



EFFECTO DEL ULTRASONIDO EN LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE LA LECHE ENTERA.

YESENIA CAMPO-VERA¹
DORA C. VILLADA-CASTILLO¹.

1. Universidad Francisco de Paula Santander. Programa Ingeniería Agroindustrial. Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología Agroindustrial (GICITECA). Cúcuta. Colombia.

RESUMEN

En Colombia existen gran diversidad de estudios sobre aspectos relacionados con la calidad de leche, pero muy pocos sobre métodos de conservación en fresco del producto utilizando nuevas tecnologías, lo que motiva a realizar estudios sobre como alargar su vida útil sin alterar o modificar sus propiedades utilizando tecnologías emergentes como el Ultrasonido (US). El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto del US sobre las propiedades fisicoquímicas de la leche entera natural almacenada en refrigeración ($5\pm 2^\circ\text{C}$ /durante 15 días). Se tomaron 500 mL de leche empacada al vacío y se sometió a termosonicación (40 KHz/40, 50, 60 ó 70°C) durante 30 minutos. Se observó el efecto del tratamiento, cada 3 días, en el pH, acidez, viscosidad y densidad. Se encontró un incremento significativo ($p < 0,05$) en el pH, acidez, viscosidad en los tratamientos de US 40 KHz y temperaturas de 50 y 60°C , ya que conservaron los parámetros dentro de los rangos permitidos por la normatividad vigente para leche durante los 15 días de almacenamiento en comparación con las demás muestras; a excepción de la densidad que no presento cambios significativos. El US afecta positivamente los parámetros de pH, acidez y viscosidad de la leche durante el almacenamiento, ratificando que esta tecnología es eficiente para la conservación del producto bajo condiciones de refrigeración y tiene potencial en la industria alimentaria para desarrollar procesos seguros, económicos que impacten positivamente las propiedades de los alimentos, comparadas con los métodos tradicionales.

Palabras clave: Acidez, densidad, leche, Ultrasonido, viscosidad.

1. INTRODUCCIÓN

La leche es un alimento de alto consumo, por la gran variedad de productos que ofrece el mercado y por sus cualidades nutricionales que la hacen importante en la dieta humana; durante el procesamiento la leche se homogeniza ocasionando cambios fisicoquímicos que afectan las características de los productos lácteos como en la textura y sabor [1,2]. La homogeneización es el proceso mecánico que reduce el tamaño de los glóbulos de grasa a través de

temperatura mayores de 45°C y la presión, causando la separación de la parte cremosa del producto y la inactivación de enzimas microbianas [3, 4, 2].

El US es una tecnología emergente de preservación que utiliza alta intensidad por encima de 1 W cm^{-2} , por lo general en el rango de 10 a 1.000 W/cm^2 y frecuencias de 20 a 100 KHz puede mejorar las características de calidad de los productos lácteos productos; causando cambios físicos y químicos en la leche en comparación con el



convencional proceso [5, 6, 7]. El US afecta significativamente el tamaño de los glóbulos grasos, pH, densidad, proteínas o polisacáridos y aumenta la estabilidad y consistencia de la emulsión obtenida, al modificar la viscosidad y la conductividad térmica, como consecuencia de la fricción interna entre moléculas modificando las propiedades funcionales de la leche [8, 9]. El objetivo de la investigación fue evaluar los efectos de diferentes tratamientos de ultrasonido en las propiedades físicas de la leche entera almacenada durante 15 días bajo condiciones de refrigeración $5 \pm 2^\circ\text{C}$.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Preparación de las muestras.

La leche de vaca se obtuvo de granjas del municipio de Chinacota, Norte de Santander, Colombia. Se tomaron 500 mL de la muestra, para ser empacados al vacío en bolsas de polietileno de baja densidad.

2.2 Tratamiento con Ultrasonido

Se empleó un equipo Branson 1510 (40 KHz) y como medio de transmisión agua desionizada, el tratamiento de US se llevó a cabo a temperatura de 40, 50, 60 y 70°C , durante 30 minutos cada uno, dando lugar a nueve tratamientos y una muestra control. Las muestras se almacenaron en refrigeración ($5 \pm 2^\circ\text{C}$). Todos los análisis fueron realizados por triplicado en los días 1, 3, 6, 9, 12 y 15 posteriores al tratamiento.

2.3 Determinación del pH

Se tomaron 20 mL de la muestra y como medio el valor de pH con un potenciómetro Standard (Hanna instruments, HI-1208, Italia), los resultados se reportaron como el promedio de dos lecturas [10].

Determinación de la Acidez

Se pesó 5 gr de la leche en un vaso de precipitado y se mezcló con 50 mL de agua destilada y luego se agregaron 3 gotas de fenolftaleína al 1% y se tituló con NaOH al 0,1 N (la acidez se expresó como porcentaje de ácido láctico) [11].

2.4 Determinación de la Viscosidad

Se tomó una muestra homogénea de 200 mL en un vaso, donde se introduce la aguja N° 4 con una rotación de 10 rpm del viscosímetro (Brookfield modelo RVT) se leyó el valor del porcentaje arrojado; las cuales se convirtieron a unidades de centipoises (cps) [12].

2.5 Determinación de la Densidad

Se colocó 250 ml de la muestra en una probeta y se introdujo el lactodensímetro en la parte central; transcurridos aproximadamente 30 segundos se hizo la lectura en la escala correspondiente a 15°C y aplicando el factor de corrección necesario para la escala [13].

2.6 Análisis estadístico

Se analizaron las diferencias significativas entre los resultados obtenidos con cada tratamiento, mediante prueba de análisis de varianza (ANOVA) y prueba *post hoc* de Diferencias Mínimas Significativas (DMS) del 5% ($p < 0,05$) usando el programa SPSS versión 19.0. Todos los experimentos se hicieron por triplicado.

3. RESULTADOS

3.1 pH

En el cuadro 1, se observa el efecto de la frecuencia de tratamiento de ultrasonido, temperatura y tiempo de exposición sobre el pH de las muestras. En las muestras tratadas con US, el pH aumentó significativamente ($p < 0,05$) en todos los tratamientos en comparación con la muestra control de 6,12 a 6,23.



Los resultados muestran que al aumentar la temperatura de exposición al tratamiento con US (50, 60 o 70°C), se evidencia un incremento significativo ($p < 0,05$) en el valor del pH, en un promedio de 0,5 unidades en el transcurso de los 15 días de almacenamiento, por el contrario al comparar la muestra control y la muestra tratada con US a menor temperatura (40°C) no presentaron DMS ($p < 0,05$) en la mayoría de días de almacenamiento, mostrando los valores más bajos durante los 15 días.

Cuadro 1. Efecto del US sobre el pH de las muestras.

TRATAMIENTOS	pH					
	DÍAS DE ALMACENAMIENTO					
	1	3	6	9	12	15
40KHz/40°C/30min	6,27±0,3 ^a	6,59±0,5 ^d	6,28±0,4 ^b	6,46±0,3 ^c	5,6±0,2 ^a	4,07±0,3 ^b
40KHz/50°C/30min	6,24±0,4 ^a	6,69±0,2 ^e	6,35±0,5 ^{bc}	6,69±0,3 ^d	6,7±0,4 ^{cd}	6,53±0,4 ^{cd}
40KHz/60°C/30min	6,21±0,3 ^a	6,33±0,2 ^e	6,42±0,2 ^e	6,71±0,2 ^d	6,8±0,2 ^e	6,57±0,2 ^d
40KHz/70°C/30min	6,73±0,5 ^b	6,71±0,3 ^b	6,7±0,2 ^b	6,69±0,3 ^b	6,8±0,3 ^b	6,6±0,3 ^b
Control	6,12±0,2 ^a	6,66±0,4 ^{cd}	6,52±0,3 ^b	6,47±0,3 ^{bc}	5,4±0,3 ^a	4,86±0,4 ^c

Letras diferentes indican diferencia mínimas significativas (DMS) entre los tratamientos ($p < 0,05$). ± Desviación estándar

Estos resultados coinciden con estudios realizados en diferentes verduras (champiñones, mango y coliflor) observando que la cavitación genera el crecimiento y colapso de burbujas en el interior de los líquidos [14, 15]. Dicho fenómeno genera un proceso de microevaporación en los líquidos tratados, con lo cual se libera el ión hidrogeno del agua del mismo, lo que con llevaría a la incremento del pH; efecto más visible a mayor tiempo y temperatura de de exposición [16, 17, 18].

El US puede causar daño a la estructura celular, liberando iones en el citosol y por el cambio en la estructura de la proteína que conduce a una modificación en la posición de algunos iónica grupos; incrementando el pH [19]. El aumento de los valores del pH, podría deberse a la liberación de sustancias volátiles aromáticas durante

la cavitación que causa el aumento de la temperatura, lo cual podría favorecer aspectos organolépticos [20, 21].

3.2 Acidez

En la figura 1, Se encontró que la muestra control, el tratamiento 40KHz/40 y 70°C/30min., superaron el rango que es permitido por la Decreto 616 del 2006 que es de que 0,13-0,17 % de ácido láctico para leche fresca; las muestras que cumplieron con la normatividad durante los 15 días de almacenamiento fueron las de 40KHz/50 y 60°C/30min.

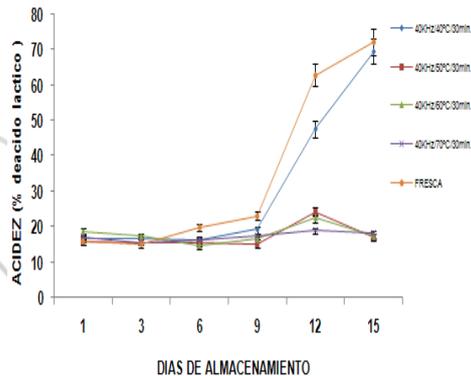
Los aumentos en él porcentaje de acidez de la muestra control se atribuyen a la existencia de microorganismos en particular las *Pseudomonas* y pequeñas trazas de bacterias lácticas, que degradan la lactosa y los lípidos de la leche y dependen de la temperatura y tiempo de almacenamiento del producto; produciendo una variación de la acidez y del pH de la misma [22, 23].

El aumento en el porcentaje de acidez en los primeros días de las muestras tratadas con US pude estar asociado al fenómeno de cavitación, al tiempo requerido para formar la burbuja y a la degradación del oxígeno disuelto [24, 25]. Valores altos de acidez natural son indicadores de leches ricas en proteína o de otros constituyentes [22].

Un incremento en el porcentaje de acidez se puede deber a ácidos producidos por la actividad metabólica de los microorganismos; ya que las bacterias utilizan como fuente de energía la lactosa o azúcar de la leche, y liberan ácido láctico como producto de desecho, este provoca un incremento de la acidez haciendo a su vez que las proteínas de la leche precipiten, formando un gel; evitando la proliferación de otras bacterias potencialmente patógenas [26, 27].



Figura 1. Efecto del US sobre el % de acidez de las muestras.

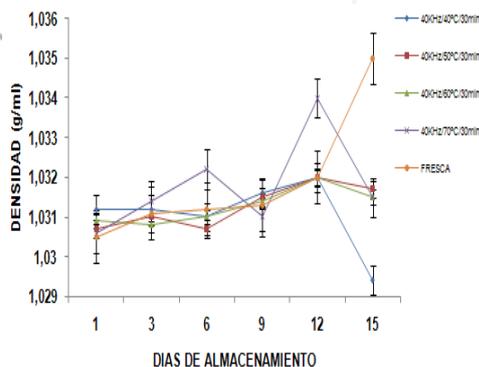


3.3 Densidad

La figura 2, podemos observar que todas cumplieron con el rango exigido por el decreto 616 del 2006 que es de 1,030-1,033 g/mL durante los 15 días de almacenamiento; el incremento de la densidad de las muestras tratadas con US no es significativo al compararlo con la muestra control.

Este efecto se puede deber a las ondas de US que generan gradientes de presión y temperatura instantáneos en el interior de la célula debido a la cavitación. El gradiente de temperatura, que puede llegar hasta los 5500°C, forma una microevaporación del agua contenida en la leche debido a la liberación de los iones de hidrógeno o sonólisis [18, 28]; la propagación de las ondas se ven afectadas, entre otros, por la densidad, la temperatura y la composición del fluido; debido al coeficiente de atenuación con que la onda penetra el material [29].

Figura 2. Efecto del US sobre la densidad de las muestras.



3.4 Viscosidad

El cuadro 2, se observó que el rango normal es de 1,7-2,2 cps a temperatura ambiente a 20°C para leche entera [30, 31] parámetro que cumplió la muestra control; por el contrario todas las muestras tratadas con US incrementaron significativamente en casi 7 unidades.

El tratamiento que presentó mayor valores en el parámetro de viscosidad durante los primeros 9 días de almacenamiento fue el de 40KHz/60°C/30min, en los días siguientes disminuye a medida que se incrementa el tiempo de almacenamiento, lo cual puede atribuirse a que el calcio micelar se solubiliza y al solubilizarse parcialmente tiende a abandonar la micela, volviéndose más débil la estructura de la misma, por lo que sus coágulos son muchos más débiles en función al tiempo de almacenamiento [32].

La presencia de las caseínas y los glóbulos grasos tiene gran influencia en la viscosidad de la leche, mientras que las lactosas y las proteína de suero contribuyen minoritariamente a este parámetro; a temperaturas mayores la viscosidad es menor presentando una relación inversamente proporcional [33].

La cavitación que produce ruptura de los glóbulos de grasa logrando una distribución de tamaño más fina mejorando la textura del producto [21,26]; se observó una reducción de la sinéresis y una mejor viscosidad, fusión de la caseína y proteínas del yogurt, los efectos posteriores se atribuyeron al aumento en la retención de agua de la caseína que estaría disponible conforme aumentara el área de la superficie de la membrana de los glóbulos de grasa [34].



El US actúa como tratamiento homogenizador causando que la leche aumente su viscosidad, probablemente por la disminución de atracción de los glóbulos grasos, como resultado de la destrucción de las aglutininas. Además, las altas temperaturas que provocan el US causan un incremento en la viscosidad de la leche debido a la desnaturalización de las β -lactoglobulinas y a su posterior asociación con las micelas de caseína. Así mismo, un incremento del pH en la leche causa un aumento en su viscosidad, probablemente debido al hinchamiento de las moléculas de caseína y su interacción con la proteína de suero [22, 30, 35, 36, 37, 38]

Cuadro 2. Efecto del US sobre la viscosidad de las muestras.

TRATAMIENTOS	VISCOSIDAD (cps)					
	DIAS DE ALMACENAMIENTOS					
	1	3	6	9	12	15
40KHz/40°C/30min.	8,2±0,8 ^a	4,3±0,7 ^d	4,6±0,4 ^{cd}	3,2±0,8 ^{cd}	3,1±0,5 ^{cd}	2,1±0,4 ^c
40KHz/50°C/30min.	6,1±0,3 ^b	5,6±0,4 ^{cd}	4,3±0,7 ^d	3,8±0,2 ^{cd}	3,5±0,4 ^{cd}	1,8±0,6 ^c
40KHz/60°C/30min.	7,5±0,5 ^{a,b}	4,2±0,8 ^d	4,0±1,0 ^d	3,7±0,3 ^{cd}	3,1±0,8 ^{cd}	1,8±0,3 ^c
40KHz/70°C/30min.	7,5±0,5 ^{a,b}	4,2±0,8 ^d	4,0±1,0 ^d	3,7±0,3 ^{cd}	3,1±0,8 ^{cd}	1,8±0,3 ^c
FRESCA	1,9±0,3 ^c	5,3±0,7 ^{cd}	4,2±0,8 ^d	3,1±0,7 ^{cd}	2,0±0,5 ^c	1,5±0,4 ^c

Letras diferentes indican diferencia mínimas significativas (DMS) entre los tratamientos ($p < 0,05$), \pm Desviación estándar.

4. CONCLUSIONES

La presente investigación permitió establecer los efectos de la aplicación de las ondas de ultrasonido sobre las propiedades físicas de la leche entera, concluyendo que el US afecta positivamente los parámetros de pH, acidez y viscosidad de la leche durante el almacenamiento; a excepción de la densidad que no presentó cambios significativos. Los tratamientos que conservaron los parámetros dentro de los rangos permitidos de la leche durante los 15 días fueron los que utilizaron ondas sonoras a 40KHz a temperaturas de 50 o 60°C durante 30min., mostrando que esta tecnología es eficiente para la conservación del

producto bajo condiciones de refrigeración y tiene potencial en la industria alimentaria para desarrollar procesos seguros, económicos que impacten positivamente las propiedades de los alimentos, comparadas con los métodos tradicionales.

REFERENCIAS

- [1] Sfakianakis P and Tzia C. "Conventional and innovative processing of milk for yogurt manufacture, development of texture and flavor: A review," *Foods*, vol. 3: 2014, p. 176–193.
- [2] Massoud R, Belgheisi S, and Massoud A. Effect of High Pressure Homogenization on Improving the Quality of Milk and Sensory Properties of Yogurt: A Review. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, Vol. 7, N°1: 2016, p. 66-70.
- [3] Olorunnisomo O, Ososanya T, and Adedeji O. "Homogenization of milk and effect on sensory and physicochemical properties of yoghurt," *AFR. J. Food Sci.*, vol. 8: 2014, p. 465–470.
- [4] Chandan C and Kilara A. *Dairy Ingredients for Food Processing*, 1st ed. Iowa, U.S.A: Wiley– Blackwell, ch. 1, 3 and 4: 2011, p. 3–123.
- [5] Karlović S. Bosiljkov T. Brnčić M. Semenski D. Dujmić F. Tripalo B. and Ježek D. Reducing Fat Globules Particle-Size in Goat Milk: Ultrasound. *Chem. Biochem. Eng. Q.*, 28 (4): 2014, p. 499–507.
- [6] Semenski D. Brnčić M. Bosiljkov T. Karlović S. Ježek D. Tripalo B. Ultrasonic processing and mechanical testing in Food technology and biotechnology. Porto/Portugal: 2012, p. 1-6.
- [7] Ertugay M. Sengul M. Sengul M. Effect of Ultrasound Treatment on Milk Homogenisation and Particle Size Distribution of Fat. *Turk J Vet Anim Sci* 28, 2004, p. 303-308.



- [8] McClements J. D. Food Emulsion: Principles, Practice and Techniques, CRC press. 2005, p. 161 – 232.
- [9] Demirdöven A. Baysal T. The use of ultrasound and combined technologies in food preservation, Food Rev. Int. 25, 2009, p. 1.
- [10] AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. 15th Ed, Arlington, Virginia-USA. 1990, p. 931-935.
- [11] AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. 14th . Edition, 1984, p. 278.
- [12] Valdez, J. Ludeña, F. y Idrogo, G. Efecto del tiempo de almacenamiento de la leche cruda y la adición de cloruro de calcio en la viscosidad del yogurt batido. Anales Científicos. 2011, p. 151-172.
- [13] Vanegas, D. y Martínez, M. Determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de la leche en el municipio de Chipaque Cundinamarca y su comercialización (Colombia). Rev Sist prod agroecol. Vol 2: Núm: 2: 2011, p. 92-115.
- [14] Mason, T. J. The uses of ultrasound in food technology In: *Ultrasonics Sonochemistry*. 3, 1996, p. 253-260.
- [15] Jambrak A.R, Mason T.J., Paniwnyk L., Lelas V. Ultrasonic effect on pH, electric conductivity, and tissue surface of button mushrooms, Brussels sprouts and cauliflower. Czech J. Food Sci., 25: 2007, p. 90–99.
- [16] McClement. J. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Food ,Science & Technology*. 6, 1995, p. 293-299.
- [17] Campo Y. y Gélvez V. Efecto de la termosonicación sobre las propiedades fisicoquímicas del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) fresco empacado al vacío. Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. Vol 9(2): 2011, p. 55-63
- [18] Porras, O. Efecto de la aplicación de ondas de ultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas, de pulpa de mango *Mangifera indica*. Universidad De Pamplona. 2007, p. 22-39.
- [19] Gambuteanu C. Filimon V. Alexe P. Effects Of Ultrasound On Technological Properties Of Meat A Review. Food Science And Technology Volume 14, Issue 2: 2013, p. 176-182.
- [20] Gélvez V. y Fuentes L. Effect of ultrasound, and magnetic fields on pH and texture (TPA) in beef loin tuna (*Thunnus albacares*). Group Research in Engineering and Food Technology: 2012, p. 1-6.
- [21] Márquez, C. Otero, E. y Cortés, R. Cambios fisiológicos, texturales, fisicoquímicos y microestructurales del tomate de árbol en poscosecha. *Vitae* (14). 2007, p. 133-139.
- [22] McCarthy O.J., Singh H. Physico-chemical properties of milk. In: McSweeney P.L.H. & Fox P.F. (Eds.). *Advanced Dairy Chemistry: Volume 3: 2009*, p. 78-85.
- [23] Valdez J. Ludeña F. Idrogo G. Efecto del tiempo de almacenamiento de la leche cruda y la adición de cloruro de calcio en la viscosidad del yogurt batido. Anales Científicos. 2005, p. 151-172.
- [24] Vega Fidalgo, L. M. y Zorita Téllez, D. Infrasonidos y ultrasonidos: Proyecto de Ingeniería de las Ondas I. En línea. Valladolid. 2005, p. 26-39.
- [25] Cheng, X., Zhe,W., Shuling, N., Chuang, X., Cai, Z. and Hongyou, Z. Effect of hypoglycemia on performances, metabolites and hormones in periparturient dairy cows. *Agric. Sci. China*, 6: 2007, p. 505-512.
- [26] Campo Y. y Villada D. Evaluación de las propiedades fisicoquímicas del yogurt utilizando leche termosonicada. Revista Facultad nacional de Agronomía. Vol 62: 2014, p. 274-277.
- [27] Lujan, D. Morales, J. y Padilla, J. Evaluación de los tratamientos de esterilización en la conservación de la seta *Pleurotos ostreatus*. *@limentech* (5): 2007, p. 49-57.



- [28] Mason, T. J. Power ultrasound in food processing-the way forward. In: *Ultrasounds in Food Processing*. Academic and Professional, London, 1998, p. 105.
- [29] Kuo, Feng-jui, Sheng, Chung-teh, Ting Ching-hua. Evaluation of ultrasonic propagation and viscosity of reconstituted orange juice. En: *Journal of Food Engineering*. 86: 2008, p. 84–90.
- [30] McCarthy S., Horan B., Dillon P., O'Connor P., Rath M., Shalloo L. Economic comparison of divergent strains of Holstein-Friesian cows in various. *Journal of Dairy Science* 90, 2002, p. 1493-1505.
- [31] Pereda J. Utilización de altas presiones para la homogenización como alternativa de pasteurización para la obtención de leche de consumo humano. Universidad Autónoma de Barcelona. 2008, p. 13-56.
- [32] Méndez D. J. (2000). Yogurt. Instituto de Productos Lácteos. Universidad de Santiago de Compostela. España. 2000.
- [33] Long Z. Zhao M. Waterhouse D. Lin Q. Zhao Q. Effects of sterilization conditions and milk Food Hydrocolloids. Volume 52: 2016, p. 11–18.
- [34] Bermúdez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez Llorente, C., & Gil, A. Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 61(2): 2012, p. 160-174.
- [35] Anema G. Lowe E. Lee S. Klostermeyer H. Effect of the pH of skim milk at heating on milk. *International Dairy Journal*. Volume 39, Issue 2: 2014, p. 336–343.
- [36] Borges A. Gonçalves A. Stephani R. Leal M. Perrone I. Bueno R. Evaluation of the viscosity profile obtained for dispersions containing different proportions of milk processing. *Food Science and Technology*. Volume 64, Issue 2: 2015, p. 536–539.
- [37] Anema S. y Li Y. Reassociation of dissociated caseins upon acidification of heated skim milk. *Food Chemistry*. Volume 174,1: 2015, p. 339–347.
- [38] Ozcan T. Horne D. Lucey J. Yogurt made from milk heated at different pH values. *Journal of Dairy Science*. 2015.