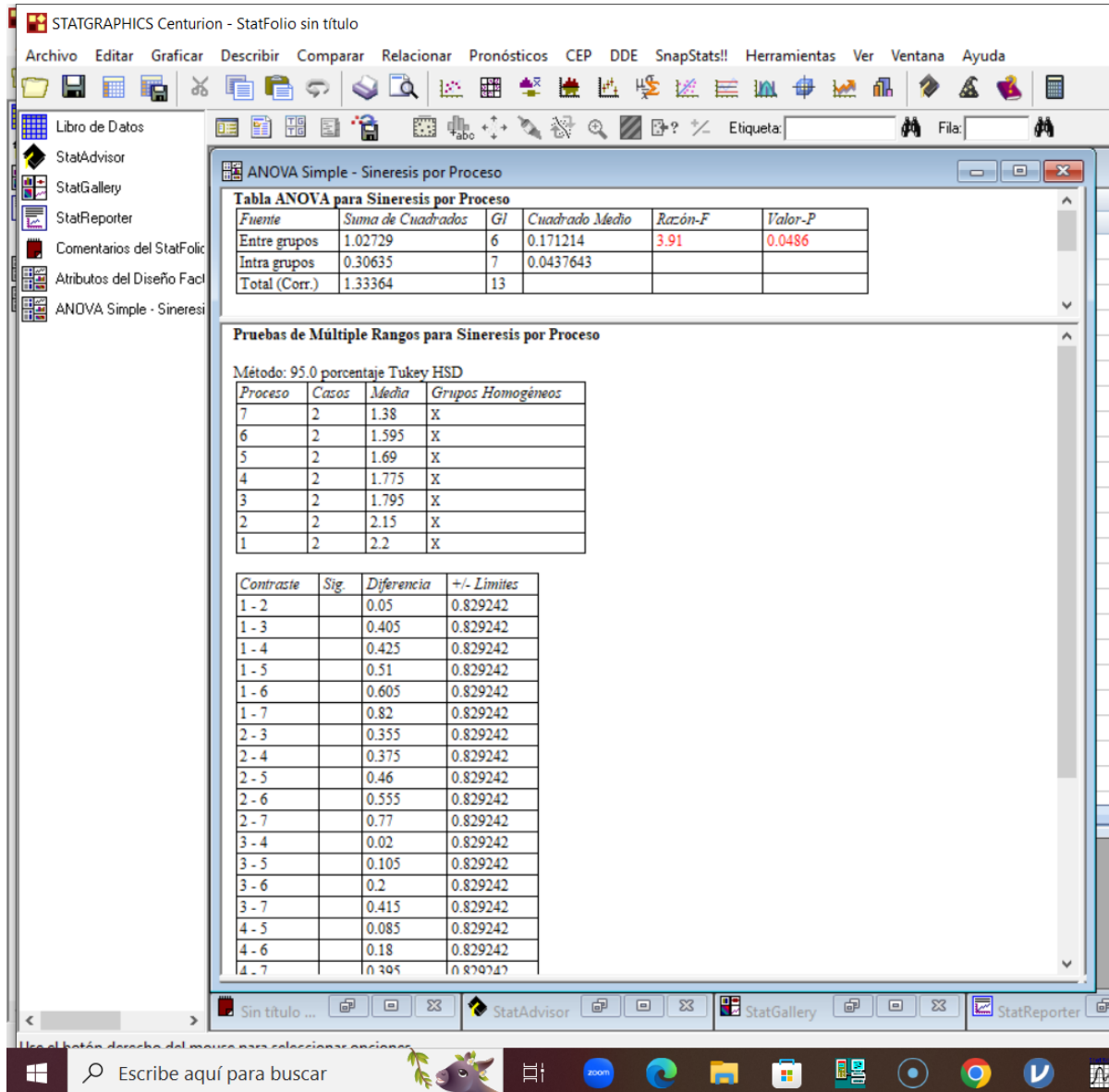
C. ANOVA y Prueba de Tukey en Diferencia de Color CIEL*a*b* (ΔE) (*)



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso 55 °C
2= Proceso 40 °C	6= Proceso 60 °C
3= Proceso 45 °C	7= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)
4= Proceso 50 °C	

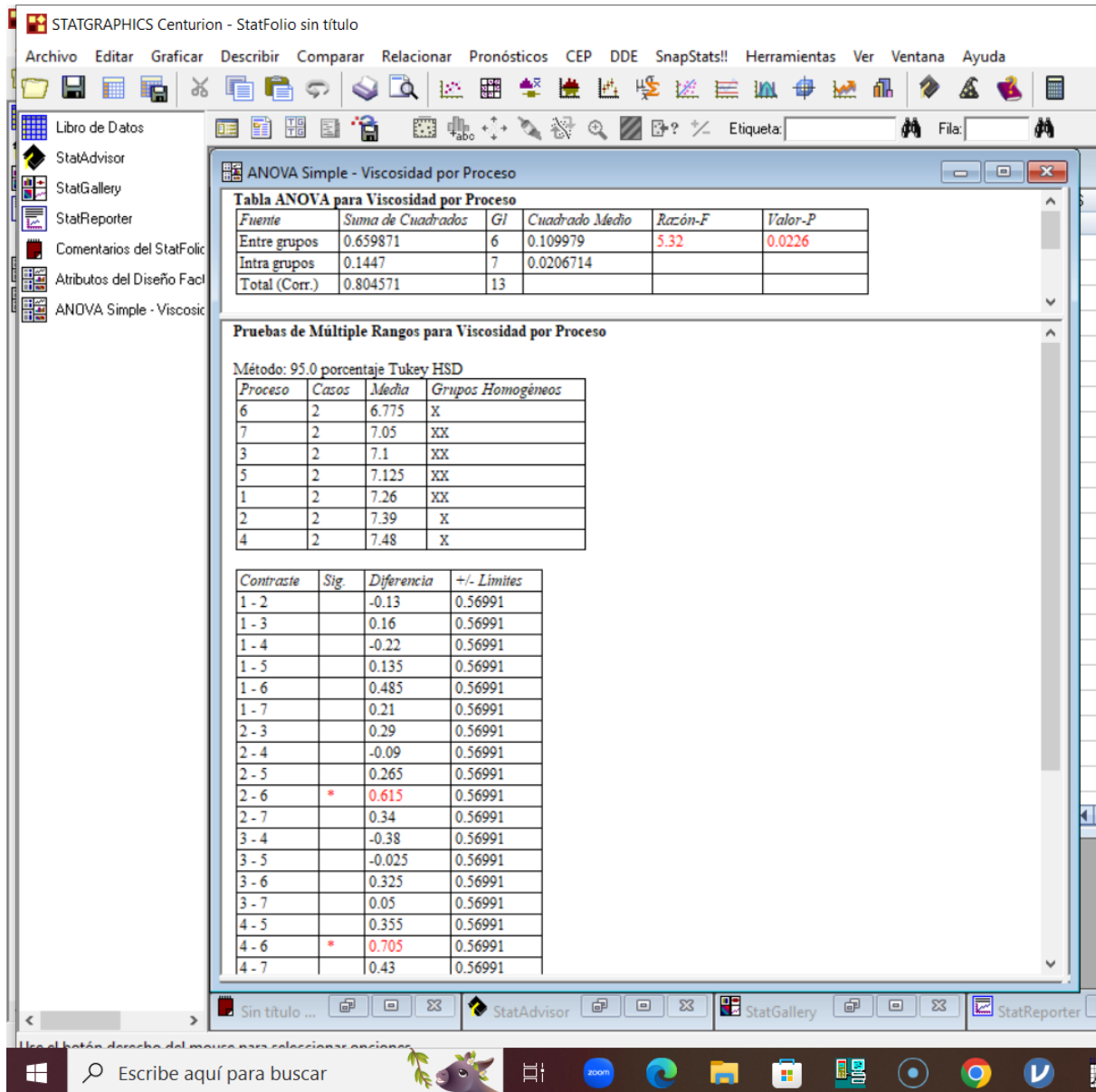
D. ANOVA y Prueba de Tukey por proceso en Sinéresis de Sólidos (% de volumen) (*)



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso 55 °C
2= Proceso 40 °C	6= Proceso 60 °C
3= Proceso 45 °C	7= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)
4= Proceso 50 °C	

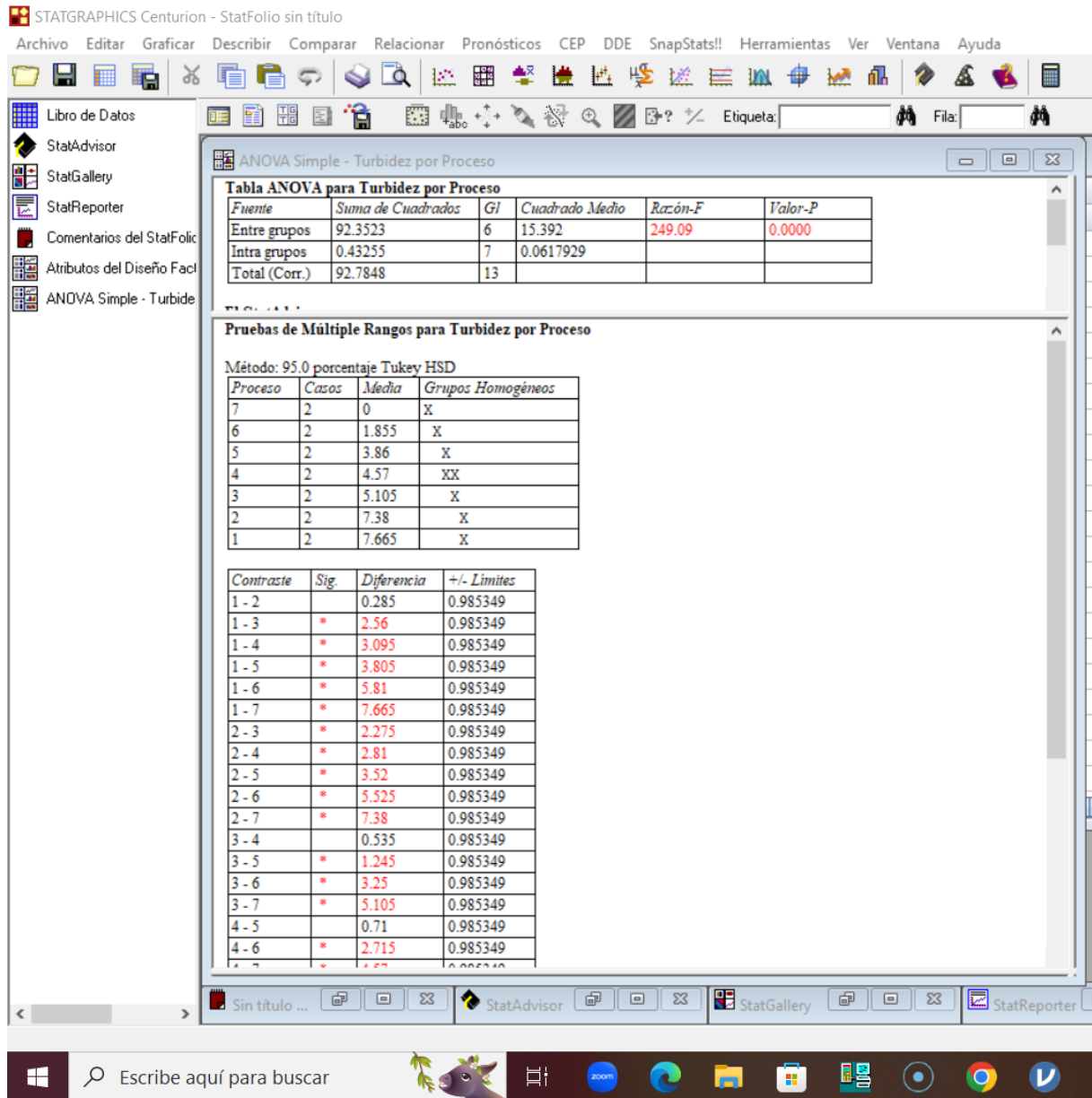
E. ANOVA y Prueba de Tukey de viscosidad (cp) (*)



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso 55 °C
2= Proceso 40 °C	6= Proceso 60 °C
3= Proceso 45 °C	7= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)
4= Proceso 50 °C	

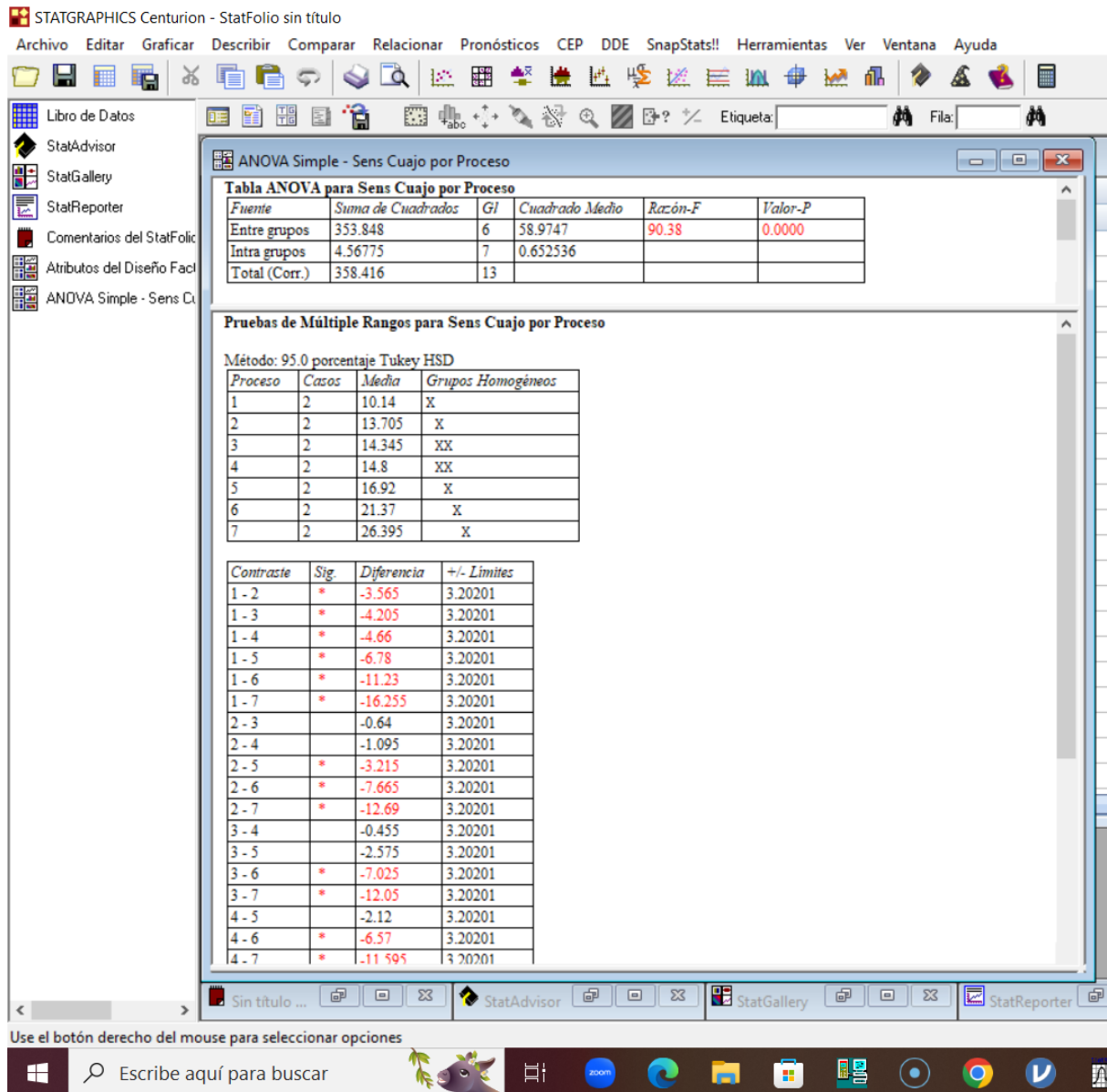
F. ANOVA y Prueba de Tukey de Turbidez (% sedimento en volumen) (*)



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso 55 °C
2= Proceso 40 °C	6= Proceso 60 °C
3= Proceso 45 °C	7= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)
4= Proceso 50 °C	

G. ANOVA y Prueba de Tukey de sensibilidad al cuajo (*)

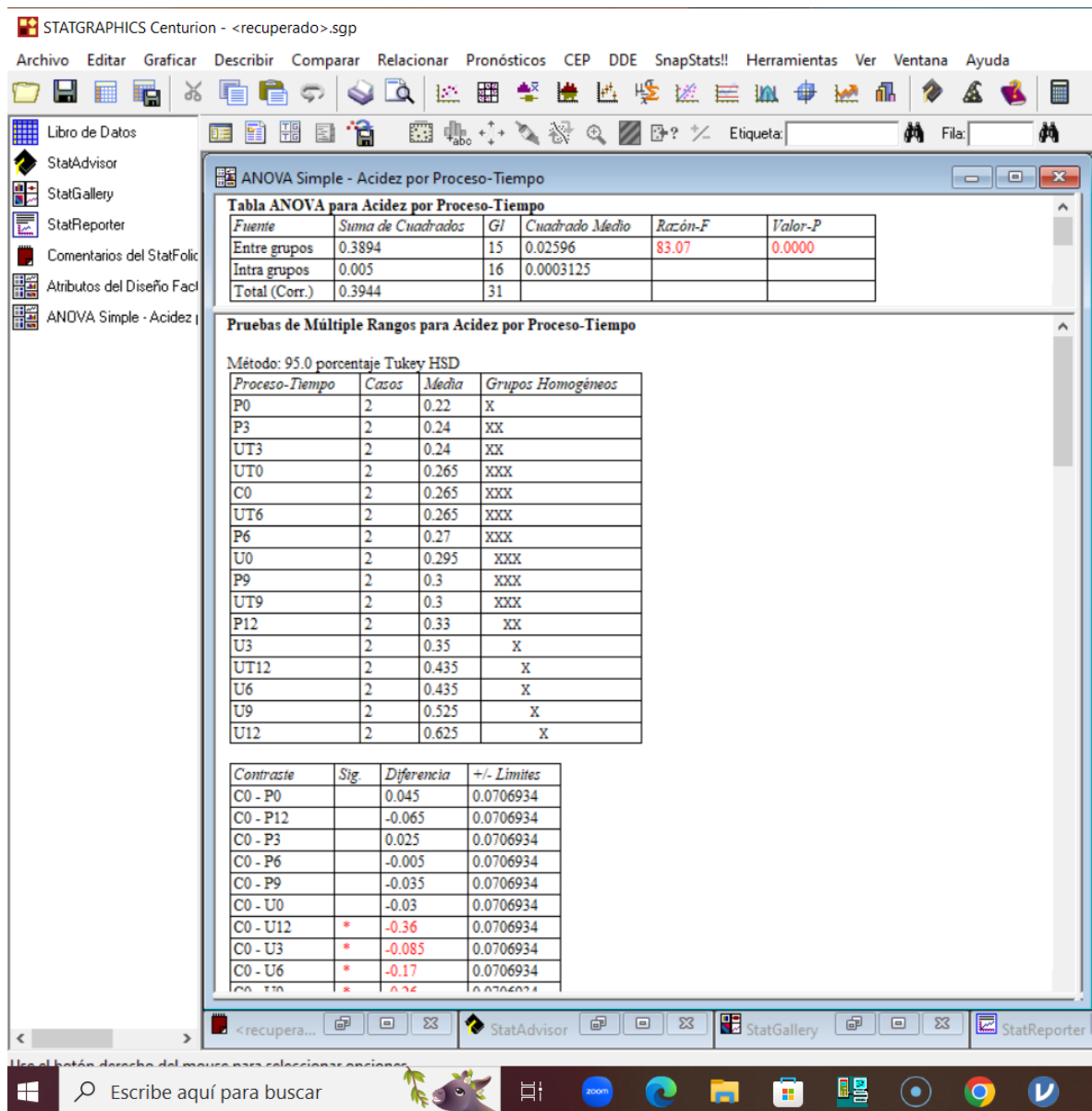


(*) Leyenda

Tipo de Proceso	
1= Leche Cruda	5= Proceso 55 °C
2= Proceso 40 °C	6= Proceso 60 °C
3= Proceso 45 °C	7= Leche Pasterizada (65 °C por 30 min)
4= Proceso 50 °C	

ANEXO 05. ANALISIS ESTADISTICO OBJETIVO ESPECIFICO 03

A. ANOVA y Prueba de Tukey en Acidez Titulable (% Ácido Láctico) (*)

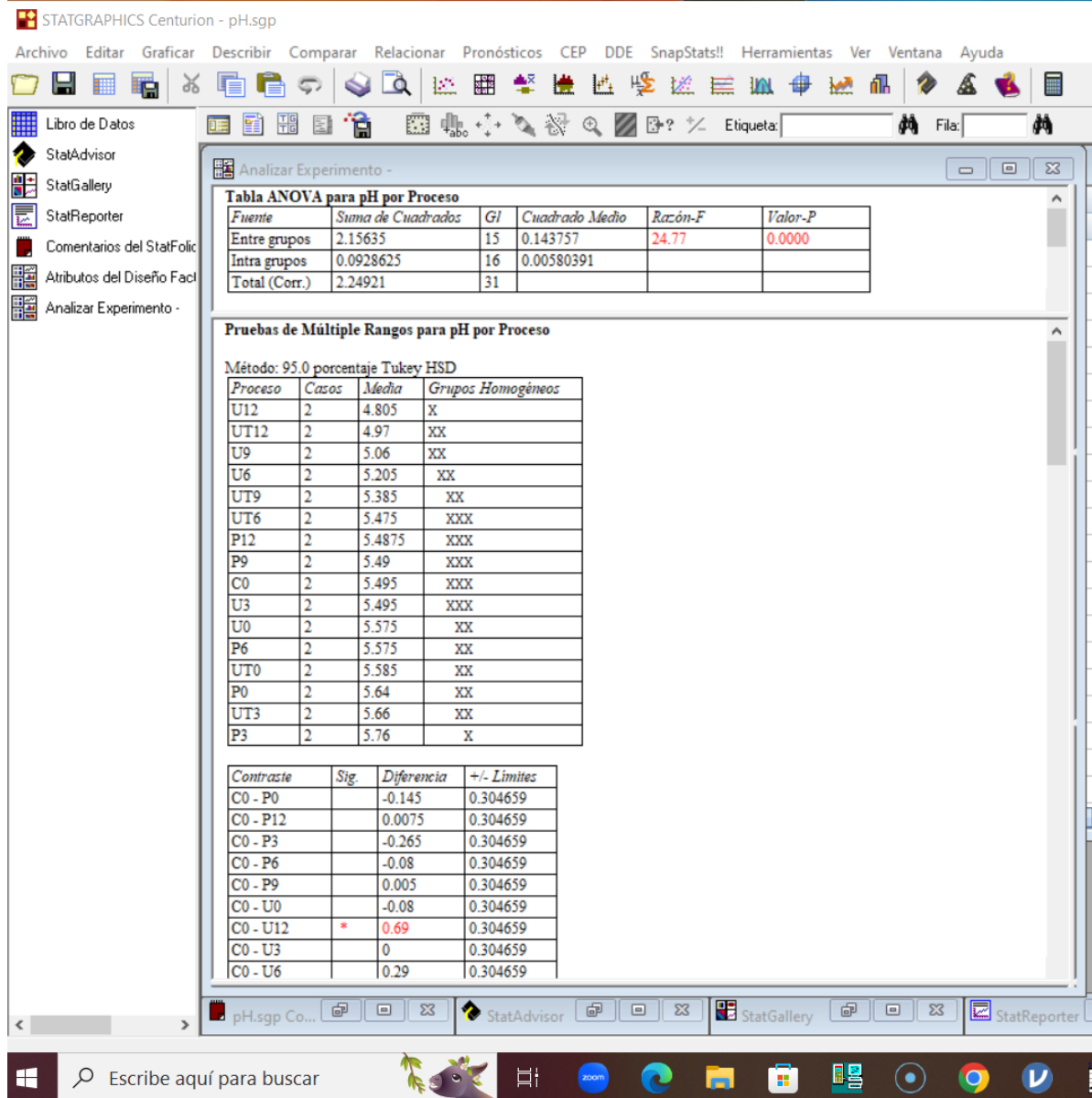


(*) Leyenda

Tipo de Proceso	Días de Almacenamiento a 5 °C
C Leche Cruda	0 días
U Leche sonicada (0.5 kJ/mL)	3 días
UT Leche sonicada con TT 60 °C por 10 min	6 días
P Leche pasteurizada (65°C por 30 min)	9 días

12 días

B. ANOVA y Prueba de Tukey en pH (*)



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	Días de Almacenamiento a 5 °C
C Leche Cruda	0 días
U Leche sonicada (0.5 kJ/mL)	3 días
UT Leche sonicada con TT 60 °C por 10 min	6 días

P Leche pasteurizada (65°C por 30 min)	9 días
	12 días

C. ANOVA y Prueba de Tukey en Diferencia de Color CIEL*a*b* (ΔE) (*)

STATGRAPHICS Centurion - StatFolio sin título

Archivo Editar Graficar Describir Comparar Relacionar Pronósticos CEP DDE SnapStats!! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos StatAdvisor StatGallery StatReporter Comentarios del StatFolio Atributos del Diseño Fact ANOVA Simple - DifColor

ANOVA Simple - DifColor por Proceso

Tabla ANOVA para DifColor por Proceso

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	35.0552	15	2.33701	102.71	0.0000
Intra grupos	0.36405	16	0.0227531		
Total (Corr.)	35.4192	31			

Pruebas de Múltiple Rangos para DifColor por Proceso

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Proceso	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C0	2	0	X
P12	2	0.3	XX
U12	2	0.485	XX
P3	2	0.555	XX
P9	2	0.655	X
P6	2	0.68	X
P0	2	0.72	X
U9	2	0.8	X
U6	2	2.13	X
UT12	2	2.425	XX
UT3	2	2.55	XX
UT9	2	2.59	XX
UT0	2	2.68	XX
U3	2	2.69	XX
U0	2	2.725	XX
UT6	2	2.77	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
C0 - P0	*	-0.72	0.603218
C0 - P12		-0.3	0.603218
C0 - P3		-0.555	0.603218
C0 - P6	*	-0.68	0.603218
C0 - P9	*	-0.655	0.603218
C0 - U0	*	-2.725	0.603218
C0 - U12		-0.485	0.603218
C0 - U3	*	-2.69	0.603218
C0 - U6	*	-2.13	0.603218

Sin título ... StatAdvisor StatGallery StatReporter

Escribe aquí para buscar

(*) Leyenda

Tipo de Proceso	Días de Almacenamiento a 5 °C
-----------------	-------------------------------

C Leche Cruda	0 días
U Leche sonicada (0.5 kJ/mL)	3 días
UT Leche sonicada con TT 60 °C por 10 min	6 días
P Leche pasteurizada (65°C por 30 min)	9 días
	12 días

D. ANOVA y Prueba de Tukey por proceso en Sinéresis de Sólidos (% de volumen) (*)

STATGRAPHICS Centurion - Sinéresis.sgp

Archivo Editar Graficar Describir Comparar Relacionar Pronósticos CEP DDE SnapStats! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos StatAdvisor StatGallery StatReporter Comentarios del StatFolio Atributos del Diseño Fact Analizar Experimento -

Analizar Experimento -

Tabla ANOVA para Sinéresis por Proceso

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7.99233	15	0.532822	6.63	0.0003
Intra grupos	1.28493	16	0.0803079		
Total (Corr.)	9.27726	31			

Pruebas de Múltiple Rangos para Sinéresis por Proceso

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Proceso	Casos	Media	Grupos Homogéneos
P3	2	0.9585	X
U3	2	1.05	X
UT0	2	1.15	XX
UT3	2	1.225	XX
P12	2	1.375	XX
P0	2	1.3915	XX
U9	2	1.4465	XX
U6	2	1.7385	XX
P9	2	1.825	XXX
UT12	2	1.8435	XXX
U0	2	1.9	XXX
P6	2	1.9	XXX
UT9	2	1.975	XXX
C0	2	2.19	XX
UT6	2	2.2335	XX
U12	2	2.93	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
C0 - P0		0.7985	1.13327
C0 - P12		0.815	1.13327
C0 - P3	*	1.2315	1.13327
C0 - P6		0.29	1.13327
C0 - P9		0.365	1.13327
C0 - U0		0.29	1.13327
C0 - U12		-0.74	1.13327
C0 - U3	*	1.14	1.13327
C0 - U6		0.4515	1.13327

Sinéresis.s... StatAdvisor StatGallery StatReporter

Escribe aquí para buscar

(*) Leyenda

Tipo de Proceso	Días de Almacenamiento a 5 °C
<i>C Leche Cruda</i>	<i>0 días</i>
<i>U Leche sonicada (0.5 kJ/mL)</i>	<i>3 días</i>
<i>UT Leche sonicada con TT 60 °C por 10 min</i>	<i>6 días</i>
<i>P Leche pasteurizada (65°C por 30 min)</i>	<i>9 días</i>
	<i>12 días</i>

E. ANOVA y Prueba de Tukey de viscosidad (cp) (*)

STATGRAPHICS Centurion - Viscosidad.sgp

Archivo Editar Graficar Describir Comparar Relacionar Pronósticos CEP DDE SnapStats! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos StatAdvisor StatGallery StatReporter Comentarios del StatFolio Atributos del Diseño Fact Analizar Experimento -

Analizar Experimento -

Tabla ANOVA para Viscosidad por Proceso

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7.13722	15	0.475815	124.70	0.0000
Intra grupos	0.06105	16	0.00381563		
Total (Corr.)	7.19827	31			

Pruebas de Múltiple Rangos para Viscosidad por Proceso

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Proceso	Casos	Media	Grupos Homogéneos
P9	2	6.025	X
P6	2	6.335	X
UT6	2	6.61	X
UT9	2	6.645	X
P3	2	6.665	X
UT3	2	6.815	X
UT12	2	7.085	X
P12	2	7.12	X
P0	2	7.155	XX
C0	2	7.27	XXX
U9	2	7.315	XXXX
UT0	2	7.375	XXX
U0	2	7.49	XXX
U6	2	7.54	XX
U12	2	7.64	X
U3	2	7.7	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
C0 - P0		0.115	0.247022
C0 - P12		0.15	0.247022
C0 - P3	*	0.605	0.247022
C0 - P6	*	0.935	0.247022
C0 - P9	*	1.245	0.247022
C0 - U0		-0.22	0.247022
C0 - U12	*	-0.37	0.247022
C0 - U3	*	-0.43	0.247022
C0 - U6	*	-0.27	0.247022

Use el botón derecho del mouse para seleccionar opciones

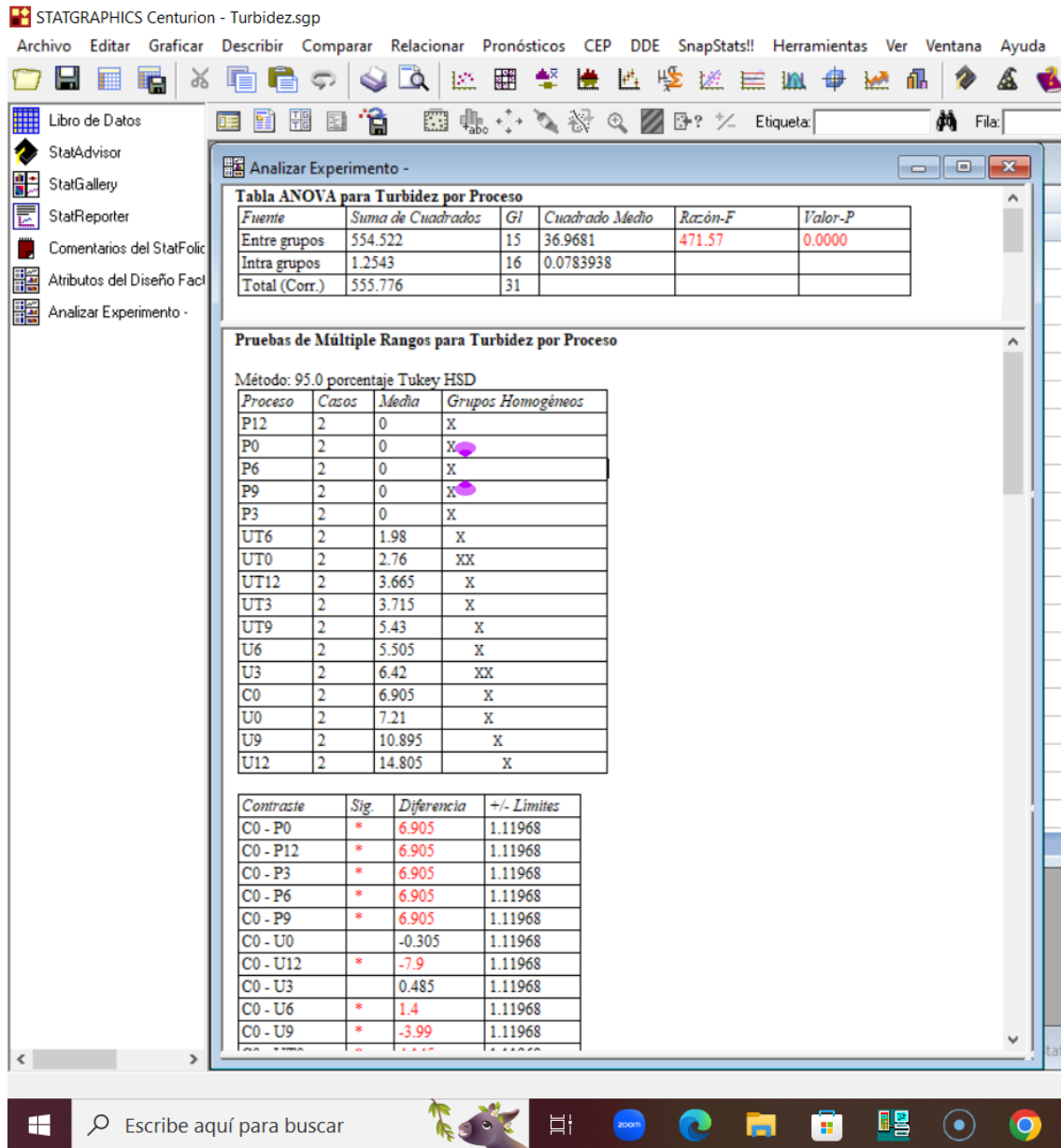
Viscosidad... StatAdvisor StatGallery StatReporter

Windows Escribe aquí para buscar

(*) Leyenda

Tipo de Proceso	Días de Almacenamiento a 5 °C
C Leche Cruda	0 días
U Leche sonicada (0.5 kJ/mL)	3 días
UT Leche sonicada con TT 60 °C por 10 min	6 días
P Leche pasteurizada (65°C por 30 min)	9 días
	12 días

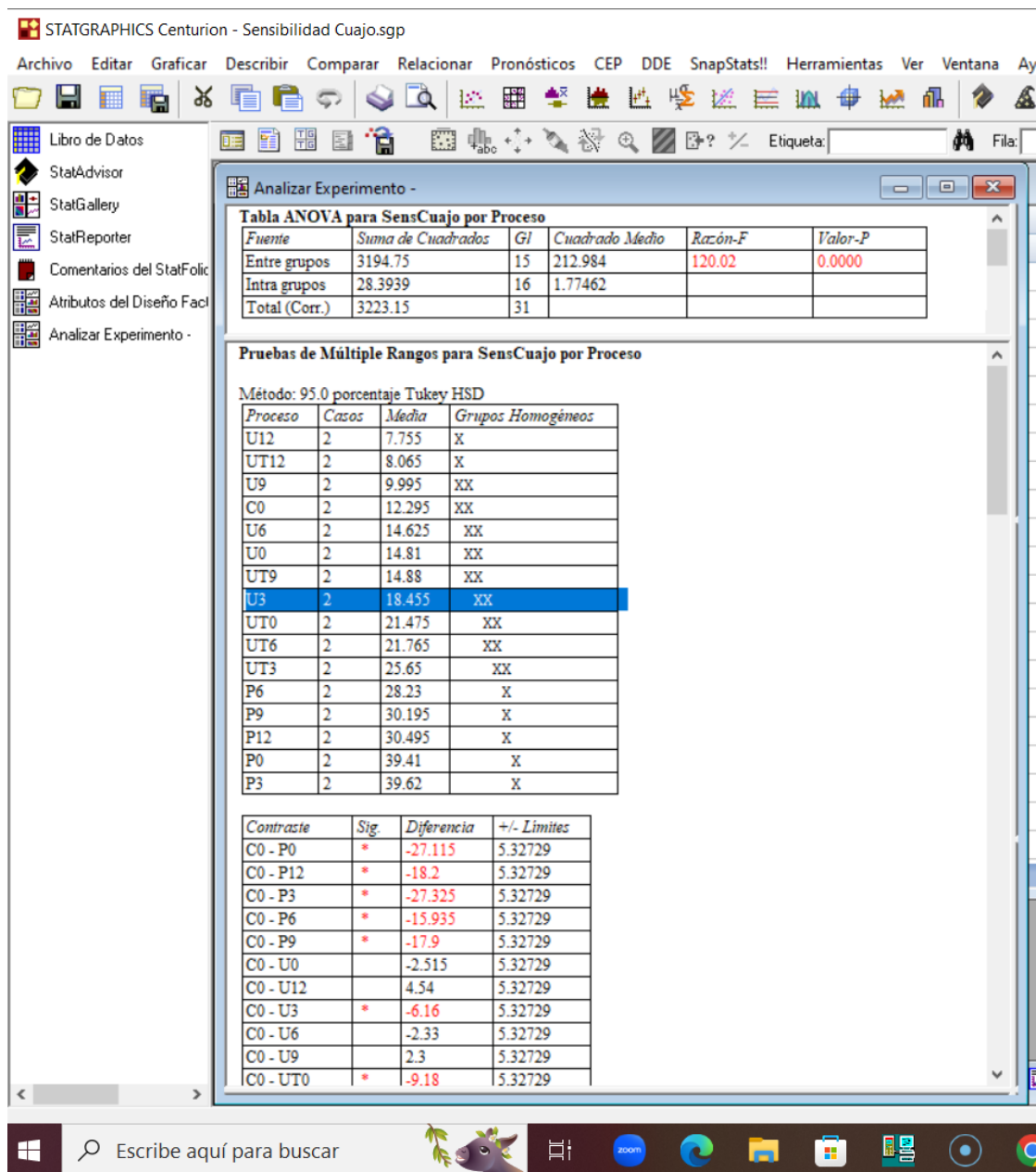
F. ANOVA y Prueba de Tukey de Turbidez (% sedimento en volumen) (*)



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	Días de Almacenamiento a 5 °C
C Leche Cruda	0 días
U Leche sonicada (0.5 kJ/mL)	3 días
UT Leche sonicada con TT 60 °C por 10 min	6 días
P Leche pasteurizada (65°C por 30 min)	9 días
	12 días

G. ANOVA y Prueba de Tukey de sensibilidad al cuajo (s) (*)



(*) Leyenda

Tipo de Proceso	Días de Almacenamiento a 5 °C
C Leche Cruda	0 días
U Leche sonicada (0.5 kJ/mL)	3 días
UT Leche sonicada con TT 60 °C por 10 min	6 días
P Leche pasteurizada (65°C por 30 min)	9 días

ESTABILIZACION FÍSICO- QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL DE LECHE DE VACA (Bos taurus) EN ALMACENAMIENTO REFRIGERADO POR TRATAMIENTO ULTRASONICO PRE PASTERIZACION'

Fecha de entrega: 07-feb-2023 12:57 p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2008648670

Nombre del archivo: Miguel_Solano_Cornejo_-_Informe_Final_Investigacion_v2.0.docx (34.82M)

Total de palabras: 32025

Total de caracteres: 171658

9

repositorioinstitucional.buap.mx

Fuente de Internet

<1 %

10

www.scribd.com

Fuente de Internet

<1 %

11

repositorio.uach.mx

Fuente de Internet

<1 %

12

ri-ng.uaq.mx

Fuente de Internet

<1 %

13

Pereda, Julieta. "Utilización de la ultra alta presión por homogenización como alternativa al tratamiento de pasteurización para la obtención de leche en consumo", Bellaterra : Universitat Autònoma de Barcelona,, 2009

Fuente de Internet

<1 %

14

Codina Torrella, Idoia, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. "Optimización del proceso de elaboración y aplicación de la homogenización a ultra alta presión como tecnología de conservación de licuado de chufa", [Barcelona] : Universitat Autònoma de Barcelona,, 2014

Fuente de Internet

<1 %

15

repositoriodspace.unipamplona.edu.co

Fuente de Internet

<1 %

16

esdocs.com

<1 %

17

Salvador Rodríguez, Daniel José, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. "Predicción en línea del módulo elástico de la cuajada /", 2018

Fuente de Internet

<1 %

18

idele.fr

Fuente de Internet

<1 %

19

manualzz.com

Fuente de Internet

<1 %

20

Submitted to Pontificia Universidad Catolica del Ecuador - PUCE

Trabajo del estudiante

<1 %

21

eprints.uanl.mx

Fuente de Internet

<1 %

22

1library.co

Fuente de Internet

<1 %

23

bmeditores.mx

Fuente de Internet

<1 %

24

docplayer.es

Fuente de Internet

<1 %

25

www.scielo.org.pe

Fuente de Internet

<1 %

26	www.invertirenelsur.cl Fuente de Internet	<1 %
27	María Desamparados Andrés Bello. "Aplicación de nuevas tecnologías para el diseño y desarrollo de productos de dorada (Sparus aurata) procedente de acuicultura", Universitat Politecnica de Valencia, 2012 Publicación	<1 %
28	repositorio.unsa.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
29	zaguan.unizar.es Fuente de Internet	<1 %
30	someicca.com.mx Fuente de Internet	<1 %
31	www.tesisenred.net Fuente de Internet	<1 %
32	Eder Lenin Cruz Siguenza, Gloria Elizabeth Miño Cascante, Fabián Eduardo Bastidas Alarcón, Mónica Patricia Cruz Siguenza. "Situational Analysis of the Production of Milk and Cheese in Several Productive Sectors of Ecuador and Its Quality Under Ecuadorian NTE INEN Regulations", ESPOCH Congresses: The Ecuadorian Journal of S.T.E.A.M., 2021 Publicación	<1 %

33

d85c54d1-9916-4b51-b74a-6be1b7de64da.filesusr.com

Fuente de Internet

<1 %

34

Irene Hortelano Martín. "Determinación del riesgo para el consumidor de la presencia de H. pylori y otros Helicobacter spp. patógenos en aguas de consumo mediante técnicas moleculares y metagenómica", Universitat Politecnica de Valencia, 2021

Publicación

<1 %

35

eprints.ucm.es

Fuente de Internet

<1 %

36

www.kerwa.ucr.ac.cr

Fuente de Internet

<1 %

37

"Estudio del enriquecimiento de manzana con prebióticos, probióticos y componentes antioxidantes provenientes de zumo de mandarina por impregnación a vacío para el desarrollo de aperitivos altamente funcionales y con bajo contenido calórico", 'Universitat Politecnica de Valencia'

Fuente de Internet

<1 %

38

Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA

Trabajo del estudiante

<1 %

39

Submitted to Instituto Politecnico Nacional

Trabajo del estudiante

<1 %

40

repositorio.continental.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

41

revistas.untrm.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

42

Arango Bedoya, Oscar, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. "Aplicación de dispersión de luz de infrarrojo próximo en la producción de derivados lácteos bajos en grasa con inulina", [Barcelona] : Universitat Autònoma de Barcelona,, 2015

Fuente de Internet

<1 %

43

repositorio.unap.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

44

www.omniascience.com

Fuente de Internet

<1 %

45

Submitted to Colegio Casuarinas

Trabajo del estudiante

<1 %

46

Submitted to Universidad San Francisco de Quito

Trabajo del estudiante

<1 %

47

hal.archives-ouvertes.fr

Fuente de Internet

<1 %

48

repositorio.uptc.edu.co

Fuente de Internet

<1 %

49	www.mdpi.com Fuente de Internet	<1 %
50	www.repositorio.ufop.br Fuente de Internet	<1 %
51	www.scielo.org.mx Fuente de Internet	<1 %
52	"Food Safety Engineering", Springer Science and Business Media LLC, 2020 Publicación	<1 %
53	María Gyomar González González. "Estudio y desarrollo de soluciones mecanizadas automatizadas mediante la aplicación de sensores y nuevas tecnologías para la producción de cítricos", Universitat Politecnica de Valencia, 2022 Publicación	<1 %
54	core.ac.uk Fuente de Internet	<1 %
55	riunet.upv.es Fuente de Internet	<1 %
56	María Del Pilar Angarita Díaz, Diana Forero Escobar, Nerly Fernanda Gutiérrez, Francy Tatiana Yañez, Carlos Andrés Romero. "Analysis Of Enterococcus Faecalis, Staphylococcus Aureus, And Candida Albicans	<1 %

In Cast Metal Cores", Revista Facultad de Odontología, 2017

Publicación

57

repositorio.unprg.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

58

worldwidescience.org

Fuente de Internet

<1 %

59

www.hielscher.com

Fuente de Internet

<1 %

60

www.librosoa.unam.mx:8080

Fuente de Internet

<1 %

61

www.revistatecnologicaceamx

Fuente de Internet

<1 %

62

4.interreg-sudoe.eu

Fuente de Internet

<1 %

63

ROMINA MARÍA FABRE. "EFECTO DE LA MADURACIÓN, ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA, MARINADO Y CONGELACIÓN SOBRE LA CALIDAD DE CARNE DE PECHUGA DE AVE", Universitat Politecnica de Valencia, 2014

Publicación

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo