



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Bioquímica y Farmacia

Implementación de una Guía Técnica para la pasteurización de leche y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en la Planta de Lácteos "VIGLAC" ubicada en el cantón Tambo.

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Bioquímica Farmacéutica

Autoras:

Evelyn Cristina Guaraca Pino
CI: 0302879234
Correo: evelyn.guaraca96@gmail.com

Ligia Alexandra Guaraca Sigüencia
CI: 0302428941
Correo: ligiaalex895@gmail.com

Tutor:

Ing. David Enrique Vanegas Jácome
CI: 0104046057

Cuenca - Ecuador
08-enero-2020



RESUMEN

La pasteurización es un proceso térmico que reduce la carga microbiana a niveles seguros y/o la total destrucción de los microorganismos patógenos que pudiesen estar presentes en la leche u otro producto alimenticio, garantizando la inocuidad y evitar las enfermedades de transmisión por alimentos (ETAS).

En base a un ensayo piloto realizado en la Planta de Lácteos VIGLAC se determinó que el proceso de pasteurización a 72 °C durante 4 segundos era deficiente, en vista que la carga microbiana en el producto pasteurizado superó los valores de aerobios mesófilos, coliformes totales y *Escherichia coli* permitidos por la norma NTE INEN 10:2012.

Observando esta realidad se propuso estructurar e implementar la Guía Técnica para la pasteurización de la leche. Para probar su efectividad se realizó un nuevo ensayo, tomando muestras de leche cruda (25) y muestras de leche pasteurizada (360) por un lapso de 5 semanas. El análisis de las muestras, ponen de manifiesto, que la aplicación de un proceso de pasteurización realizado a 72 °C durante 20 segundos disminuye la carga bacteriana a un valor promedio de $5,8 \times 10^1$ UFC/cm³ ($\sigma = \pm 9,1 \times 10^0$) para aerobios mesófilos y a <1 UFC/cm³ ($\sigma = \pm 0,9$) para coliformes totales/*E.coli*.

Adicional se aplicó ecuaciones de cinética de inactivación bacteriana y el cálculo de reducciones logarítmicas, mismas que corroboraron que el tiempo y temperatura empleados en la pasteurización descritos en la Guía Técnica fueron los adecuados para reducir la carga bacteriana a lo indicado en la norma vigente en el Ecuador.

Palabras claves: Leche. Pasteurización. Guía técnica. Cinética de inactivación bacteriana.



ABSTRACT

Pasteurization is a thermal process is to reduce the microbial load to safe levels and/ or the total destruction of pathogenic microorganisms that may be present in milk or other foodstuff, guaranteeing safety and avoiding diseases transmitted by food (ETAS).

Based on a pilot study conducted at the VIGLAC Dairy Plant, it was determined that the pasteurization process at 72 ° C for 4 seconds was deficient, given that the microbial load present in the pasteurized product exceeded the values of mesophilic aerobes, Total coliforms and *Escherichia coli* allowed by the NTE INEN 10: 2012.

Observing this reality, it was proposed to structure and implement the Technical Guide for milk pasteurization. To test its effectiveness, a new test was carried out, taking samples of raw milk (25) and samples of pasteurized milk (360) for a period of 5 weeks. The analysis of the samples shows that the application of a pasteurization process accomplished at 72 ° C for 20 seconds reduces the bacterial load to an average value of $5,8 \times 10^1$ UFC/cm³ ($\sigma = \pm 9,11 \times 10^0$) for mesophilic aerobes and <1 UFC/cm³ ($\sigma = \pm 0,9$) for total coliforms / *E.coli*.

In addition, kinetic equation of bacterial inactivation and the calculation logarithmic reductions were applied, same that corroborate the time and temperature used in pasteurization described in the Technical Guide were adequate to reduce the bacterial to what is indicated in the norm in force in Ecuador.

Keywords: Milk. Pasteurization. Technical Guide Kinetics of bacterial inactivation.



ÍNDICE DEL TRABAJO

INTRODUCCIÓN	13
1. MARCO TEÓRICO.....	15
1.1. Leche	15
1.1.1. Definiciones de leche	15
1.1.2. Calidad e inocuidad de la leche.....	15
1.1.3. Microorganismos indicadores de alteración y calidad higiénica en leche pasteurizada	16
1.2. Definición de Guía Técnica	17
1.2.1. Partes de la Guía Técnica.....	17
1.3. Pasteurización	19
1.3.1. Tipos de pasteurización.....	20
1.4. Destrucción de microorganismos por el calor.....	21
1.4.1. Cinética de inactivación microbiana.....	23
2. METODOLOGÍA	26
2.1. Área de estudio.....	26
2.2. Tipo y descripción del estudio	26
2.3. Población de estudio.....	27
2.4. Toma de muestra de leche cruda y pasteurizada	28
2.5. Métodos de análisis microbiológico.....	30
2.5.1. Placas petrifilm.....	30
2.5.2. Placas petrifilm para aerobios mesófilos.	30
2.5.3. Placas petrifilm para coliformes totales/ <i>E. coli</i>	31
2.6. Materiales, reactivos y equipos	31
2.7. Procedimientos de siembra de leche cruda y pasteurizada.....	32
2.7.1. Preparación y siembra de leche cruda	32
2.7.2. Preparación y siembra de las muestras de leche pasteurizada.....	32
2.8. Cálculo para el recuento de microorganismos en leche.....	34
2.9. Aplicación de la cinética de inactivación microbiana	34



2.10.	Análisis de datos.....	35
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
3.1.	Resultados microbiológicos de la prueba piloto.....	36
3.2.	Resultados microbiológicos del nuevo muestreo.....	36
3.3.	Comparación de datos de la prueba piloto y nuevo muestreo	40
3.4.	Evaluación del comportamiento microbiológico a 72 °C y 80 °C durante 20 segundos.....	41
3.5.	Cinética de inactivación bacteriana	42
3.6.	Cálculo del número de reducciones logarítmicas	44
3.7.	Implementación de la Guía Técnica para la pasteurización de la leche.....	44
4.	CONCLUSIONES	46
5.	RECOMENDACIONES	48
	REFERENCIAS.....	49
	ANEXOS	52



ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Proceso para la implementación de la Guía Técnica.....	27
Diagrama 2. Proceso de toma de muestra de leche cruda	29
Diagrama 3. Proceso de toma de muestra de leche pasteurizada.....	30
Diagrama 4. Proceso de siembra de leche cruda	32
Diagrama 5. Proceso de siembra para el aislamiento de aerobios mesófilos en leche pasteurizada.....	33
Diagrama 6. Proceso de siembra para el aislamiento de coliformes totales/ <i>E.coli</i> en leche pasteurizada.....	33

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Proceso de pasteurización HTST en flujo continuo	21
Ilustración 2. Relación de tiempo y temperatura.....	22
Ilustración 3. Resultados microbiológicos de leche cruda y pasteurizada durante las cinco semanas	39
Ilustración 4. Comparación de aerobios mesófilos obtenidos en la prueba piloto y nuevo muestreo	40
Ilustración 5. Recuento microbiológicos de leche pasteurizada a 72 y 80 °C	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Requisitos microbiológicos de la leche pasteurizada.....	17
Tabla 2. Combinaciones de tiempo y temperatura de pasteurización	19
Tabla 3. Valor D y z para algunas especies microbianas en la pasteurización	25
Tabla 4. Número de reducciones logarítmicas establecidas por Weibull con resultados de un \pm 95% de intervalo de confianza.....	25
Tabla 5. Volumen promedio de leche cruda destinada a la pasteurización.....	28
Tabla 6. Materiales, reactivos y equipos.....	31
Tabla 7. Resultados microbiológicos de la prueba piloto	36
Tabla 8. Resultados microbiológicos del nuevo muestreo durante las 5 semanas	37
Tabla 9. Datos para el cálculo teórico de la cinética de inactivación bacteriana	42
Tabla 10. Datos para el cálculo real de la cinética de inactivación bacteriana	43



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio
Institucional

Evelyn Cristina Guaraca Pino en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Implementación de una Guía Técnica para la pasteurización de leche y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en la Planta de Lácteos "VIGLAC" ubicada en el cantón Tambo", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 08 de enero de 2020

Evelyn Cristina Guaraca Pino

C.I: 0302879234



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Ligia Alexandra Guaraca Sigüencia en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Implementación de una Guía Técnica para la pasteurización de leche y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en la Planta de Lácteos "VIGLAC" ubicada en el cantón Tambo", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 08 de enero de 2020

Ligia Alexandra Guaraca Sigüencia

C.I: 0302428941



Cláusula de Propiedad Intelectual

Evelyn Cristina Guaraca Pino, autora del trabajo de titulación "Implementación de una Guía Técnica para la pasteurización de leche y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en la Planta de Lácteos "VIGLAC" ubicada en el cantón Tambo", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 08 de enero de 2020

Evelyn Cristina Guaraca Pino

C.I: 0302879234



Cláusula de Propiedad Intelectual

Ligia Alexandra Guaraca Sigüencia, autora del trabajo de titulación "Implementación de una Guía Técnica para la pasteurización de leche y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en la Planta de Lácteos "VIGLAC" ubicada en el cantón Tambo", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 08 de enero de 2020

Ligia Alexandra Guaraca Sigüencia

C.I: 0302428941



AGRADECIMIENTO

Al Ingeniero David Vanegas, director de tesis, por su confianza y asesoramiento oportuno durante todo el proceso de desarrollo, elaboración de la propuesta le agradecemos infinitamente por su comprensión y apoyo para con nosotros, les seremos eternamente agradecidas.

A la Planta de Lácteos “VIGLAC”, en la persona del señor propietario Luis Alberto Vigme quien nos abrió las puertas y nos brindó la oportunidad y las facilidades para la consecución práctica de nuestro trabajo de titulación.

De igual manera le expresamos nuestro agradecimiento con nosotras al Licenciado Danny Guaraca por su colaboración en el diseño e ilustración de la Guía Técnica.



DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación lo dedico principalmente a Dios y a mi abuelita que es mi ángel en el cielo, por brindarme salud y darme fuerza para cumplir con una meta más en mi vida. A mis padres Nelva y Miguel, por ser mi ejemplo a seguir, por todo su amor, apoyo y sacrificio durante todos estos años, ya que gracias a ustedes me he convertido en la persona que soy.

A mi hermana Angélica por su apoyo incondicional y moral que me impulsa a continuar durante mi formación personal y profesional.

De igual manera agradezco a mis familiares y amigos por todos los consejos y apoyo recibido durante el transcurso de mi vida y finalmente a mis profesores que influyeron en mi desarrollo profesional.

Cristina Guaraca.

Esta tesis la dedico a mi Dios y a la Virgen Purísima de Macas por guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas.

A mis ángeles en el cielo Mauricio y Papito Gil por cuidarme y bendecirme en mi vida. A mis padres Rafael y Ligia quienes son mi mayor ejemplo de perseverancia y fortaleza, por su apoyo, consejos, comprensión y amor. A mis hermanos Marlon y Danny por ser mi ejemplo a seguir y enseñarme a enfrentar las adversidades.

A mi tía Mónica por brindarme sus consejos, cariño y amor. Ustedes me han brindado todo lo que soy como persona, mis valores, principios, carácter y perseverancia.

De igual manera a todos mis familiares y amigos especialmente a mi amiga Fernanda quien ha estado durante estos años brindándome su amistad y apoyo desinteresado.

Ligia Guaraca.



INTRODUCCIÓN

En el mercado actual, tanto las plantas productoras de lácteos, así como los consumidores requieren de mayores exigencias respecto a la calidad de la leche y sus derivados, principalmente en términos de su inocuidad.

El objetivo fundamental de aplicar el proceso de pasteurización de la leche cruda es la reducción de los microorganismos patógenos a niveles seguros y/o la total destrucción de los mismos para garantizar su inocuidad y evitar las enfermedades de transmisión por alimentos (ETAS) (Pardo & Almanza, 2003).

A nivel mundial los productos lácteos representan un importante vehículo de ETAS. La contaminación post-pasteurización, la manipulación durante el proceso de fabricación, el equipamiento y el abuso de las condiciones de temperaturas durante el transporte y el almacenamiento son causales para el desarrollo de microorganismos patógenos en los productos lácteos. Entre los agentes etiológicos transmitidos por la leche y productos lácteos que comúnmente pueden causar intoxicación, toxiinfección o infección alimentaria son generalmente causados por enterobacterias. (Valbuena, Rojas, & Luigi, 2013).

La leche que ingresa la Planta de Lácteos VIGLAC contiene una carga microbiológica superior a los requisitos microbiológicos establecidos en la normativa nacional NTE. INEN 9:2012 por lo que se debe garantizar que el procesamiento térmico al cual es sometida la leche reduzca la carga microbiana a niveles aptos para el consumo humano. Además, mediante un ensayo piloto, la leche pasteurizada incumplía con los requisitos microbiológicos según la norma NTE. INEN 10:2012 tanto para aerobios mesófilos, coliformes totales y *E. coli* lo que fue considerado un indicativo que el procesamiento térmico (pasteurización) que se llevaba a cabo era deficiente y que las normas higiénicas eran inapropiadas, convirtiéndose en un riesgo potencial para la salud de los consumidores.

En base a lo expuesto, es de suma importancia establecer el procedimiento adecuado para el proceso de pasteurización mismo que debe ser respaldada por análisis microbiológicos, que avalen su eficiencia; para asegurar la inocuidad del alimento. Por tanto, se propuso implementar una Guía Técnica para la pasteurización de leche la cual



fue estructurada y socializada en la Planta de Lácteos "VIGLAC", su efectividad se corroboró mediante pruebas microbiológicas abarcando microorganismos aerobios mesófilos, coliformes totales/ *E.coli*, los resultados revelaron que los parámetros descritos en la guía propuesta cumplieron con la finalidad de disminuir y/o eliminar cualquier microorganismo patógeno, que pudiese sobrevivir al procesamiento térmico.



1. MARCO TEÓRICO

1.1. Leche

1.1.1. Definiciones de leche

- **Leche.** Producto de secreción mamaria de animales bovinos sanos, que es extraída mediante ordeño y no tienen ningún tipo de adición o extracción (INEN, 2012a).
- **Leche cruda.** Leche que no ha sido sometida a ningún tratamiento térmico, es decir, su temperatura no supera los 40°C que es la temperatura de la leche una vez extraída de la ubre bovina. (INEN, 2012a).
- **Leche pasteurizada.** Leche que es sometida a tratamiento térmico para eliminar parcial o totalmente los microorganismos patógeno presentes sin alterar sus características nutricionales, organolépticas y fisicoquímicas (INEN, 2012b).

1.1.2. Calidad e inocuidad de la leche

La calidad higiénica de la leche cruda depende del estado salud del animal bovino y su ubre, del ambiente de ordeño, higiene del ordeñador y de las condiciones del equipo de ordeño. La contaminación microbiana de la leche durante su obtención en la explotación ganadera puede deberse a diferentes microorganismos tales como *Streptococcus*, coliformes, psicrótrofos Gram negativos y termodúricos. La leche también puede contener distintos microorganismos patógenos como *Brucella spp.*, *Salmonella spp.*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Yersinia* y *Listeria* (Martínez Vasallo et al., 2015).

En la leche pasteurizada a diferencia de la leche cruda, la presencia de bacterias coliformes es inaceptable, ya que las temperaturas de pasteurización las destruye. Su presencia en alimentos es indicador de un mal procesamiento térmico o contaminación postpasteurización (Servicio de acreditación Ecuatoriano, 2018).

Los requisitos, tanto de calidad e inocuidad de la leche, son expresados como indicadores físico-químicos, organolépticos, higiénico-sanitarios y la ausencia de peligros



bacterianos que permitan la obtención de leche y derivados lácteos sin riesgo de causar daño a los consumidores. Estas exigencias se cumplen con una correcta planificación, aplicación y seguimiento de Buenas Prácticas de Manufactura (Martínez Vasallo et al., 2015).

1.1.3. Microorganismos indicadores de alteración y calidad higiénica en leche pasteurizada

La calidad microbiológica de la leche pasteurizada se establece en términos de microorganismos indicadores de los defectos en el manejo o en la transformación tecnológica del alimento. Los microorganismos empleados son:

- **Aerobios mesófilos:** Se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de desarrollarse en un rango de temperatura entre 15 a 45 °C, siendo su temperatura óptima 35 °C (Aguirre, 2016).

La determinación de los aerobios mesófilos es un indicador de calidad microbiológico más empleado en la leche, sin embargo, su presencia en bajas cantidades no descarta la ausencia de patógenos o sus toxinas. Su recuento permite:

- a) Verificar que los procedimientos de limpieza y desinfección sean efectivos.
- b) Comprobar que las temperaturas aplicadas durante los procesos fueron las correctas.
- c) Identificar el origen de la contaminación durante los procesos de fabricación de alimentos (Alonso & Poveda, 2018).

- **Coliformes totales:** Son bacilos de pequeña longitud, aerobios o anaerobios facultativos. Su temperatura óptima de desarrollo es 37 °C, fermentan glucosa y lactosa en ácido láctico, CO₂ e hidrógeno, desprendiendo un olor y sabor desagradable. La presencia de estos microorganismos son indicativos de mal manejo o deficiencia de proceso (Aguirre, 2016).

- ***Escherichia coli:*** Bacilo Gram negativo, fermentan a lactosa a 45 °C ± 0,2. Este microorganismo se utiliza como indicador de la contaminación de origen fecal, puesto que



su hábitat es la flora intestinal de los mamíferos, suelos y aguas fecales (Alonso & Poveda, 2018).

Los métodos de ensayo y límites de referencia para los microorganismos indicadores de calidad en leche pasteurizada se establecen en la tabla 1.

Tabla 1. Requisitos microbiológicos de la leche pasteurizada

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Recuento de microorganismos mesófilos, UFC/cm ³	5	30 000	50 000	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de coliformes, UFC/cm ³	5	<1	10	1	AOAC 991.14
Recuento de <i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	<10	-	0	AOAC 991.14

Fuente: (INEN, 2012b)

1.2. Definición de Guía Técnica

Es un documento de apoyo técnico-administrativo, que abarca la información y/o procedimientos de forma ordenada, sistémica, clara y detallada sobre un tema en particular, además señala a quién va dirigido, cómo, cuándo, y dónde será aplicada (Lopez, 2009).

Disponer de una guía técnica a más de cumplir con un requisito administrativo permite normalizar las actividades para que estas se realicen siempre igual y bajo las mismas condiciones, de tal manera que el procedimiento no se vea afectado al momento de existir cambios de personal, y además garantiza la obtención de productos de la misma calidad (Arroyo & Maronna, 2013).

1.2.1. Partes de la Guía Técnica

No existe uniformidad en cuanto a su contenido, ya que esta varía según los objetivos y propósitos, así como su ámbito de aplicación; sin embargo, los elementos que se consideran básicos para su elaboración son:



Identificación. Es la portada o primera página de la guía en la cual se debe incluir los siguientes datos: logotipo de la institución, nombre de la institución, título de la guía, autores, fecha de elaboración, país y ciudad.

Índice. Indica de forma ordenada los temas que constituyen la guía con sus respectivos números de páginas.

Introducción. Es la carta de presentación de la guía, proporciona de forma resumida y clara la información más relevante, orientando al lector a tener un panorama general de su contenido. Para su elaboración se requiere conocer la situación actual del tema de interés (Sánchez et al., 2011).

Objetivo(s) de la guía técnica. Describe el propósito que se pretende cumplir con la Guía Técnica, debe ser redactado en forma clara, precisa e iniciar con un verbo en infinitivo (Sánchez et al., 2011).

Glosario. Lista de términos de difícil comprensión, junto con su significado.

Contenido. Parte medular de la Guía Técnica, en la cual se describe de manera detallada la información de los temas que contiene el documento, adaptándola a las necesidades del lector. En este apartado se puede incluir, imágenes, tablas diagramas de flujo o cualquier otro instrumento para facilitar el entendimiento por parte del usuario (Lopez, 2009).

Bibliografía: Conjunto de referencias de libros, revistas, sitios web entre otros, que se emplearon para la búsqueda de información de los temas tratados en la Guía (Sánchez et al., 2011).

Anexo (opcional): Los anexos son documentos que complementan la información descrita en la Guía (Sánchez et al., 2011).



1.3. Pasteurización

La pasteurización es un proceso que combina tiempo y temperatura, cuyo objetivo es destruir las formas vegetativas de algunas bacterias patógenas como *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella*, *Brucella*, entre otros. Además, mediante este proceso puede inactivar enzimas como la lipasa y catalasas que alteran los sabores de los alimentos. La pasteurización se realiza a temperaturas inferiores al punto de ebullición del tal manera que el producto no pierda sus características físicas, químicas y nutritivas (Begazo, 2014; Buñay, 2014).

Para el proceso de pasteurización se pueden realizar diversas combinaciones de tiempo y temperatura como se visualiza en la tabla 2.

Tabla 2. Combinaciones de tiempo y temperatura de pasteurización

Temperatura (° C)	Tiempo
63	30 minutos
72	15 segundos
89	1,0 segundos
90	0,5 segundos
94	0,1 segundos
96	0,05 segundos
100	0,01 segundos

Fuente: (Martínez & Rosenberger, 2013)

El proceso de pasteurización por acción del calor destruye a las bacterias lo que permite prolongar la vida útil del alimento. Sin embargo, no todos los microorganismos son destruidos a la vez, ya que solo un porcentaje es destruido en un determinado periodo de tiempo mientras que el resto sobrevive, pero, si los microorganismos sobrevivientes se someten nuevamente al proceso de pasteurización, una proporción igual de éstos serán destruidos. Es decir un mismo tratamiento térmico elimina la misma proporción del



recuento inicial, por tanto la cinética de muerte térmica es de primer orden (González, 2015).

1.3.1. Tipos de pasteurización.

Existen tres tipos de pasteurización

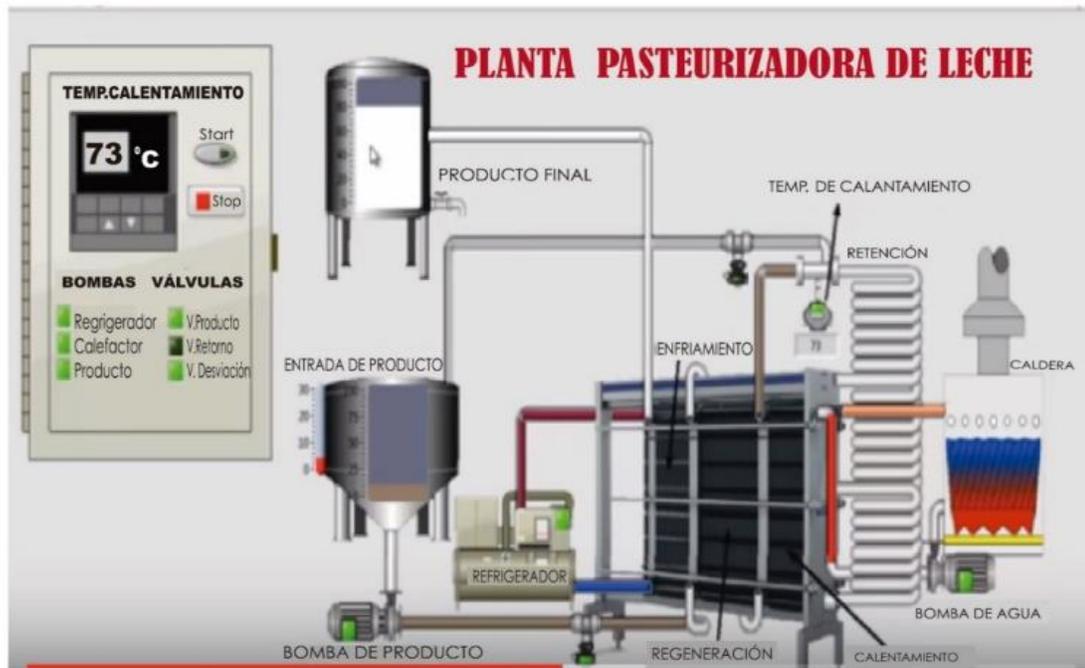
a. Pasteurización a baja temperatura por largo tiempo (LTLT- Long temperatura/ long time). Este proceso consiste en exponer la leche a temperatura de 63 °C durante 30 minutos, con posterior enfriamiento durante 30 minutos (Tortora et al., 2007).

b. Pasteurización a altas temperaturas durante un breve periodo de tiempo (HTST- High Temperature/Short Time). Consiste en exponer al alimento a temperaturas superiores a los 72 °C durante un periodo breve de tiempo de alrededor de 15 segundos, dentro de este procedimiento existen dos métodos:

- **Pasteurización HTST en batch o lotes.** En este tipo de pasteurización la leche cae en una autoclave industrial, en la cual se introduce vapor y posteriormente agua para el descenso de la temperatura (Quevedo & Garzón, 2010).
- **Pasteurización HTST en flujo continuo.** Durante este proceso la leche llega al equipo intercambiador a 4 °C, dónde se calienta por regeneración o precalentamiento a una temperatura de 58 °C.

Al salir de la zona de regeneración, la leche es filtrada y se dirige al intercambiador de calor dónde alcanza una temperatura de 72 a 73 °C, posterior se dirige a la zona de retención del equipo permaneciendo de 15 a 20 segundos, transcurrido este tiempo pasa a la zona de regeneración, dónde es enfriada hasta los 18 °C. Finalmente circula a la sección de enfriamiento adquiriendo una temperatura de 4 °C por acción del agua fría y helada (Carrasco, Fiel, Frías, Martha, & Osuna, 2013).

Ilustración 1. Proceso de pasteurización HTST en flujo continuo.



Fuente: Modificado por los autores de (Gonzales, 2007)

c. **Pasteurización a altas temperaturas o ultra pasteurización (UHT- Ultra high temperature).** Durante este procedimiento la leche cae a través de una cámara que contienen vapor sobrecalentado a una película delgada, adquiriendo una temperatura de 140 °C en menos de un segundo, posteriormente se enfría en una cámara de vacío por eliminación del vapor. Con este procedimiento la leche pasa de 74 °C a 140 °C y disminuye nuevamente a 74 °C en un periodo inferior a los 5 segundos (Tortora et al., 2007).

1.4. Destrucción de microorganismos por el calor

Los microorganismos requieren para su crecimiento una determinada temperatura, pero cuando se sobrepasa esta temperatura durante un tiempo suficiente se consigue reducir o detener el desarrollo de los microorganismos y las esporas (si es esporulado). La cantidad de tiempo y temperatura al que son expuestos los microorganismos y esporas depende de la termorresistencia que presentan, considerando que las esporas son más resistentes que las células vegetativas. En base a lo expuesto, la termorresistencia de los



microorganismos se expresa como tiempo de inactivación térmica, que es el tiempo necesario para destruir células o esporas a una temperatura específica (González, 2015).

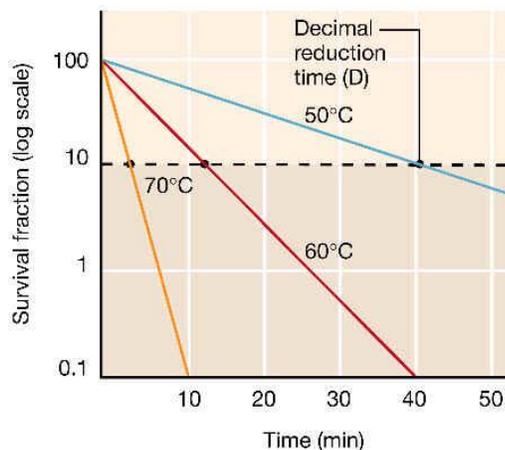
Resulta imposible calcular el tiempo exacto que se requiere para inactivar a todos los microorganismos. Sin embargo, al calentar las células vegetativas y las esporas a una temperatura determinada, es posible medir el tiempo para que la población disminuya en un 90 %, este tiempo se conoce como tiempo de reducción decimal o valor D.

Al representar gráficamente los valores D a diferentes temperaturas se obtiene la gráfica de tiempos de inactivación térmica y a partir de la pendiente de la recta que se forma se obtienen el valor z, el cual representa el incremento de temperatura en °C que se necesita para conseguir una reducción decimal en tiempo de inactivación térmica (González, 2015; Coronel, Jiménez, & López, 2009).

Un ejemplo si se parte de una población de 1 millón de microbios y son tratados durante 1 minuto siendo afectados en un 90 % es indicativo que la población se reduce a 100.000 microorganismos, si se repitiera el mismo procedimiento los resultados serían una reducción del 90 %, es decir por cada minuto de tratamiento aplicado muere el 90% de microorganismos restantes de la población (Tortora et al., 2007).

La combinación de tiempo y temperatura es importante, ya que determina la intensidad del tratamiento térmico. Mientras mayor sea la temperatura, menor es el tiempo que se necesita para destruir a los microorganismos (Tortora et al., 2007).

Ilustración 2. Relación de tiempo y temperatura



Fuente: (Lláñez, 2005)



1.4.1. Cinética de inactivación microbiana

Propuesta por Chick (1908), este modelo ha sido utilizado para calcular la esterilidad en métodos térmicos de conservación al aplicar calor a los alimentos para reducir o destruir a los microorganismos. El número de microorganismos supervivientes, después de la duración de calentamiento seleccionado, son determinados para obtener el tiempo de reducción decimal. Generalmente se utilizan modelos cinéticos para desarrollar procesos de conservación de alimentos que aseguren la inocuidad de los mismos (González, 2015).

El efecto letal de la pasteurización en los microorganismos puede ser expresado matemáticamente como la siguiente función logarítmica para el tiempo de reducción decimal:

$$D \log \left[\frac{N_0}{N} \right] = t \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

N_0 : número de microorganismos iniciales (en el tiempo 0)

N : número de microorganismos por gramo que quedan en el producto después de un tiempo de calentamiento t

D : tiempo necesario para destruir el 90% de los microorganismos presentes en el producto, este tiempo D se llama “tiempo de destrucción térmica”.

t : Tiempo de calentamiento a una temperatura determinada.

De esta ecuación se deduce:

- Cuanto mayor es N_0 , mayor es el tiempo de calentamiento necesario para la destrucción de microorganismos.
- Cuanto mayor es D , más resistentes al calor son los microorganismos presentes y mayor es el tiempo para destruirlos. (González, 2015). El valor de D depende de los microorganismos que hay en el producto y de la temperatura. La relación entre D y las temperaturas se determina con la siguiente ecuación.



$$\log \frac{D_0}{D} = \frac{(T-T_0)}{z} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

D_0 y D = tiempos de destrucción del 90% de los microorganismos a las temperaturas T_0 y T .

Z = aumento de temperatura necesario para conseguir una disminución del 90% en el tiempo y destrucción térmica D . Este valor z se expresa en °C.

De la misma manera, aplicando el modelo de la cinética de reacción química de primer orden se tiene:

$$\frac{dN}{dt} = k N \quad (\text{Ec.3})$$

Agrupando los términos semejantes se obtiene la siguiente ecuación:

$$\int_{N_0}^N \frac{1}{N} dN = k \int_0^t dt \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

k : es la constante cinética de la reacción química y que equivale a la pendiente del logaritmo natural de supervivientes frente al tiempo para una determinada población microbiana.

Integrando la ecuación 3 se tiene:

$$\ln \left[\frac{N_0}{N} \right] = k t \quad (\text{Ec. 5})$$

Relacionando las ecuaciones (1) y (5) se obtiene la siguiente relación entre el tiempo de reducción decimal y la constante cinética:

$$k * D = 2,303 \quad (\text{Ec. 6})$$

Cada una las especies microbiana tiene un valor D y un valor z como se muestran en la tabla 3.



Tabla 3. Valor D y z para algunas especies microbianas en la pasteurización

Microorganismos	Temperatura de referencia (° C)	D (s)	Z (°C)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	82,2	0,018	5,6
<i>Salmonella spp.</i>	82,2	0,192	6,7
<i>Staphylococcus spp.</i>	82,2	0,378	6,7
<i>Lactobacillus spp.</i>	82,2	0,57	6,7
<i>Clostridium botulinum</i>	72 a 80	0,2	10
<i>Clostridium sprogenes</i>	72 a 80	0,1 a 1,5	10
Mesófilos en la leche entera	72 a 80	11	10,5
Termófilos en leche entera	72 a 80	25	10,5
Mesófilos en la nata	72 a 80	31	10,5
Termófilos en la nata	72 a 80	46	10,5

Fuente: (Gonzales, 2007)

El cálculo de reducciones logarítmicas es empleado para corroborar que la temperatura y tiempo aplicado en el proceso de pasteurización es capaz de reducir los microorganismos presentes en la leche. Para su cálculo se emplea la siguiente ecuación:

$$\text{N}^\circ \text{ reducciones logarítmicas} = \log N_0 - \log N$$

(Ec.7)

En la tabla 6 se indica el número de reducciones logarítmicas establecidas por Weibull con resultados de un ± 95% de intervalo de confianza, lo que permite establecer y corroborar que la leche pasteurizada está exenta de dichos microorganismos (Coronel et al., 2009)

Tabla 4. Número de reducciones logarítmicas establecidas por Weibull con resultados de un ± 95% de intervalo de confianza.

Microorganismo	T(°C)	N° reducciones logarítmicas
<i>Streptococcus faecalis</i>	60	1,5±0.2
<i>Listeria monocytogenes</i>	55-70	1,8±0,5
<i>Eschericia coli</i>	72	1,5±0,3
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	51	2,9±0,4

Fuente: (Coronel et al., 2009)



2. METODOLOGÍA

2.1. Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en la planta de lácteos “VIGLAC” ubicada en la zona rural de la provincia de Cañar, cantón Tambo, sector Chuichún- Panamericana Norte, Km79 ver anexo1.

La preparación y análisis microbiológico de las muestras obtenidas fueron realizadas en el laboratorio de dicha planta.

2.2. Tipo y descripción del estudio

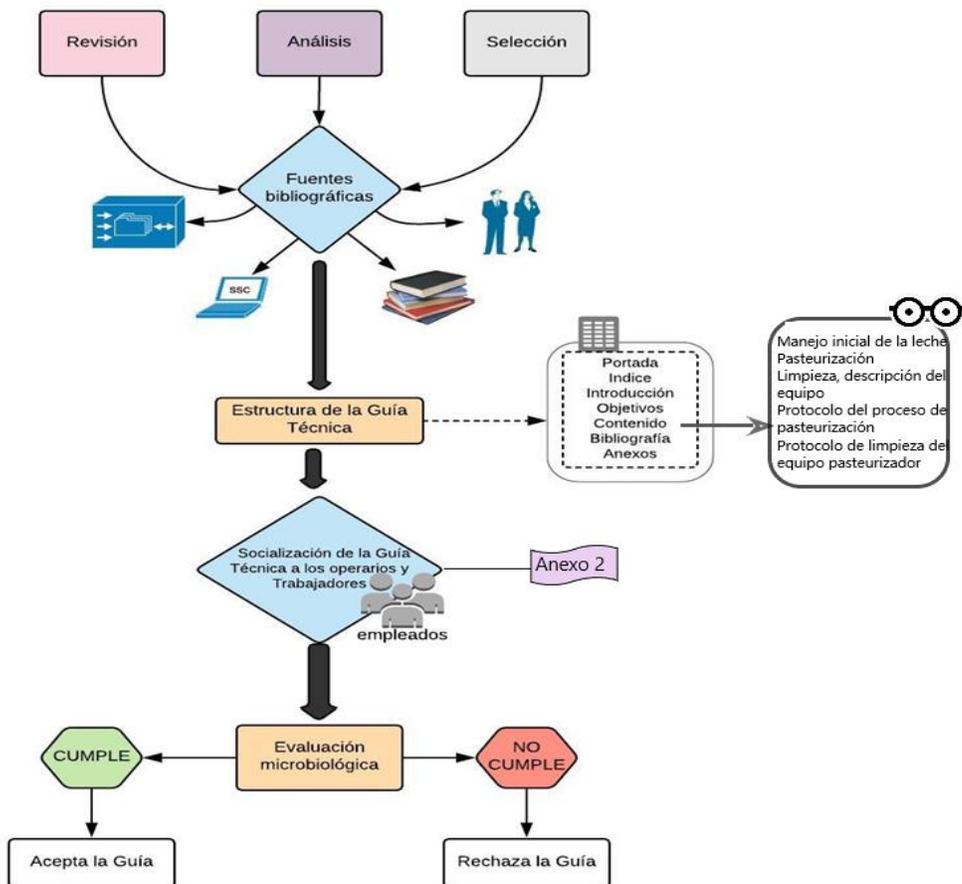
Se realizó un estudio de tipo observacional, probabilístico.

Antes de poner en marcha la investigación, se visitó la planta para evaluar la calidad microbiológica de leche cruda y pasteurizada en el cual las condiciones de pasteurización fueron de 72 °C durante 4 segundos. Los resultados microbiológicos obtenidos en este primer ensayo llamado “prueba piloto” incumplían con los requisitos microbiológicos para aerobios mesófilos, coliformes totales y *E. coli* estipulados en la norma NTE INEN 9 y 10.

En base a dicho diagnóstico se propuso implementar y socializar al personal de la planta la Guía Técnica para la pasteurización de la leche siguiendo el proceso descrito en el diagrama 1. Tras la implementación de la Guía, se realizó un segundo ensayo denominado “nuevo muestreo”, el cual las muestras de leche cruda y pasteurizada fueron sometidas a un nuevo análisis microbiológico para demostrar si la Guía Técnica produjo cambios en la carga bacteriana medida originalmente.

Adicional a los ensayos antes mencionados se realizó una evaluación del comportamiento de la carga microbiana cuando se somete a un proceso de pasteurización a 72 °C y a 80°C durante un tiempo de 20 segundos.

Diagrama 1. Proceso para la implementación de la Guía Técnica



2.3. Población de estudio

La población que se consideró en la prueba piloto y nuevo muestreo estuvo constituida por la leche de cinco proveedores que ingresa diariamente a la Planta de Lácteos “VIGLAC” para el proceso de pasteurización.



Tamaño de la muestra de leche cruda y pasteurizada

El tamaño de la muestra que se tomó para el análisis microbiológico del nuevo muestreo de la leche cruda fue de los 5 proveedores cuyo volumen promedio fue de 6180 litros, que son destinados para el proceso de pasteurización.

El estudio se realizó durante el periodo comprendido entre el 29 de abril al 31 de mayo del 2019, realizándose 25 muestreos para leche cruda, cinco por cada semana, teniendo un total de 25 muestras. En la leche pasteurizada el número de muestras se tomó en base a la norma Military Standard con un nivel de inspección II, que corresponde a 15 muestras por lote (6180 litros), tomadas de lunes a viernes que corresponden a los días de producción de la planta con un total de 360 muestras ver tabla 5. Se tomó como referencia esta norma debido que la normativa INEN no indica el tamaño de muestra en leche a granel.

Tabla 5. Volumen promedio de leche cruda destinada a la pasteurización

Proveedor	Litros de leche cruda	%
1	782	12,65
2	244	3,95
3	359	5,81
4	992	16,05
5	3803	61,54
Volumen promedio de leche cruda	6180	100

Fuente: Planta de lácteos "VIGLAC"

2.4. Toma de muestra de leche cruda y pasteurizada

La toma de muestra de leche cruda y pasteurizada se realizó en el área de recepción y pasteurización respectivamente ver anexo 2.

Para la toma de leche cruda se consideró un volumen de 100 ml por cada proveedor, tomada directamente del tanque de transporte según el diagrama 2. Las muestras de leche pasteurizada se tomaron de las llaves de pasteurización previa a su caída a los batches de producción de acuerdo al diagrama 3.

En el ensayo realizado a diferentes temperaturas se tomó un volumen de 5.000 litros de leche cruda, mismo que fue fraccionado en dos partes de 2.500 litros, de cada fracción se tomó un total de 15 muestras de leche pasteurizada con un volumen de 5 ml cada una. El protocolo de la toma de muestra en general está basado en lo establecido por la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de Calidad del Agro (Agrocalidad)

Diagrama 2. Proceso de toma de muestra de leche cruda

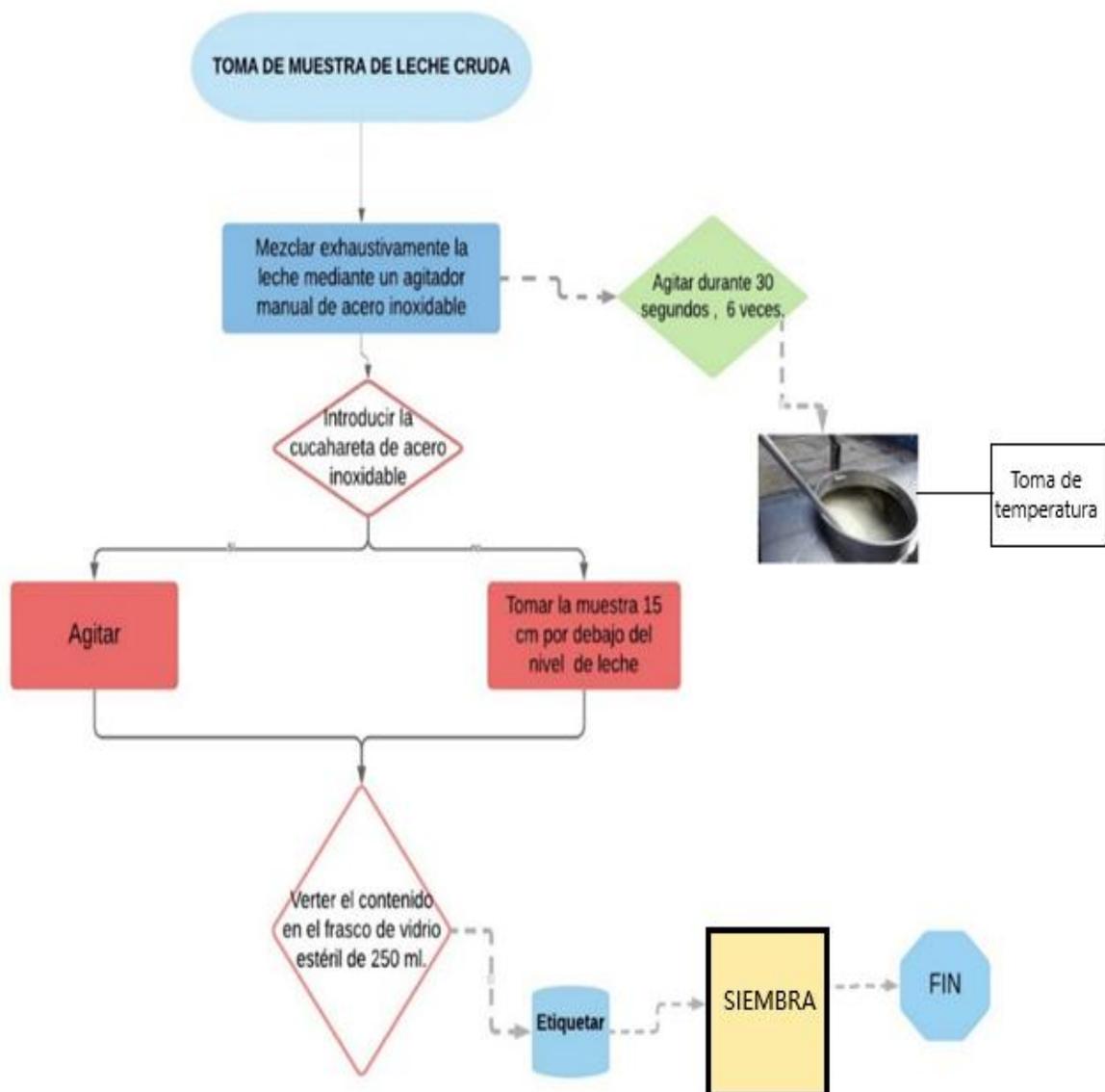
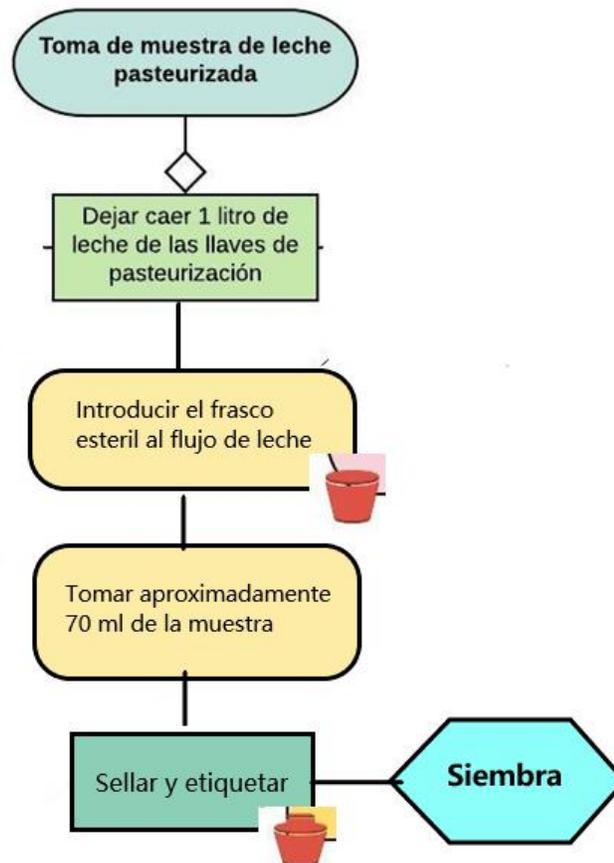


Diagrama 3. Proceso de toma de muestra de leche pasteurizada

2.5. Métodos de análisis microbiológico

2.5.1. Placas petrifilm.

Son placas avaladas por la AOAC Internacional (Asociación de las Comunidades Analíticas), contienen un medio de cultivos y un agente solidificante, recubiertas por una película de polipropileno que permiten el análisis microbiológico rápido de diversos microorganismos. Además, contienen indicadores de pH que colorean a las colonias de bacterias para su identificación y una cuadrícula que facilita el recuento (Alonso & Poveda, 2018).

2.5.2. Placas petrifilm para aerobios mesófilos.

Contienen un tinte indicador de color rojo 2,3,5 trifeniltetrazólio (TTC) el cual al asociarse con la membrana de las bacterias y los iones H^+ se liberan reduciendo al TTC a formazán



coloreando la colonia en rojo. La placa tiene un límite de detección de 25 a 250 colonias y se incuban a 37 °C durante 48 horas.

2.5.3. Placas petrifilm para coliformes totales/ *E. coli*.

Contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB) y un indicador de la actividad de la glucuronidasa. La mayoría de *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por *E. coli* y coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm. Tiene un límite de detección de 15 a 150 colonias y se incuban a 37 °C durante 48 horas.

2.6. Materiales, reactivos y equipos

Para la realización de la toma y siembra de las muestras se emplearon los materiales, reactivos y equipos descritos en la tabla 6.

Tabla 6. Materiales, reactivos y equipos

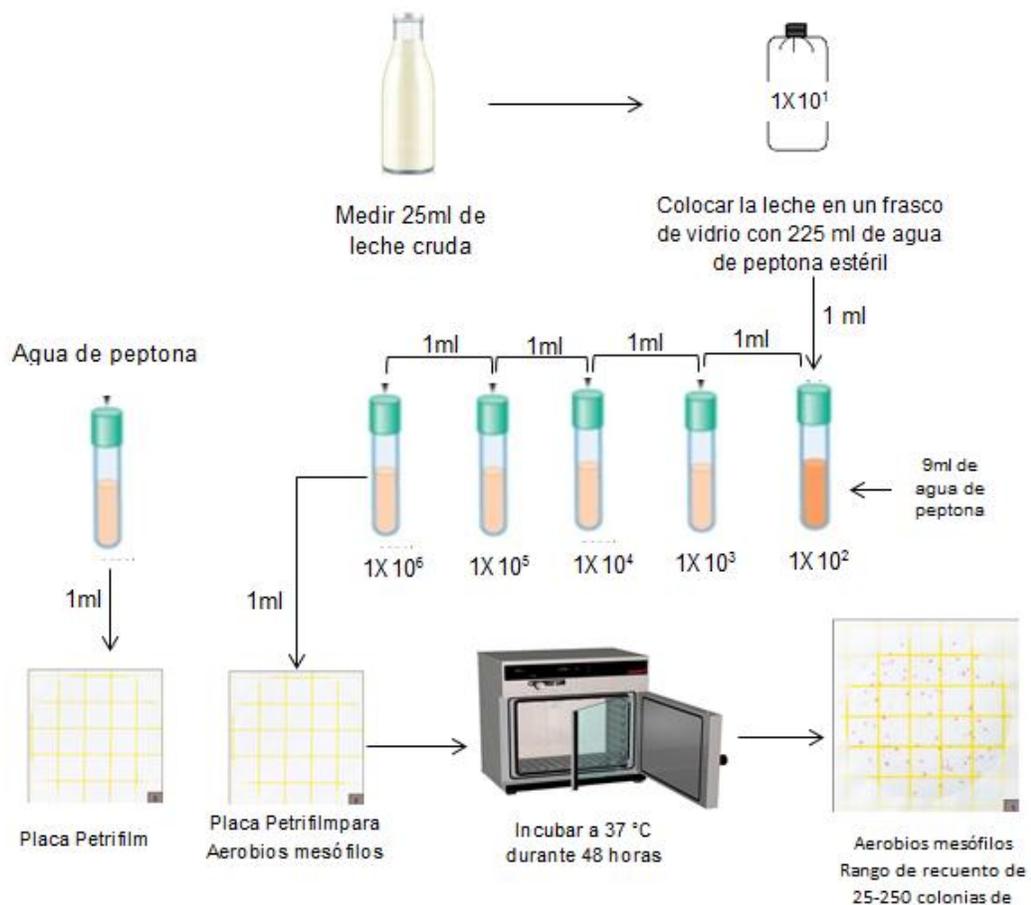
Materiales	Reactivos	Equipos
Envases de plástico estéril	Agua de peptona	Autoclave de mesa Handylave de capacidad de 16 litros
Pipeta serológica 1ml $\pm 0,01$	Agua destilada	Estufa de incubación Memmert con rango de temperatura de 30 a 80 °C
Pipeta serológica de 10 ml ± 0.050	Placas petrifilm: aerobios mesófilos, coliformes totales y <i>E. coli</i> .	Balanza analítica capacidad de 200g
Pipeta automática de 1000 μ l	Alcohol antiséptico	Cabina de flujo laminar Biobase
Frasco estéril de vidrio de 250ml	Alcohol industrial	
Tubos de ensayo de 10 ml		
Lámpara de alcohol		
Varillas de vidrio		
Puntas descartables de capacidad de 1ml		
Dispensor para placas petrifilm		
Termómetro		

2.7. Procedimientos de siembra de leche cruda y pasteurizada

2.7.1. Preparación y siembra de leche cruda

Se tomó 5 ml de cada una de las muestras de los 5 proveedores y se los transfirió a un frasco de vidrio estéril. Una vez completado los 25 ml de la unidad de muestra se procedió a realizar las diluciones y siembra de acuerdo al diagrama 4.

Diagrama 4. Proceso de siembra de leche cruda



2.7.2. Preparación y siembra de las muestras de leche pasteurizada

El aislamiento microbiológico de aerobios mesófilos y coliformes totales/*E. coli* en leche pasteurizada se realizó mediante siembra directa, como se indica en los diagramas 5 y 6.

Diagrama 5. Proceso de siembra para el aislamiento de aerobios mesófilos en leche pasteurizada.

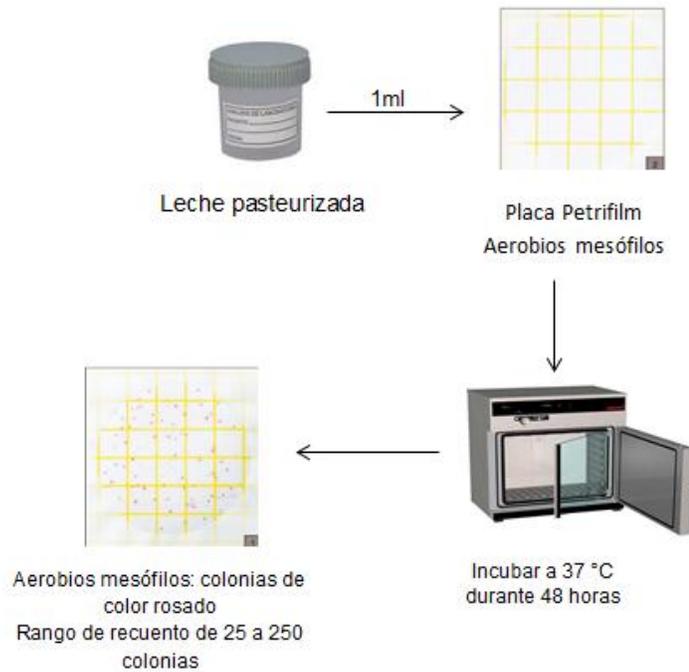
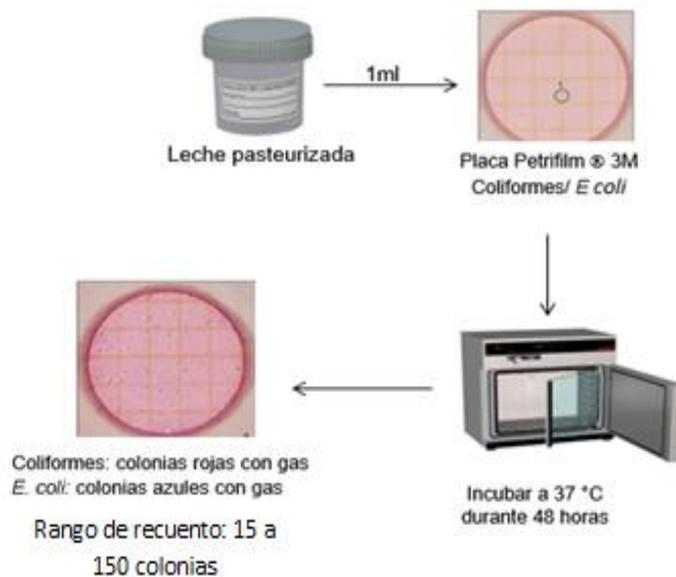


Diagrama 6. Proceso de siembra para el aislamiento de coliformes totales/ *E.coli* en leche pasteurizada





2.8. Cálculo para el recuento de microorganismos en leche

Tras el recuento manual del número de colonias de aerobios mesófilos, coliformes totales/ *E.coli* se realizó los cálculos multiplicando el número de colonias por el inverso de la dilución, de esta manera se obtiene el número de unidades formadoras de colonia por mililitro de muestra.

$$N = \sum C \times f \quad (\text{Ec. 8})$$

Cuando se considere dos diluciones para el conteo se aplica la siguiente fórmula

$$N = \frac{\sum c}{V (n1+0,1 n2) d} \quad (\text{Ec. 9})$$

Dónde:

- $\sum C$ = Suma total de las colonias contadas
- d = Dilución de los primeros recuentos.
- v = Volumen del inóculo sembrado
- $n1$ = Número de placas contadas de la primera dilución seleccionada.
- $n2$ = Número de placas contadas de la segunda dilución seleccionada.

Expresión de resultados

- Microorganismos mesófilos: UFC/cm³
- Recuento de coliformes: UFC/cm³
- Recuento de *Escherichia coli*: UFC/cm³

2.9. Aplicación de la cinética de inactivación microbiana

La aplicación del modelo cinético de muerte bacteriana permitió evaluar que los parámetros de tiempo y temperatura establecidos en el Guía Técnica para la pasteurización de leche son los adecuados para reducir o eliminar la carga microbiológica con la que ingresa la leche cruda a niveles aceptados por la INEN 10: 2012 para considerar al producto como apto para su uso y consumo.



2.10. Análisis de datos

Se elaboró una base de datos en el programa Microsoft Excel 2016 para la recolección de la información obtenidos de cada muestra de leche como son: nombre del proveedor, volumen, hora y temperatura de recepción de la leche y los valores de los recuentos de aerobios mesófilos, coliformes totales y *E. coli* tras el procesamiento de las muestras.

Los recuentos microbiológicos de aerobio mesófilos que se obtuvieron semanalmente se promediaron y graficaron el tiempo de pasteurización en segundos versus el número de unidades formadoras de colonias por cm^3 (UFC/ cm^3) en escala logarítmica. En el sistema algebraico computacional Math Lab 2013 se construyeron las curvas de cinética de inactivación microbiana misma que permitió comparar el comportamiento de los microorganismos en la leche cruda y pasteurizada.

Además, los resultados obtenidos se compararon con las normativas NTE INEN 9 y 10 correspondientes a leche cruda y pasteurizada.



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados microbiológicos de la prueba piloto

El ensayo piloto realizado en el mes de marzo en la Planta de Lácteos “VIGLAC” determinó que el proceso de pasteurización aplicado a 72 °C durante 4 segundos era deficiente ya que los resultados microbiológicos presentados en la tabla 7 superan los valores establecidos en la norma NTE INEN10; por tanto, se considera la leche no apta para su uso y consumo puesto que *E. coli* es capaz de producir toxinas que generan graves enfermedades en el consumidor e incluso su muerte.

En base a estos resultados como medida para mejorar la calidad microbiológica de la leche se incrementó el número de retenciones consiguiendo un tiempo de pasteurización de 20 segundos. “Si la pasteurización se lleva a cabo a una temperatura de 72 °C se recomienda un tiempo mínimo de 15 segundos”, con estas modificaciones se realizó el nuevo muestreo (Martínez & Rosenberger, 2013).

Tabla 7. Resultados microbiológicos de la prueba piloto

Producto	Resultados microbiológicos			Condiciones
	Aerobios mesófilos (UFC/cm ³)	Coliformes totales (UFC/cm ³)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/cm ³)	
Leche cruda	2,0 x10 ⁷			
Leche pasteurizada	1,4 x10 ⁶	4,7 x10 ³	2,7 x10 ²	T* = 72°C t** = 4 segundos
*Temperatura de pasteurización **Tiempo de pasteurización				

3.2. Resultados microbiológicos del nuevo muestreo

El nuevo muestreo y evaluación microbiológica se realizó una vez que fue socializada y aplicada la Guía técnica del proceso de pasteurización de leche. Los resultados de los recuentos microbiológicos se describen en la tabla 8.

**Tabla 8.** Resultados microbiológicos del nuevo muestreo durante las 5 semanas

Semana	Leche cruda	Leche pasteurizada a 72 °C durante 20 segundos		
	Aerobios mesófilos (UFC/cm ³)	Aerobios mesófilos (UFC/cm ³)	Coliformes totales (UFC/cm ³)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/cm ³)
	48 horas	48 horas	48 horas	48 horas
1	2,5 x10 ⁷	6,7 x 10 ¹	<1	<1
2	6,1x10 ⁶	4,3 x 10 ¹	<1	<1
3	9,1 x10 ⁶	5,7 x 10 ¹	<1	<1
4	1,2 x10 ⁷	6,1 x 10 ¹	<1	<1
5	8,1 x10 ⁶	6,2 x 10 ¹	2	<1
Promedio del recuento de las 5 semanas	1,2 x10 ⁷	5,8 x10 ¹	<1	<1
σ*	7,5 x10 ⁶	9,1 x 10 ⁰	0,9	0

* Desviación estándar

Como se observa en la Tabla 8, la leche que ingresó a la planta de lácteos presentó un recuento promedio de aerobios mesófilos de 1,2 x10⁷ UFC/cm³, cuyo valor superó las 1,5x10⁶ UFC/cm³ que indica la Norma NTE.INEN 9:2012 como leche apta para ser empleada como materia prima.

Los recuentos elevados de estos microorganismos pueden deberse a que la leche ingresó con una temperatura promedio de 22 °C a causa de que los tanques de acero inoxidable en la que es transportada no cuentan con cadena de frío anexo 3. Esto favorece al desarrollo de la flora de los microorganismos aerobios mesófilos que crecen en un rango de temperatura entre 20 °C y 45 °C, es por ello que se recomienda la refrigeración inmediata del producto a una temperatura de 4 a 5 °C después de su ordeño (Heer, 2007). Otro factor desencadenante para el desarrollo de esta población microbiana es el proceso de agitación, donde el oxígeno del aire es incorporado a la leche alterando su calidad microbiológica (Aguirre, 2016).

Según el estudio realizado en la industria Lacto Ochoa- Fernández Cia. Ltda.” ubicada en una zona aledaña a la Planta de Lácteos “VIGLAC” se determinó que la leche cruda no cumple con el valor permitido en la norma para aerobios mesófilos ya que presentó un recuento promedio de 6,8x10⁶ UFC/cm³. Según las autoras de este estudio los factores que desencadenan a la proliferación de estos microorganismos son la temperatura y



tiempo de entrega de leche. Las muestras fueron transportadas a una temperatura promedio de 19,6 °C y la entrega de leche del 15% de sus proveedores no lo realizan diariamente y durante el tiempo que no se entrega la leche es almacenada presumiblemente en frío. (Buñay & Peralta, 2015).

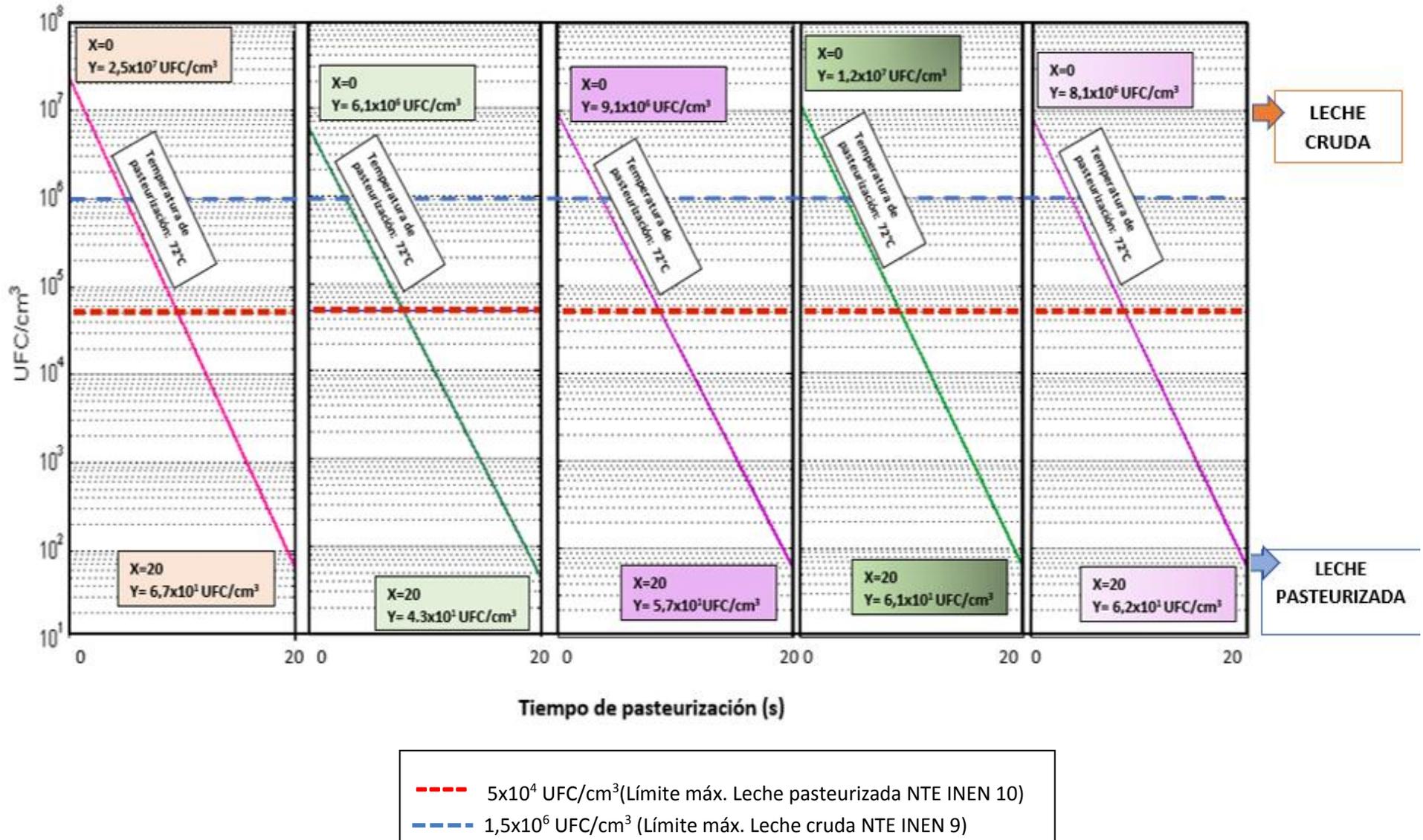
La ilustración 4 se elaboró en base a los datos de la tabla 8 en dónde se visualiza de forma general el recuento promedio de aerobios mesófilos con la que ingresó la leche cruda durante las cinco semanas de muestreo, ingresando como máximo $2,5 \times 10^7$ y cómo mínimo $6,1 \times 10^6$ UFC/cm³ los cuales corresponden a las semanas 1 y 2 respectivamente, tras el proceso de pasteurización a 72 °C durante 20 segundos se logró en promedio 5,4 reducciones logarítmicas puesto que las semanas 1 y 4 se redujo a 6 reducciones logarítmicas y las semanas restantes 5 reducciones logarítmicas.

Esta variación es directamente proporcional a la carga inicial y tipo de microorganismos con la que ingresa la leche cruda, la efectividad del proceso de pasteurización, el proceso de limpieza y desinfección de los equipos, la calidad del agua y el ambiente del aire de pasteurización, ya que este último si no es óptimo puede incorporar microorganismos que afecten la inocuidad de la leche como lo mencionan Aguirre, (2016) al igual que Serrano, (2005).

Como se indicó anteriormente la carga con la que ingresa la leche cruda supera los límites permitidos por la Norma NTE INEN 9:2012 sin embargo con el cumplimiento del protocolo del proceso de pasteurización a 72 °C durante 20 segundos descrito en la *Guía Técnica* se consiguió la reducción en un 99,99 % ($5,8 \times 10^1$ UFC/cm³) de la carga de aerobios mesófilos en las cinco semanas, cumpliendo con los niveles establecidos en la Norma NTE INEN 10:2012, esto evidencia la eficiencia del proceso de pasteurización

Otra investigación realizada en Venezuela sobre la evaluación microbiológica de leche cruda versus pasteurizada indica que de un muestreo con un total de 100 muestras que fueron pasteurizadas en las mismas condiciones de tiempo y temperatura que el presente ensayo, aproximadamente el 92 % cumplieron con los límites microbiológicos de aerobios mesófilos establecidos por la Norma venezolana COVENIN 798 ($2,0 \times 10^4$ UFC/ml) considerándose aceptables para el consumo humano (Luigi, Rojas, & Valbuena, 2013).

Ilustración 3. Resultados microbiológicos de leche cruda y pasteurizada durante las cinco semanas

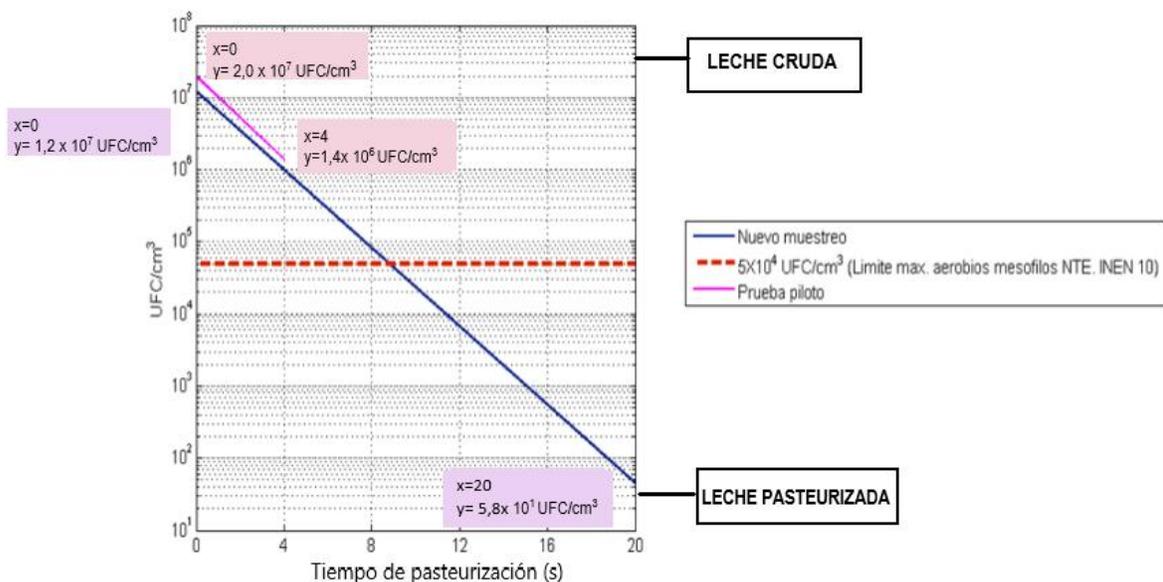


3.3. Comparación de datos de la prueba piloto y nuevo muestreo

Al comparar los valores de aerobios mesófilos durante los ensayos de la prueba piloto y nuevo muestreo representados en la ilustración 4 se evidencia que en el primer ensayo la carga microbiológica en leche cruda parte de $2,0 \times 10^7$ UFC/cm³ y tras el proceso de pasteurización realizado a 72 °C durante 4 segundos la carga se redujo en un 28,20 % ($1,4 \times 10^6$ UFC/cm³) lo que corresponde a una reducción logarítmica.

Tras el cumplimiento de la Guía Técnica planteada los recuentos microbiológicos en leche pasteurizada obtenidos en el nuevo ensayo fue de $5,8 \times 10^1$ UFC/cm³, partiendo de una carga de $1,2 \times 10^7$ UFC/cm³ con un total de 5,4 reducciones logarítmicas.

Ilustración 4. Comparación de aerobios mesófilos obtenidos en la prueba piloto y nuevo muestreo



Además, en estos dos ensayos se evaluó en leche pasteurizada coliformes totales y *E. coli*, cuyos valores en la prueba piloto fue de $4,7 \times 10^3$ UFC/cm³ para coliformes totales y de $2,7 \times 10^2$ UFC/cm³ para *E.coli*, los recuentos mencionados también incumplen con la normativa, por consiguiente se consideró como leche no apta para el consumo ya que como menciona (Aguirre, 2016), la presencia de bacterias coliformes en leche pasteurizada es inaceptable y su presencia es un indicativo de un mal procesamiento térmico. Las posibles causas de los recuentos elevados de los patógenos antes



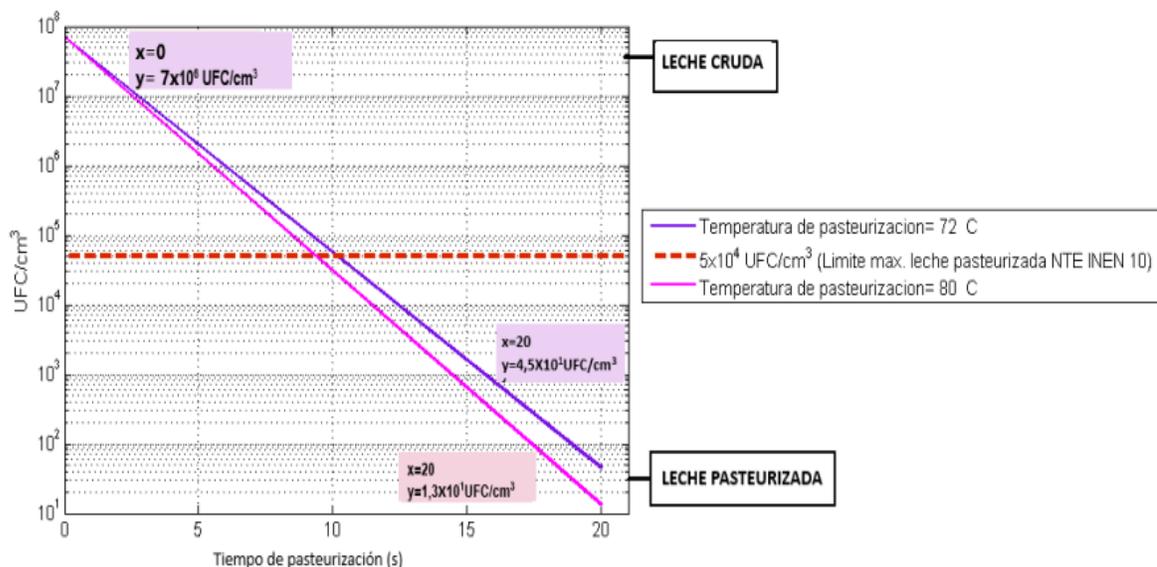
mencionados se pudo deber al uso de agua contaminada y el no cumplimiento del proceso de limpieza del equipo de pasteurización, como medida correctiva se aplicó las acciones que se encuentran descritas en la Guía Técnica.

En el segundo ensayo realizado los recuentos microbiológicos de coliformes totales y *E. coli* corresponden a un valor <1 UFC/cm³. Por lo tanto, la carga microbiana de los gérmenes analizados en el nuevo muestreo cumple con la norma NTE INEN 10:2012.

3.4. Evaluación del comportamiento microbiológico a 72 °C y 80 °C durante 20 segundos.

Por medio de este análisis se evidenció que la carga microbiológica es menor mientras mayor es la temperatura de pasteurización como se representa en la ilustración 5. Cabe mencionar que este ensayo fue llevado para ambos casos en un tiempo de 20 segundos en vista de que el equipo cuenta con este tiempo de retención establecido; sin embargo mientras mayor sea la temperatura, menor es el tiempo que se necesita para destruir a los microorganismos y por consiguiente menor carga microbiológica.

Ilustración 5. Recuentos microbiológicos de leche pasteurizada a 72 y 80 °C





3.5. Cinética de inactivación bacteriana

Se aplicó el modelo cinético para demostrar que los tiempos de pasteurización establecidos en el nuevo muestreo son los correctos. Para su aplicación se tomó como población microbiana aerobios mesófilos.

Cálculo teórico de la cinética de inactivación bacteriana en base a la normativa INEN 9 y 10.

Tabla 9. Datos para el cálculo teórico de la cinética de inactivación bacteriana

Parámetro	Valor
Tiempo de reducción decimal (D)	0,18 minutos (González, 2015)
Población bacteriana inicial (N ₀)	1,5 x 10 ⁶ UFC/cm ³ (INEN, 2012a)
Población bacteriana final (N)	50000 UFC/cm ³ (INEN, 2012b)

Cálculos:

$$k = \frac{2,303}{D} \rightarrow k = \frac{2,303}{0,18 \text{ min}} = 12,79 \text{ min}^{-1}$$

$$\ln \left[\frac{N_0}{N} \right] = kt \rightarrow \ln \left[\frac{1,5 \times 10^6 \text{ UFC/cm}^3}{50000 \text{ UFC/cm}^3} \right] = (12,79 \text{ min}^{-1})t \rightarrow t = 0,2659 \text{ min}$$

$$t = 0,2659 \text{ min} \left(\frac{60 \text{ s}}{1 \text{ min}} \right) = 15,96 \text{ s}$$



**Cálculo real de la cinética de inactivación bacteriana aplicada en los meses de:
abril-mayo 2019**

Tabla 10. Datos para el cálculo real de la cinética de inactivación bacteriana

Parámetro	Valor
Tiempo de reacción	20 segundos (tiempo de retención)
N_0	$1,2 \times 10^7$ UFC/cm ³
N	$5,8 \times 10^1$ UFC/cm ³

Cálculos:

$$\ln \left[\frac{N_0}{N} \right] = kt \rightarrow \ln \left[\frac{1,2 \times 10^7 \text{ UFC/cm}^3}{5,8 \times 10^1 \text{ UFC/cm}^3} \right] = 0,333k \rightarrow k = 36,75 \text{ min}^{-1}$$

$$\ln \left[\frac{N_0}{N} \right] = kt \rightarrow \ln \left[\frac{1,2 \times 10^7 \text{ UFC/cm}^3}{5,8 \times 10^1 \text{ UFC/cm}^3} \right] = 36,75 t \rightarrow t = 0,333 \text{ min}$$

$$t = 0,333 \text{ min} \left(\frac{60 \text{ s}}{1 \text{ min}} \right) = 19,9 \text{ s}$$

Mediante la aplicación de la ecuación de la cinética de inactivación bacteriana, el tiempo teórico necesario para reducir la carga bacteriana a niveles aceptables según la norma NTE.INEN 10:2012 es de 15,96 segundos. Por otro lado, los valores obtenidos experimentalmente durante los meses de muestreo son de 19,9 segundos; esta variación de tiempo en relación con el valor teórico se debe a la carga con la que ingresa la leche cruda a la planta supera lo estipulado en la norma NTE. INEN 9:2012 y de igual manera la carga final de la leche pasteurizada es inferior a los 50000 UFC/cm³ (NTE.INEN 10:2012) por tanto, se requiere de mayor tiempo de exposición de la materia prima (leche cruda) al calor para que exista una mayor reducción de carga microbiológica, ya que de acuerdo con (Gonzales, 2007) cuanto mayor es el valor de N_0 , mayor es el tiempo de calentamiento necesario para la destrucción de microorganismos.



3.6. Cálculo del número de reducciones logarítmicas

- **Cálculo teórico del número de reducciones logarítmicas**

$$N^{\circ} \text{ reducciones logarítmicas} = \log N_0 - \log N$$

$$N^{\circ} \text{ reducciones logarítmicas} = \log (1,5 \times 10^6) - \log (50000)$$

$$N^{\circ} \text{ reducciones logarítmicas} = 1,48$$

- **Cálculo real del número de reducciones logarítmicas**

$$N^{\circ} \text{ reducciones logarítmicas} = \log N_0 - \log N$$

$$N^{\circ} \text{ reducciones logarítmicas} = \log (1,20 \times 10^7) - \log (5,8 \times 10^1)$$

$$N^{\circ} \text{ reducciones logarítmicas} = 5,43$$

Mediante el cálculo del número de reducciones logarítmicas se observó que para cumplir con el límite de carga bacteriana de aerobios mesófilos establecido en la NTE INEN 10 se necesitan 1,48 reducciones logarítmicas (cálculo teórico), sin embargo, en la fase experimental se obtuvo un valor de 5,43 reducciones logarítmicas aplicadas en los meses de abril - mayo 2019, lo que demuestra la eficacia del proceso de pasteurización. Estos valores sirvieron como referencia para evaluar la reducción de carga microbiológica para los demás microorganismos analizados en la leche pasteurizada (*E.coli* y coliformes totales); según el modelo descrito por Weibull se necesita de $1,5 \pm 3$ reducciones logarítmicas para los microorganismos mencionados (Coronel et al., 2009).

3.7. Implementación de la Guía Técnica para la pasteurización de la leche

Los resultados obtenidos de los recuentos microbiológicos y de la cinética de inactivación microbiana evidencian la efectividad de la aplicación de la Guía técnica del proceso de pasteurización en la planta de lácteos VIGLAC.

El contar con una Guía técnica a más de cumplir con un requisito administrativo, su aplicación permite normalizar las actividades de tal manera que se realicen siempre igual



y bajo las mismas condiciones, independientemente de quien las lleve a cabo, lo que garantiza que aún con cambios en el personal los procedimientos se ejecuten sin variaciones, también facilita organizar, dirigir supervisar y controlar las actividades, asignando tareas específicas al personal, para que éste las ejecute en tiempos definidos. Todo lo antes mencionada permite a la planta obtener productos seguros e inocuos de manera cotidiana (Arroyo, 2015).

Adicional a este documento, se anexa impresa la Guía Técnica para la pasteurización de la leche.



4. CONCLUSIONES

- Una vez finalizado el análisis microbiológico se pudo concluir que la leche cruda de los cinco proveedores que ingresa a la Planta de Lácteos “VIGLAC”, y que es destinada al proceso de pasteurización no cumple con el valor límite de aerobios mesófilos estipulados en la norma NTE. INEN 9:2012 siendo como factores contribuyentes a esta alteración, la temperatura de transporte de la leche a la planta (22 °C) ya que los tanques de movilización no cuentan con cadena de frío.
- El total de las 360 muestras de leche pasteurizada tomadas durante las cinco semanas de muestreo presentaron recuentos promedio de $5,8 \times 10^1$ UFC/cm³ para aerobios mesófilos y de <1 UFC/cm³ para *E. coli* y coliformes totales; los cuales cumplen con la normativa vigente en el Ecuador (NTE. INEN 10: 2012), por consiguiente, se obtuvo una disminución del 99,9% de aerobios mesófilos y en un 100% para coliformes totales y *E. coli* en relación a la carga inicial de la leche ($1,2 \times 10^7$ UFC/cm³).
- Mediante la aplicación de la cinética de inactivación bacteriana se comprobó la eficacia del proceso de pasteurización llevado a cabo a una temperatura de 72 °C durante un tiempo de 20 segundos, de acuerdo a la norma de leche pasteurizada se requiere de 15,96 segundos para que el proceso de pasteurización reduzca la carga microbiana a límites aptos para el consumo humano, sin embargo en el ensayo el tiempo requerido para reducir el número de aerobios mesófilos fue de 19,96 segundos debido a que la carga con la que ingresa la leche cruda es mayor a lo estipulado en la norma NTE. INEN 9:2012
- Al aplicar el cálculo de reducciones logarítmicas se observó que para cumplir con el límite de carga bacteriana de aerobios mesófilos establecidos en la NTE. INEN: 10:2012, se necesita 1,48 reducciones logarítmicas, mientras que al aplicar el cálculo a nuestros datos el número de reducciones necesarias para disminuir la carga es de 5,46 reducciones siendo efectivo el tratamiento térmico al cual es sometida la leche. Estos valores sirvieron como referencia para evaluar la reducción de carga microbiológica de coliformes totales y *E.coli*, según el modelo descrito por Weibull.



- En base a los resultados antes mencionados la Guía Técnica propuesta para el correcto proceso de pasteurización cumpliría con su objetivo y puede ser implementada para su uso por parte de los operarios y trabajadores de la planta de lácteos “VIGLAC”.



5. RECOMENDACIONES

- Capacitar a los proveedores sobre las Buenas prácticas de ordeño, transporte y almacenamiento de leche para mejorar la calidad microbiológica de la leche cruda.
- Implementar POES (Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento).
- Implementar BPM (Buenas Prácticas de Manufactura).
- Realizar una evaluación teórico- práctica de manera periódica de los temas y protocolos abordados en la Guía técnica para garantizar el cumplimiento de la misma.
- Establecer un cronograma de muestreo tanto de leche cruda y pasteurizada para evidenciar que la carga microbiana cumpla con la norma INEN vigente para estos productos.
- Considerar un mayor número de muestras para el ensayo de la evaluación del comportamiento de los microorganismos a diferentes temperaturas en leche pasteurizada.



REFERENCIAS

- Aguirre, M. (2016). Determinación del perfil microbiológico de la leche pasteurizada a través de su línea de producción en la planta Procesadora Colanta. Planeta Rica (Universidad de Córdoba). Recuperado de <http://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/123456789/975/DETERMINACION%20DEL%20PERFIL%20MICROBIOL%C3%93GICO%20DE%20LA%20LECHE%20PASTEURIZADA%20A%20TRAV%C3%89S%20DE%20SU%20LINEA%20DE%20PRODUCCION%20EN%20LA%20PLANTA%20PROCESADORA%20COLANTA%20-%20PLANETA%20RICA.pdf?sequence=1>
- Alonso, L., & Poveda, J. (2018). Estudios comparativo en técnicas de recuento rápido en el mercado y placas petrifilm 3M para el análisis de alimentos (Pontificia Universidad Javeriana). Recuperado de <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis230.pdf>
- Arroyo, M. (2015). Guía para la elaboración de procedimientos y registros en establecimientos que procesan alimentos. Recuperado de Seguridad alimentaria website: http://www.seguridadalimentaria.posadas.gov.ar/images/stories/guias/guia_diseno_manuales_bpm_poes.pdf
- Begazo, D. (2014). Tratamiento para la conservación de la leche- cloruro de sodio y estandarización de sales- separación por sedimentación. (Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa). Recuperado de



<http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4166/IAbechda019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Buñay. (2014). Tipos de pasteurización. Recuperado de https://www.academia.edu/18659928/Tipos_de_pasteurizacion

Buñay, N., & Peralta, F. (2015). Determinación del recuento de aerobios mesófilos en leche cruda que ingresa a industrias Lacto Ochoa- Fernández LTDA. (Universidad de Cuenca). Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/21584/1/TESIS.pdf>

Carrasco, N., Fiel, E., Frías, L., Martha, N., & Osuna, S. (2013). Intercambiadores de calor en la pasteurización de leche.

Coronel, C., Jiménez, M., & López, A. (2009). Modelos para la descripción de curvas de supervivencia microbiana en alimentos. Recuperado 8 de julio de 2019, de [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Coronel-Aguilera-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Coronel-Aguilera-et-al-2009.pdf)

Gonzales, M. M. J. (2007). Diseño de un pasteurizador (UCA, Vol. 1). Recuperado de <https://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/6446/33262846.pdf>

González, M. J. (2015). Proyectos de fin de carrera de Ingeniería Química (Universidad de Cádiz). Recuperado de <https://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/6446/33262846.pdf>

Heer, G. (2007). Microbiología de la leche. Recuperado 22 de mayo de 2019, de <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/tecnologialeche/informacion/microbiologia.pdf>

Iáñez, E. (2005, mayo 9). Agentes físicos. Recuperado 28 de mayo de 2019, de https://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/13agfisicos.htm#_Toc59451620

INEN. (2012a). NTE INEN 9:2012 Leche cruda. Requisitos. Recuperado 21 de mayo de 2019, de http://181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_9-5.pdf



- INEN. (2012b). NTE INEN 10:2012 Leche pasteurizada Requisitos. Recuperado 21 de mayo de 2019, de INEN website: http://181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_10-5.pdf
- Lopez, D. (2009). Recursos de información: Elaboración de Guías de uso. España: Tórculo Artes gráficas, S.A.
- Luigi, T., Rojas, L., & Valbuena, O. (2013). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. *Salus*, 17(1), 25-33.
- Martínez, A., & Rosenberger, M. (2013). Modelado numérico de pasteurización Artesanal de leche y jugos naturales. *Asociación Argentina de Mecánica Computacional*, 32, 17.
- Martínez Vasallo, A., Villoch Cambas, A., Ribot Enriquez, A., Montes de Oca, N., Riverón Alemán, Y., & Ponce Ceballo, P. (2015). Calidad e inocuidad en la leche cruda de una cadena de producción de una provincia occidental de Cuba. *Revista de Salud Animal*, 37(2), 79-85.
- Quevedo, J. P., & Garzón, C. R. (2010). Ingeniería para la automatización del proceso de pasteurización Batch de una empresa procesadora de lácteos (Pontificia Universidad Javeriana). Recuperado de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/7042/tesis487.pdf;sequence=1>
- Sánchez, Y., Gonzalez, F., Molina, O., & Guil, M. (2011). Guía para la elaboración de protocolos. España: Lascasas.
- Serrano, G. (2005). Sistema Nacional de análisis de leche fresca. Bogotá- Colombia: SISLAC.

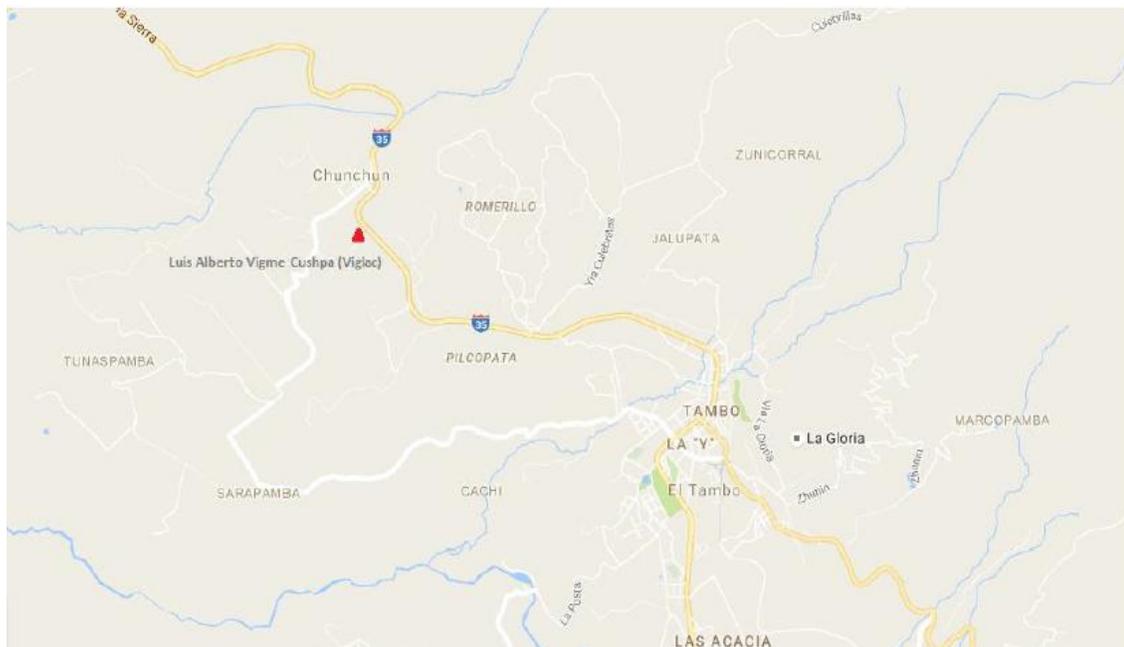


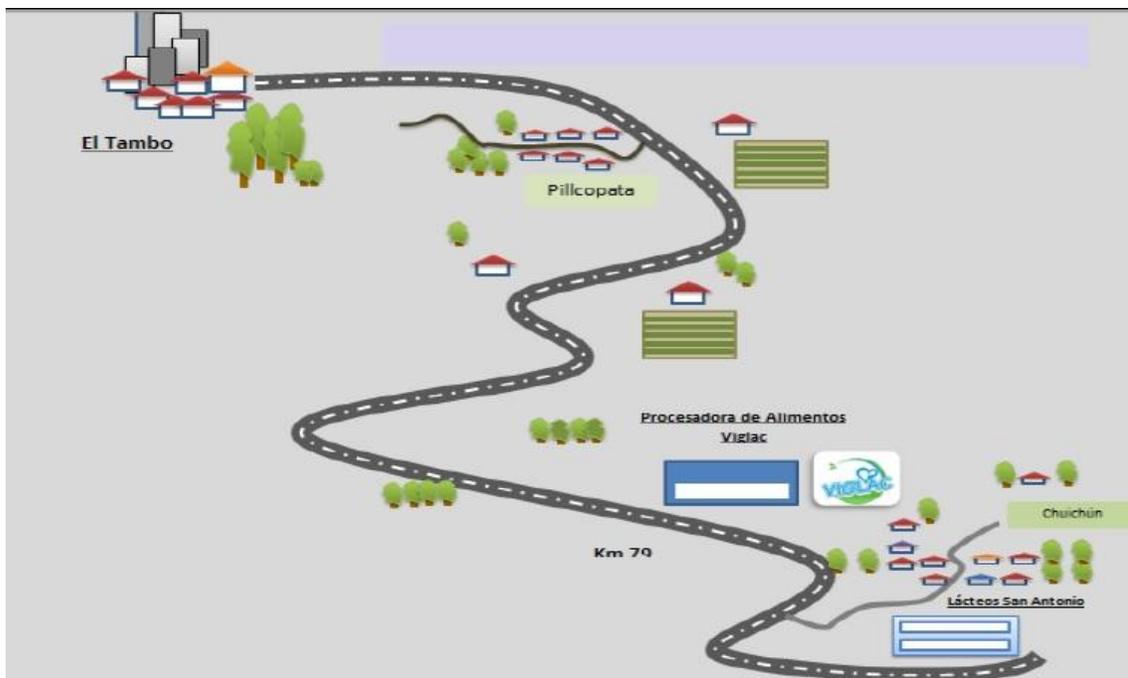
Servicio de acreditación Ecuatoriano. (2018, enero 15). Calidad e inocuidad de la leche cruda – Servicio de Acreditación Ecuatoriano. Recuperado 21 de mayo de 2019, de <http://www.acreditacion.gob.ec/calidad-e-inocuidad-de-la-leche/>

Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). Introducción a la microbiología. Ed. Médica Panamericana.

ANEXOS

Anexo 1. Ubicación geográfica y croquis de la planta de lácteos VIGLAC





Anexo 2. Socialización de la Guía Técnica al personal de la planta de lácteos VIGLAC

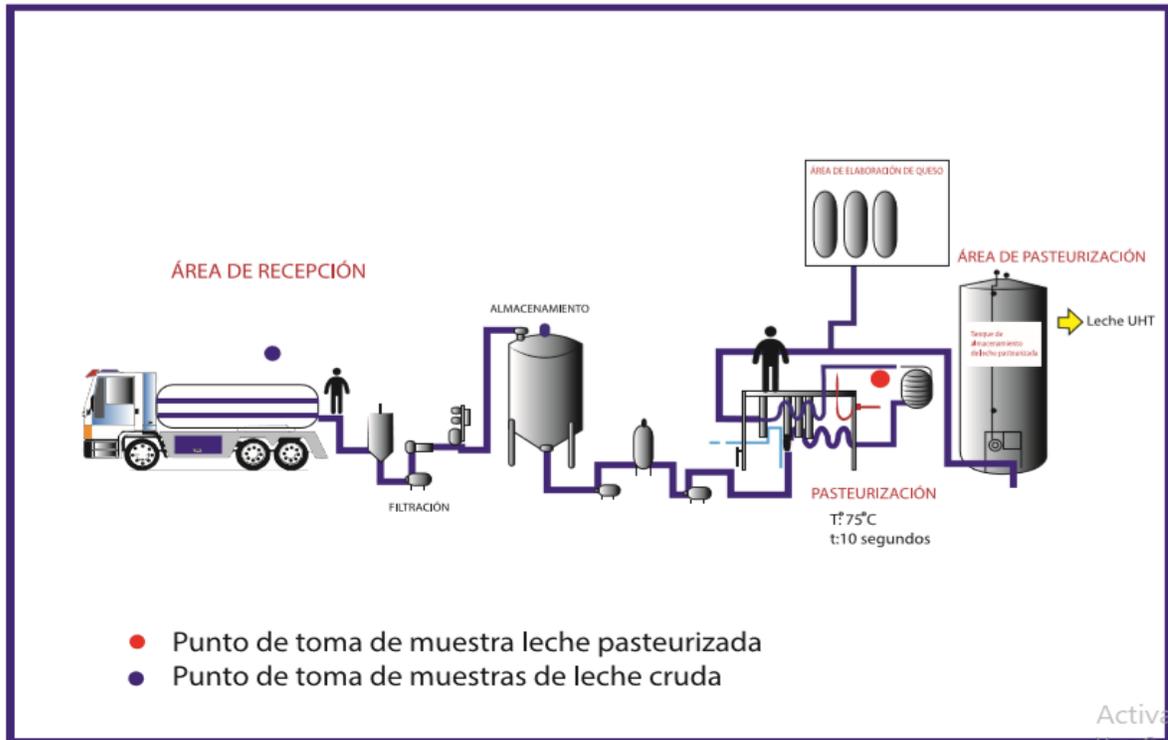


Socialización de las partes, limpieza y manejo del equipo pasteurizador Discount



Aplicación del Protocolo de pasteurización

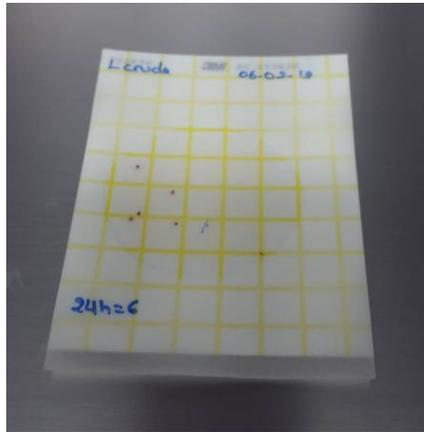
Anexo 3. Puntos de toma de muestra de leche cruda y pasteurizada



**Anexo 4.** Registro de recepción de leche cruda durante las 5 semanas

Semana	N° de proveedor	Hora de recepción	Temperatura de ingreso
1	1	8:35	22
	2	8:40	21
	3	9:10.	22
	4	9:35	22
	5	10:00	22
2	1	8:30	19
	2	8:40	22
	3	9:00.	25
	4	9:20	23
	5	9:45	22
3	1	8:25	18
	2	8:40	28
	3	9:00.	22
	4	9:15	27
	5	9:40	22
4	1	8:00	23
	2	8:20	19
	3	9:00.	22
	4	9:15	16
	5	9:40	24
5	1	8:00	22
	2	8:20	19
	3	9:00.	25
	4	9:15	19
	5	9:40	25

Anexo 5. Recuentos microbiológicos de leche cruda y pasteurizada

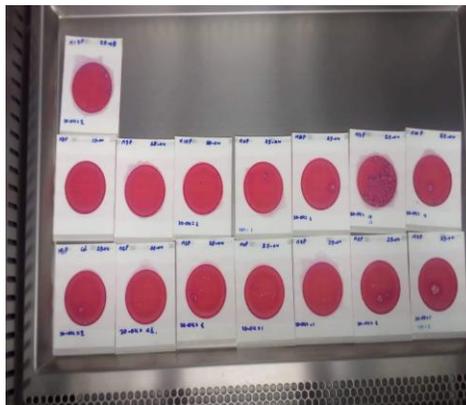


Resultados microbiológicos de leche cruda

Aerobios mesófilos



E. coli/Coliformes



Aerobios mesófilos



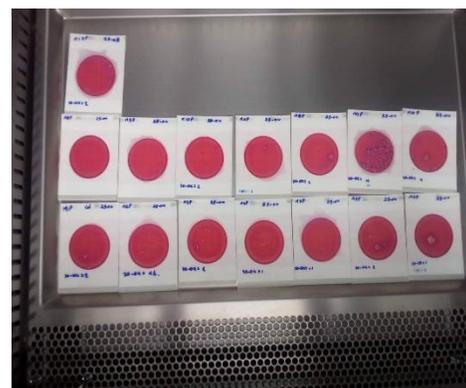
E. coli/Coliformes



Aerobios mesófilos



E. coli/Coliformes



Resultados microbiológicos de leche pasteurizada



Anexo 6. Resultados microbiológicos diarios durante las 5 semanas

SEMANA UNO				
Día	Hora toma muestra	Coliformes Totales UFC/cm ³	<i>E. coli</i> UFC/cm ³	Aerobios mesófilos UFC/cm ³
29/04/19	10:00	<1	<1	9,7 x 10 ¹
	10:02	<1	<1	8,1 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	7,2 x 10 ¹
	10:06	<1	<1	8,4 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	8,1 x 10 ¹
	10:10	<1	<1	7,0 x 10 ¹
	10:12	<1	<1	6,7 x 10 ¹
	10:14	1	2	1,1 x 10 ¹
	10:16	<1	<1	7,5 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	1,0 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	7,3 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	9,1 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	1,2 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	7,4 x 10 ¹
	10:28	<1	<1	9,7 x 10 ¹
Promedio		<1	<1	8,6 x 10 ¹
30/04/19	10:00	<1	<1	9,0 x 10 ¹
	10:02	<1	<1	9,1 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	9,6 x 10 ¹
	10:06	<1	<1	9,5 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	6,2 x 10 ¹
	10:10	<1	<1	4,2 x 10 ¹
	10:12	<1	<1	7,5 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	1,0 x 10 ¹
	10:16	<1	<1	3,9 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	4,0 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	5,0 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	3,8 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	9,2 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	9,0 x 10 ¹
	10:28	<1	<1	7,0 x 10 ¹
Promedio		<1	<1	7,1 x 10 ¹



01/05/19	10:00	<1	<1	$9,7 \times 10^1$
	10:02	<1	<1	$8,1 \times 10^1$
	10:04	2	<1	$7,2 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$8,4 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$8,1 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$7,0 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$6,7 \times 10^1$
	10:14	<1	<1	$7,1 \times 10^1$
	10:16	<1	<1	$7,5 \times 10^1$
	10:18	<1	<1	$6,8 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$7,3 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$6,2 \times 10^1$
	10:24	<1	<1	$6,4 \times 10^1$
	10:26	<1	<1	$7,4 \times 10^1$
	10:28	<1	<1	$7,0 \times 10^1$
Promedio		<1	<1	$7,4 \times 10^1$
02/05/19	10:00	<1	<1	$2,6 \times 10^1$
	10:02	<1	<1	$2,2 \times 10^1$
	10:04	<1	<1	$3,9 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$3,7 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$4,0 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$3,8 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$3,9 \times 10^1$
	10:14	<1	<1	$2,8 \times 10^1$
	10:16	2	<1	$4,1 \times 10^1$
	10:18	<1	<1	$4,1 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$5,0 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$3,2 \times 10^1$
	10:24	<1	<1	$3,1 \times 10^1$
	10:26	<1	<1	$3,2 \times 10^1$
	10:28	<1	<1	$2,4 \times 10^1$
Promedio		<1	<1	$3,5 \times 10^1$
03/05/19	10:00	<1	<1	$2,6 \times 10^1$
	10:02	<1	<1	$2,2 \times 10^1$
	10:04	<1	<1	$3,9 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$4,7 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$4,0 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$4,8 \times 10^1$



	10:12	<1	<1	3,9 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	2,8 x 10 ¹
	10:16	2	<1	4,1 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	4,1 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	5,0 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	5,2 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	3,1 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	3,2 x 10 ¹
	10:28	<1	<1	2,4 x 10 ¹
Promedio		<1	<1	3,5 x 10 ¹

SEMANA DOS				
Día	Hora toma muestra	Coliformes Totales UFC/cm ³	<i>E. coli</i> UFC/cm ³	Aerobios mesófilos UFC/cm ³
06/05/19	10:00	2	<1	3,3 x 10 ¹
	10:02	<1	<1	4,1 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	2,7 x 10 ¹
	10:06	2	<1	3,3 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	4,0 x 10 ¹
	10:10	<1	<1	3,7 x 10 ¹
	10:12	<1	<1	2,8 x 10 ¹
	10:14	3	<1	4,0 x 10 ¹
	10:16	1	<1	4,3 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	4,5 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	3,7 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	2,2 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	2,8 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	2,4 x 10 ¹
10:28	<1	<1	2,9 x 10 ¹	
Promedio		1	<1	3,4 x 10 ¹
07/05/19	10:00	<1	<1	3,2 x 10 ¹
	10:02	<1	<1	4,2 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	3,0 x 10 ¹
	10:06	<1	<1	3,9 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	4,0 x 10 ¹
	10:10	<1	<1	6,6 x 10 ¹
	10:12	<1	<1	6,2 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	4,6 x 10 ¹



	10:16	<1	<1	3,7 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	4,4 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	5,0 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	4,1 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	4,2 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	5,8 x 10 ¹
	10:28	<1	<1	5,3 x 10 ¹
	Promedio	<1	<1	4,5 x 10 ¹
08/05/19	10:00	4	<1	2,5 x 10 ¹
	10:02	2	<1	3,4 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	4,0 x 10 ¹
	10:06	1	<1	3,9 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	4,2 x 10 ¹
	10:10	<1	<1	4,4 x 10 ¹
	10:12	1	<1	3,6 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	3,3 x 10 ¹
	10:16	1	<1	2,7 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	2,1 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	3,5 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	2,9 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	3,6 x 10 ¹
	10:26	2	<1	2,7 x 10 ¹
10:28	4	<1	2,5 x 10 ¹	
	Promedio	1	<1	3,3 x 10 ¹
09/05/19	10:00	<1	<1	3,2 x 10 ¹
	10:02	<1	<1	4,2 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	3,0 x 10 ¹
	10:06	<1	<1	3,9 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	4,6 x 10 ¹
	10:10	<1	<1	6,6 x 10 ¹
	10:12	<1	<1	6,2 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	4,6 x 10 ¹
	10:16	<1	<1	3,7 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	4,4 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	4,9 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	4,1 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	4,2 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	5,8 x 10 ¹
10:28	<1	<1	5,3 x 10 ¹	



Promedio	<1	<1	4,6 x 10 ¹	
10/05/19	10:00	<1	<1	6,5 x 10 ¹
	10:02	<1	<1	5,5 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	5,9 x 10 ¹
	10:06	<1	<1	7,2 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	9,8 x 10 ¹
	10:10	<1	<1	5,0 x 10 ¹
	10:12	<1	<1	4,6 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	4,9 x 10 ¹
	10:16	<1	<1	5,1 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	5,5 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	6,1 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	5,9 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	5,9 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	3,9 x 10 ¹
10:28	<1	<1	5,0 x 10 ¹	
Promedio	<1	<1	5,8 x 10 ¹	

SEMANA TRES				
Día	Hora toma muestra	Coliformes Totales UFC/cm ³	<i>E. coli</i> UFC/cm ³	Aerobios mesófilos UFC/cm ³
13/05/19	10:00	<1	<1	6,3 x 10 ¹
	10:02	2	<1	7,1 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	7,9 x 10 ¹
	10:06	2	<1	5,5 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	6,5 x 10 ¹
	10:10	<1	<1	7,5 x 10 ¹
	10:12	<1	<1	7,3 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	4,7 x 10 ¹
	10:16	<1	<1	5,3 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	6,7 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	4,9 x 10 ¹
	10:22	2	<1	6,5 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	5,9 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	4,8 x 10 ¹
10:28	<1	<1	8,2 x 10 ¹	
Promedio	<1	<1	6,3 x 10 ¹	



14/05/19	10:00	<1	<1	$4,7 \times 10^1$
	10:02	<1	<1	$5,5 \times 10^1$
	10:04	<1	<1	$3,7 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$4,3 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$3,1 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$4,5 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$4,4 \times 10^1$
	10:14	<1	<1	$4,5 \times 10^1$
	10:16	<1	<1	$3,4 \times 10^1$
	10:18	<1	<1	$4,2 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$5,1 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$4,8 \times 10^1$
	10:24	<1	<1	$5,5 \times 10^1$
	10:26	<1	<1	$6,2 \times 10^1$
	10:28	<1	<1	$4,4 \times 10^1$
Promedio		<1	<1	$4,6 \times 10^1$
15/05/19	10:00	1	<1	$6,8 \times 10^1$
	10:02	3	<1	$5,6 \times 10^1$
	10:04	1	<1	$7,2 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$5,0 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$6,1 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$5,6 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$5,7 \times 10^1$
	10:14	1	<1	$5,6 \times 10^1$
	10:16	<1	<1	$5,8 \times 10^1$
	10:18	<1	<1	$1,0 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$8,3 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$6,0 \times 10^1$
	10:24	<1	<1	$6,2 \times 10^1$
	10:26	<1	<1	$6,7 \times 10^1$
	10:28	<1	<1	$7,7 \times 10^1$
Promedio		<1	<1	$6,6 \times 10^1$
16/05/19	10:00	<1	<1	$5,9 \times 10^1$
	10:02	<1	<1	$7,7 \times 10^1$
	10:04	2	<1	$7,3 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$7,6 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$8,6 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$7,2 \times 10^1$



	10:12	<1	<1	5,3 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	5,1 x 10 ¹
	10:16	<1	<1	5,6 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	6,0 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	6,9 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	6,5 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	7,2 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	5,1 x 10 ¹
	10:28	<1	<1	6,4 x 10 ¹
	Promedio	<1	<1	6,6 x 10 ¹
17/05/19	10:00	<1	<1	4,3 x 10 ¹
	10:02	<1	<1	4,3 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	3,0 x 10 ¹
	10:06	2	<1	5,8 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	5,1 x 10 ¹
	10:10	<1	<1	4,2 x 10 ¹
	10:12	<1	<1	4,5 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	4,5 x 10 ¹
	10:16	2	<1	5,4 x 10 ¹
	10:18	<1	<1	5,3 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	4,8 x 10 ¹
	10:22	<1	<1	4,6 x 10 ¹
	10:24	<1	<1	3,9 x 10 ¹
	10:26	<1	<1	5,5 x 10 ¹
	10:28	<1	<1	3,5 x 10 ¹
	Promedio	<1	<1	4,6 x 10 ¹

SEMANA CUATRO				
Día	Hora toma muestra	Coliformes Totales UFC/cm ³	<i>E. coli</i> UFC/cm ³	Aerobios mesófilos UFC/cm ³
20/05/19	10:00	<1	<1	9,7 x 10 ¹
	10:02	<1	<1	8,1 x 10 ¹
	10:04	<1	<1	7,2 x 10 ¹
	10:06	<1	<1	8,4 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	8,1 x 10 ¹



	10:10	<1	<1	$7,0 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$6,7 \times 10^1$
	10:14	<1	<1	$1,1 \times 10^1$
	10:16	<1	<1	$7,5 \times 10^1$
	10:18	<1	<1	$6,8 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$7,3 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$9,1 \times 10^1$
	10:24	<1	<1	$6,4 \times 10^1$
	10:26	<1	<1	$7,4 \times 10^1$
	10:28	<1	<1	$7,0 \times 10^1$
Promedio		<1	<1	$7,8 \times 10^1$
21/05/19	10:00	<1	<1	$4,7 \times 10^1$
	10:02	<1	<1	$7,1 \times 10^1$
	10:04	<1	<1	$7,1 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$7,0 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$5,6 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$7,1 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$7,0 \times 10^1$
	10:14	<1	<1	$6,5 \times 10^1$
	10:16	<1	<1	$6,7 \times 10^1$
	10:18	<1	<1	$6,8 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$5,0 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$4,6 \times 10^1$
	10:24	<1	<1	$5,3 \times 10^1$
	10:26	<1	<1	$5,9 \times 10^1$
10:28	<1	<1	$5,8 \times 10^1$	
Promedio		<1	<1	$6,2 \times 10^1$
22/05/19	10:00	<1	<1	$6,8 \times 10^1$
	10:02	<1	<1	$5,6 \times 10^1$
	10:04	<1	<1	$7,2 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$5,0 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$6,1 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$5,6 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$5,7 \times 10^1$
	10:14	<1	<1	$5,6 \times 10^1$
	10:16	<1	<1	$5,8 \times 10^1$



	10:18	<1	<1	$1,0 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$8,3 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$6,0 \times 10^1$
	10:24	<1	<1	$6,2 \times 10^1$
	10:26	<1	<1	$6,7 \times 10^1$
	10:28	<1	<1	$7,7 \times 10^1$
	Promedio	<1	<1	$6,6 \times 10^1$
23/05/19	10:00	<1	<1	$7,5 \times 10^1$
	10:02	<1	<1	$5,7 \times 10^1$
	10:04	2	<1	$6,0 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$6,6 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$4,7 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$5,2 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$7,7 \times 10^1$
	10:14	<1	<1	$6,3 \times 10^1$
	10:16	<1	<1	$5,7 \times 10^1$
	10:18	<1	<1	$5,5 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$6,1 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$7,2 \times 10^1$
	10:24	<1	<1	$8,1 \times 10^1$
	10:26	<1	<1	$5,9 \times 10^1$
10:28	<1	<1	$8,7 \times 10^1$	
	Promedio	<1	<1	$6,5 \times 10^1$
24/05/19	10:00	<1	<1	$2,6 \times 10^1$
	10:02	<1	<1	$2,2 \times 10^1$
	10:04	<1	<1	$3,9 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$3,7 \times 10^1$
	10:08	<1	<1	$4,0 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$3,8 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$3,9 \times 10^1$
	10:14	<1	<1	$2,8 \times 10^1$
	10:16	<1	<1	$4,1 \times 10^1$
	10:18	<1	<1	$4,1 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$5,0 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$3,2 \times 10^1$
10:24	<1	<1	$3,1 \times 10^1$	



	10:26	<1	<1	3,2 x 10 ¹
	10:28	<1	<1	2,4 x 10 ¹
	Promedio	<1	<1	3,5 x 10 ¹

SEMANA CINCO				
Día	Hora toma muestra	Coliformes totales UFC/cm ³	<i>E. coli</i> UFC/cm ³	Aerobios mesófilos UFC/cm ³
27/05/19	10:00	2	<1	5,4 x 10 ¹
	10:02	<1	<1	5,2 x 10 ¹
	10:04	1	<1	5,8 x 10 ¹
	10:06	1	<1	5,5 x 10 ¹
	10:08	<1	<1	6,5 x 10 ¹
	10:10	2	<1	6,0 x 10 ¹
	10:12	1	<1	4,4 x 10 ¹
	10:14	<1	<1	4,7 x 10 ¹
	10:16	<1	<1	5,3 x 10 ¹
	10:18	1	<1	6,7 x 10 ¹
	10:20	<1	<1	4,9 x 10 ¹
	10:22	1	<1	4,8 x 10 ¹
	10:24	6	<1	5,9 x 10 ¹
	10:26	4	<1	4,8 x 10 ¹
10:28	2	<1	4,2 x 10 ¹	
	Promedio	1	<1	5,3 x 10 ¹
28/05/19	10:00	2	<1	3,5 x 10 ¹
	10:02	1	<1	4,8 x 10 ¹
	10:04	8	<1	5,9 x 10 ¹
	10:06	4	<1	6,0 x 10 ¹
	10:08	2	<1	6,6 x 10 ¹
	10:10	2	<1	6,0 x 10 ¹
	10:12	3	<1	5,7 x 10 ¹
	10:14	1	<1	6,0 x 10 ¹
	10:16	2	<1	7,4 x 10 ¹
	10:18	5	<1	6,9 x 10 ¹
	10:20	2	<1	7,8 x 10 ¹
	10:22	10	<1	6,7 x 10 ¹
	10:24	1	<1	6,0 x 10 ¹
	10:26	8	<1	4,9 x 10 ¹
10:28	3	<1	6,5 x 10 ¹	
	Promedio	4	<1	6,0 x 10 ¹



30/05/19	10:00	2	<1	$6,5 \times 10^1$
	10:02	1	<1	$5,5 \times 10^1$
	10:04	5	<1	$5,9 \times 10^1$
	10:06	4	<1	$7,2 \times 10^1$
	10:08	2	<1	$9,8 \times 10^1$
	10:10	2	<1	$5,0 \times 10^1$
	10:12	3	<1	$4,6 \times 10^1$
	10:14	1	<1	$4,9 \times 10^1$
	10:16	2	<1	$5,1 \times 10^1$
	10:18	5	<1	$9,3 \times 10^1$
	10:20	2	<1	$8,1 \times 10^1$
	10:22	5	<1	$5,9 \times 10^1$
	10:24	1	<1	$5,9 \times 10^1$
	10:26	5	<1	$3,9 \times 10^1$
	10:28	4	<1	$5,0 \times 10^1$
Promedio	1	<1	$6,2 \times 10^1$	
31/05/19	10:00	<1	<1	$6,2 \times 10^1$
	10:02	1	<1	$5,7 \times 10^1$
	10:04	<1	<1	$8,1 \times 10^1$
	10:06	<1	<1	$9,5 \times 10^1$
	10:08	1	<1	$9,0 \times 10^1$
	10:10	<1	<1	$6,3 \times 10^1$
	10:12	<1	<1	$6,4 \times 10^1$
	10:14	<1	<1	$5,8 \times 10^1$
	10:16	<1	<1	$6,3 \times 10^1$
	10:18	<1	<1	$5,5 \times 10^1$
	10:20	<1	<1	$9,8 \times 10^1$
	10:22	<1	<1	$5,9 \times 10^1$
	10:24	<1	<1	$4,1 \times 10^1$
	10:26	<1	<1	$4,3 \times 10^1$
	10:28	<1	<1	$7,3 \times 10^1$
Promedio	<1	<1	$6,68 \times 10^1$	



Anexo 7. Resultados microbiológicos a diferentes temperaturas de pasteurización

Día	Hora toma muestra	Coliformes Totales UFC/cm ³	<i>E. coli</i> UFC/cm ³	Aerobios mesófilos UFC/cm ³	Observaciones
29/05/19	10:00	<1	<1	3,2 x 10 ¹	Temperatura de pasteurización 72 °C Tiempo de pasteurización 20 segundos
	10:02	<1	<1	4,1 x 10 ¹	
	10:04	<1	<1	4,6 x 10 ¹	
	10:06	<1	<1	6,2 x 10 ¹	
	10:08	<1	<1	5,4 x 10 ¹	
	10:10	<1	<1	4,5 x 10 ¹	
	10:12	<1	<1	5,6 x 10 ¹	
	10:14	<1	<1	5,1 x 10 ¹	
	10:16	<1	<1	4,1 x 10 ¹	
	10:18	<1	<1	5,3 x 10 ¹	
	10:20	<1	<1	3,7 x 10 ¹	
	10:22	<1	<1	4,0 x 10 ¹	
	10:24	<1	<1	4,2 x 10 ¹	
	10:26	<1	<1	3,7 x 10 ¹	
	10:28	<1	<1	3,8 x 10 ¹	
Promedio		<1	<1	4,5 x 10 ¹	
29/05/19	10:00	<1	<1	1,6 x 10 ¹	Temperatura de pasteurización 80 °C Tiempo de pasteurización 20 segundos
	10:02	<1	<1	1,0 x 10 ¹	
	10:04	<1	<1	1,2 x 10 ¹	
	10:06	<1	<1	1,5 x 10 ¹	
	10:08	<1	<1	1,8 x 10 ¹	
	10:10	<1	<1	1,2 x 10 ¹	
	10:12	<1	<1	1,2 x 10 ¹	
	10:14	<1	<1	1,0 x 10 ¹	
	10:16	<1	<1	1,4 x 10 ¹	
	10:18	<1	<1	1,2 x 10 ¹	
	10:20	<1	<1	1,7 x 10 ¹	
	10:22	<1	<1	1,2 x 10 ¹	
	10:24	<1	<1	1,7 x 10 ¹	
	10:26	<1	<1	1,3 x 10 ¹	
	10:28	<1	<1	1,1 x 10 ¹	
Promedio		<1	<1	1,3 x 10 ¹	