

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

Evaluación microbiológica de la leche cruda recibida y de la línea de procesamiento de la leche fluida en bolsa al 2% de grasa en la planta de lácteos de Zamorano

Trabajo de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Agroindustria en el Grado Académico de Licenciatura.

Presentado por:

Carlos Loenis Enamorado Martinez

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2003

RESUMEN

Enamorado, Carlos. 2003. Evaluación microbiológica de la leche cruda recibida y de la línea de procesamiento de la leche fluida en bolsa al 2% de grasa en la planta de lácteos de Zamorano. Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria. Valle del Yeguaré, Honduras. 45 p.

Entre los problemas que requieren atención inmediata, tanto en Honduras como en otros países latinoamericanos, resalta la necesidad de aumentar la eficiencia de la producción, transformación y conservación de alimentos en el ámbito agropecuario e industrial. Este problema se refleja en la baja disponibilidad y el alto grado de pérdidas de alimentos por falta de almacenamiento, transporte inadecuados, la inapropiada utilización de las tecnologías de preservación y el excesivo desperdicio, tanto de plantas procesadoras como de los centros de distribución. Este estudio buscó identificar las principales fuentes de contaminación de la leche cruda y pasteurizada en bolsa al 2% de grasa de la planta lácteos de Zamorano. Se realizaron conteos de mesófilos aeróbicos, coliformes, *Escherichia coli*; se registraron las temperaturas y tiempos a las cuales la leche fue sometida. Se concluyó que la leche del establo de Zamorano clasifica como leche de grado A y la leche de los productores externos como grado C. En la línea de procesamiento la leche presentó inestabilidad en las temperaturas, así mismo se observó que el pasteurizador presentó deficiencias en el pasteurizado, y que el manejo después de la pasteurización no fue el adecuado pues se encontraron *Escherichia coli* en el producto terminado, situación de mucha preocupación pues el proceso de pasteurización debió asegurar la eliminación de todos los microorganismos patógenos. En la envasadora se observó contacto de la película de polietileno de baja densidad (LDPE) que forma la bolsa con el medio ambiente lo que aumentó el riesgo de contaminación. Finalmente el control higiénico tanto del personal permanente como estudiantado es indispensable para garantizar que el producto terminado sea de calidad.

Palabras claves: Leche, Pasteurización, Control, Calidad, Preservación.

CONTENIDO

Portadilla.....	i	
Autoría.....	ii	
Página de firmas.....	iii	
Dedicatoria.....	iv	
Agradecimientos.....	v	
Agradecimientos a patrocinadores.....	vi	
Resumen	vii	
Contenido	viii	
Índice de Cuadros.....	xi	
Índice de Figuras.....	xiii	
Índice de Anexos.....	xiv	
1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	CARACTERÍSTICAS.....	1
1.1.1	Leche cruda.....	1
1.1.2	Leche pasteurizada.....	1
1.1.3	Leche de alta calidad.....	2
1.2	ANTECEDENTES.....	3
1.2.1	Destino de la materia prima.....	3
1.3	DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.4	JUSTIFICACIÓN.....	4
1.5	LIMITES DEL ESTUDIO.....	4
1.6	OBJETIVOS.....	4
1.6.1	Objetivo general.....	4
1.6.2	Objetivos específicos.....	4
2	REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1	LA LECHE.....	6
2.2	IMPORTANCIA	6
2.3	COMPOSICIÓN DE LA LECHE.....	7
2.3.1	Lactosa.....	7
2.3.2	Grasa.....	8
2.3.3	Proteínas	8
2.3.4	Minerales.....	8
2.3.5	Factores que afectan el contenido mineral de la leche.....	9
2.3.6	Vitaminas	9
2.4	FORTIFICACIÓN DE LA LECHE.....	10
2.5	TECNOLOGÍA	10

2.5.1 Fortificación de la leche líquida.....	11
2.6 BACTERIOLOGÍA DE LA LECHE.....	12
2.6.1 Bacterias lácticas.....	12
2.6.2 Bacterias esporuladas	12
2.6.3 Bacterias psicrotrofas.....	12
2.6.4 Bacterias fecales.....	13
2.7 EFECTO DE LOS MICROORGANISMOS EN LA SALUD HUMANA.....	13
2.7.1 Mesófilos aeróbicos totales.....	13
2.7.2 Coliformes totales.....	13
2.7.3 <i>Escherichia coli</i>	14
2.8 FACTORES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO BACTERIANO.....	14
2.8.1 Reacción iónica o pH	14
2.8.2 Temperatura.....	14
2.8.3 Tiempo de exposición a diferentes temperaturas.....	14
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1 RECURSO TÉCNICOS.....	16
3.1.1 Ubicación del estudio	16
3.2 MATERIALES.....	16
3.3 EQUIPO.....	17
3.4 MÉTODOS.....	17
3.4.1 Plan de muestreo.....	17
3.4.2 Método de desinfección de instrumentos.....	18
3.4.3 Toma de muestra	18
3.4.4 Transporte y almacenamiento de muestras	19
3.4.5 Preparación de las muestras para el análisis.....	19
3.4.6 Preparación del agua de dilución.....	19
3.4.7 Prueba de esterilidad buffer.....	20
3.4.8 Preparación de diluciones.....	20
3.5 METODOLOGÍA MICROBIOLÓGICA UTILIZADA.....	21
3.5.1 Cómputo estándar en placas petrifilm TM.....	21
3.5.2 Variables a medir.....	22
3.6 DISEÑO ESTADÍSTICO.....	23
3.6.1 Análisis a los productores y del proceso de pasteurización.....	23
4 RESULTADOS y DISCUSIÓN.....	
4.1 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LAS MUESTRAS DE LECHE DE LOS PROVEEDORES DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE ZAMORANO.....	

2.5.1 Fortificación de la leche líquida.....	12
2.6 BACTERIOLOGÍA DE LA LECHE.....	12
2.6.1 Bacterias lácticas.....	12
2.6.2 Bacterias esporuladas.....	12
2.6.3 Bacterias psicrotrofas.....	13
2.6.4 Bacterias fecales.....	13
2.7 EFECTO DE LOS MICROORGANISMOS EN LA SALUD HUMANA.....	13
2.7.1 Mesófilos aeróbicos totales.	13
2.7.2 Coliformes totales.....	14
2.7.3 <i>Escherichia coli</i>	14
2.8 FACTORES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO BACTERIANO.....	14
2.8.1 Reacción iónica o pH.....	14
2.8.2 Temperatura	14
2.8.3 Tiempo de exposición a diferentes temperaturas.....	14
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1 RECURSOS TÉCNICOS.....	16
3.1.1 Ubicación del estudio.....	16
3.2 MATERIALES.	16
3.3 EQUIPO.....	17
3.4 MÉTODOS.....	17
3.4.1 Plan de muestreo.....	17
3.4.2 Método de desinfección de instrumentos.....	18
3.4.3 Toma de muestra	18
3.4.4 Transporte y almacenamiento de muestras.....	19
3.4.5 Preparación de las muestras para el análisis.....	19
3.4.6 Preparación del agua de dilución.....	19
3.4.7 Prueba de esterilidad buffer.....	20
3.4.8 Preparación de diluciones.....	20
3.5 METODOLOGÍA MICROBIOLÓGICA UTILIZADA.....	21
3.5.1 Cálculo estándar en placas Petrifilm™.....	21
3.5.2 Variables a medir.	22
3.6 DISEÑO ESTADÍSTICO.....	23
3.6.1 Análisis a los productores y del proceso de pasteurización.....	23
4 RESULTADOS y DISCUSIÓN.....	24
4.1 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LAS MUESTRAS DE LECHE DE LOS PROVEEDORES DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE ZAMORANO.....	24

4.2	EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL PROCESAMIENTO DE LA LECHE EN BOLSA AL 2% DE GRASA DE LA PLANTA DE ZAMORANO	28
4.2.1	Antes del pasteurizador	32
4.2.2	Después del pasteurizador	33
S	CONCLUSIONES	35
6	RECOMENDACIONES	36
7	BIBLIOGRAFÍA	37
8	ANEXOS	40

1. INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los alimentos con mayores propiedades nutricionales que existen en el mercado. Proporciona proteínas de la mejor calidad, es rica en calcio, posee vitaminas del grupo B así como vitaminas A, D Y E. Gracias a ello se favorece el desarrollo de la estructura ósea, de igual manera favorece parcialmente al crecimiento, ayudando así a cumplir con los requerimientos nutricionales. La leche, a través de sus nutrientes se convierte en una importante fuente de energía (Códex Alimentarius, 2002).

Todos los alimentos al someterse a tratamientos térmicos pierden vitaminas, por ello se ha elegido la pasteurización frente a otros tratamientos como ultra-pasteurización (UHT) donde se llegan a alcanzar temperaturas de 138°C durante 2-4 segundos, no así en la pasteurización donde sólo se calienta a 72°C durante 15 segundos, proceso que asegura la destrucción de los microorganismos patógenos (Hemández, 2001).

1.1 CARACTERÍSTICAS

1.1.1 Leche cruda

La leche cruda para ser considerada con un grado higiénico de calidad superior (Grado A) debe presentar las siguientes características:

- Proteínas superior a 3.15 g /100 mL.
- Contenido de microorganismos a 30°C: inferior a 50,000 UFC/mL.
- Contenido de células somáticas: inferior a 350,000 UFC/mL.
- No debe poseer antibiótico s u otro tipo de residuos químicos.
- Ausencia de microorganismos patógenos.

(Servicio de salubridad y salud pública de los EEUU, 1997).

1.1.2 Leche .pasteurizada

Leche pasteurizada, es aquella leche entera, semi descremada o descremada, que ha sido sometida a un tratamiento térmico específico por un tiempo determinado. Esto se realiza con el objetivo de destruir todos los microorganismos patógenos; al mismo tiempo que se elimina una gran cantidad de microorganismos no patógenos.

Existen dos métodos de pasteurización:

- Método por tandas: consiste en un tratamiento térmico de la leche a 62.3°C, por 30 minutos.
- Método rápido: consiste en un calentamiento uniforme de la leche a 71.6°C durante 15 segundos.

Una vez pasteurizada la leche presenta además de las características de la leche cruda las siguientes características:

- Color blanco uniforme.
- Su olor y sabor son los característicos a la leche cruda.
- La distribución de las moléculas de grasa tiene que ser uniforme.

(Servicio de salubridad y salud pública de los EEUU, 1997).

1.1.3 Leche de alta calidad

Según Ruegg (2001), la leche pasteurizada para ser considerada de alta calidad debe poseer las siguientes características:

- De apariencia blanca.
- Sin olores desagradables.
- Libre de sustancias anormales como:
 - Pesticidas.
 - Agua añadida.
 - Residuos de antibióticos o antisépticos.
- Calidad definida por:
 - Contenido de células somáticas.
 - Contenido de bacterias.

La mayoría de microorganismos que se encuentran presentes en la leche comercial proviene de la materia prima (leche cruda), esto por las diferentes condiciones de manejo y pobre control sanitario a los cuales son sometidos la mayoría de los hatos lecheros. Esto conlleva a que la leche se encuentre en constante riesgo de contaminación por parte de las personas, el medio ambiente, y el animal mismo. Al final lo que se tiene es un producto con un alto contenido de microorganismos que reduce la vida comercial del producto, bajando su calidad y causando pérdidas económicas.

Según Judkins y Kenner (1990), la pasteurización eficiente elimina el riesgo de infección por microorganismos que se encuentran presentes en la leche cruda. Posibles diferencias en la pasteurización, recontaminación y finalmente cambios bruscos de temperatura a que es sometido el producto final son los principales factores que favorecen el alto contenido de microorganismos en la leche comercial.

1.2 ANTECEDENTES

Entre los problemas que requieren de atención inmediata, tanto en Honduras como en otros países latinoamericanos, resalta la necesidad de aumentar la eficiencia de la producción, conservación y transformación de alimentos en el ámbito agropecuario e industrial. Este problema se refleja en la baja disponibilidad y el alto grado de pérdida de alimentos por falta de almacenaje y transporte adecuados, la inadecuada utilización de las tecnologías de preservación y el excesivo desperdicio, tanto de plantas procesadoras como de centros de distribución. Esto trae como consecuencia contaminación ambiental, baja utilización de la capacidad de producción instalada en la industria y el escaso control de calidad de los productos alimenticios (F AO, 2002).

1.2.1 Destino de la materia prima

La importancia de la leche dentro de la industria láctea se demuestra en el cuadro 1 y 2, donde se observa que la leche pasteurizada y homogenizada representa uno de los rubros mayoritarios de esta industria.

Cuadro 1. Destino de la materia prima por rubros.

DESTINO DE LA MATERIA PRIMA PRINCIPALES RUBROS				
Rubro	1996	1998	1999	2000
Queso	51.60%	62.50%	47.32%	60.43%
Leche en polvo	31.44%	18.60%	25.95%	19.39%
Leche fluida	12.30%	13.60%	21.99%	15.82%
Dulce de leche	3.70%	2.50%	3.25%	1.87%
Otros	0.96%	1.80%	1.49%	2.49%

Fuente: Secretaría de Agricultura y Ganadería de Honduras (2002).

Cuadro 2. Destino de la producción de la materia prima.

Fuente: Secretaría de

DESTINO DE LA PRODUCCION DE LA MATERIA PRIMA (LECHE) AÑO 2000		
Rubro	Litros	Porcentaje (%)
Queso	5,729,083.00	60.43
Leche en polvo	1,838,000.00	19.39
Leche fluida	1,500,000.00	15.82
Dulce de leche	177,727.00	1.87
Otros	234,440.00	2.49

Agricultura y Ganadería de Honduras

1.3 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La planta de lácteos de Zamorano recibe devoluciones de leche fluida. Con la ayuda de observaciones visuales y análisis organolépticos se ha determinado que es debido a leche en mal estado, para lo que se ha aumentado la temperatura de pasteurización a 80-85°C, esta medida evita las pérdidas por devoluciones, pero al mismo tiempo se obtiene un producto de menor calidad, pues al someter la leche a estas temperaturas se tienen pérdidas en las características nutricionales de la leche, provocando al mismo tiempo una leche con sabor a cocido.

1.4 JUSTIFICACIÓN

Por lo anterior, se realiza una evaluación del procesamiento de la leche fluida en bolsa al 2% de grasa, desde la materia prima a producto terminado, determinando así en que parte del proceso se da la contaminación de la leche. Ayudando de esta manera a tomar medidas correctivas, que permitan consecuentemente bajar la temperatura de pasteurización a 72°C, consiguiendo así un producto de mejor calidad, que satisfaga las necesidades y deseos de los consumidores finales.

La aplicación de un sistema de control reduce la inspección del producto final y por consiguiente los costos que implica. Ofrece más credibilidad al consumidor y hace más competitivo el producto en la comercialización. Con esto, se logra que la leche pueda cumplir con los requisitos legales y proporciona un aprovechamiento más eficaz de los recursos en esta industria.

1.5 LÍMITES DEL ESTUDIO

El número y la amplitud de los análisis realizados se redujeron debido al elevado costo de las placas petrifilm TM (3M, USA) Y al bajo presupuesto. Sólo se realizaron análisis para mesófilos aeróbicos, coliformes, *Escherichia coli* durante tres semanas dos días por semana.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo general

Identificar las principales fuentes de contaminación de la leche a través del proceso, las cuales influyen directamente en la vida útil y características nutricionales.

1.6.2 Objetivos específicos

- Clasificación de la leche cruda de acuerdo a grado de calidad.

- Determinar inocuidad del procesamiento de leche al 2% de grasa en bolsa de 1 litro.
- Determinar las temperaturas y tiempos a los que se mantiene la leche en el proceso.
- Una vez identificados los principales puntos de contaminación dar sugerencias para mejorar la calidad de la leche en bolsa pasteurizada al 2% de grasa.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 LA LECHE

La leche es la secreción láctea, prácticamente libre de calostro, obtenida del ordeño completo de una o más vacas saludables. No debe de contener menos de 8.25% de sólidos no grasos y no menos de 3.25% de grasa (International Dairy Foods Institute, 2002).

2.2 IMPORTANCIA

La leche es un alimento indispensable para una buena alimentación, así mismo es la base de una de las industrias más importantes como lo es la industria láctea.

Según la International Dairy Foods Institute (2002), la leche está compuesta por un 87% de agua y por un 13% de sólidos. La porción grasa de la leche contiene vitaminas liposolubles como la A, D, E Y K. Los otros sólidos no grasos incluyen proteínas, carbohidratos, vitaminas solubles y minerales. Todos estos componentes hacen de la leche, el alimento natural perfecto.

Los productos provenientes de la leche contienen proteínas de alta calidad. Las proteínas del suero constituyen cerca del 18% de las proteínas de la leche. La caseína, una proteína encontrada sólo en leche, contiene todos los aminoácidos esenciales, constituyendo el 82% del contenido total de las proteínas en la leche. Así mismo es utilizada como estándar para evaluar la calidad de las proteínas de otros alimentos. La proteína de la leche es necesaria para construir y reparar los tejidos del cuerpo y para formar anticuerpos que circulan en la sangre, ayudando a combatir las infecciones que sufre el ser humano. La leche contiene minerales como: calcio, fósforo, potasio, entre otros (Nutrición y Salud Humana, 2002).

El calcio encontrado en la leche es absorbido rápidamente por el cuerpo, así mismo el fósforo juega un papel importante en la absorción y utilización del calcio, siendo necesaria la proporción adecuada (1: 1) para que junto al calcio se formen los huesos. La leche proporciona estos dos minerales en aproximadamente la misma proporción como se encuentran en los huesos, lo que facilita su absorción (Nutrición y Salud Humana, 2002).

La leche es también una fuente significativa de riboflavina (vitamina B2) la que es de gran importancia para piel y ojos, al mismo tiempo proporciona vitamina A y D. En adultos, una deficiencia de calcio, puede tener como resultado el deterioro de los huesos

(osteoporosis), por lo que se recomienda un consumo adecuado del mismo como se muestra en el cuadro 3 (The Dairy Food Industry, 2003).

Cuadro 3. Consumo de calcio recomendado.

Edad	Recomendado	Consumo sugerido por día
Adultos	1,000 mg de Calcio	3 Copas
Adolescentes	1,300 mg de Calcio	4 Copas
Niños jóvenes	500-800 mg de Calcio	3 Copas
Adultos sobre 51 años	1,200 mg de Calcio	4 copas

Fuente: The Dairy Food Industry (2003)

2.3 COMPOSICIÓN DE LA LECHE

El interés por conocer los constituyentes de la leche se basa en que es un alimento de primera necesidad para el ser humano, y para determinar su valor alimenticio es necesario conocer la clase de nutrientes y la cantidad en que se encuentran. El cuadro 4 muestra los componentes y las cantidades promedios.

Cuadro 4. Composición de la leche.

PROMEDIO DE LOS COMPONENTES DE LA LECHE		
Componente	Limites de variación	Promedio (%)
Agua	85.5 – 89.5	87.5
Sólidos Totales	10.5 – 14.5	13.0
Grasa	2.5 – 6.0	3.9
Proteínas	2.9 – 5.0	3.4
Lactosa	3.6 – 5.5	4.8
Minerales	06. – 0.9	0.8

Fuente: International Dairy Foods Institute (2002)

2.3.1 Lactosa

La lactosa es el carbohidrato principal de la leche, esta formada por una molécula de glucosa y otra de galactosa, constituyendo el 30% del valor energético de la leche. La lactosa es un ingrediente importante en la alimentación de los niños ya que ayuda en la asimilación del calcio y fósforo y además reduce la necesidad de la vitamina D (Revilla, 2000).

2.3.2 Grasa

La grasa de la leche esta formada por varios compuestos que hacen de ella una sustancia de naturaleza relativamente compleja y con características especiales que están íntimamente ligadas con la calidad de la leche. La grasa de la leche contribuye con aproximadamente 9 Cal/g de grasa, además sirve como medio de transporte de las vitaminas A, D, E Y K (Revilla, 2000).

2.3.3 Proteínas

Las proteínas en general forman una de los grupos más complejos, dentro de los compuestos orgánicos. Desde el punto de vista nutricional, las proteínas de la leche juegan un papel importante porque cuenta con proteínas de alto valor biológico, lo que significa que tiene casi todos los aminoácidos y en las cantidades similares a las requeridas por el ser humano (Revilla, 2000).

2.3.4 Minerales

El contenido mineral de la leche es el menos variable de todos sus constituyentes. Los minerales de la leche están compuestos de sales ácidas y alcalinas de potasio, calcio, sodio, entre otras (cuadro 5). Desde el punto de vista nutricional los minerales son esenciales para los procesos vitales, como la formación de huesos, dientes, hemoglobina y la producción de hormonas (Revilla, 2000).

Cuadro 5. Contenido promedio de minerales de la leche bovina.

MINERALES	CANTIDAD
De importante magnitud	(mg/100 ml)
Potasio	142
Calcio	125
Cloro	105
Fósforo	90
Sodio	62
Azufre	30
De pequeña magnitud	(mg/100 ml)
Bario, Cromo, Estroncio, Flúor, Cobre, Hierro Uranio Molebdeno, Yodo, Plata, Plomo, Silicio, Niquel	250 a 350

Fuente: Nutrición y Salud Humana (2002)

2.3.5 Factores que afectan el contenido de minerales en la leche

Las infecciones de la ubre, como la mastitis, aumenta el contenido de minerales y de cloruros en la leche. No se sabe a ciencia cierta si la alimentación tiene un efecto en el contenido de minerales. Evidentemente, los cambios en la alimentación tienen poco efecto, si hay alguno sobre el contenido mineral de la leche. El desarrollo bacteriano en la leche tiende a disminuir el contenido cálcico de ésta (Sociedad Española Dietética y Ciencias de la Alimentación, 2003).

La pasteurización tiene un efecto en el contenido de minerales de la leche, pues en este proceso se destruyen un cierto número de sales. Así por ejemplo, los cloruros se volatilizan, el fósforo de la caseína y de la lecitina se transforman en ácido fosfórico, el azufre de los prótidos se encuentran después de este proceso en forma de sulfatos y los citratos desaparecen (Sociedad Española Dietética y Ciencias de la Alimentación, 2003).

2.3.6 Vitaminas

La leche es una de las principales fuentes de las importantísimas sustancias alimenticias llamadas vitaminas, todas las vitaminas conocidas se encuentran presentes en la leche, aún cuando no todas se encuentran en abundancia. La palabra vitamina indica una sustancia esencial para la vida. Las vitaminas son compuestos orgánicos necesarios para el cumplimiento normal de las funciones vitales (Cheftel, 1983).

No todas las vitaminas pueden ser sintetizadas, por lo que deben obtenerse usando fuentes externas; muchas veces las vitaminas son añadidas a determinados alimentos para disminuir las carencias. No obstante, algunas no son lo suficientemente estables y pueden degradarse perdiendo así su capacidad nutricional durante el tratamiento y conservación del alimento. Por lo tanto, la determinación del contenido vitamínico de un alimento no sólo es importante desde el punto de vista nutricional, sino que también lo es como parámetro de calidad (Nutrición y Salud Humana, 2002).

Las vitaminas de la leche están agrupadas en liposolubles e hidrosolubles. Las vitaminas liposolubles son las vitaminas A, D, E Y K, Y las hidrosolubles son las del complejo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina, ácido fólico, biotina y cobalamida) y la vitamina C, la más frágil de las vitaminas de la leche a la oxidación y al calentamiento (Revilla, 2000).

El calentamiento drástico de la leche y la oxidación pueden inactivar o bajar el valor nutricional de algunas vitaminas, según el proceso industrial a que sea sometida la leche (Nutrición y Salud Humana, 2002) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Pérdidas de nutrientes por tratamientos térmicos de la leche (%).

NUTRIENTE	P A S T E U R I Z A C I O N (74°C x 15") %	U H T %	E S T E R I L I Z A C I O N C L Á S I C A %
Lisina disponible	menos de 2	menos de 6	2 - 13
Vitamina C	5 - 25	menos de 30	30 - 100
Vitamina B1	menos de 10	menos de 20	20 - 50
Vitamina B6	menos de 10	menos de 20	15 - 50
Vitamina B12	menos de 10	menos de 20	20 - 100
Ácido Fólico	menos de 10	menos de 20	30 - 50

Fuente: Hernández y Sastre (1999).

2.4 FORTIFICACIÓN DE LA LECHE

La fortificación de la leche líquida con vitaminas A y D es obligatoria en varios países. Algunas lecherías de los Estados Unidos fortifican la leche con vitaminas C, E, y calcio, además de las vitaminas A y D. Los alimentos lácteos para niños y los alimentos utilizados para el destete son fortificados con una variedad de vitaminas, minerales y otros nutrientes tales como ácidos grasos poli-insaturados (USAID, 2003).

Los niveles a los cuales se agregan los nutrientes a la leche dependen de muchos factores, incluidos los niveles de consumo de leche y los requerimientos nutricionales de la población objetivo; el efecto de los nutrientes que se agregan sobre las propiedades organolépticas (olor, sabor y color) de la leche; y la estabilidad de los nutrientes durante el procesamiento y almacenamiento de la leche. La leche líquida en Honduras, especialmente la leche descremada, debería ser fortificada por 10 menos con las vitaminas A y D, en cantidades de 2000 UI y 400 UI por litro, respectivamente (Raunhardt y Bowley, 1996).

2.5 TECNOLOGÍA

La tecnología para fortificar la leche es simple. Todas las vitaminas y minerales que se pueden agregar a la leche están disponibles en polvo. Las vitaminas liposolubles también están disponibles en formas oleosas. Debido a que generalmente se agrega más de un nutriente a la leche, estos habitualmente se añaden en forma de premezcla, que es una mezcla homogénea de la cantidad deseada de fortificantes (vitaminas y minerales) concentrados en una cantidad pequeña del alimento a fortificar. Las premezclas aseguran la adición de las cantidades correctas y la homogeneización uniforme de los micronutrientes en el producto final (USAID, 2003).

2.5.1 Fortificación de la leche líquida

Las vitaminas liposolubles se pueden agregar en polvo o en forma líquida, mientras que las vitaminas hidrosolubles y los minerales se agregan en polvo directamente a la leche líquida. La leche líquida se fortifica justo antes de su pasteurización o tratamiento térmico, y es fundamental asegurar que haya una buena distribución de los nutrientes en la leche antes de efectuar cualquier tratamiento de calor. La homogeneización es especialmente importante al usar las formas oleosas de vitaminas (Brian y Robertson, 1993). En la figura 1 se presenta un diagrama modelo del proceso de la fortificación de la leche líquida.

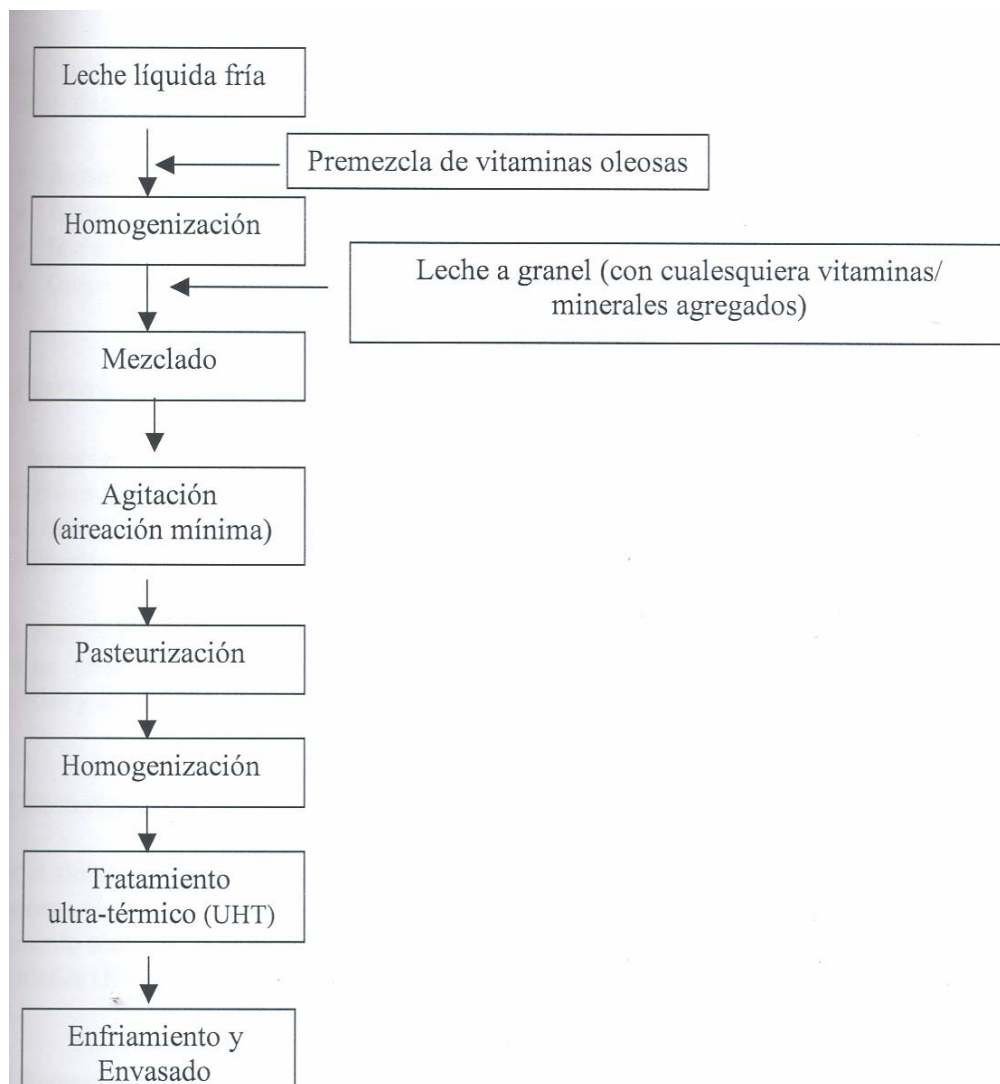


Figura 1. Proceso de fortificación de la leche fluida (Brian y Robertson, 1993).

2.6 BACTERIOLOGÍA DE LA LECHE

La leche debido a su composición química y a su elevada actividad de agua, es un excelente sustrato para el crecimiento de una gran diversidad de microorganismos. De los microorganismos que se pueden encontrar en la leche, unos son beneficiosos (bacterias lácticas), algunos son alterantes y otros son perjudiciales para la salud.

La contaminación de la leche ocurre en las zonas inferiores del interior de la ubre y el canal de salida de la misma. La leche está expuesta a múltiples contaminaciones externas, actualmente la contaminación que alcanza más relevancia son los utensilios de lechería como lo son ordeñadoras, tanques, cisternas, transportadoras, tuberías, silos, entre otras (F AG, 2002).

Según Cheftel (1983), los grupos microbianos más importantes en lactología pueden dividirse, desde un punto de vista funcional, en:

- Bacterias lácticas.
- Bacterias esporuladas.
- Bacterias psicocrotrofas, bacterias de origen fecal y microorganismos patógenos.
- Grupo misceláneo.

2.6.1 Bacterias lácticas

Las bacterias lácticas pueden comportarse como microorganismos alterantes o beneficiosos. La acción negativa se debe a que metabolizan la lactosa, produciendo ácido láctico que al acumularse en la leche provoca inestabilidad de las proteínas de la leche. Normalmente la leche cruda es el producto más afectado.

En la leche cruda es necesario detener la multiplicación de las bacterias lácticas, lo que se consigue eficazmente mediante la refrigeración, ya que son bacterias mesófilas o termófilas y dejan de multiplicarse activamente por debajo de los 8-10°C (Cheftel, 1983).

2.6.2 Bacterias esporuladas

Entre la flora microbiota de la leche pueden existir formas esporuladas, principalmente del género *Bacillus* y *Clostridium*. Las esporas son destruidas sometiendo la leche a un tratamiento térmico superior a 100°C. La pasterización de la leche no destruye las formas esporuladas (Revilla, 2000).

2.6.3 Bacterias psicrotrofas

Mediante métodos de refrigeración se ha hecho posible aumentar la vida útil de la leche cruda en unos días antes del tratamiento térmico. No obstante, la aplicación de frío ha

acarreado otros tipos de problemas graves derivados de la oportunidad que se les presenta a las bacterias psicrotrofas para multiplicarse, pudiendo alcanzar unos niveles tales que llegan a producir efectos no deseables como la acidificación, pérdida del valor nutricional de la leche (Revilla, 2000).

2.6.4 Bacterias fecales

La presencia de tasas elevadas de bacterias fecales en la leche cruda constituye un índice de obtención y manipulación de la leche en condiciones higiénicas deficientes (FAG, 2002).

Los efectos que producen son:

- Alteran la leche acidificándola.
- Dan a la leche mal aspecto y sabor.
- La leche se convierte en vehículo de especies patógenas como *Escherichia coli* y *Salmonella*.

2.7 EFECTOS DE LOS MICROORGANISMOS EN LA SALUD HUMANA

2.7.1 Mesófilos aerobios totales

Según Vanderzant y Splittstoesser (1992), se agrupan en dos géneros importantes: *Bacillus* y *Sporolactobacillus* formadores de endoesporas. En general estos no provocan enfermedades en los seres humanos y se utilizan como indicadores de calidad en el procesamiento.

2.7.2 Coliformes totales

Según la EPA (2003), los coliformes no constituyen una amenaza para la salud. Su determinación se usa para indicar el riesgo de la presencia de otras bacterias patógenas. Su presencia indica que los alimentos podrían estar contaminados con heces fecales de humanos o de animales esto por malas prácticas de manejo y de higiene en toda la línea de producción.

Los microorganismos que están presentes en las heces causan: diarrea, calambres, náuseas, cefaleas u otros síntomas. Estos patógenos podrían representar un riesgo de salud muy importante para bebés, niños pequeños y personas con sistemas inmunológicos gravemente comprometidos.

2.7.3 *Escherichia coli*

Son bacilos gran negativos, cortos y diferentes del *Enterobacter*. Su principal morada es el tracto intestinal del hombre y de los animales y además pueden ser encontrados en la tierra, agua y otros lugares de la naturaleza. Hay diversos tipos de *Escherichia coli*; algunos no causan daño en condiciones normales y otros pueden incluso ocasionar la muerte (Teuben y Barrientos, 2002).

La *Escherichia coli* es el miembro más importante dentro del grupo coliforme junto con el *Enterobacter aerogenes*. Su presencia en grandes cantidades en los alimentos es indicador de contaminación fecal. Se transmiten, entre otras vías, a través de las excretas y comúnmente por la ingestión o el contacto con agua contaminada.

2.8 FACTORES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO BACTERIANO

2.8.1 Reacción iónica o pH

La gran mayoría de bacterias y hongos crecen a pH cercano a la neutralidad. El pH de la leche normal se encuentra entre 6.5 a 6.7, ligeramente ácido, esto favorece el crecimiento de una flora microbiana diversa. Sin embargo, son las bacterias y de ellas el grupo de las ácido lácticas las que se ven favorecidas para crecer en la leche a pH normal (CESCCO, 1997).

2.8.2 Temperatura

No todos los microorganismos crecen a la misma temperatura. Según la temperatura óptima de crecimiento se pueden distinguir tres grupos: los mesófilos, los psicrófilos y los termófilos. Al grupo de las bacterias mesófilas pertenece la mayoría de la flora que se encuentra con mayor frecuencia en la leche, principalmente las bacterias lácticas (Jay, 2000).

2.8.3 Tiempo de exposición a diferentes temperaturas

En la figura 2 se puede observar el crecimiento microbiano a diferentes temperaturas a través del tiempo, donde se nota que a mayor temperatura más rápido el crecimiento microbiano, por lo tanto una menor vida útil y un producto de menor calidad.

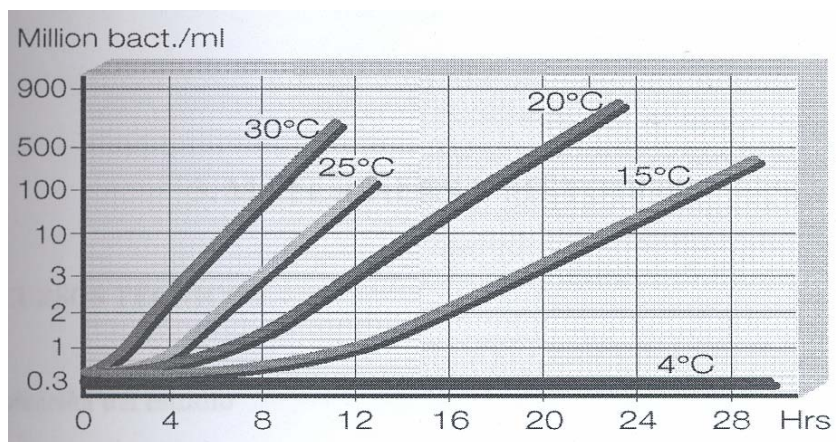


Figura 2. Conteo microbiológico de la leche a diferentes temperaturas a través del tiempo (ALFA- LAVAL, 1996).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 RECURSOS TÉCNICOS

3.1.1 Ubicación del estudio

Las muestras fueron tomadas de la planta de lácteos de la Escuela Agrícola Panamericana. Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el laboratorio de aguas de la carrera de Desarrollo Rural y Ambiente en Zamorano, ubicada en el valle de Yeguaré, Honduras.

3.2 MATERIALES

Materiales para rotular

- Etiquetas
- Marcadores indelebles

Instrumentos para el muestreo

- Agitador estándar para productos lácteos
- Muestreador estándar para productos lácteos

Instrumentos para abrir contenedores de placas petrifilm TM (3M, USA).

- Tijeras estériles
- Bisturís

Instrumentos para la transferencia de peptona

- Espátulas estériles de múltiples o un sólo uso

Contenedor de muestras

- Bolsas de polietileno de baja densidad pre-esterilizadas.

Contenedores para transporte de muestras

- Se utilizó una hielera Rubbermaid americana modelo No. 1822 Part No. 022J Cavo No. 3, la cual tenía el suficiente espacio para el refrigerante, asegurando al mismo tiempo que las muestras se mantuvieran a temperaturas adecuadas hasta llegar al

Microbicida (Solución de hipoclorito de sodio (mg/L))

Agua peptonada al 0.1 %

Agua destilada

3.3 EQUIPO

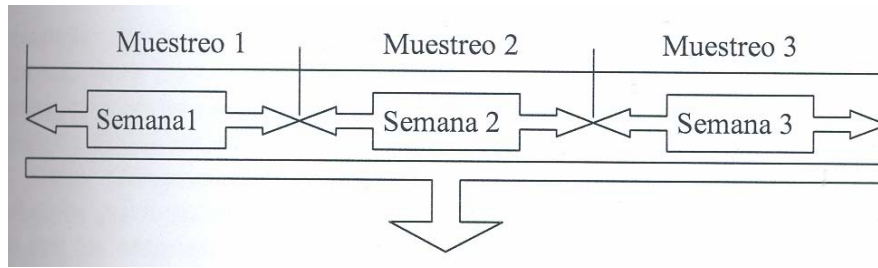
- Incubadoras
- Balanza de precisión
- Autoclave
- Refrigeradora
- Cristalería estéril
- Termómetro
- Cronómetro

3.4 MÉTODOS

3.4.1 Plan de muestreo o

El plan de muestreo que se utilizó fue el de simple atributo dicho procedimiento se uso por su utilidad en la inspección de productos alimenticios, primero porque los lotes sólo puede ser muestreado y/o analizados una vez, y porque los análisis microbiológicos son generalmente fáciles de definir como atributos. Por ejemplo, un atributo tal como la presencia o ausencia de un microorganismo (coliforme)..

Para este estudio los atributos medidos fueron los mesófilos aeróbicos, coliformes totales y *Escherichia coli* utilizando placas petrifilm TM (3M, USA), donde se tomaron muestras en toda la línea de procesamiento de la leche fluida pasteurizada al 2% de grasa de la planta de lácteos de Zamorano. Se tomaron muestras al azar en cada una de las etapas, dicho muestre se realizó como se observa en la figura 3.



- o Recepción
- o Tanque de recibo
- o Después de descremadora
- o Tanque de almacenamiento
- o Antes de pasteurizado
- o Después de pasteurizado
- o Antes de envasadora
- o Después de envasadora
- o Un día después cuarto frío

Figura 3. Sistema de muestreo.

3.4.2 Método de desinfección de instrumentos

El termómetro, mezclador estándar para productos lácteos y el muestreador para productos lácteos fueron desinfectados usando una solución de hipoclorito sodio a 200 partes por millón (ppm). Introduciéndose en dicha solución no menos de 100mg/L por lo menos 30 segundos antes de la toma de muestra.

3.4.3 Toma de muestras

La leche de cada tarro se mezcló agitándola vigorosamente durante 30 segundos con un agitador estándar esterilizado; la cantidad de muestra se tomó de acuerdo al número de yogos por productor (cuadros 7).

Cuadro 7. Número de yogos recibidos y cantidad de yogos a muestrear.

Número de yogos recibidos	Número de yogos muestreados
1	1
2 a 4	Por lo menos 2
5 a 9	Por lo menos 3
10 a 20	Por lo menos 4
Más de 20	Por lo menos 5

Fuente: Patrick y Hornero (1986).

3.4.4 Transporte y almacenamiento de muestras

Las muestras de leche pasteurizada se mantuvieron hasta llegar al laboratorio a temperaturas entre 1 a 4 °C para poder realizar análisis correctos. Utilizando un recipiente con aislamiento como protector de cambios de las temperaturas. Al momento de realizar el transporte de las muestras estas se enfriaron lo más rápido posible, utilizando hielo como medio refrigerante. Las muestras se manejaron bajo supervisión constante asegurándose que se mantuvieran verticalmente y que el refrigerante estuviera en contacto directo con los recipientes de las muestras sin que alcanzase el nivel superficial de las bolsas.

Las muestras de leche pasteurizada no se congelaron ya que temperaturas demasiado bajas, pueden ocasionar la muerte de ciertos microorganismos, conduciendo a resultados erróneos.

Al llevar al laboratorio las muestras se transfirieron a un refrigerador hasta el inicio del análisis, evitando así el crecimiento de microorganismos lo cual afectará los resultados. Las muestras fueron analizadas en las 24 horas de la toma de la muestra.

3.4.5 Preparación de las muestras para el análisis

Antes de realizar la apertura de las bolsas estériles utilizadas para el transporte de las muestras, las zonas aledañas donde se extrajeron las muestras fueron limpiadas y posteriormente frotadas con alcohol a 75° con el fin de prevenir toda posible contaminación.

Las muestras fueron mezcladas agitando 25 veces a lo largo de 30 cm en 10 segundos teniendo en consideración que el intervalo entre la homogenización y la remoción de la muestra no excediera los 3 minutos, según la norma de muestreo de la federación internacional de lechería (American Public Health Association, 1992).

3.4.6 Preparación del agua de dilución

Procedimiento

1. Se disolvió 19 g de peptona en 1000 ml de agua destilada.
2. Se calentó a baja temperatura para facilitar la disolución de la peptona en el agua destilada.
3. Se colocaron 9 ml de esta solución en tubos de ensayo.
4. Se pusieron las tapas hasta el final de la rosca y se retrocedieron una cuarta de vuelta.
5. Se esterilizó a 121°C / 15 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente.
6. Se almacenaron a 4°C hasta su utilización.

3.4.7 Prueba de esterilidad buffer

Para confirmar la esterilidad del agua de dilución, se incubaron por duplicado placas con 1 ml de agua de dilución. Las placas debieron salir negativas, esto es sin ningún crecimiento de microorganismos para asegurarse que el agua no contaminaría las muestras.

3.4.8 Preparación de diluciones

Para la preparación de diluciones se utilizó solución peptonada al 0.1 %, las muestras se diluyeron para obtener un número de unidades formadoras de colonia de 25 hasta 250 por placa, con el objetivo de facilitar el cómputo de bacterias.

Para la preparación de las diluciones se utilizó la técnica de vaciado en placas o "Pour Plate" (diluciones consecutivas de 1:10) (figura 4).

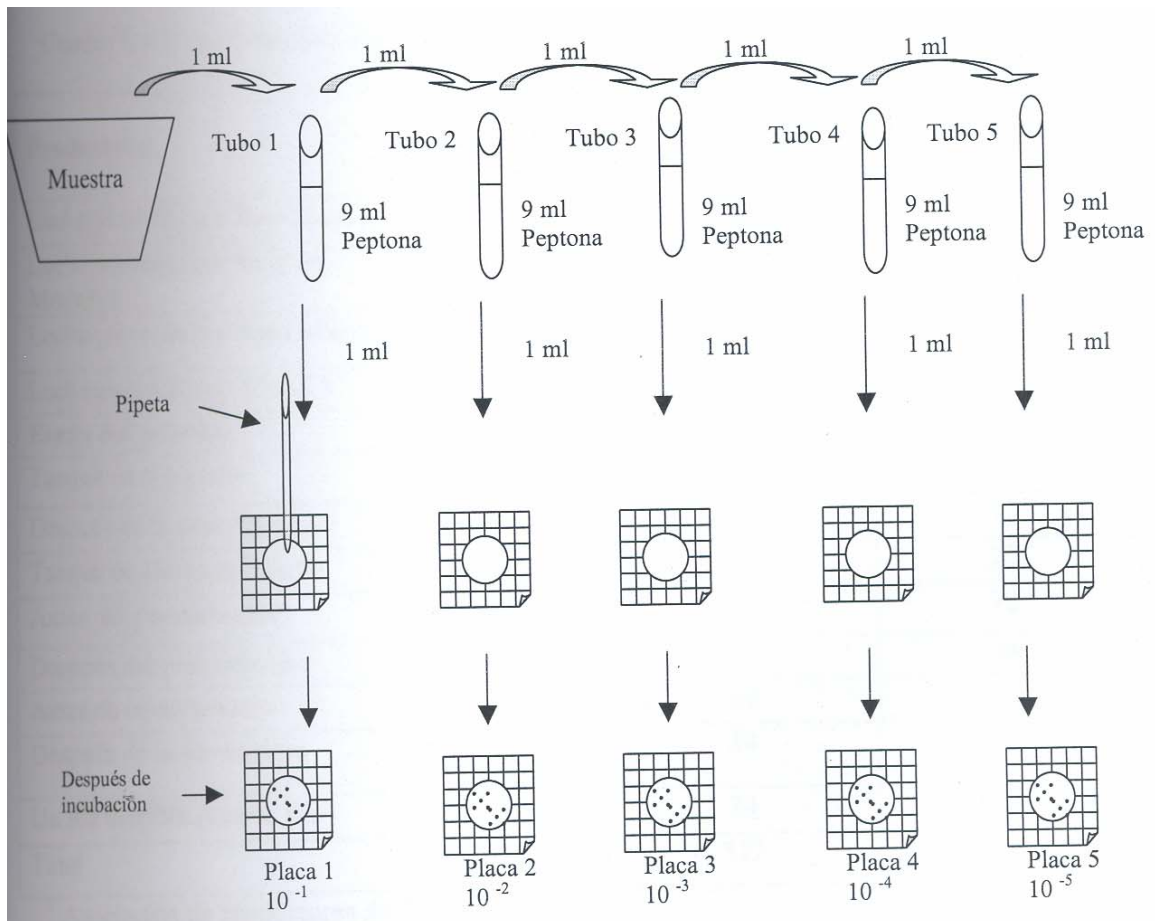


Figura 4. Técnica de vaciado en placas.

5 METODOLOGÍA MICROBIOLÓGICA UTILIZADA

5.1 Cómputo está dar en placas petrifilm TM

El sistema petrifilm TM es un método de película seca rehidratable utilizado para el recuento y detección de microorganismos de importancia en los alimentos. Las placas petrifilm T consisten en dos películas cubiertas con nutrientes y un sistema gelificable soluble en agua fría.

En este estudio se analizaron mesófilos aeróbicos, coliformes y *Escherichia coli* utilizando el procedimiento de siembra y conteo de los mimos sugerido por 3M (anexo 1). Los análisis para mesófilos aeróbicos se realizaron hasta la dilución 1: 1 0,000 debido a que en mayores diluciones no se detectó crecimiento, para el recuento de coliformes y de *Escherichia coli* se realizaron diluciones de hasta 1: 1 00, pues en diluciones mayores no se detectó crecimiento. La cantidad utilizada de placas se detalla en el cuadro 8.

Cuadro 8. Cantidad de placas utilizadas por microorganismo en el estudio.

Productores	N° de placas por microorganismo		
	Mesómos Aeróbicos	Coliformes y <i>Escherichia coli</i>	N° total de placas
Leche proveída por Zamorano	18	18	36
Leche proveída por Reinieri Montoya	18	18	36
Leche proveída por Julio Mayer	18	18	36
Leche proveída por AGAZA ₁	18	18	36
Etapas del proceso			
Tanque de recepción	36	36	72
Después de la descremadora	36	36	72
Tanque de almacenamiento	36	36	72
Antes del pasteurizador	36	36	72
Después del pasteurizador	24	24	48
Antes de la envasadora	24	24	48
Después de la envasadora	24	24	48
Un día después (cuarto frío)	24	24	48
Total	312	312	624

Asociación de productores de Zamorano.

3.5.2 Variables a medir

Las variables que se evaluaron en las etapas del proceso de elaboración de la leche fluida pasteurizada al 2% de grasa de la planta de lácteos de Zamorano son:

- Mesófilos aeróbicos (*UFC/ml*)
- Colifonnes (*UFC/ml*)
- *Escherichia coli* (*UFC/ml*)
- Temperaturas eC)
- Tiempos (minutos)

Los cómputos obtenidos fueron comparados con las normas del compendio de métodos para análisis microbiológicos en alimentos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Valores de referencia (VR) de los requisitos microbianos para leche cruda y para leche pasteurizada.

Producto	Mesófilos aeróbicos (<i>UFC/ml</i>)	Coliformes (<i>UFC/ml</i>)	<i>Escherichia coli</i> (<i>UFC/ml</i>)
Leche cruda	1 x 10 ⁶	1 X 10 ⁶	Ausencia
Leche pasteurizada	< 2 x 10 ⁴	10	Ausencia

Fuente: Compendium of Methods for Microbiological Examination of foods (1992).

La clasificación de la leche por grado de calidad higiénica se realizó con los parámetros mostrados en el cuadro 10.

Cuadro 10. Escala de clasificación por higiene microbio lógica.

Grado (Leche cruda para pasteurizar)	Cantidad de bacterias (<i>UFC/ml</i>)
Grado A	Menos de 200,000
Grado B	Menos de 1,000 000
Grado C	Superior a 1,000,000

Fuente: Patrick y Hornero (1986).

3.6 DISEÑO ESTADÍSTICO

3.6.1 Análisis a los productores y del proceso de pasteurización

El diseño utilizado fue bloques completamente al azar, donde se infirieron los resultados obtenidos de las diferentes muestras tomadas. Se calculó la media (UFC/g) para cada microorganismo, error estándar e intervalos de confianza con un 5% de significancia.

El número de muestras utilizado para el estudio fue determinado considerando los procedimientos generales de laboratorio que recomiendan cinco muestras y tomando en consideración el recurso económico; para este estudio se realizaron tres repeticiones por problemas presupuestarios.

Se realizó un análisis de varianza para determinar las medias de los microorganismos en todos los pasos del proceso de pasteurización, con el fin de determinar si existía contaminación.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con la ayuda del programa "Statistical Analysis System" (SAS) ®.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LAS MUESTRAS DE LECHE DE LOS PROVEEDORES DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE ZAMORANO

No hubo diferencia significativa en el recuento de mesófilos aeróbicos, coliformes y *Escherichia coli* (anexo 2) en la leche de los diferentes proveedores de la planta de lácteos de Zamorano, tampoco se encontró diferencia ($P < 0.05$) en las temperaturas a las que llegó la leche de los diferentes productores a la planta de lácteos de Zamorano (cuadro 11; figura 5).

El análisis de varianza mostró que el tiempo promedio para la llegada de la leche de AGAZA y Reinieri Montoya no fueron diferentes entre ellas, al igual que no existió diferencia entre la leche de Julio Mayer y la del establo de Zamorano, pero si existió una diferencia significativa entre estos dos grupos de productores (cuadros 12).



Figura 5. Proveedores de la planta de lácteos de Zamorano.

* Asociación ganadera de Zamorano

Cuadro 11. Análisis de varianza de los microorganismos analizados y de las condiciones promedio bajo las cuales se tomaron las muestras.

MUESTRA CONJUNTA	Media	Pr>F	Coefficiente de variación
MICROORGANISMO			
Mesófilos aeróbicos (UFC/ml)	3,9 x 10 ^{fi}	0.10	181.20
Coliformes totales (UFC/ml)	2.95 x 10: ^{>}	0.26	244.21
<i>E. coli</i> (UFC/ml)	6,9 x 10 ^J	0.15	273.51
CONDICIONES			
Temperatura caC)	17	0.07	25.72
Tiempo (minutos)	40	0.001	39.43

Cuadro 12. Separación de media de los tiempos de llegada de la leche de los proveedores de la planta de lácteos de Zamorano.

Productores	Media (minutos)	Separación de medias (P :5 0.05)
Leche de AGAZA	55.83	A
Leche de Reinieri Montoya	45.83	A
Leche de Zamorano	31.16	B
Leche de Julio Mayer	26.66	B

Los conteos microbiológicos promedios de la leche proveída por AGAZA mostraron estar sobre el límite máximo permitido tanto para mesófilos aeróbicos y *E. coli*, lo que indica que esta leche no fue manejada adecuadamente; ya que *E. coli* es un indicador claro de exposición a material fecal atribuido principalmente a un mal manejo de la leche antes y durante la llegada a la planta. Los coliformes totales se mantuvieron dentro de los valores de referencia (cuadro 13). Así mismo, la leche proveída por AGAZA se clasificó de acuerdo a su recuento promedio de mesófilos aeróbicos como leche grado C.

Cuadro 13. Cómputo de microorganismos y condiciones a las que se sometieron las muestras de leche proveída por AGAZA.

Muestras de leche proveniente del productor AGAZA	Valor de referencia	Media	Coefficiente de Varianza
MICROORGANISMOS			
Mesófilos aeróbicos (UFC/ml)	1 x 10 ⁶	1.12 x 10 ⁷	128.91
Coliformes totales (UFC/ml)	1 x 10 ⁶	5.19 x 10 ⁵	197.52
E. coli (UFC/ml)	Ausencia	2.5 x 10 ⁴	147.80
CONDICIONES			
Temperatura (°C)	Z 4	10.75	40.41
Tiempo (minutos)	Z 60	55.88	25.29

VR. Valores de Referencia según Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods (1992).

Los conteos promedios de la leche proveída por Julio Mayer (cuadro 14) mostraron estar sobre el límite máximo permitido tanto para mesófilos aeróbicos y coliformes, pero para el conteo de *E. coli* se obtuvieron recuentos dentro de los parámetros establecidos, lo que indica un buen manejo de la leche antes y durante la llegada a la planta de lácteos de Zamorano. Así mismo, la leche proveída por Julio Mayer se clasificó de acuerdo a su recuento promedio de mesófilos aeróbicos como leche grado C.

Cuadro 14. Cómputo de microorganismos y condiciones a las que se sometieron las muestras de leche de Julio Mayer.

Muestras de leche proveniente del productor AGAZA	Valor de referencia	Media	Coefficiente de Varianza
MICROORGANISMOS			
Mesófilos aeróbicos (UFC/ml)	1 x 10 ⁶	1.1 x 10 ⁶	75.92
Coliformes totales (UFC/ml)	1 x 10 ⁶	3.7 x 10 ⁴	165.56
E. coli (UFC/ml)	Ausencia	0	0
CONDICIONES			
Temperatura (°C)	< 4	17.12	57.29
Tiempo (minutos)	< 60	26.66	28.23

VR. Valores de Referencia según Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods (1992).

Los recuentos promedios de la leche proveída por el productor Reinieri Montoya (cuadro 15) mostraron estar sobre el límite máximo permitido tanto para mesófilos aeróbicos y *E. coli*, esto hace notar que esta leche no fue manejada adecuadamente. Al mismo tiempo el conteo de mesófilos aeróbicos se atribuye principalmente a la falta de control en las temperaturas a las que se sometió la leche antes y durante la llegada a la planta.

Finalmente la leche de Reinieri Montoya se clasificó de acuerdo a su conteo promedio de mesófilos aeróbicos como leche grado C.

Cuadro 15. Cómputo de microorganismos y condiciones a las que se sometieron las muestras de leche de Reinieri Montoya.

Muestras de leche proveniente del productor Reinieri Montoya	Valor de Referencia	Media	Coefficiente de Varianza
MICROORGANISMO			
Mesófilos aeróbicos UPC/ml)	1 x 1 0 ⁶	3.5 X 10 ⁶	128.8
Coliformes totales (UFC/ml)	1 x 1 0 ⁶	6.21 X 10 ⁵	175.21
<i>E. coli</i> (UPC/ml)	Ausencia	2.4 x 10 ³	103.77
CONDICIONES			
Temperatura (OC)	<4	19.22	26.18
Tiempo (minutos)	<60	45.83	20.01

VR: Valores de Referencia según Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods (1992).

Los recuentos microbianos promedios de la leche proveída por el establo de Zamorano (cuadro 16) mostraron estar dentro de las normas para todos los microorganismos analizados, lo que indica un mejor cuidado tanto de higiene como en las temperaturas antes y durante la llegada al área de recibo de la planta de Zamorano. Finalmente la leche del establo de Zamorano se clasificó de acuerdo a su recuento promedio de mesófilos aeróbicos como leche grado A.

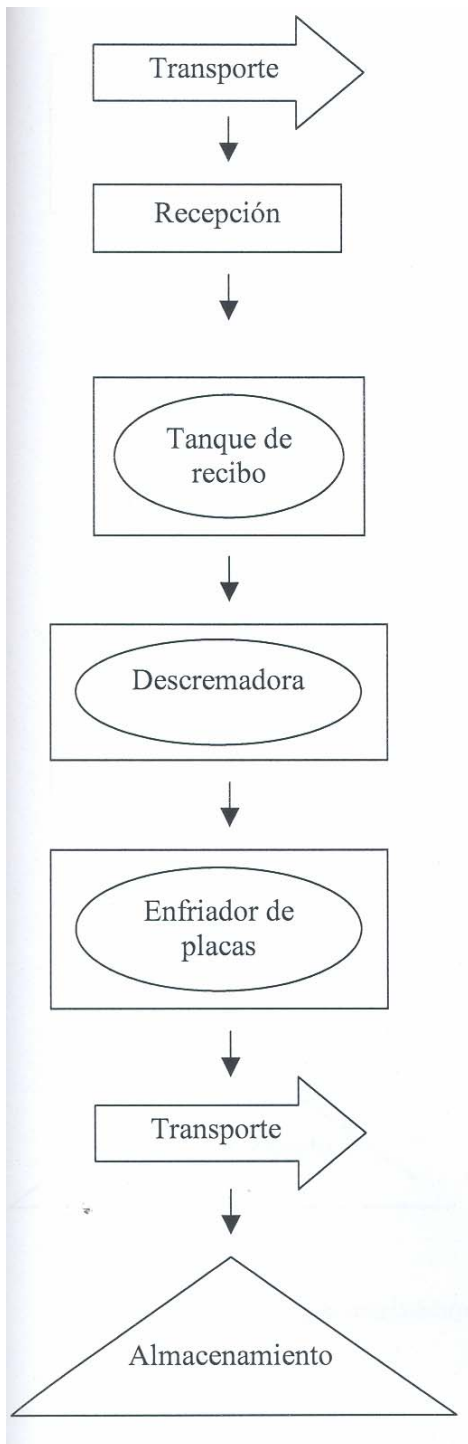
Cuadro 16. Cómputo de microorganismos y condiciones a las que se sometieron las muestras de leche del establo de Zamorano.

Muestras de leche proveniente del productor AGASA	Valor de referencia	Media	Coefficiente de Varianza
MICROORGANISMOS			
Mesófilos aeróbicos (UFC/ml)	1 x 10 ⁶	1.3 x 10 ⁵	185.33
Coliformes totales (UFC/ml)	1 x 10 ⁶	3.3 x 10 ³	159.50
<i>E. coli</i> (UFC/ml)	Ausencia	0	0
CONDICIONES			
Temperatura (°C)	< 4	21.83	38.15
Tiempo (minutos)	< 60	31.12	37.44

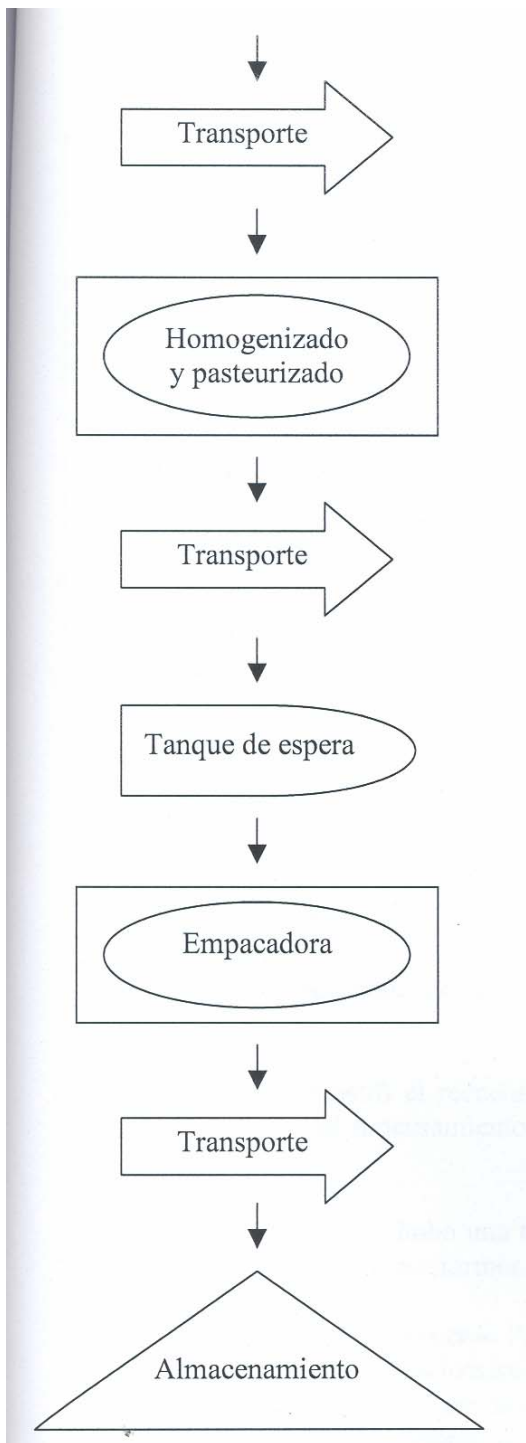
VR. Valores de Referencia según Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods (1992).

4.2 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL PROCESAMIENTO DE LA LECHE EN BOLSA AL 2% DE GRASA DE LA PLANTA DE ZAMORANO

Actualmente el proceso que se está utilizando para la pasteurización de la leche se observa a continuación (figura 6):



- Transporte de la leche de los productores hacia la planta
- Inspección de calidad de la leche que ingresa a la planta de lácteos de Zamorano (Prueba de grasa y ATECAL)
- Calentamiento a 32°C para facilitar el descremado.
- En el descremado, separación de la grasa de la leche.
- Enfriamiento a 4°C.
- Se transporta desde el enfriador de placas hasta el tanque de almacenamiento.
- La leche es almacenada a 4°C en el tanque de almacenamiento



- La leche se transporta desde el tanque de almacenamiento hasta el pasteurizador
- La leche se homogeniza y se pasteuriza a 80°C durante 15 segundos.
- La leche se transporta desde el pasteurizador a través de tubos hasta el tanque de espera antes de la empacadora.
- La leche se encuentra durante unos minutos hasta que llega el momento de empacar.
- La emvasadora empaca leche al 2% de grasa en bolsas de 1 litro.
- La leche se transporta desde la empacadora hasta el cuarto frío.
- La leche es almacenada a temperaturas que varían entre 7° y 12°C

Figura 6. Proceso de pasteurización en la planta de lácteos de Zamorano.

Cuadro 17. Conteos promedios de mesófilos aeróbicos, coliformes totales y *E. coli* en la línea de procesamiento de la leche al 2% de grasa.

Número	Etapa del proceso	Media de mesófilos aeróbicos (UFC/ml)*	Media de coliformes (UFC/ml)*	Media de <i>E. coli</i> (UFC/ml)*
Sección 1				
P1	Tanque de recibo	1.6 x 10 ⁶	6.7 x 10 ⁵	7.4 X 10 ³
P2	Después de la descremadora	8.5 x 10 ⁵	1.8 X 10 ⁵	6 X 10 ²
Sección 2				
P3	Tanque de almacenamiento	3.1 x 10 ⁶	5.6 X 10 ⁵	2.4 x 10 ⁴
P4	Antes del pasteurizador	3.7 x 10 ⁶	5 x 10 ⁵	1.7 X 10 ⁴
Sección 3				
P5	Después del pasteurizador	3.1 x 10 ²	11	0
P6	Antes de la empacadora	3.5 x 10 ²	11	0
P7	Después de la envasadora	3.9 x 10 ²	15	0
P8	Un día después en el cuarto frío	5.1 X 10 ²	30	3

P = Proceso

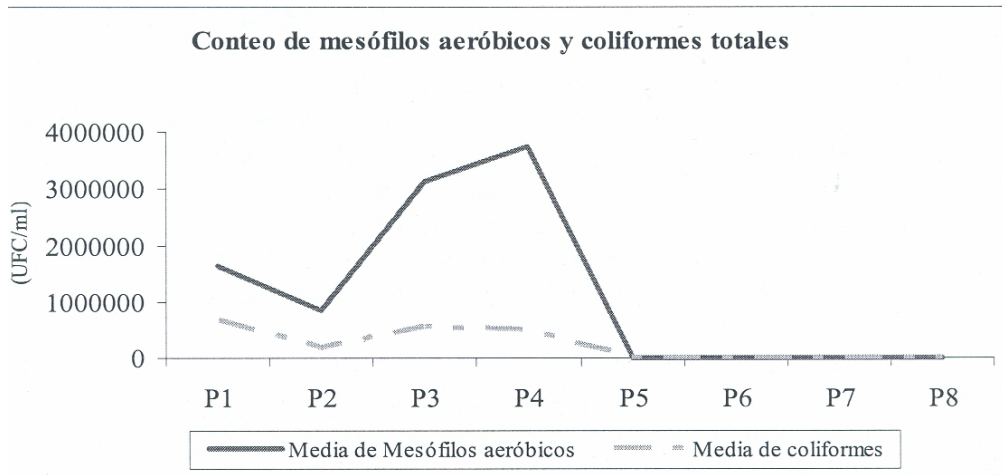
*Media de los recuentos de microorganismos (anexo 03).

La tendencia que mostró el recuento de mesófilos aeróbicos, coliformes y *Escherichia coli* en la línea del procesamiento de la leche pasteurizada de Zamorano se dividió en tres secciones:

Primero entre el P1 y P2 hubo una disminución promedio de 47.55%, 72.55% Y 91.91 % para mesófilos aeróbicos, coliformes y *E. coli*, respectivamente (cuadro 17).

En la segunda sección del proceso P2, P3 Y P4, se observaron incrementos en el recuento de los microorganismos analizados, dichos incrementos se pueden relacionar con las temperaturas a las que se expuso la leche por diferentes períodos de tiempos en promedio 25.5°C, 9.2°C y 10.6°C, respectivamente (anexo 4). Se sabe que a mayor temperatura se favorece el crecimiento de los microorganismos.

Finalmente en la sección tres se dio una reducción sustancial que es de esperar por el tratamiento térmico al que se expuso la leche (80°C durante un período de 15 segundos) (figura 7 y 8).



Punto	Etapa de proceso	Punto	Etapa de proceso
P1	Tanque de recibo	P5	Después del pasteurizador
P2	Después de la descremadora	P6	Tanque de espera
P3	Tanque de almacenamiento	P7	Después de la envasadora
P4	Antes del pasteurizador	P8	Un día después

Figura 7. Tendencia de mesófilos aeróbicos y coliformes totales en la línea de proceso de la leche pasteurizada de Zamorano.

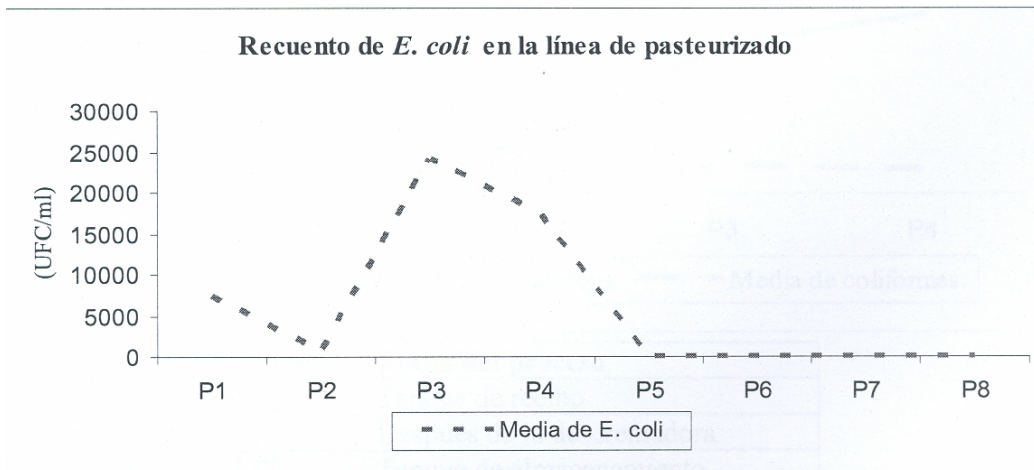
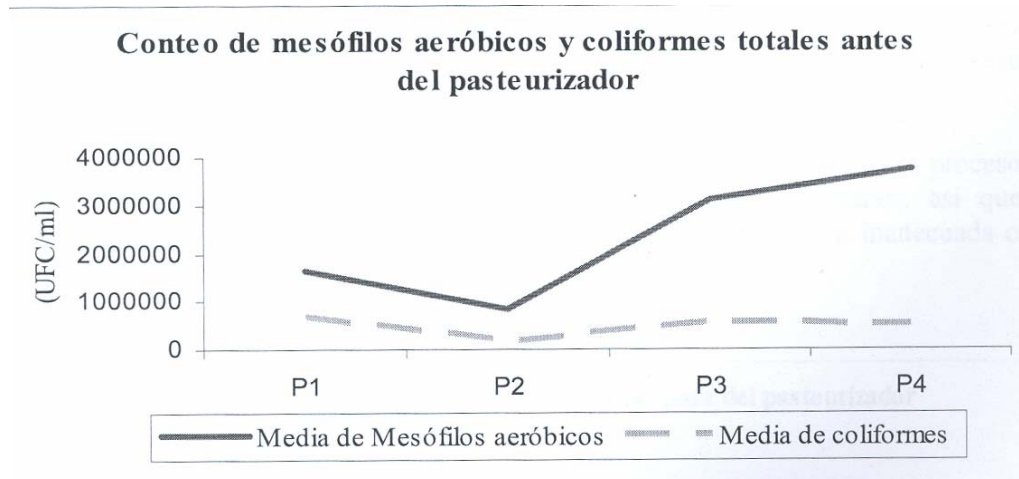


Figura 8. Tendencia de *E. coli* en la línea de proceso de la leche pasteurizada de Zamorano.

4.2.1 Antes del pasteurizador

En la figura 9 y 10 se puede observar claramente el incremento en el recuento para mesófilos aeróbicos. Observándose el efecto del tiempo y las temperaturas a las cuales la leche fue sometida durante la línea de procesamiento sobre la carga microbiana. Para coliformes y *E. coli* se observó un incremento hasta la llegada de la leche al P3 sin embargo, del P3 al P4 se obtuvo una disminución de los recuentos lo que se puede atribuir al hipoclorito de sodio utilizado para la desinfección del equipo o a un mal manejo en la siembra de los microorganismos en el laboratorio esto para coliformes y *E. coli*.

Las disminuciones en los conteos del P 1 al P2, tanque de recibo y después de la descremadora, se pueden atribuir al principio que utiliza la descremadora para separar la crema y la leche descremada, el cual se basa en diferencias de densidades y fuerzas centrífugas, al igual que el lactofugado y clarificado. El descremado tuvo una función diluir al proceso de lactofugación el cual se utiliza para la separación de los microorganismos y la leche. Adicionalmente, se sabe que bacterias, especialmente esporas resistentes al calor, tienen una densidad significativamente más alta que la leche por lo que se da un recuento menor por cierta cantidad de microorganismos que se transfirieron a la crema (ALFA-LA VAL, 1996).



Punto	Etapas de proceso
P1	Tanque de recibo
P2	Después de la descremadora
P3	Tanque de almacenamiento
P4	Antes del pasteurizador

Figura 9. Tendencia de mesófilos aeróbicos y coliformes totales en la línea de proceso de la leche pasteurizada de Zamorano antes del pasteurizador.

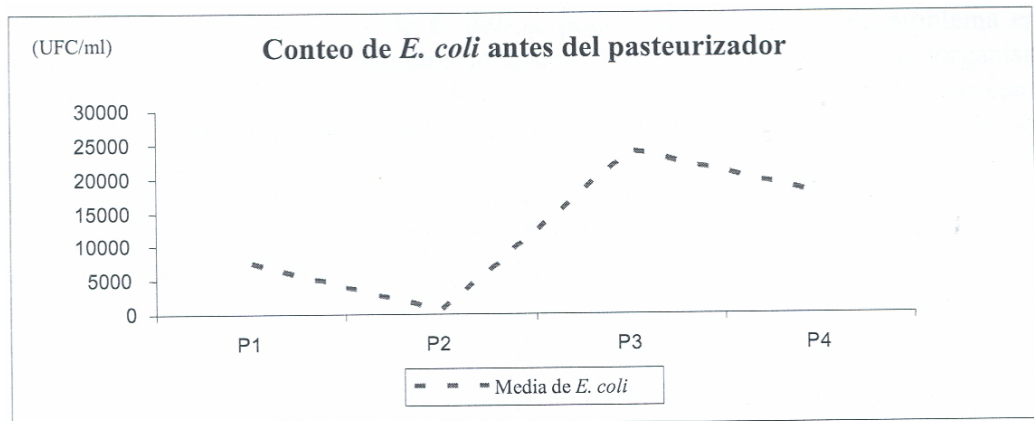


Figura 10. Tendencia de *E. coli* en la línea de proceso de la leche pasteurizada de Zamorano antes del pasteurizador.

4.2.2 Después del pasteurizador

El recuento de mesófilos aeróbicos incrementó en todos los procesos subsiguientes a la pasteurización (figura 11). Dicho incremento se considera normal pues la pasteurización es un proceso que elimina la mayoría de los microorganismos entre un 90-99% pero no su totalidad por lo que una carga microbio lógica a cierta temperatura inicia un proceso de reproducción.

En el recuento de coliformes el incremento no fue tan pronunciado pero el proceso de pasteurización tuvo que eliminar todos los microorganismos patógenos, así que la presencia de coliformes es un indicador de una posible pasteurización inadecuada o un mal manejo post pasteurización.

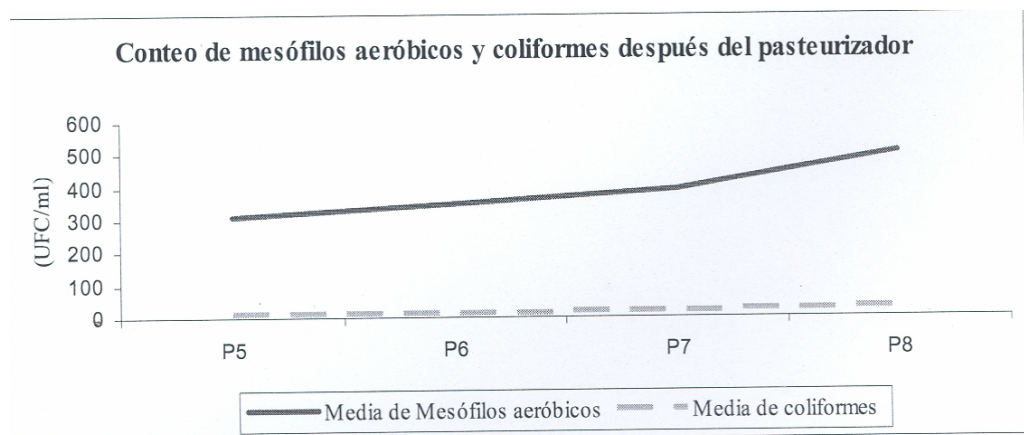


Figura 11. Tendencia de mesófilos aeróbicos y coliformes totales en la línea de proceso de la leche pasteurizada de Zamorano después del pasteurizador.

En los conteos microbiológicos de *E. coli* se pudo observar un posible problema en el pasteurizador el cual tuvo que asegurar la destrucción total de todos los microorganismos patógenos, pues si bien es cierto que los recuentos de *E. coli* después de la empacadora fueron de cero, esto se puede atribuir a que las bacterias se encontraran heridas (paredes celulares lesionadas) y que después de un día en el cuarto frío con un medio rico en nutrientes como lo es la leche se recuperaran, iniciando así su proliferación (figura 12). De igual manera este incremento se puede atribuir a un mal manejo post pasteurización de leche principalmente en la envasadora de la leche en bolsa coextruida en presentación un litro.

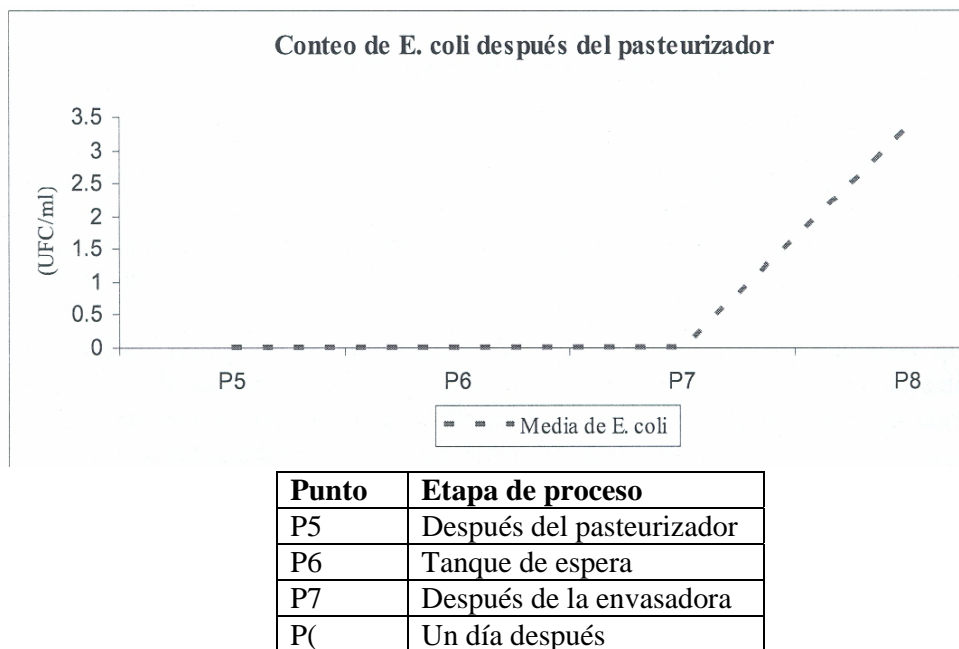


Figura 12. Tendencia de *E. coli* en la línea de proceso de la leche pasteurizada de Zamorano después del pasteurizador.

5. CONCLUSIONES

La leche de los proveedores externos de Zamorano se clasificó como leche grado C y la leche obtenida del establo de Zamorano cumplió con todos los requisitos clasificándose como leche grado A.

La combinación de materia prima de calidad y de mala calidad conlleva la obtención de un producto final de mala calidad.

La disminución de la carga microbiana después de la descremadora se atribuye a que la descremadora funciona bajo los principios de diferencia de densidades y fuerzas centrífugas, proceso similar a la bactofugación donde se separan los microorganismos por los mismos principios.

El transporte, recepción y almacenamiento de la leche son operaciones que deben realizarse con la máxima higiene posible para conseguir una leche cruda de calidad. Así mismo es necesario que llegue a la planta procesadora en el tiempo más corto y a la temperatura de refrigeración más baja posible (máximo a 4°C).

El control sanitario del personal y estudiantado que opera en la línea de procesamiento es de gran importancia para evitar posibles contaminaciones en el producto terminado

6. RECOMENDACIONES

La leche proveída por Zamorano y Julio Mayer debe llegar en un tiempo de 30 minutos a la planta de lácteos de Zamorano así mismo, para la leche proveída por AGAZA y Reinieri Montoya debe llegar en un tiempo de 45 minutos con el objetivo de evitar proliferación de los microorganismos.

Brindar capacitaciones a los productores con el fin de evitar un manejo inadecuado antes y durante la llegada de la leche a la planta de lácteos de Zamorano.

Implementar un control estricto de las temperaturas y de los tiempos de exposición a tales temperaturas durante el proceso, con el fin de evitar el crecimiento de microorganismos.

Dar capacitación a los trabajadores (personal permanente como estudiantado) en la temática de salud e higiene industrial, así como la implementación de un sistema de monitoreo continuo de inocuidad en la planta.

Realizar análisis en el ambiente, tubería por la que se transporta la leche, máquina empacadora y finalmente en el agua utilizada para la desinfección del equipo.

Reemplazar o readaptar la máquina empacadora de Zamorano pues en esta, la película de polietileno de baja densidad (LDPE) de la bolsa queda en contacto directo con el medio ambiente.

Realizar un estudio en las etapas post-pasteurización con 10 que se determine con precisión cual es la causa de la contaminación para controlar este problema 10 más rápido posible.

7. BIBLIOGRAFÍA

Alais, C. 1985. Ciencia de la leche. Trad. Antonio Lacasa. 4 ed. Barcelona, España. Editorial Reverté. 873 p.

ALFA-LAVAL. 1996. DairyHandbook. 350 p.

American Public Health Association. 1992. Standard Methods for Examination of Dairy Products. 16th edition. Washington D. C. 156 p.

Brain; Robertson. 1993. Technology of Vitamins in Food (en línea). Consultado el 14 de septiembre del 2003. Disponible en <http://www.sdp.gob.hn/Analisis/oc2000.pdf>

CESCCO, 1997. Manual de Microbiología de Alimentos 1, Fundamento Teórico. 256p.

Charley, H. 1987. Tecnología de alimentos; procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos. México D. F., México. Editorial Limusa. 767 p.

Cheftel, J. 1983. Introducción a la bioquímica y tecnología de alimentos. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 404 p.

Códex Alimentarius. 2002. Requisitos Generales, Higiene de los Alimentos. Roma, Italia. Editorial FAO. 337 p.

EPA. 2003. Estándares del reglamento nacional primario de agua potable (en línea). Estados Unidos. Consultado el 20 de agosto del 2003. Disponible en <http://www.epa.gov/safewater/agua/estandares.html>.

FAO.2002. Transformación, conservación y transformación de alimentos (en línea). Disponible en <http://www.fao.org/docrep/U8750T/u8750TOg.htm>

Patrick F.; Hornero G. 1986. Introducción a la lactología. México. Editorial Limusa. 323 p.

Hernández R.; Sastre G. 1999. Tratado de Nutrición. Madrid, España (en línea). Consultado el 20 de julio del 2003. Disponible en http://www.unizar.es/med_naturista/Lacteos.pdf