

# EFFECTO DE TEMPERATURA Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE UNA BEBIDA PASTEURIZADA FORMULADA A BASE DE UN CONCENTRADO DE PROTEÍNAS DE LACTOSUERO Y HARINA DE ARROZ. (II)

## Effect of Temperature and Storage Time on the Microbiological Quality of a Pasteurized Beverage Formulated With Whey Protein Concentrate and Rice Flour (II)

José F. Faría Reyes<sup>1</sup>, Kutchynskaya Valero Leal<sup>2</sup>, Aleida C. García Urdaneta<sup>1</sup>, Aiza García Urdaneta<sup>1</sup> y María Allara Cagnasso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias. <sup>2</sup> Facultad de Medicina, Escuela de Bioanálisis. La Universidad del Zulia, Apartado Postal 15252, Maracaibo, Venezuela.  
E-mail allara@mipunto.com

### RESUMEN

Una bebida pasteurizada, formulada con un concentrado de proteínas de lactosuero y harina de arroz (Alimento a base de proteína deslactosada y arroz. Solicitud de Patente 95-000523. Ministerio de la Producción y Comercio. Venezuela. 1995) fue almacenada a 5, 7, 9, 14 y 22°C, durante 16 días. A las muestras se les realizó conteo de aerobios mesófilos, coliformes, psicrotrofos, hongos-levaduras y caracterización organoléptica, para determinar el efecto de temperatura y tiempo de almacenamiento sobre su calidad. Se calculó el coeficiente de correlación entre aerobios mesófilos y los otros grupos microbianos. En la bebida almacenada a 5 y 7°C no se detectó crecimiento microbiano durante los primeros 6 días, alcanzando bajos recuentos de mesófilos, psicrotrofos y hongos-levaduras los restantes 10 días. Las características sensoriales originales se conservaron durante todo el período. Para la bebida a 9°C se detectó el primer recuento de mesófilos el día 6, percibiéndose en ese momento, olor y sabor a fermentado. Iguales características se presentaron a los 2 días en las bebidas a 14 y 22°C. Los coeficientes de correlación para psicrotrofos y hongos-levaduras fueron elevados. Un incremento en los valores se observó a una mayor temperatura de almacenamiento. Se concluye que la bebida pasteurizada almacenada a 5 y 7°C presenta buena calidad microbiológica y sensorial durante 16 días.

**Palabras clave:** Bebida, concentrado proteico de suero, conservación.

### ABSTRACT

A pasteurized beverage based on a formula prepared with a whey protein concentrate and rice flour was stored at temperatures of 5, 7, 9, 14 and 22°C for 16 days. A count of mesophilic aerobes, coliform, psychrotrophic, fungi-yeast and an organoleptic characterization were performed in order to establish the effect of temperature and storage time on its microbiological quality. The coefficient of variation was also calculated between mesophilic aerobes and other microbial groups. No microbial growth was reported for the beverages stored at 5°C and 7°C during the first 6 days, and low levels of mesophilic, coliform, psychrotrophic, fungi-yeast were reached during the remaining 10 days. The original sensorial characteristics were preserved during the whole period. As for the beverage stored at 9°C, the first recount of mesophiles was disclosed on the 6 day and smell and taste of ferment could be detected. The same characteristics were shown after 2 days for the beverage kept at 14°C and 22°C. The coefficients of correlation for psychrotrophic and fungi-yeast were high. An increase of the values was observed at a higher storage temperature with an exception for the 14°C group. The conclusion was drawn that the pasteurized beverage kept at 5°C and 7°C shows good microbiological and organoleptic quality for 16 days.

**Key words:** Beverage, whey protein concentrate, preservation.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas que han abordado los tecnólogos de alimentos en los países que presentan deficiencias nutricionales, ha sido los altos precios a nivel de alimentos proteicos de origen animal: carne, leche o derivados de estas, pero sin embargo el 55% de las proteínas presentes en el suero de leche, no son totalmente aprovechadas, para de esta manera darle valor agregado a las anteriores, disminuyendo los costos de productos elaborados a partir de estos alimentos.

El elevado valor biológico de las proteínas del suero de leche, así como sus propiedades funcionales, permiten formular productos que cumplan con los requerimientos proteicos y calóricos, que garanticen de alguna manera y a bajo costo, el desarrollo físico y mental, de forma muy especial en niños en edad escolar, ya que estos constituyen uno de los grupos etarios más afectados debido a las consecuencias que ocasiona la desnutrición [2].

El lactosuero, considerado antiguamente como un subproducto de la elaboración del queso, fue utilizado en la alimentación animal o como fertilizante de los suelos [16, 17]; pero en la actualidad se ha incorporado en productos alimentarios debido al contenido de aminoácidos esenciales adecuado y la fácil digestibilidad de sus proteínas y si esto lo condicionamos al hecho de fabricar una bebida combinada con proteínas de origen vegetal, se estaría ante una bebida excelente y de alta calidad nutricional. (alimento a base de proteína deslactosada y arroz. Solicitud de Patente 95-000523. Ministerio de la Producción y Comercio. Venezuela. 1995). En Maracaibo, ciudad del estado Zulia, Venezuela, se consume una bebida mezclada con arroz, la cual es denominada "Chicha", con la diferencia de que ésta es fabricada con leche y saborizantes, además de azúcar.

El mantenimiento de la calidad de los productos alimentarios perecederos, como los productos pasteurizados, es afectado por la calidad de la materia prima, el control de las condiciones durante el procesamiento y distribución y la temperatura de almacenamiento [9, 15]. Es decir, la temperatura de almacenamiento es uno de los principales factores dentro de la cadena de distribución, debido a las velocidades de las reacciones bioquímicas originadas por la contaminación microbológica en este tipo de alimento [4, 6]. Sobre todo las temperaturas relativamente altas dentro del rango de lo que se denomina refrigeración.

Diversos autores [3, 11, 12, 13, 20, 21], han estudiado y sugerido que la temperatura a la cual se almacena la leche después de su pasteurización tiene gran influencia en el crecimiento de los microorganismos y en la seguridad microbológica de los productos lácteos refrigerados.

A pesar que las bajas temperaturas constituyen una vía para detener el crecimiento microbiano en productos pasteurizados y extender su vida media, también es reconocida la

dificultad para llevarla a la práctica [6, 16]. Hansen [14], reportó que el 55% de los productos refrigerados y colocados en mostradores para su venta, presentaban una temperatura que oscilaba entre 2 y 14°C, los almacenados a 5°C o temperaturas inferiores resultaban con menos problemas en su vida útil, con lo cual demostró que un inadecuado control en la temperatura de almacenamiento es de importancia para los productos pasteurizados.

En Maracaibo, primera ciudad de Venezuela desde el punto de vista agrícola y pecuario, las temperaturas están en un rango entre 27 y los 40°C, por lo cual se hace evidente que es necesario estudiar los productos pasteurizados a lo largo de la cadena de distribución y comercialización, tomando en cuenta lo establecido por los organismos oficiales [19, 22].

En el estudio de una bebida pasteurizada y homogeneizada formulada en el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Leche, tomando como base un concentrado de proteínas de lactosuero y harina de arroz y distribuida por la Empresa CRIOZUCA a nivel de escuelas públicas, en niños con edades comprendidas entre 5 y 7 años, se hace necesaria esta investigación, que tiene como objetivo estudiar el efecto del tiempo y la temperatura de almacenamiento sobre su calidad microbológica.

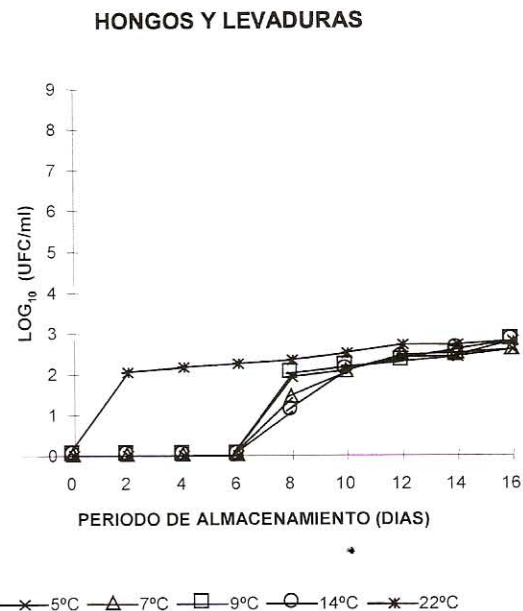
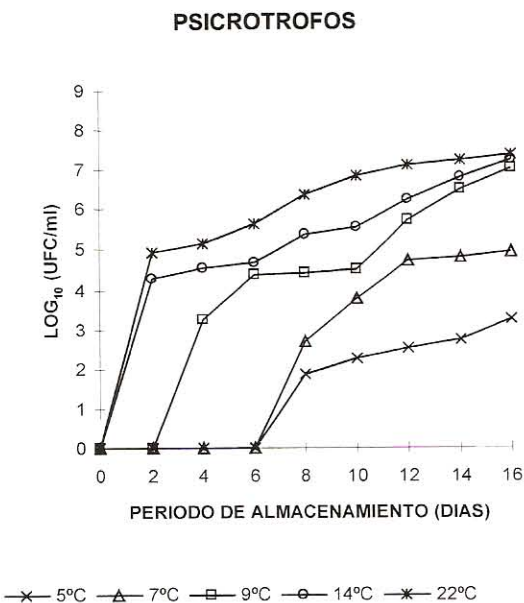
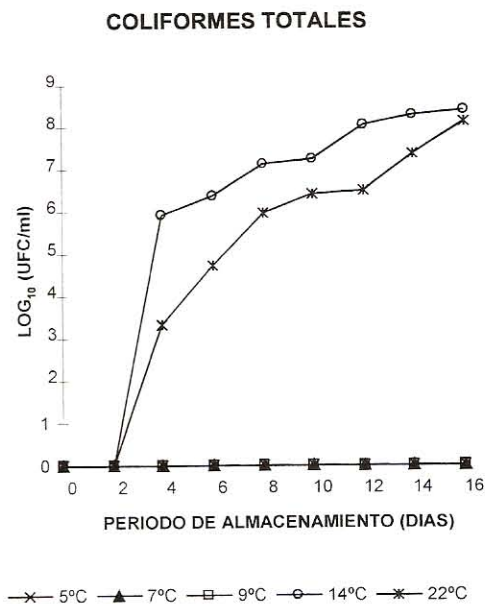
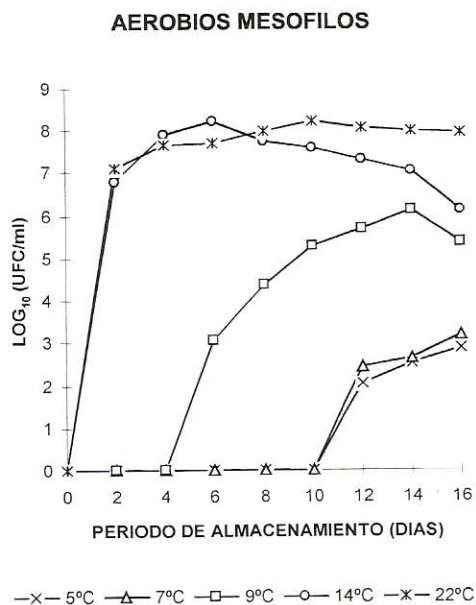
## MATERIALES Y MÉTODOS

**Muestras:** 45 muestras de la bebida pasteurizada (73°C/30 minutos) y homogeneizada en un homogenizador Gaulin y envasada en envases Pure-Pak de 200 mL, se recolectaron aleatoriamente de la cava de almacenamiento a 5°C  $\pm$  1 de la Empresa CRIOZUCA, planta láctea del Municipio Mara del estado Zulia- Venezuela, transportándose bajo refrigeración en cavas de anime, hasta el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Leche, en un lapso menor de una hora.

**Distribución y almacenamiento:** Las bebidas se agruparon en 5 conjuntos de 9 muestras cada uno y se almacenaron a 5, 7, 9, 14 y 22°C, correspondiendo las temperaturas analizadas a: cava de la industria láctea, cavas de transportes, refrigerador escolar, expendios del estado Zulia, y ambiente con aire acondicionado, respectivamente. De cada grupo fue retirada una muestra a los 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16 días de almacenamiento para su análisis.

**Análisis microbiológico:** Las bebidas fueron retiradas de acuerdo al tiempo estipulado y analizadas por duplicado para conteo de aerobios mesófilos, coliformes totales, psicrotrofos y hongos-levaduras, siguiendo las metodologías de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) [1].

**Caracterización sensorial:** Cada muestra fue sometida a la caracterización por un panel integrado por tres personas conocedoras, con el fin de detectar cambios durante el almacenamiento en el olor y sabor original de la bebida.



**FIGURA 1: CONTAJE DE AEROBIOS MESÓFILOS, COLIFORMES TOTALES, PSICROTROFOS Y HONGOS-LEVADURAS DE LA BEBIDA PASTEURIZADA DURANTE EL AMALCENAMIENTO A 5°C, 7°C, 9°C, 14°C Y 22°C.**

**Análisis estadístico:** A los resultados se les realizó un análisis de la varianza utilizando el paquete estadístico SAS Versión 6.12 [23], aplicando el PROC GLM a la variable respuesta transformada como  $Y = \log_{10}(\text{ufc/mL})$ . También fue realizado un análisis de correlación entre el contejo de aerobios mesófilos y los contajes de coliformes totales, psicrotrofos y hongos-levaduras. Donde se encontró diferencias significativas para el análisis de la varianza, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La FIG. 1 muestra los contajes de aerobios mesófilos, coliformes totales, psicrotrofos y hongos-levaduras, de la bebida pasteurizada analizada a los 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16 días de almacenamiento a temperaturas de 5, 7, 9, 14 y 22°C, y en donde en cada una de ellas se evidencia el efecto de la temperatura de almacenamiento en el recuento de los microorganismos.

**TABLA I**  
**COEFICIENTE DE CORRELACION ENTRE EL CONTAJE DE AEROBIOS MESÓFILOS Y EL CONTAJE DE COLIFORMES, PSICROTROFOS Y HONGOS-LEVADURAS DE LA BEBIDA PASTEURIZADA ALMACENADA A 5, 7, 9, 14 Y 22°C**

	Temperatura de Almacenamiento				
	5°C	7°C	9°C	14°C	22°C
Coliformes	-	-	-	0,62	0,65
Psicrotrofos	0,70	0,80	0,89	0,77	0,95
Hongos-Levaduras	0,73	0,80	0,92	0,22	0,97

**TABLA II**  
**RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DEL CONTAJE MEDIO DE AERÓBIOS MESÓFILOS REALIZADA POR LA PRUEBA DE TUKEY**

Temperatura °C	Medias
14	17,80 <sup>a</sup>
25	16,12 <sup>b</sup>
9	11,43 <sup>c</sup>
5	6,41 <sup>d</sup>
7	6,21 <sup>d</sup>

Superíndices diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0,001$ ).

**TABLA III**  
**EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LAS MEDIAS DEL CONTAJE DE COLIFORMES REALIZADA POR LA PRUEBA DE TUKEY**

Temperatura	Medias
14	16,87 <sup>a</sup>
25	13,92 <sup>b</sup>
9	0 <sup>c</sup>
7	0 <sup>c</sup>
5	0 <sup>c</sup>

Superíndices diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0,001$ ).

Así tenemos que en la bebida almacenada a las temperaturas de 14 y 22°C se observó un rápido y elevado crecimiento en el conteo de aerobios mesófilos a los 2 días de almacenamiento, y luego se mantuvo relativamente estable. Mientras que a 9°C el crecimiento fue detectado a los 6 días, y en comparación con los primeros, es relativamente más lento y el conteo es menor. Se observa igualmente la tendencia a mantener un crecimiento relativamente estable. El crecimiento de aerobios mesófilos a 5 y 7°C comenzó a partir de los 10 días, y sus valores se mantuvieron relativamente muy similares.

Los coliformes no fueron detectados durante todo el período de almacenamiento de la bebida a las temperaturas de 5, 7 y 9°C. Mientras que a 14 y 22°C, se detectaron a partir

del día 4, para ese momento la bebida a 22°C alcanzó el doble del conteo encontrado a 14°C, esto evidencia que la temperatura de almacenamiento es fundamental para controlar el crecimiento de este grupo microbiano. La presencia de coliformes en productos pasteurizados es indicativa de una contaminación post-pasteurización, puesto que no son capaces de sobrevivir a dicho tratamiento térmico; sin embargo, la ausencia total de este grupo microbiano es difícil de lograr, y por ello se dispone de regulaciones oficiales. El reglamento para la industria láctea en Australia [10], establece que seguido a la pasteurización, la leche no debe contener más de un coliforme por mililitro. De igual forma la Normativa Venezolana [7], señala <100 gérmenes/mL, como límite máximo para coliformes en leche pasteurizada.

Los psicrotrofos fueron el grupo microbiano más significativo en la bebida almacenada a 5 y 7°C, lo cual era de esperarse puesto que son las temperaturas óptimas de dichos microorganismos. Sin embargo, el crecimiento de los otros grupos microbianos a 5 y 7°C fue menor si se compara con las otras temperaturas de almacenamiento, evidenciándose que de estas dos, 5°C presentó menor crecimiento y tiende a permanecer más estable.

Las bacterias psicrotomas se caracterizan por crecer a temperaturas próximas a 5°C, y son consideradas como el factor de contaminación de mayor influencia en el deterioro de la calidad de la leche pasteurizada. Por cuanto, aun cuando son destruidos por la pasteurización, suelen recontaminar al producto, particularmente si la higiene de la planta de producción es deficiente, y aun cuando se encuentren en un bajo número son capaces de multiplicarse y degradar las proteínas y la grasa de la leche a temperaturas de refrigeración [5, 8, 18].

El conteo de los hongos-levaduras fue bajo en todas las temperaturas de almacenamiento. A la temperatura de 22°C fueron detectados a los 2 días, mientras que para las otras temperaturas se detectaron el día 8, siendo el nivel de este grupo, al final del almacenamiento, similar para las cinco temperaturas estudiadas.

Los coeficientes de correlación entre el conteo de aerobios mesófilos y los psicrotrofos y los hongos-levaduras (TABLA I) fueron elevados. Encontrándose que para ambos grupos microbianos el valor del coeficiente de correlación se incrementó a medida que la temperatura de almacenamiento

fue más elevada. Asimismo, se observó a 14°C una disminución, especialmente para los hongos-levaduras, donde se obtuvo un valor de 0,22. Estos resultados pudieran sugerir el favorecimiento del efecto de algún factor inhibitorio, para este grupo microbiano.

El análisis de la varianza mostró que la temperatura y el tiempo de almacenamiento son factores altamente significativos ( $P < 0,001$ ) en la conservación de la calidad microbiológica de la bebida pasteurizada estudiada. Dado que hubo diferencias significativas, se realizó una Prueba de Tukey sobre las medias del conteo de aerobios mesófilos y coliformes, por considerar estos dos grupos los más importantes dentro de la calidad microbiana de un alimento, el cual se muestra en las TABLAS II y III, respectivamente.

En la caracterización organoléptica se detectó que las bebidas almacenadas a 14 y 22°C, presentaron un sabor y olor a fermentado al 2do día de almacenamiento, encontrándose las mismas características en la bebida almacenada a 9°C al 6to día. Mientras que a las temperaturas de 5 y 7°C no se detectaron cambios en el olor, sabor y aspecto original de la bebida a lo largo de todo el periodo de almacenamiento.

## CONCLUSIONES

La bebida pasteurizada, formulada con un concentrado de proteínas de lactosuero y harina de arroz, presentó una buena calidad microbiológica y sensorial cuando su almacenamiento ocurre a las temperaturas de 5 y 7°C, durante 16 días, siendo más favorable la temperatura de 5°C, que coincide con lo reportado en la literatura, y por otra parte, evidentemente la Norma Venezolana COVENIN es acertada al establecerla como un requisito en bebidas pasteurizadas.

Si se compara la bebida pasteurizada con la leche pasteurizada, cuyo tiempo recomendado es de solamente 3 días, se hace evidente que la bebida mantiene su calidad por un periodo de tiempo mayor, garantizando sus parámetros microbiológicos durante 16 días. Esto probablemente se deba a que al presentar la bebida mayor viscosidad, existe menor disponibilidad de agua libre para el crecimiento microbiano.

## AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su sincero agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES-LUZ), a la División de Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias y al Parque Tecnológico Universitario (PTU), de la Universidad del Zulia, por el apoyo prestado para la realización de este estudio. Así como también a la Empresa Láctea CRIOZUCA, donde se llevó a cabo la elaboración de la bebida pasteurizada.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Third edition. M.L. Speck. Washington, D.C. U.S.A. 75-90 p. 1992.
- [2] ARRIETA, A. Informe antropométrico por distritos sanitarios y localidades. Componente menores de 15 años. **Instituto Nacional de Nutrición**. Informe Mimeografiado. Maracaibo. 1-50 p. 1997.
- [3] BAKER, S.H.- The keeping quality of refrigerated pasteurized milk. **Aust. J. Dairy Technol.** September 38 (3): 124-127. 1983.
- [4] BARNARD, S. Flavor and shelf-life of fluid milk. **J. Milk Food Tech.** 37:346-349.1974.
- [5] BISHOP, J.; WHITE, C. Assessment of Dairy product Quality and Potential Shelflife. A review. **J. Food Prot.** 49: 739-753. 1986.
- [6] BODYFELT, F.; DAVIDSON, W. Temperature control. A procedure for profiling temperatures of dairy products in stores. **J. Milk Food Tech.** 38(12): 734-737.1975.
- [7] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Leche Pasteurizada. Requisitos**. 798-79. 1979.
- [8] COUSIN, M. Presence and Activity of Psychrotrophic Microorganisms in Milk and Dairy Products. A review. **J. Food Prot.** 45: 172-207. 1982.
- [9] COX, J.M. The significance of psychrotrophic pseudomonads in dairy products. **Aust. J. Dairy Technol.** 48 (2): 108-114. 1993.
- [10] CRAVEN, H.; MACAULEY, B. Microorganisms in pasteurized milk after refrigerated storage. 1. Identification of types. **Aust. J. Dairy Technol.** 47 (1): 38-45. 1992.
- [11] CROMIE. S.J. Microbiological aspects of extended shelf life products. **Aust. J. Dairy Technol.** 46 (2): 101-104. 1991.
- [12] FRAZIER, W.; WESTHOFF, D. **Microbiología de los Alimentos**. Editorial Acribia, S.A. 3ra Edición Española. Zaragoza, España. 522 pp. 1985.
- [13] GRIFFITHS, M.; PHILLIPS, J. Modeling the relation between bacterial growth and storage temperature in pasteurized milks varying hygienic quality. **J. Soc. Dairy Tech.** 41: 96-102. 1988.
- [14] HANSEN, K. Shop Sampling. Important aid to Quality Control. **Dairy Prod.** 32-43. 1988.
- [15] JAY, J. **Microbiología Moderna de los alimentos. Incidencia y tipos de microorganismos presentes en los**

- alimentos**. Editorial Acribia. 2da Edición española. 491 pp. 1981.
- [16] JUENGST, F. Use of total whey constituents- Animal Feed. **J. Dairy Sci.** 62(1): 106-111. 1979.
- [17] KOSIKOWSKI, F. Our industry today. Whey utilization and whey products. **J. Dairy Sci.** 62(7): 1149-1160. 1979.
- [18] LÜCK, H. Control de calidad en la Industria Lactológica. En: Robinson, R. **Microbiología Lactológica**. Editorial Acribia. 1era Edición Española. Volumen II. Zaragoza. España. 297 pp. 1987.
- [19] LOPEZ, N. Valoración de las Normativas Legales existentes en Venezuela para la Producción de Quesos y su incidencia en los Aspectos Higiénicos -Sanitarios. **Rev. Fac. Cienc. Vets. UCV.** 38: 64-70. 1992.
- [20] MICHENER, H.; ELLIOT, R. Minimum growth temperatures for food poisoning, fecal-indicator, and psychophilic microorganisms. **Adv. Food Res.** 13: 349- 396. 1964.
- [21] MOSSEL, D.; MORENO, B. **Microbiología de los Alimentos**. Editorial Acribia, SA. 1era Edición Española. Zaragoza. España. 375 pp. 1986.
- [22] NAVA, I.; SARDINHA, H.; FARIA, J.; BOSCAN, L. Características Microbiológicas de los Quesos Blancos Duros y Semiduros de la Costa Oriental del Lago de Maracaibo. **XXXVIII Convención Anual de ASOVAC**. Maracay, estado Aragua, Venezuela. Noviembre 215 pp. 1988.
- [23] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS User's Guide**. Version 6.12. Cary, North Caroline. 1987.
- [24] TOMPKIN, R. Refrigeration temperature as an environmental factor influencing the microbial quality of food: A review. **Food Tech.** 27 (12): 54-58. 1973.