



Universidade da Coruña.

Máster Universitario en Investigación Química y Química Industrial.

Iván Pereira Orosa.

Análisis de instrumentos de laboratorio lácteo y estudios de calidad de la leche.

Tutora externa: Delia Cabarcos Domínguez.

Tutor académico: Jesús José Fernández Sánchez.

Grupo Lactalis. Leche de Galicia, S.L.

Curso: 2020/2021. Convocatoria: Julio 2021.

Índice

1. Resumen	1
2. Introducción	3
2.1 El Grupo Lactalis	3
2.2 El Grupo Lactalis Iberia.....	4
2.3 El circuito de la calidad.....	5
2.4 Análisis de la materia prima láctea en el laboratorio	7
3. Objetivos.....	10
4. Antecedentes	13
5. Metodología y resultados	15
5.1 Estudio de los valores de materia grasa y proteica de leche cruda, pasterizada y UHT obtenidos mediante el Delta LactoScope FTIR	15
5.2 Estudio de la estabilidad de la leche pasterizada en alcohol en placa y tubo de ensayo	22
5.3 Estudio de la calidad de la leche cruda llegada a la fábrica en función de la concentración de bacterias Pseudomonas	25
5.4 Estudio comparativo de centrifugadoras	28
5.4.1 Comparación de centrifugadoras con el método de obtención de MG en leche UHT homogeneizada mediante el Delta	28
5.4.2 Comparación de centrifugadoras mediante el método de obtención de MG en leche cruda con el uso de butirómetros	31
6. Conclusiones	34
7. Bibliografía	40

Lista de Abreviaturas

MG - Materia grasa

MP - Materia proteica

SNG - Sólidos no grasos

UHT - Ultra High Temperature (temperatura ultra alta)

FTIR - Espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier

UFC - Unidades Formadoras de Colonias

r.p.m - Revoluciones Por Minuto

1. Resumen

En un laboratorio de una fábrica de envasado de productos lácteos existe una amplia variedad de análisis físico-químicos, los cuales se realizan en la materia prima láctea para obtener un producto final seguro y con la máxima calidad requerida. Estos análisis a cada muestra de leche cruda, llegada de las distintas granjas, y realizados en el laboratorio de Leche de Galicia S.L., son los siguientes: control de temperatura, detección de inhibidores, test de estabilidad en alcohol, valoración de acidez, detección de agua mediante crioscopía y determinación de la cantidad de materia grasa (MG), materia proteica (MP) y sólidos no grasos (SNG).

La leche cruda apta para su tratamiento y consumo tras llegar a la fábrica y pasar todos los análisis iniciales, se somete a un proceso de pasteurización y, posteriormente, a un proceso de esterilización, también llamado ultrapasteurización, para obtener un producto final conocido como leche UHT (Ultra High Temperature). En estos procesos se somete la leche a un calentamiento a distintas temperaturas durante un periodo muy corto de tiempo y a una homogeneización continua con la agitación de los tanques en los que se almacena. En estos procesos también se controla el pH del producto final.

En vista de todos los análisis y procesos a los que se somete a la leche hasta la obtención del producto final, se realizan en este trabajo una serie de análisis de instrumentos y de estudios de calidad de la leche. Inicialmente, se analiza los valores obtenidos de materia grasa y materia proteica en leche cruda, leche pasteurizada y leche UHT, mediante el equipo usado en el laboratorio para obtener estos datos, el equipo LactoScope FTIR (espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier), denominado por su nombre comercial Delta. Simultáneamente, se realiza un estudio de estabilidad de leche pasteurizada en alcohol con el uso de distinto material de laboratorio. Posteriormente, se realiza un estudio de la calidad de la leche llegada al laboratorio atendiendo a la cantidad de bacterias *Pseudomonas* presentes en las muestras. Finalmente, se realiza un estudio comparativo entre dos centrifugadoras usadas en el laboratorio en un procedimiento de un método de obtención de la cantidad de materia grasa en leche UHT mediante el equipo LactoScope FTIR y en otro método de obtención de materia grasa de leche cruda mediante butirómetros.

Abstract

In a laboratory of a dairy product packaging factory there is a wide variety of physical-chemical analysis, which are carried out on the dairy raw material to obtain a safe final product with the highest quality required. These analysis on each raw milk sample, arriving from the different farms, and carried out in the Leche de Galicia S.L. laboratory, are the following: temperature control, inhibitor detection, alcohol stability test, acidity assessment, detection of water by cryoscopy and determination of the amount of fat, protein and non-fatty solids.

Raw milk suitable for treatment and consumption, after arriving at the factory and passing all the initial analysis, undergoes a pasteurization process and, later, a sterilization process, also called ultrapasterization, to obtain a final product known as UHT (Ultra High Temperature) milk. In these processes the milk is heated at different temperatures for a very short period and to continuous homogenization with the agitation of the tanks in which it is stored. In these processes the pH of the final product is also controlled.

In view of all the analysis and processes that milk undergoes until the final product is obtained, a series of instrument analysis and milk quality studies are carried out in this work. Initially, the obtained values of fat and protein in raw milk, pasteurized milk and UHT milk are analysed, through the equipment used in the laboratory to obtain these data, the LactoScope FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) equipment, called by its trade name Delta. Simultaneously, a stability study of milk pasteurized in alcohol is carried out with the use of different laboratory equipment. Later, a study of the quality of the milk arriving at the laboratory is carried out, considering the amount of Pseudomonas bacteria presents in the samples. Finally, a comparative study is carried out between two centrifuges used in the laboratory in a procedure of a method for obtaining the amount of fat in UHT milk using the LactoScope FTIR equipment and in another method of obtaining fat from raw milk using butyrometers.

2. Introducción

2.1 El Grupo Lactalis

El Grupo Lactalis fue fundado en 1933 por André Besnier en Laval (Francia), continuando hoy en día, desde hace tres generaciones, comprometido con la elaboración de productos lácteos.

Actualmente, el Grupo Lactalis, como líder mundial en productos lácteos, está presente en todas las categorías de este mercado con el objetivo de cumplir su misión y “ofrecer al mundo lo mejor de la leche”. Guiado por sus valores de ambición, compromiso y sencillez, el Grupo Lactalis se ha convertido en el primer productor de quesos del mundo y en el líder europeo de leche de consumo, mantequillas y natas.¹

Su modelo de negocio se basa en una estrategia a largo plazo que combina el crecimiento a través de adquisiciones de nuevas compañías en todo el mundo. Cuando el Grupo Lactalis adquiere una compañía del sector lácteo, busca que tenga valores similares y la ayuda a crecer a través de inversiones que impulsen su capacidad industrial, su marketing y el valor de sus empleados. Su estrategia de desarrollo de las marcas se basa en la expansión internacional de sus tres marcas internacionales (Président, Galbani y Parmalat) y en el desarrollo e inversión en marcas locales. El Grupo Lactalis basa el éxito en una estrategia de proximidad, respetuosa con las personas y el medio ambiente y una exigente política en todo lo relacionado con la calidad y seguridad de sus productos.¹

Como actor relevante de la industria láctea a nivel mundial, el Grupo Lactalis contribuye en gran medida al desarrollo de la economía local y rural de los territorios donde está presente. Originalmente en Francia, pero hoy en día también en Italia, España y otros países, este compromiso requiere una firme voluntad de valorar la diversidad de los quesos con denominación de origen y su riqueza cultural como producto de la tierra. El Grupo Lactalis cumple así plenamente su papel de líder mundial de productos lácteos, apoyando tanto a grandes marcas nacionales e internacionales como otras locales o regionales más pequeñas.¹

El Grupo Lactalis cuenta con 266 fábricas en 51 países, 84.000 colaboradores en 94 países y tiene una facturación anual de 20.000 millones de euros en todo el mundo.

La actividad del Grupo Lactalis se produce a nivel mundial, contando en Europa con un 47% de sus colaboradores, en América con un 24%, en Asia y Oceanía con un 16% en conjunto y en África con un 13% de sus colaboradores. Las principales categorías de negocio que componen su facturación son los siguientes productos: 33% queso, 25% leche de consumo, 15% yogur y postres lácteos, 14% mantequillas y cremas y 6% ingredientes y leche en polvo.²

2.2 El Grupo Lactalis Iberia

El Grupo Lactalis llegó a España a principios de los años 80 con una quesería y la construcción de una fábrica de envasado de leche en Vilalba (Lugo), esta primera fábrica en Vilalba se conoce como Leche de Galicia, S.L.³

Desde entonces no ha parado de crecer hasta convertirse en uno de los mayores grupos lácteos de nuestro país. Hoy en día, El Grupo Lactalis Iberia está presente en todos los segmentos del negocio con importantes marcas nacionales e internacionales, y desarrolla una importante labor de I+D que le ha permitido ser pionero en categorías como la leche ecológica, los productos sin lactosa o las leches enriquecidas con omega3 o calcio.³

Tras la adquisición por parte del Grupo Lactalis de una quesería ubicada en Vilalba (Galicia) en 1983, una de las principales zonas productoras de leches de España, se inició la actividad industrial con la fabricación de quesos (camembert y brie) y mantequilla hasta 1990, momento en el que punto Lactalis decide construir una nueva fábrica de leche UHT en la misma ciudad. En la misma fecha se crea la filial española "Grupo Lactalis Iberia" y se comienza a importar y comercializar el resto de los productos del Grupo. La filial tiene su sede en Madrid y cuenta con 160 empleados.⁴

Desde la apertura de la fábrica en Vilalba, Leche de Galicia, S.L., en la que se envasaba la leche de la marca Président, la empresa ha experimentado una importante expansión.³

En España, el Grupo Lactalis Iberia cuenta con 8 fábricas y 2.500 empleados, con una facturación anual de 1.261 millones de euros, que se desglosan en las siguientes categorías más relevantes: 52% leche, batidos y horchata, 20% quesos, 17% yogures y postres y un 8% de mantequillas y cremas.⁵

2.3 El circuito de la calidad

Uno de los aspectos más importantes y prioritarios del Grupo Lactalis es la calidad y seguridad de todos sus productos, para esto se enfocan en garantizarlas a través del control de cada fase del proceso de producción, desde la granja hasta la mesa del consumidor (Figura 1).⁶



Figura 1: el circuito de la calidad del Grupo Lactalis.⁶

Si todas las medidas de seguridad fallan, el Grupo Lactalis cuenta con un sistema integrado de gestión de crisis que permite comunicar y gestionar cualquier alerta alimentaria. No obstante, el sistema de seguridad del circuito de la calidad se pone a prueba y se mantiene revisado y activo con múltiples ejercicios de trazabilidad y simulacros realizados a lo largo del año.

Para garantizar el funcionamiento y control del circuito de la calidad el Grupo Lactalis dispone de las siguientes medidas:⁶

- Un equipo de 30 profesionales.
- Más de 8 millones de euros invertidos en calidad al año en España.
- Auditorias de los servicios de calidad centrales en cada área y fase de los procesos de producción.
- Certificaciones de calidad y medioambientales de sus fábricas: ISO 22000, FSSC 22000, IFS, BRC e ISO 14001.
- Colaboración continua con los equipos de calidad de sus clientes de la distribución.
- Procedimiento único de gestión de crisis a nivel Grupo con comunicación vía AECOSAN.
- Sistema comprobado de trazabilidad total en menos de 4 horas hacia arriba y hacia abajo.

La trazabilidad desde la granja hasta el producto final se realiza por ley a través de una serie de códigos Q. Este método funciona desde la granja donde se almacena la leche en un depósito, con un código Q asignado, hasta que la recoge el transportista para llevarla hasta la fábrica de envasado. El transportista almacena en su camión y/o remolque, con un código Q asignado en cada parte, la leche recogida de cada depósito de cada granjero. Cuando el transportista descarga la leche en la fábrica de envasado, después de pasar todos los análisis previos del laboratorio, se almacena la materia prima láctea en un tanque de leche cruda, el cual tiene asignado un determinado código Q. Se conocen todos los códigos Q de los depósitos de granjeros y transportistas, que componen el volumen total del depósito de leche cruda, el cual se ha alimentado con la materia prima láctea hasta ser alcanzado el volumen máximo del tanque. Posteriormente, la leche cruda se procesa y va a un tanque de leche pasterizada, con un código Q para cada uno de los tanques de leche pasterizada de la fábrica de envasado.

La leche pasterizada, tras ser tratada, se envasa pasando previamente por un esterilizador, con el cual se aplica un tratamiento a temperaturas ultra altas (tratamiento UHT), con el objetivo de maximizar la destrucción de microorganismos mientras se minimizan los cambios químicos en el producto final.⁷ Se utilizan para este tratamiento cuatro esterilizadores tipo Stork de método indirecto y un esterilizador tipo VTIS de método directo (aunque también se puede usar con un método mixto).

En la esterilización a temperaturas ultra altas con el método directo, el vapor se inyecta durante poco tiempo (de 3 a 5 segundos) en la leche a una temperatura de 138 °C, proceso al que le sigue rápidamente una refrigeración instantánea. El poco tiempo que dura el tratamiento permite lograr una muy buena calidad en el producto final. No obstante, el proceso requiere un consumo de energía relativamente alto en comparación con el tratamiento a temperaturas ultra altas con un método indirecto. Con la esterilización con método indirecto, la leche no entra en contacto directo con la fuente de calor, sino que se calienta mediante intercambiadores de calor. La gran rentabilidad de este método se debe a la posibilidad de recuperar la mayor parte de la energía térmica.⁷

A continuación del proceso de esterilización, la leche pasa a las envasadoras, las cuales la introducen en los respectivos envases de un litro. Cada envase de leche tiene un número de lote en el que figura la envasadora que está asociada al esterilizador usado, relacionándolo de esta manera con los tanques de leche pasteurizada y leche cruda usados, además de los depósitos de los transportistas y las granjas que han compuesto el volumen total de los tanques.

Además de la trazabilidad obligatoria de la granja hasta el producto final, la fábrica de envasado establece una trazabilidad en los materiales usados para realizar los envases de la leche, de esta manera se produce una trazabilidad mayor que permite investigar cualquier problema con el producto final, aumentando la calidad.

2.4 Análisis de la materia prima láctea en el laboratorio

Para determinar la validez y seguridad en el uso de la materia prima láctea llegada de las granjas a la fábrica de envasado, un operario de laboratorio realiza una serie de análisis físico-químicos a cada muestra representativa de aproximadamente 1 litro llegada al laboratorio de cada ruta que un transportista trae a las instalaciones. Esta muestra es tomada por un operario de sala de control de la fábrica en un frasco estéril directamente de la cisterna del camión. Esta muestra lleva asociado un número propio de cada ruta de granjas en las que el transportista ha recogido la materia prima láctea.

En el laboratorio se realizan los siguientes análisis a cada muestra de leche cruda representativa del volumen total de leche traída a la fábrica de envasado:

- **Control de temperatura:** a cada muestra de leche cruda se le mide la temperatura con un termómetro introducido en el recipiente. Esta temperatura oscila entre los 6 y 8 grados centígrados dependiendo del tiempo que ha transcurrido entre que el operario de sala de control obtiene la muestra de la cisterna hasta que llega al laboratorio. En el estudio realizado para este trabajo sobre la influencia de la temperatura en los valores obtenidos de materia grasa y materia proteica en leche cruda, se ha tomado la muestra para de leche cruda para el estudio tras finalizar los análisis de las operarias de laboratorio, por lo tanto, la temperatura media de las muestras iniciales tomadas para este estudio es superior a la de llegada del laboratorio, de aproximadamente 12 °C.
- **Detección de inhibidores mediante el método Betastarcombo:** los principales inhibidores de los que interesa controlar su presencia son los betalactámicos y las tetraciclinas. Este método comercial se compone de unas tiras reactivas que detectan estos inhibidores. Para preparar este análisis se toman 100 microlitros de la muestra de leche con una micropipeta, se introducen en un pequeño frasco con un reactivo ya añadido por la empresa creadora del método y se introduce el frasco en la incubadora a 47,5 °C. Se calienta la muestra y pasados 2 minutos se introduce en el frasco la tira reactiva, de la que, tras otros 2 minutos en la incubadora, se obtiene el resultado final, en el que, si las marcas de los inhibidores aparecen en la tira, la prueba se considera negativa en presencia de betalactámicos y tetraciclinas.
- **Test de estabilidad de la leche en alcohol:** se realiza tomando 2 mL de leche de la muestra con una pipeta graduada, echándola en un tubo de ensayo o placa y añadiendo 2 mL de alcohol. Si la leche que se analiza es cruda, la concentración del alcohol de análisis es de 82°, y si es leche pasteurizada o UHT se comprueba a 86°. En el caso de la leche cruda se usa una placa para observar el resultado de la prueba de la estabilidad de la leche en alcohol, en cuanto a la leche pasteurizada y leche UHT se comprueba en un tubo de ensayo. Para analizar la estabilidad se agita la mezcla y se invierte para ver cómo se desliza por el tubo de ensayo. Si no se arrastra ningún sedimento (o flóculo) por las paredes del tubo entonces se considera la prueba negativa, la leche es estable y apta para su uso. En placa se

agita la mezcla homogeneizándola lo máximo posible y se comprueba si se produce la formación de flóculos, en caso negativo, la prueba es apta.

- **Valoración de la acidez:** para este análisis se toman 10 mL de muestra de leche cruda con una pipeta graduada, se echan en un tubo de ensayo, se añaden 3 o 4 gotas de fenolftaleína, se agita la mezcla y se valora con licor acidimétrico desde una bureta. El resultado corresponde a los grados de acidez Dornic. Para leche cruda el cambio de color blanco a color rosa pálido suele darse al alcanzar los 14 mL de licor acidimétrico. En el caso de la leche pasteurizada o UHT el color vira al alcanzar los 15 mL de valorante.
- **Detección de agua en leche mediante un crioscopio de muestra única:** se toman 2,5 mL de muestra de leche cruda con una pipeta automática y se echan en un recipiente de volumen adecuado para la detección de agua en leche. Este proceso se realiza en un crioscopio que determina el punto de congelación y se obtiene el valor de agua en leche.
- **Determinación del valor de MG, MP y SNG mediante el equipo LactoScope:** el análisis se realiza introduciendo la muestra de leche en la abertura de absorción del LactoScope (Figura 2), seleccionando el canal para el tipo de leche que se analiza (cruda, pasteurizada o UHT y en función de su gramaje, leche entera, semidesnatada o desnatada) y el equipo determina mediante FTIR todos los valores de MG, MP y SNG. El Delta LactoScope FTIR incorpora la última tecnología basada en la espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier. El equipo absorbe la muestra, realiza un precalentamiento y analiza, usando FTIR, el espectro de la muestra láctea obtenido a través de un interferómetro, obteniendo los valores requeridos de MG, MP y SNG proporcionados por el software del equipo.⁸



Figura 2: equipo LactoScope FTIR Delta.⁸

3. Objetivos

En este trabajo se establecen unos objetivos para cada estudio realizado, enfocados en determinar y/o resolver una problemática asociada a una técnica instrumental de laboratorio o a un aspecto de la calidad de la materia prima láctea.

En el estudio de los valores de materia grasa y proteica de leche cruda, pasteurizada y UHT obtenidos mediante el Delta LactoScope FTIR los objetivos son los siguientes:

1. Comprobar la influencia de la variación de la temperatura en las mediciones de MG y MP en las muestras de leche cruda, pasteurizada y UHT. Las muestras de leche cruda y pasteurizada llegan a laboratorio a una temperatura considerablemente menor a las muestras de leche UHT, por lo que se busca tomar una medida de MG y MP a temperatura fría de llegada al laboratorio, otra medida después de calentar las muestras a una temperatura mayor, y analizar la diferencia entre estas dos realizando una representación gráfica.
2. Deducir en la representación gráfica si las diferencias de MG y MP obtenidas en los resultados pueden corresponder a la incertidumbre de la medida del instrumento, la cual viene dada como una desviación estándar de $\pm 0,2$ g/kg.
3. Analizar la influencia en los resultados de la homogeneización de la leche en fábrica durante su procesamiento. La homogeneización, la cual puede evitar la oclusión de microburbujas en la leche que afecten a las mediciones del Delta, es prácticamente nula en la leche cruda, se inicia en la leche pasteurizada y tiene un mayor grado en la leche UHT, la cual ha adquirido un mayor tiempo de homogeneización.

En el estudio de la prueba de estabilidad de la leche pasteurizada en alcohol en placa y tubo de ensayo los objetivos son los siguientes:

1. Realizar pruebas de estabilidad en alcohol de muestras de leche pasteurizada tanto en tubo como en placa y observar la máxima graduación a la que la leche es estable.

2. Comprobar mediante representación gráfica si existe una diferencia de graduación entre la máxima graduación a la que la leche pasteurizada es estable en tubo y en placa.
3. Determinar si la diferencia es lo suficientemente considerable para realizar un cambio en la técnica actual de la prueba pasando del uso del tubo de ensayo al uso de la placa.

En el estudio de la cantidad de bacterias pseudomonas en las muestras de leche cruda llegada al laboratorio los objetivos marcados son los siguientes:

1. Tomar muestras de cada ruta llegada al laboratorio con un aclarado previo aceptado. El aclarado es una prueba que indica que la concentración bacteriana tras el lavado del vehículo del transportista está por debajo de un límite marcado, por lo que, en una posible concentración bacteriana alta en la leche pueda ser descartado el vehículo como foco de contaminación de la leche.
2. Envío al laboratorio MICRAL (laboratorio de análisis alimentarios) de las muestras tomadas de cada ruta para que a través de un método de recuento en placa determinen la concentración bacteriana en UFC (Unidades Formadoras de Colonias) / mililitro.
3. Comparativa de los resultados recibidos con los resultados de años previos y análisis de la calidad de la leche en la evolución interanual.

El estudio de la comparativa de las centrifugadoras, una de uso prolongado a lo largo de varios años y otra adquirida recientemente, son analizadas en este trabajo en dos procedimientos de métodos diferentes de obtención de MG en leche.

En primer lugar, en la comparación de centrifugadoras en el método de obtención de MG en leche UHT homogeneizada mediante el Delta los objetivos son los siguientes:

1. Obtener la diferencia entre los resultados de MG (%) de la centrifugadora actual y la centrifugadora nueva clasificándolos en función del esterilizador por el que ha pasado la muestra de leche UHT.

2. Realizar una representación gráfica con la diferencia obtenida para cada esterilizador y establecer una relación y analizar las diferencias entre centrifugadoras.

En segundo lugar, en la comparativa de centrifugadoras en el método de obtención de MG en leche cruda mediante butirómetros los objetivos son los siguientes:

1. Obtener la diferencia entre los resultados de MG de los butirómetros centrifugados con la centrifugadora actual y los butirómetros centrifugados en la nueva.
2. Analizar la representación gráfica con las diferencias de MG entre centrifugadoras y de cada una de ellas con el valor de MG del método oficial en algunas muestras de leche cruda cuyo valor de MG ha sido proporcionado por un laboratorio externo.

4. Antecedentes

En relación con el control de la calidad de la leche, existen numerosos estudios sobre los métodos analíticos empleados para garantizar el sistema de calidad desde la obtención de la materia prima láctea hasta el producto final.

La optimización de los métodos analíticos y las operaciones de laboratorio para determinar y solventar factores que influyen la calidad y la composición de la leche como pueden ser la calidad de la leche entrante en la fábrica de envasado, la salud de los animales y las condiciones de las instalaciones de las granjas, el nivel de los técnicos de laboratorio capacitados, la disponibilidad y funcionamiento de los equipos y el nivel de producción de la fábrica, favorecen un sistema de calidad más robusto.

Para esto los laboratorios de fábricas de envasado realizan análisis físico-químicos y microbiológicos a la leche procesada, por lo que existen estudios de investigación que buscan comparar, medir y evaluar estos métodos de análisis para determinar su efectividad en los sistemas de calidad de la industria láctea.

El uso de los métodos de espectroscopia ha sido tradicionalmente eficaz para evaluar atributos de calidad en los análisis físico-químicos de productos lácteos. Infrarrojo, infrarrojo cercano, infrarrojo medio y métodos de espectroscopia Raman, han permitido un análisis cuantitativo rápido de la composición de los productos lácteos. La espectroscopia de infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) es la más utilizada en el procesamiento de productos lácteos, siendo capaz de aportar en un análisis químico y composicional la información cuantitativa sobre acidez, agua añadida mediante crioscopia, materia grasa, materia proteica, lactosa y sólidos totales.⁹

En cuanto a los análisis microbiológicos, existen gran cantidad de estudios sobre las bacterias que afectan a la calidad de la leche, entre ellos los relativos a las bacterias *Pseudomonas*, el género predominante en la leche cruda. El proceso de esterilización a temperatura ultra alta (UHT) de entre 135 y 150 °C durante entre 1 y 10 segundos genera un producto comercialmente estéril con una vida útil de 6 a 9 meses sin refrigeración.¹⁰

El tratamiento UHT elimina las bacterias patógenas y minimiza las bacterias dañinas, no obstante, la calidad de la leche no solo se ve afectada por el número de bacterias psicrótrofas, sino también por las propiedades de sus enzimas proteolíticas y lipolíticas

resistentes al calor. Por lo tanto, el crecimiento de psicrótrofos en la leche cruda enfriada también puede afectar la calidad de la leche después del tratamiento UHT con el consiguiente almacenamiento. Incluso una baja actividad residual de las enzimas de las bacterias psicrótrofas después del tratamiento con UHT puede provocar problemas de calidad al almacenar la leche durante un tiempo prolongado a temperatura ambiente.¹¹

Las pseudomonas han sido ampliamente consideradas como productoras de enzimas proteolíticas termoestables. La mayoría de estas clases de enzimas son metaloproteasas alcalinas y se denominan AprX. La actividad proteolítica se lleva a cabo mediante la acción de estas enzimas proteasas termorresistentes, generadas en particular por el grupo de las bacteria psicrótrofas, que actúan sobre la k-caseína. La hidrólisis de la k-caseína provoca la desestabilización de las micelas de caseína de la leche y, en consecuencia, la coagulación y la formación de gel, generando un grave problema en la calidad de la leche.¹²

Además, las *Pseudomonas* spp. tienen una capacidad lipolítica que depende de las lipasas secretadas por estos microorganismos que actúan principalmente sobre la porción α de los triglicéridos, confiriendo a la leche el sabor amargo y el aroma desagradable, característico de los ácidos grasos de cadena corta, generando un problema de calidad de la leche en la industria láctea.¹²

Por todos estos factores físico-químicos y microbiológicos que pueden darse en la obtención, procesado y almacenamiento de los productos lácteos, es necesario una mayor investigación y optimización de los métodos analíticos que permitan controlar el sistema de calidad manteniendo unas propiedades, seguridad y, por tanto, valor comercial del producto final de alta calidad.¹³

5. Metodología y resultados

5.1 Estudio de los valores de materia grasa y proteica de leche cruda, pasterizada y UHT obtenidos mediante el Delta LactoScope FTIR

Para realizar este estudio se han tomado muestras de leche cruda, leche pasterizada y leche UHT, exceptuando la leche UHT sin lactosa, ya que con el tiempo puede interferir el proceso de descomposición de la lactasa en el espectro de absorción de IR, pudiendo dar lugar a una variación de la materia grasa aumentando el valor real de la muestra.

Las muestras de leche cruda se han tomado de las rutas que llegan de los transportistas para las descargas de leche diaria que necesitan ser analizadas en el laboratorio antes de su uso para garantizar su seguridad y calidad.

Las muestras de leche pasterizada se han tomado directamente de los depósitos de leche pasterizada de la fábrica. Los tipos de leche pasterizada usados han sido la leche clásica, la leche con calcio, la leche previa a la sin lactosa y la leche ecológica. Los gramajes de MG usados han sido la leche entera, semidesnatada y desnatada.

La leche UHT se ha tomado de los envases de leche que llegan al laboratorio para ser analizados tras pasar el proceso de esterilización y envasado. Los tipos de leche UHT usados han sido la leche clásica, la leche con calcio y la leche ecológica. Los gramajes de MG de las muestras de leche han sido entera, semidesnatada y desnatada.

Inicialmente, para el análisis de la leche se toma en un anaclín de 120 mL, unos 100 mL aproximadamente de muestra, se realiza un proceso de homogeneizado en el que se toma el anaclín vertical y se gira lentamente 180° en un sentido y posteriormente en el contrario, repitiendo este proceso varias veces, de esta manera al realizarlo lentamente se consigue cierta homogeneización con el menor número posible de burbujas generadas.

Tras este proceso, la muestra en frío (la temperatura a la que llega la leche al laboratorio, la cual para la leche cruda y pasterizada tiene un promedio de 12,6 °C frente a los 24,1 °C que promedia la leche cruda) se introduce al equipo Delta LactoScope FTIR,

el que permite obtener el valor de MG y MP generado por la absorción de IR de la muestra.

Después de obtener los valores de la leche en frío, se introduce el analclín en un baño con agua durante 10 minutos, lo cual permite calentar las muestras de leche cruda, pasterizada y UHT a una temperatura promedio de aproximadamente 36 °C.

Tras ser calentada la leche se homogeneiza de nuevo y se vuelve a introducir al Delta, generando valores de MG y MP para la leche en caliente, con cada medida del Delta de estos valores se obtiene una medida inicial y una réplica por lo que el valor final es una media de estas dos valores, los cuales son aceptados si la desviación estándar para la leche cruda y pasterizada es menor a 0,1 g/kg y para la leche UHT menor a 0,07 g/kg. Con cada medida en el Delta se consumen aproximadamente 20 mL de leche, por lo que, para cada resultado es necesario un mínimo de 40 mL de muestra.

Se han analizado un total de 150 muestras de leche cruda, 200 muestras de leche pasterizada y 100 muestras de leche UHT. Al obtener los resultados de los valores de MG y MP en leche fría y caliente, se analiza la diferencia de ambos valores, obtenida en cada medición realizando una representación gráfica. La diferencia de MG corresponde a los valores de MG en caliente menos los valores de MG en frío y lo mismo ocurre con la diferencia de MP.

La representación gráfica de la diferencia de materia grasa de la leche cruda, pasterizada y UHT es la siguiente:

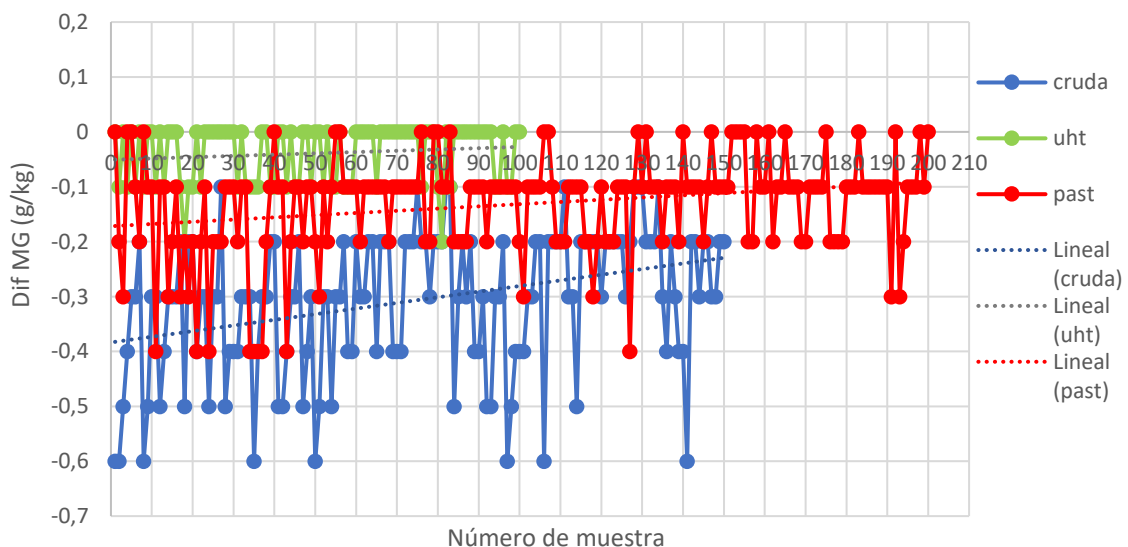


Figura 3: gráfica de la diferencia de MG en leche cruda, pasterizada y UHT.

La representación gráfica de la diferencia de materia proteica de la leche cruda, pasterizada y UHT es la siguiente:

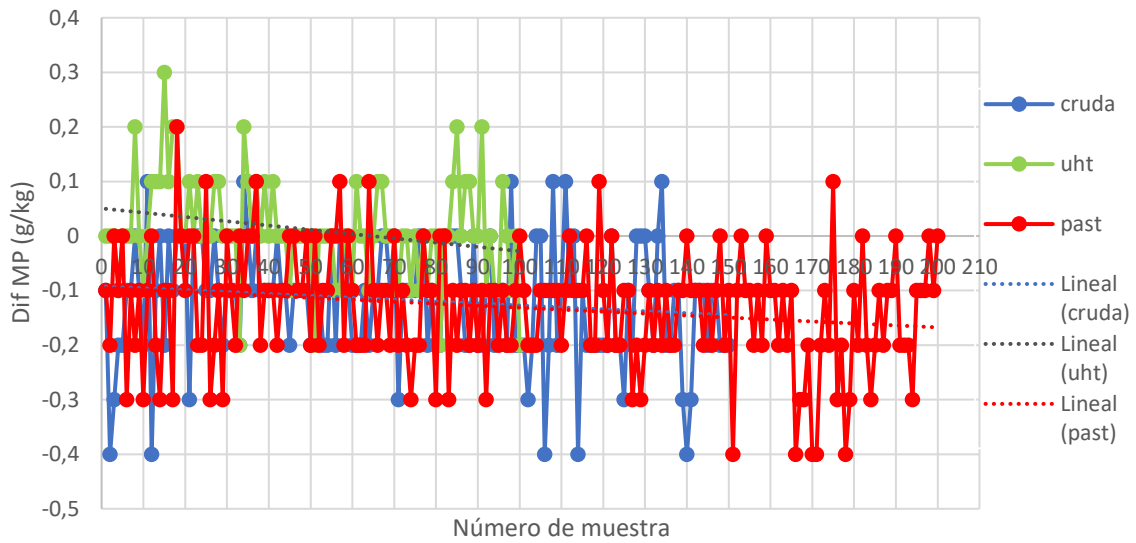


Figura 4: gráfica de la diferencia de MP en leche cruda, pasterizada y UHT.

Los promedios de MG y MP obtenidos de la diferencia de la leche cruda son los siguientes:

$$MG = -0,3 \text{ g/kg}$$

$$MP = -0,1 \text{ g/kg}$$

Los promedios de MG y MP obtenidos de la diferencia de la leche pasterizada son los siguientes:

$$MG = -0,1 \text{ g/kg}$$

$$MP = -0,1 \text{ g/kg}$$

Los promedios de MG y MP obtenidos de la diferencia de la leche UHT son los siguientes:

$$MG = 0 \text{ g/kg}$$

$$MP = 0 \text{ g/kg}$$

Para observar de una manera más clara la representación gráfica de cada tipo de leche se desglosa en representaciones gráficas individuales y, además, la leche pasterizada y leche UHT se desglosa por el tipo de gramaje de la muestra.

En el caso de la leche cruda se puede observar en la representación gráfica y en el promedio de las 150 muestras, que es la leche que tiene una mayor diferencia de MG:

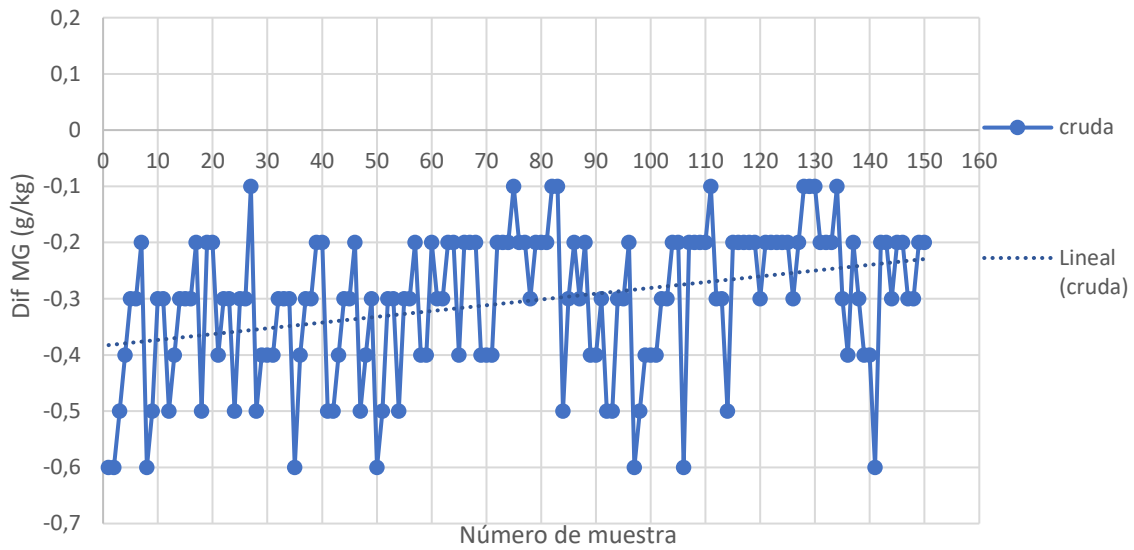


Figura 5: gráfica de la diferencia de MG en leche cruda.

En cuanto a la MP se puede observar que la leche cruda y la leche pasteurizada tienen un mismo promedio de diferencia, la representación gráfica de la diferencia de MP en la leche cruda es la siguiente:

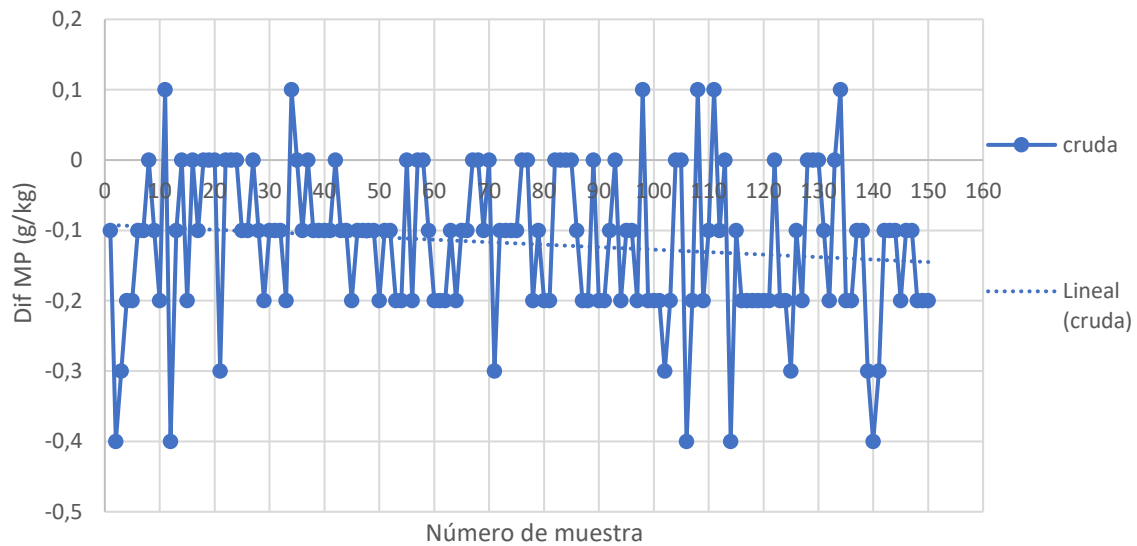


Figura 6: gráfica de la diferencia de MP en leche cruda.

A continuación, se analiza por separado la leche pasteurizada y la leche UHT dividiéndolas en función de la cantidad de grasa que presentan, es decir de su gramaje (leche entera, semidesnatada o desnatada).

La leche pasterizada desnatada tiene los siguientes promedios de diferencia de los valores de MG y MP:

$$\text{MG} = -0,1 \text{ g/kg}$$

$$\text{MP} = -0,2 \text{ g/kg}$$

La leche pasterizada semidesnatada tiene los siguientes promedios de diferencia de los valores de MG y MP:

$$\text{MG} = -0,1 \text{ g/kg}$$

$$\text{MP} = -0,1 \text{ g/kg}$$

La leche pasterizada entera tiene los siguientes promedios de diferencia de los valores de MG y MP:

$$\text{MG} = -0,2 \text{ g/kg}$$

$$\text{MP} = -0,1 \text{ g/kg}$$

Las representaciones gráficas de los distintos tipos de gramajes para la leche pasterizada son las siguientes:

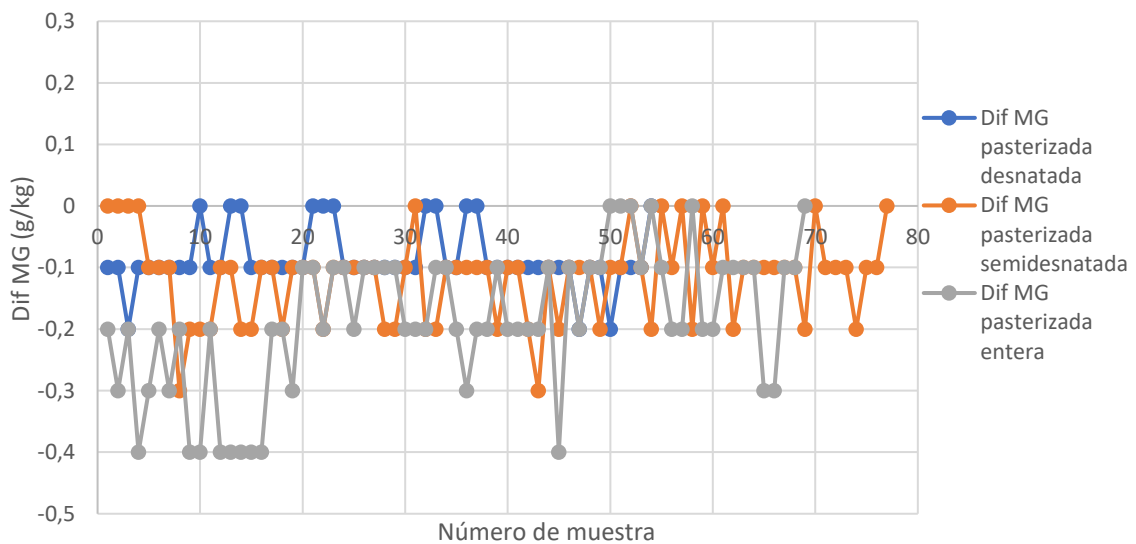


Figura 7: gráfica de la diferencia de MG en los distintos tipos de leche pasterizada.

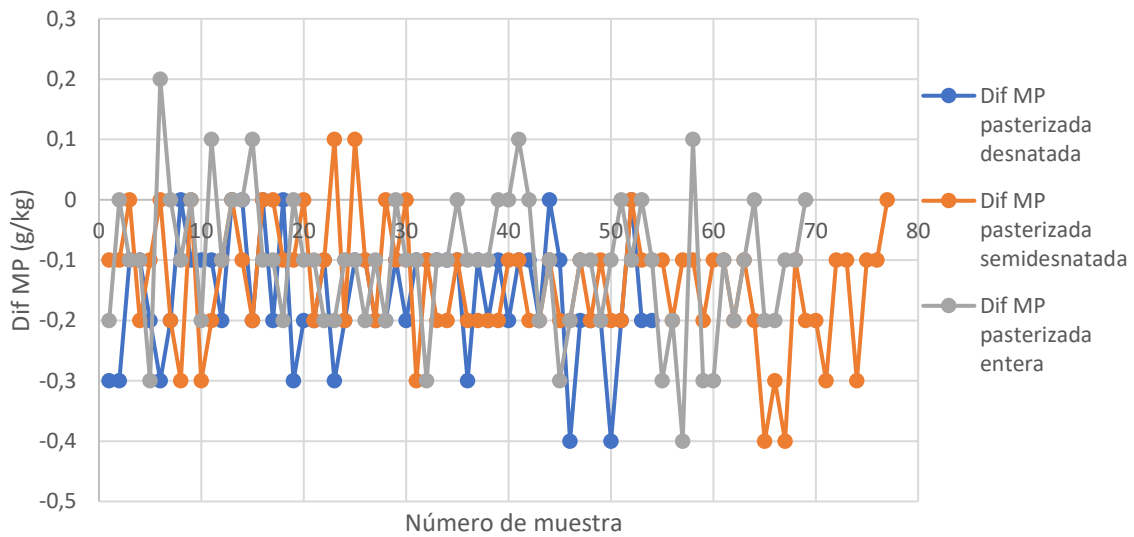


Figura 8: gráfica de la diferencia de MP en los distintos tipos de leche pasterizada.

Finalmente, la leche UHT presenta unos valores promedio de MG y MP de 0 g/kg para todos sus gramajes, las representaciones gráficas obtenidas son las siguientes:

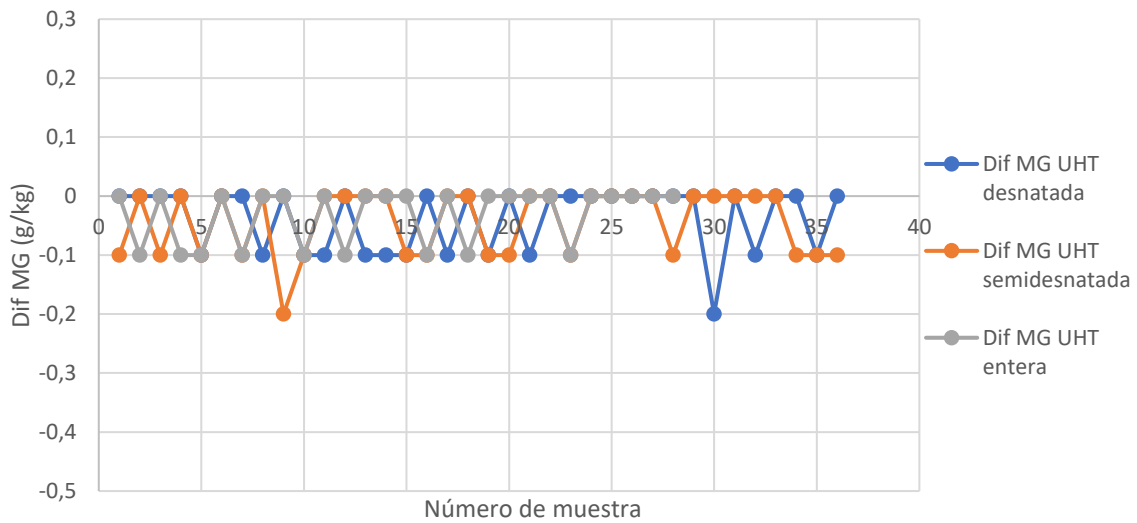


Figura 9: gráfica de la diferencia de MG en los distintos tipos de leche UHT.

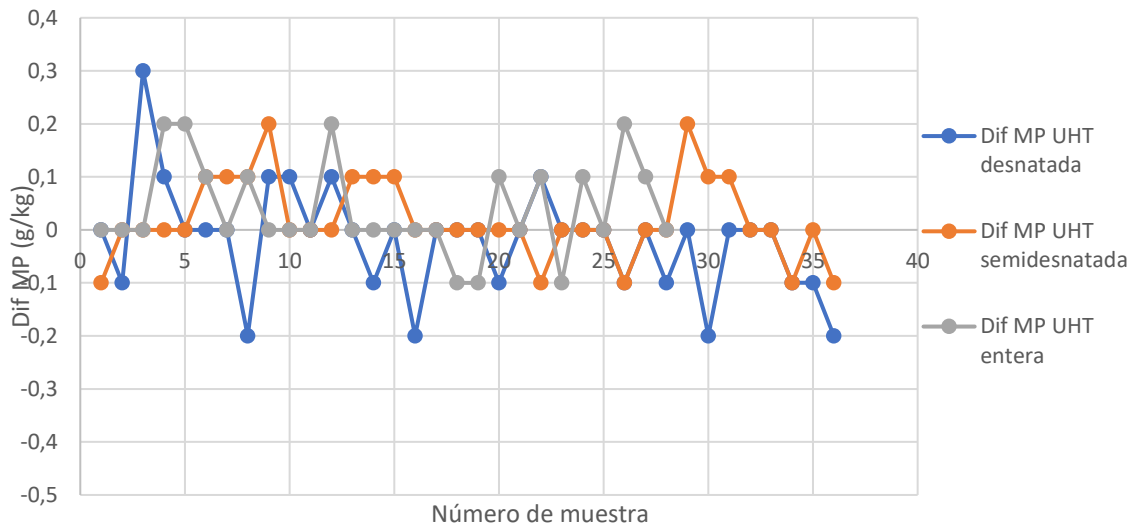


Figura 10: gráfica de la diferencia de MP en los distintos tipos de leche UHT.

Se puede observar en estos resultados que la diferencia en promedio de la MG en leche cruda de $-0,3 \text{ g/kg}$ es muy cercana al rango de los valores de incertidumbre del método $\pm 0,2 \text{ g/kg}$, pero como se observa en la gráfica, los resultados de las diferencias varían siempre en valores negativos, es decir, siempre hay una pérdida de MG al obtener en el Delta el resultado de la muestra en caliente, por lo tanto, no puede ser asignada esta variación siempre negativa al error del método ya que no hay ninguna diferencia con valor positivo. Ocurre lo mismo para la leche pasteurizada con un promedio de MG de $-0,1 \text{ g/kg}$ que entra en el rango de la incertidumbre del método, pero no presenta ninguna diferencia en valores positivos, por lo que, en este caso tampoco puede ser asignada la variación al error del método.

En el cuanto a las diferencias de MP han sido de $-0,1 \text{ g/kg}$ de promedio para las muestras de leche cruda y pasteurizada y de 0 g/kg para la leche UHT, en este caso, si se observan algunos valores positivos de diferencias de MP y los valores promedio obtenidos entran dentro del rango de incertidumbre del método de $\pm 0,2 \text{ g/kg}$.

En la leche UHT independientemente de su gramaje, entera, semidesnatada y desnatada tiene una diferencia promedio de MG de 0 g/kg .

5.2 Estudio de la estabilidad de la leche pasterizada en alcohol en placa y tubo de ensayo

Para este estudio se han tomado muestras de todo tipo de leche pasterizada de los distintos depósitos de la fábrica. Inicialmente, se ha comprobado la estabilidad de las muestras de leche pasterizada en alcohol de 86 grados, en el caso de que la mezcla de la leche en alcohol no sea estable (formando flóculos/gránulos apreciables), se reduce la graduación del alcohol y se comprueba a 82 grados la estabilidad de la leche, y si ocurre lo mismo y la leche tampoco es estable a 82 grados, se repite el proceso rebajando sucesivamente 2 grados la graduación del alcohol hasta que la leche sea estable en alcohol y el test por lo tanto negativo.

Las muestras se han analizado en tubo y placa, mezclando y homogeneizando 2 mL de leche pasterizada, añadidos con una pipeta graduada al tubo o a la placa, con la cantidad equivalente de alcohol. La estabilidad se determina cuando se haya la máxima graduación de alcohol a la que la leche es estable (test de alcohol negativo) tanto en tubo como en placa. Cabe ser mencionado un pequeño grado de subjetividad de observación en las muestras que presenten una cantidad de flóculos en el límite de la positividad de la prueba de estabilidad en alcohol.

Se hicieron un total de 150 análisis de estabilidad de muestras de leche pasterizada en alcohol, obteniendo unos resultados de: 30 muestras con una diferencia entre placa y tubo de 2° (20%) y 120 muestras con una diferencia de 0° (80%). La diferencia se calcula restando la graduación de la estabilidad en tubo (método actual) a la graduación de la estabilidad en placa (método nuevo).

A continuación, se representa gráficamente los resultados de las diferencias entre la graduación de alcohol a la que las muestras son estables en tubo y en placa:

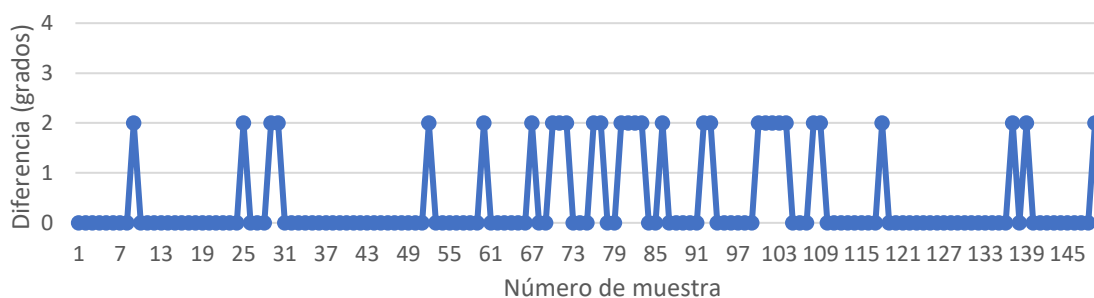


Figura 11: diferencias entre las estabilidades de la leche en tubo y placa.

Para determinar si existe una diferencia entre los distintos tipos de gramaje de la leche pasterizada se representa la leche pasterizada entera, semidesnatada y desnatada gráficamente y se analiza el promedio de las diferencias de estabilidad en alcohol entre los resultados de las muestras en tubo y en placa.

La representación gráfica de las muestras de leche pasterizada desnatada es la siguiente:

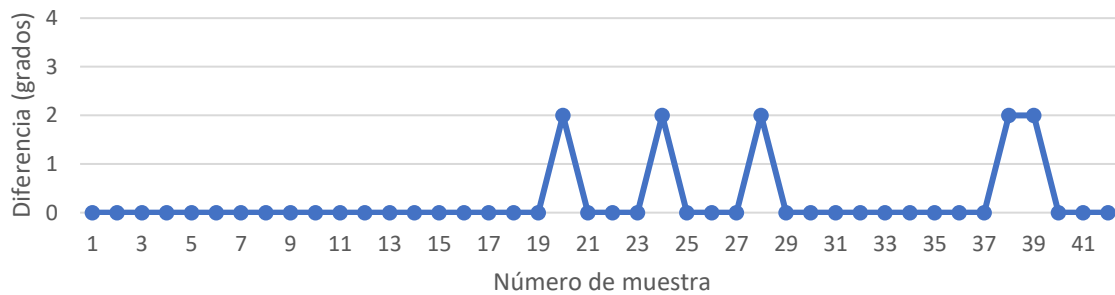


Figura 12: diferencias de las estabilidades de la leche desnatada en tubo y placa.

El promedio de las diferencias de estabilidad de las muestras de leche pasterizada desnatada entre tubo y placa es de $0,26^\circ \approx 0^\circ$.

La representación gráfica de las muestras de leche pasterizada semidesnatada es la siguiente:



Figura 13: diferencias de las estabilidades de la leche semidesnatada en tubo y placa.

El promedio de las diferencias de estabilidad de las muestras de leche pasterizada semidesnatada entre tubo y placa es de $0,80^\circ \approx 1^\circ$.

La representación gráfica de las muestras de leche pasterizada entera es la siguiente:

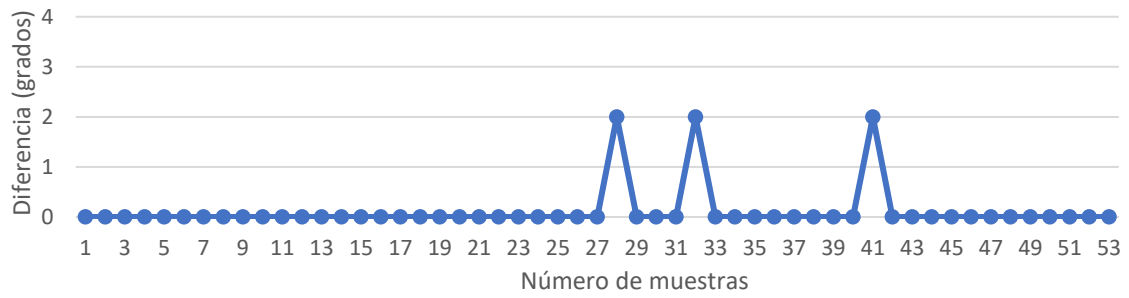


Figura 14: diferencias de las estabilidades de la leche entera en tubo y placa.

El promedio de las diferencias de estabilidad de las muestras de leche pasteurizada entera entre tubo y placa es de $0,11^\circ \approx 0^\circ$.

Tanto en muestras de leche desnatada como en muestras de leche entera la diferencia obtenida es prácticamente 0° , pudiendo obtener tanto en tubo como en placa el mismo resultado de estabilidad de leche en alcohol. En el caso de muestras de leche semidesnatada la diferencia se eleva a prácticamente 1° .

5.3 Estudio de la calidad de la leche cruda llegada a la fábrica en función de la concentración de bacterias Pseudomonas

En este estudio se analiza la cantidad de bacterias Pseudomonas presentes en las rutas de leche cruda llegadas al laboratorio. Con este estudio se pretende hacer una mejora de la calidad bacteriológica controlando las rutas y alertando a los granjeros de las muestras de leche que lleguen a la fábrica las cuales presenten un alto contenido bacteriológico, como es en gran medida el causado por la contaminación con la Pseudomona spp., la cual tiene su principal foco de contaminación en las aguas de las instalaciones de ordeño, aunque también puede encontrarse en el suelo y colonizar la superficie de los equipos de ordeño y mangueras, generando una biopelícula que favorece su adherencia y las protege de los agentes desinfectantes, convirtiéndose de estas maneras en las fuentes principales de contaminación de la leche.¹⁴

Es importante controlar la contaminación bacteriológica por el género Pseudomonas en las fábricas de envasado de leche, ya que está constituido por especies capaces de desarrollarse a una temperatura igual o menor a 7 °C, independientemente de su temperatura óptima de crecimiento. La actividad bioquímica de las bacterias como las Pseudomonas es intensa y afecta en gran medida a las proteínas y lípidos de la leche. Muchas enzimas proteolíticas y lipolíticas son termoestables, resistiendo la pasteurización, lo que origina una disminución de la calidad del producto final, dado que le confiere un sabor más amargo y rancio y produce la coagulación de la caseína.^{11, 12, 14}

Inicialmente, se han tomado cada semana un número de 3 a 5 rutas las cuales tuviesen un aclarado aprobado para realizar este análisis. El aclarado es una prueba realizada a las aguas residuales del vehículo, al que se ha realizado un lavado, controlando su pH y su presencia bacteriana a través de un cultivo bacteriano. En caso de que el cultivo bacteriano y el pH sean los marcados como valores aceptados se procede a tomar una muestra de 100 mL, ya que con el aclarado aceptado se puede descartar el vehículo como una posible fuente de contaminación bacteriana de la leche.

Las muestras tomadas a cada ruta llegada al laboratorio se envían al laboratorio externo MICRAL (laboratorio de análisis alimentarios) para que con un método de recuento en placa (PNT-AL-018)¹⁵ determinen la concentración bacteriana en UFC

(Unidades Formadoras de Colonias) / mililitro. Siendo un valor conforme las muestras con un valor menor a 1000 UFC/mL, un valor tolerado los que entren en el rango de 1000 a 50000 UFC/mL y un valor no conforme aquellas muestras que presentan un resultado mayor a 50000 UFC/mL).

Los valores de Pseudomonas en las muestras de las rutas son los siguientes:

Código	Pseudomonas (UFC/mL)	Código	Pseudomonas (UFC/mL)	Código	Pseudomonas (UFC/mL)
101	70.000	181	2.000	528	999
102	4.000	182	999	529	999
103	999	183	999	533	1.000
104	3.000	184	100.000	534	999
105	5.000	185	1.000	535	52.000
106	1.000	186	90.000	536	10.000
107	15.000	187	999	538	999
150	999	188	999	539	999
151	999	189	999	540	25.000
152	999	190	999	545	999
153	999	191	63.000	547	1.000
154	3.000	192	999	548	3.000
155	1.000	193	1.000	549	999
156	1.000	194	7.000	550	33.000
157	999	196	999	551	12.000
158	999	197	999	555	46.000
159	999	198	1.000	556	360.000
160	22.000	199	4.000	915	200.000
161	3.000	202	94.000	917	8.000
162	999	203	11.000		
163	999	503	12.000		
164	999	505	999		
165	999	511	999		
166	999	512	4.000		
167	999	513	250.000		
168	999	514	4.000		
169	6.000	516	5.000		
173	280.000	517	999		
174	1.000	518	10.000		
175	2.000	519	13.000		
176	1.000	523	4.000		
177	2.000	524	999		
178	1.000	525	57.000		
179	999	526	1.000		
180	22.000	527	40.000		

Figura 15: tabla de resultados de concentración de Pseudomonas.

También se realizaron repeticiones de algunas rutas con resultados no conformes. En un total de ocho repeticiones, se obtuvieron dos nuevos resultados con valores conformes y tres nuevos resultados con valores tolerados.

Del número total de análisis hechos, en las muestras analizadas en 2021 se ha obtenido un 39,2 % de resultados conformes, un 46,4% de resultados tolerados y un 14,4 % de resultados no conformes, siendo en este año un 85,6 % de resultados aceptados frente a un 14,4 % de resultados no aceptados.

La evolución interanual de estos resultados de % de valores no conformes, % de valores tolerables y % de valores conformes, por cada año, figura de la siguiente manera desde el 2012 al 2021:

Año	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
% no conforme	40,7	62,2	17,2	33,8	34,8	17,6	23,9	40,2	17,3	14,4
% tolerancia	55,6	36,6	75,9	60,6	57,3	70,3	70,5	58,8	65,4	46,4
% conforme	3,7	1,2	6,9	5,6	7,9	12,2	5,7	1,0	17,3	39,2

Figura 16: tabla de la evolución interanual.

A continuación, se representa gráficamente la evolución interanual del año 2012 al 2021 junto con su línea de tendencia:

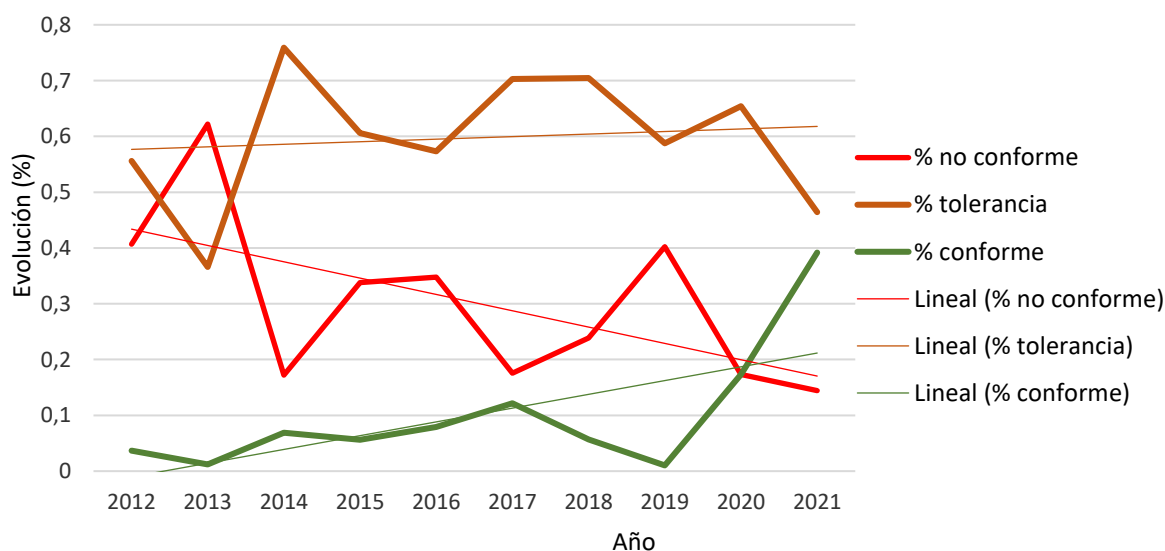


Figura 17: gráfica de evolución interanual.

5.4 Estudio comparativo de centrifugadoras

Este estudio se divide en dos partes con el fin de establecer una comparación entre una centrifugadora de uso actual, con años de funcionamiento, y una centrifugadora de nueva adquisición, mediante dos métodos distintos de obtención de MG que permitan comprobar el desempeño de ambas a una misma velocidad de 1100 r.p.m y a temperatura ambiente sin producir un calentamiento en las muestras.

5.4.1 Comparación de centrifugadoras con el método de obtención de MG en leche UHT homogeneizada mediante el Delta

En esta parte del estudio se han realizado mediciones de MG de muestras de leche UHT de los cuatro esterilizadores Stork y del esterilizador VTIS, asignado como esterilizador número cinco.

Las muestras de leche UHT han sido prioritariamente de leche entera clásica, aunque también ha sido utilizada leche semidesnatada clásica para algunas mediciones en caso de no disponer en ese momento de la producción de leche entera. Para reconocer a que esterilizador pertenece cada envase de leche se ha mirado el número de lote donde viene el número de envasadora característica del esterilizador del que envasa la leche, siendo en el número de lote las envasadoras 1 y 2 pertenecientes al Stork 1, las envasadoras 3, 4 y 5 correspondientes al Stork 2, las envasadoras 6 y 7 asociadas con el Stork 4, la envasadora 8 propia del Stork 3 y, finalmente, las envasadoras 9 y 10 las correspondientes al esterilizador VTIS.

Para realizar este método se obtiene inicialmente el valor de MG del envase de leche UHT analizado con el Delta. Posteriormente, se ha medido en cada proceso 2 botes de 40 mL de leche UHT cada uno, llenándose cada uno con 2 ampollas de 20 mL cada una. Cada ampolla y cada bote han sido envasados con la máxima precisión posible. Previamente a esta medición se han centrifugado las ampollas durante 30 minutos, introduciendo un total de 4 ampollas en cada centrifugadora para obtener finalmente dos botes de 40 mL de leche UHT centrifugada que nos permite tener una medición de MG de dos réplicas, por lo tanto, por cada proceso se obtienen dos valores de MG por cada centrifugadora.

Para conocer la variación de MG en la centrifugación con respecto al valor inicial de MG del envase de leche UHT, se calcula el porcentaje de MG que persiste en la muestra tras el centrifugado dividiendo el valor tras la centrifugación entre el valor inicial de MG y multiplicado por cien. De esta manera, haciendo una media de los porcentajes de los dos botes por cada centrifugadora, se puede calcular la diferencia de cuanta MG persiste en la muestra tras el centrifugado restando el porcentaje medio de los dos botes de la centrifugadora nueva menos el porcentaje medio de los dos botes de la centrifugadora actual, siendo esta diferencia para cada esterilizador, un método de comparación entre las centrifugadoras y entre los propios esterilizadores. Las diferencias obtenidas para cada esterilizador son las siguientes:

Diferencia centrifugadora nueva-actual (%)	Esterilizador
9,3	1
9,2	3
9,6	2
9,5	2
12,6	5
8,3	4
9,8	3
8,1	3
9,5	1
12,5	5
9,2	3
9,2	3
9,3	3
8,6	4
8,9	1
8,6	3
8,5	2
9,4	1
12,6	5
8,9	2
9,4	2
12,6	5
8,3	4
9,2	4
9,4	1
9,6	4
12,0	5

Figura 18: tabla de diferencias de los esterilizadores entre centrifugadoras.

Para establecer una comparación entre los esterilizadores Stork y VTIS, se ha realizado una representación gráfica donde se comparan los esterilizadores 1, 2, 3 y 4, los Stork, y el esterilizador 5, el VTIS.

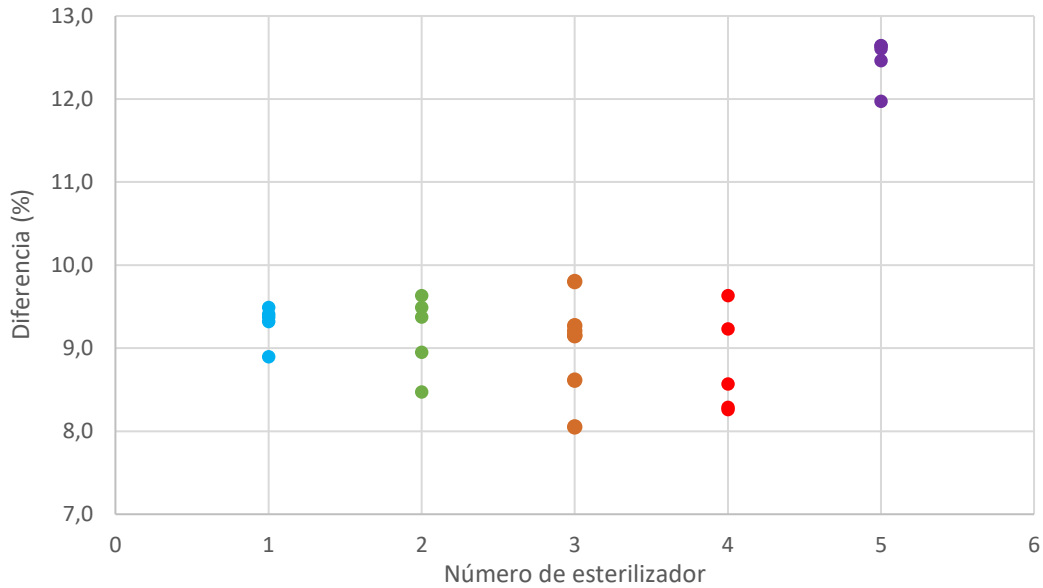


Figura 19: gráfica de las diferencias entre centrifugadoras de cada esterilizador.

Se observa en la representación gráfica como existe una diferencia entre la MG que permanece en las muestras que pasaron por la centrifugadora nueva a las muestras de la centrifugadora actual, siendo las diferencias de los esterilizadores Stork entre un 8 y un 10 % y las diferencias del esterilizador VTIS entre un 12 y un 13 %.

5.4.2 Comparación de centrifugadoras mediante el método de obtención de MG en leche cruda con el uso de butirómetros

Esta segunda parte del estudio de comparación entre centrifugadoras, se usa un método de obtención de MG en rutas de leche cruda mediante el uso de butirómetros. Las muestras de leche cruda deben ser calentadas previamente en un baño hasta alcanzar los 25 °C. Se homogeneiza la muestras tras ser retirada del baño y se preparan los butirómetros, los cuales requieren para este método, 10 mL de ácido sulfúrico, 11 mL de leche cruda y 1 mL de isoamílico, sin mojar el cuello del butirómetro durante todo el procedimiento. Se tapa el butirómetro y se agita lentamente, ya que la reacción es muy exotérmica y puede producir quemaduras, esta agitación se realiza hasta la disolución completa de la masa proteica de la leche.

Después de tener la mezcla lista, realizando 2 butirómetros de la misma muestra de leche cruda para cada una de las centrifugadoras, se realiza el proceso de centrifugado durante 5 minutos. Al finalizar este proceso se ajusta la columna de grasa al 0 de la escala del butirómetro o si no es posible a la lectura principal más cercana en la escala. Se incuba 10 minutos en un baño Gerber a 65 °C y tras finalizar el calentamiento se enrasa y se hace la lectura de la MG obtenida en el butirómetro en g / 100 mL. Siempre se debe realizar la lectura en los primeros 10 segundos.

Las dos lecturas sucesivas de dos butirómetros de la misma centrifugadora para tener una buena repetibilidad, es decir, que la diferencia entre dos resultados de dos butirómetros diferentes para una misma muestra obtenidos con un mismo equipo en el mismo procedimiento no debe ser superior a $\pm 0,05$ g/100 mL.

Para calcular la diferencia entre las centrifugadoras se resta el valor promedio de los dos butirómetros realizados para una misma muestra centrifugada por la centrifugadora nueva menos el promedio de los dos valores de los butirómetros centrifugados por la centrifugadora actual.

Con estas diferencias se puede realizar una representación gráfica para examinar las variaciones de MG entre ambas centrifugadoras. Así mismo, se han enviado algunas de las rutas analizadas por este método a un laboratorio externo y se ha obtenido los valores oficiales de las muestras de leche cruda, con lo que, se puede analizar las diferencias de los valores obtenidos con la centrifugación de la centrifugadora nueva

menos los valores del método oficial, y de la misma manera, se puede obtener las diferencias de los valores obtenidos con la centrifugadora actual restándolos con los valores del método oficial.

Todas estas diferencias entre centrifugadoras y cada una de ellas con el método oficial se puede observar en la siguiente representación gráfica:

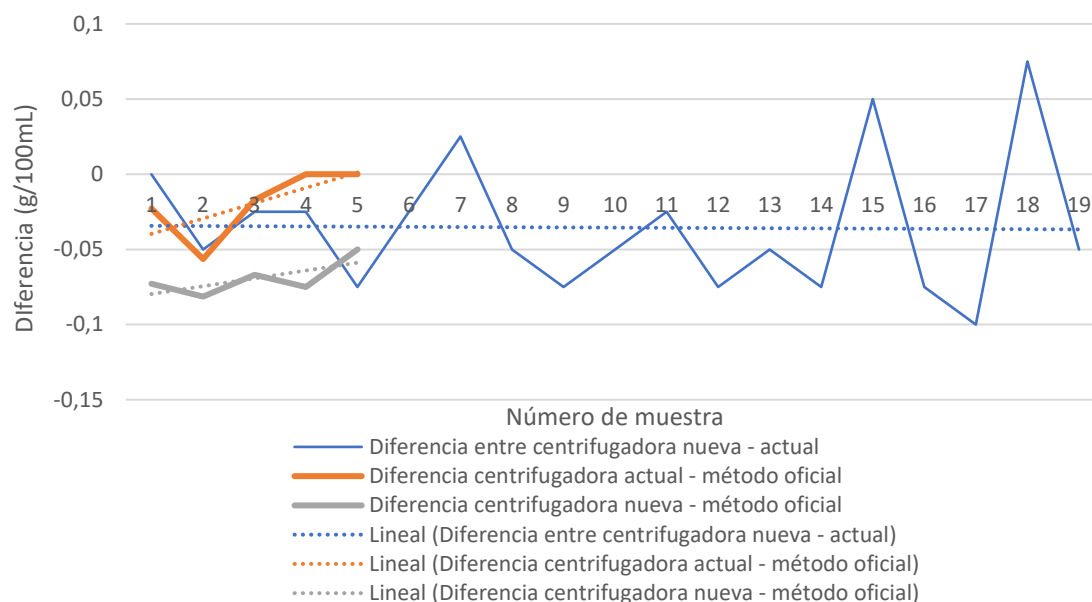


Figura 20: diferencias de MG entre centrifugadoras y método oficial.

Se analizaron un total de 20 muestras de leche cruda en el estudio comparativo de centrifugadoras y se obtuvo un promedio de $-0,0375$ g/100 mL, lo que lo hace un resultado dentro del rango de repetibilidad asociado al método, de $\pm 0,05$ g/100 mL.

En cuanto a los valores del método oficial, se obtuvieron para 5 muestras de leche cruda y se compararon con cada uno de los valores de cada centrifugadora.

En el caso de la diferencia de valores de la centrifugadora actual y el método oficial, se obtuvo un promedio de $-0,0193$ g/100 mL. Este es un buen resultado en función de la reproducibilidad, que es la diferencia entre dos resultados distintos e independientes obtenidos por dos analistas que trabajan en laboratorios diferentes analizando una muestra idéntica sometida a un mismo proceso, por lo tanto, la diferencia no debe ser superior a $\pm 0,1$ g/100 mL.

Para la diferencia entre los valores de la centrifugadora nueva y el método oficial, se obtuvo un valor promedio de $-0,0693 \text{ g}/100 \text{ mL}$. Este resultado es peor en cuanto a la reproducibilidad, pero sigue estando en el rango aceptado entre laboratorios.

En cuanto a las tendencias de cada serie en la gráfica, se puede observar que las diferencias entre centrifugadoras mantienen una tendencia constante en próxima al valor del promedio que se obtuvo.

La tendencia entre las diferencias de la centrifugadora actual y el método oficial tiende a cero, con un valor de reproducibilidad bueno con respecto a la dada por el método.

La tendencia entre las diferencias de la centrifugadora nueva y el método oficial, sin embargo, es más alta y tiende en menor grado a cero, no obstante, siendo menos deseable el valor de reproducibilidad de las diferencias entre la centrifugadora nueva con el método oficial, el cual se acerca más al límite de lo deseado, aún es en todo caso conforme dentro del rango dado por el método de obtención de MG mediante butirómetros.

6. Conclusiones

En el estudio de los valores de materia grasa y proteica de leche cruda, pasteurizada y UHT obtenidos mediante el Delta LactoScope FTIR obtenemos las siguientes conclusiones:

- Analizando los resultados de MG en leche cruda y leche pasteurizada se puede determinar que hay una sobreestimación de los valores de MG obtenidos en las muestras en frío, ya que no puede ser asignada la variación siempre negativa al rango de incertidumbre del método. Esta sobreestimación puede ser en parte por una influencia de la temperatura de las muestras que se miden en el equipo, el cual necesita calentar la muestra a 40°C para realizar el IR y proporcionar los valores del análisis, con lo que requiere un mayor esfuerzo para llegar a la temperatura de análisis con una muestra en frío, por lo tanto, puede llegar a afectar al análisis dando lugar a un valor de MG de la muestra en frío más alto del valor real.
- Además de la influencia de la temperatura, la leche cruda en frío, la cual aún no ha pasado ningún proceso efectivo de homogeneización, trae una mayor cantidad de aire ocluido en forma de microburbujas que, en la leche fría, quedan atrapadas con una mayor facilidad y afectan en la absorción de IR pudiendo generar unos valores más elevados del valor real de la muestra. Esto no ocurre de la misma manera en la leche pasteurizada ya que en los depósitos de la fábrica se homogeneiza con una agitación constante, dando lugar a un menor número de microburbujas ocluidas y a unos valores de diferencia de MG más bajos que en las muestras de leche cruda.
- No se observa una influencia de la temperatura tan clara en los valores de MP como en el análisis de los valores de MG, pero si se puede ver unos valores mayores en las muestras de leche cruda y pasteurizada con respecto a la leche UHT, por lo tanto, puede afectar en un menor grado la influencia de la temperatura en las mediciones del equipo y la menor homogeneización en las muestras en las que se observa una mayor diferencia de MP.
- Finalmente, la leche UHT no tiene variación promedio de MG, esto es debido a que ya ha pasado un proceso de homogeneización, lo cual reduce el número de

microburbujas que pueda contener en su interior y, además, llega al laboratorio a una mayor temperatura, lo cual reduce el número de microburbujas atrapadas y requiere que el equipo realice un menor esfuerzo de calentamiento de la muestra para su análisis, por lo tanto, también reduce el efecto de la influencia de la temperatura en las mediciones del equipo.

Las conclusiones obtenidas del estudio de la estabilidad de la leche pasteurizada en alcohol en placa y tubo de ensayo son las siguientes:

- En un cambio de realización de la técnica, sustituyendo el actual análisis de la estabilidad del alcohol en tubo por placa, la graduación del alcohol a la que se realiza la estabilidad de la leche desnatada y entera podrá ser la misma. En cuanto a la leche semidesnatada, en vista de los resultados, puede ser necesario un cambio de graduación del alcohol para realizar la prueba de estabilidad de leche semidesnatada en placa a una graduación que sea la más alta a la que el resultado es negativo, es decir, la máxima graduación a la que la leche es estable en alcohol.
- Bajo el punto de vista de la obtención de los mejores resultados de la técnica, el cambio a placa es favorable, dado que al tener una mayor superficie de contacto directo entre la leche y el alcohol, permite una homogeneización de la mezcla más rápida y efectiva con una observación más clara de los posibles flóculos generados, en cambio, en tubo de ensayo el alcohol entra en contacto con la leche por capas, ya que la superficie de contacto es mucho menor y esto afecta a una peor homogeneización y a un peor campo de visión de los posibles flóculos por las paredes del tubo.

Se han obtenido las siguientes conclusiones del estudio de la calidad de la leche llegada a la fábrica en función de la concentración de bacterias *Pseudomonas* presentes en las muestras.

- El porcentaje de muestras no conformes en 2021 ha sido del 14,4 %, con lo que, para seguir reduciendo este número de muestras no conformes, se debe encontrar con la trazabilidad y dar un aviso a los granjeros cuya leche contiene una concentración bacteriana de *Pseudomonas* fuera del rango aceptado para

que tomen medidas en sus granjas y eliminen los focos de contaminación bacteriana.

- Observando la evolución interanual, excepto en 2019, se comprueba que existe una tendencia al alza de las muestras de leche con unos valores de concentración de Pseudomonas conformes y tolerados y una tendencia a la baja de los valores no conformes de concentración de Pseudomonas en leche, esto es debido a la legislación cada vez más exigente en la calidad bacteriana de la leche y a los controles cada vez mayores de los granjeros para cumplir el estándar de calidad y seguridad en sus instalaciones.

En el estudio de la comparación de centrifugadoras con el método de obtención de MG en leche UHT homogeneizada mediante el Delta podemos establecer las siguientes conclusiones:

- Existe una mayor cantidad de MG que tras la centrifugación persiste siempre en las muestras de la centrifugadora nueva con respecto a la centrifugadora actual independientemente del esterilizador.
- Hay una diferencia notable en las diferencias de valores de MG de los Stork en comparación con el VTIS, por lo que, la diferencia entre la centrifugadora nueva y la actual es mayor con la leche UHT homogeneizada por el esterilizador VTIS. Esto puede ser debido a una diferencia del tamaño del glóbulo de la MG que el VTIS consigue generar con respecto a los esterilizadores Stork.

Finalmente, en la segunda parte del estudio de comparación de centrifugadoras con el método de obtención de MG en leche cruda mediante butirómetros se han obtenido las siguientes conclusiones:

- Se ha obtenido un buen valor promedio de las diferencias entre centrifugadoras, que es de $-0,0375$ g/100 mL, proporcionando una buena repetibilidad ya que está dentro del dentro del rango asociado al método $\pm 0,05$ g/100 mL.
- Los valores de las diferencias entre cada una de las centrifugadoras y el método oficial, inferiores a $\pm 0,1$ g/100 mL, también están dentro del rango dado por el método, obteniendo una buena reproducibilidad, mejor, no obstante, para la centrifugadora actual que la centrifugadora nueva.

Conclusions

In the study of the fat and protein values of raw, pasteurized and UHT milk obtained using the Delta LactoScope FTIR, we obtain the following conclusions:

- Analyzing the results of fat in raw milk and pasteurized milk it can be determined that there is an overestimation of the fat values obtained in the cold samples, since the always negative variation cannot be assigned to the uncertainty range of the method. This overestimation may be partly due to an influence of the temperature of the samples that are measured in the equipment, which needs to heat the sample to 40 °C to perform the IR and provide the analysis values, which requires a greater effort to reach the analysis temperature with a cold sample, therefore, it may affect the analysis resulting in a fat value of the cold sample that is higher than the actual value.
- In addition to the influence of temperature, cold raw milk, which has not yet undergone any effective homogenization process, brings a greater amount of entrapped air in the form of microbubbles that, in cold milk, are trapped with a greater ease and affect the absorption of IR being able to generate higher values than the real value of the sample. This does not occur in the same way in pasteurized milk since in the factory tanks it is homogenized with constant agitation, resulting in fewer occluded microbubbles and lower fat difference values than in raw milk samples.
- The influence of temperature is not as clear in the protein values as in the analysis of the fat values, but higher values can be seen in the samples of raw and pasteurized milk with respect to UHT milk, therefore, it may affect in a lesser degree the influence of temperature in the measurements of the equipment and the lesser homogenization in the samples in which a greater difference in protein is observed.
- Finally, UHT milk does not have an average fat variation, this is because it has already undergone a homogenization process, which reduces the number of microbubbles it may contain inside and, in addition, reaches the laboratory at a higher temperature, which reduces the number of trapped microbubbles and requires the equipment to make less effort to heat the sample for analysis,

therefore, it also reduces the effect of temperature influence on equipment measurements.

The conclusions obtained from the study of the stability of the milk pasteurized in alcohol in a plate and test tube are the following:

- In a change in the implementation of the technique, replacing the current analysis of the stability of alcohol in tube by plate, the alcohol graduation at which the stability of skimmed and whole milk is carried out may be the same. Regarding semi-skimmed milk, in view of the results, a change of alcohol strength may be necessary to perform the plate stability test of semi-skimmed milk at a level that is the highest at which the result is negative, which that is to say, the maximum graduation at which the milk is stable in alcohol.
- From the point of view of obtaining the best results of the technique, the change to plate is favourable, since having a greater direct contact surface between milk and alcohol, allows a faster homogenization of the mixture and effective with a clearer observation of the possible flocs generated, on the other hand, in a test tube the alcohol comes into contact with the milk in layers, since the contact surface is much smaller and this affects a worse homogenization and a worse field of vision of the possible flocs through the walls of the tube.

The following conclusions have been obtained from the study of the quality of the milk arriving at the factory based on the concentration of Pseudomonas bacteria present in the samples.

- The percentage of non-compliant samples in 2021 has been 14,4 %, which means that, to continue reducing this number of non-compliant samples, it must be traced and given a warning to farmers whose milk contains a bacterial concentration of Pseudomonas outside the accepted range for them to take action on their farms and eliminate sources of bacterial contamination.
- Observing the interannual evolution, except in 2019, it is found that there is an upward trend in milk samples with conforming and tolerated Pseudomonas concentration values and a downward trend in non-conforming Pseudomonas concentration values in milk, this is due to the increasingly demanding legislation

on the bacterial quality of milk and the increasing controls by farmers to meet the quality and safety standard in their facilities.

In the study of the comparison of centrifuges with the method of obtaining fat in homogenized UHT milk using the Delta we can establish the following conclusions:

- There is a greater amount of fat that always persists after centrifugation in the samples from the new centrifuge compared to the current centrifuge regardless of the sterilizer.
- There is a noticeable difference in the fat values of the Stork compared to the VTIS, therefore, the difference between the new centrifuge and the current one is greater with the UHT milk homogenized by the VTIS sterilizer. This may be due to a difference in the size of the fat globule that the VTIS manages to generate compared to the Stork sterilizers.

Finally, in the second part of the study comparing centrifuges with the method of obtaining fat in raw milk using butyrometers, the following conclusions have been obtained:

- A good average value of the differences between centrifuges has been obtained, which is $-0,0375$ g/100 mL, providing a good repeatability since it is within the range associated with the method $\pm 0,05$ g/100 mL.
- The values of the differences between each of the centrifuges and the official method, less than ± 0.1 g/100 mL, are also within the range given by the method, obtaining a good reproducibility, better, however, for the current centrifuge than the new centrifuge.

7. Bibliografía

1. <https://www.lactalis.es/el-grupo-lactalis/presentacion/> (fecha de acceso 14/06/2021)
2. <https://www.lactalis.es/el-grupo-lactalis/cifras-clave/> (fecha de acceso 14/06/2021)
3. <https://www.lactalis.es/lactalis-en-espana/presentacion/> (fecha de acceso 14/06/2021)
4. <https://www.lactalis.es/lactalis-en-espana/historia/> (fecha de acceso 14/06/2021)
5. <https://www.lactalis.es/lactalis-en-espana/cifras-clave/> (fecha de acceso 14/06/2021)
6. <https://www.lactalis.es/circuito-de-la-calidad/> (fecha de acceso 15/06/2021)
7. <https://www.tetrapak.com/es-es/solutions/processing/main-technology-area/uht-treatment> (fecha de acceso 16/06/2021)
8. <https://www.interempresas.net/Alimentaria/FeriaVirtual/Producto-Analizadores-lacteos-Delta-LactoScope-FTIR-174669.html> (fecha de acceso 15/06/2021)
9. N. Burke, K. Zacharski, C. C. Adley, M. Southern. 2021. A comparison of analytical test methods in dairy processing. *Food Control*. 121.
10. D. Zhang, S. Li, J. Palmer, K. H. Teh, S. Leow, S. Flint. 2020. The relationship between numbers of *Pseudomonas* bacteria in milk used to manufacture UHT milk and the effect on product quality. *International Dairy Journal*. 105.
11. J. A. Narvhus, O. N. Bækkelund, E. M. Tidemann, H. M. Østlie, R. K. Abrahamsen. 2021. Isolates of *Pseudomonas* spp. from cold-stored raw milk show variation in proteolytic and lipolytic properties. *International Dairy Journal*. In Press.
12. E. Capodifoglio, A. M. C. Vidal, J. A. S. Lima, F. Bortoletto, L. F. D'Abreu, A. C. S. Gonçalves, A. C. N. Vaz, J. C. C. Balieiro, A. S. Netto. 2016. Lipolytic and proteolytic activity of *Pseudomonas* spp. isolated during milking and storage of refrigerated raw milk. *Journal of Dairy Science*. 99:5214-5223.
13. M. Rosenberg. 2002. Liquid Milk Products: UHT Sterilized Milks. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 288-296.

14. M. S. Iramain, M. Pol, S. Korol, M. A. Herrero, M. S. Fortunato, C. Bearzi, J. Chavez, V. Maldonado May. 2005. Pseudomonas en agua y leche cruda. InVet. 7:133-137.
15. <http://micral.es/wp-content/uploads/2019/10/MICRAL-OFERTA-SERVICIOS-GENERAL-2019-MICRAL-ACTUALIZADO-011019.pdf> (acceso 22/06/2021)