UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE AGUAS

CALIDAD MICROBIOLOGICA DE LA LECHE PASTEURIZADA EXPENDIDA EN UN SUPERMERCADO DEL MUNICIPIO LIBERTADOR DEL ESTADO MÉRIDA

www.bdigital.ula.ve

Autor: Salah Aziz Tarek
Tutora: MSc. Gutiérrez María Gabriela

Mérida, octubre de 2017

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE AGUAS

CALIDAD MICROBIOLOGICA DE LA LECHE PASTEURIZADA EXPENDIDA EN UN SUPERMERCADO DEL MUNICIPIO LIBERTADOR DEL ESTADO MÉRIDA

www.bdigital.ula.ve

Trabajo final de grado para optar al título de Licenciado en Bioanalisis

Autor: Salah Aziz Tarek
Tutora: MSc. Gutiérrez María Gabriela

Mérida, octubre de 2017

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso por ser mi guía, por darme la salud necesaria para seguir con el camino de la investigación y así lograr las metas.

A mis padres por ser pilar, por inculcarme el espíritu de lucha para nunca dejar atrás nuestros sueños.

A mis hermanos por compartir sus consejos, experiencia y siempre estar a mi lado.

A todos aquellos que contribuyeron en la realización de esta tesis.

"Y así después de esperar tanto, un día como cualquier otro decidí triunfar...
decidí no esperar las oportunidades sino yo mismo buscarlas,
decidí ver cada problema como la oportunidad de encontrar una solución.

Decidí ver cada desierto como la oportunidad de encontrar un oasis,
decidí ver cada noche como un misterio por resolver,
decidí ver cada día como una nueva oportunidad de ser feliz.

www.bdigital.ula.ve

Aquel día descubrí que mi único rival no eran más que mis propias debilidades,
y que en éstas está la única y mejor forma de superarnos,
aquel día dejé de temer perder y empecé a temer no ganar,
descubrí que no era yo el mejor y que quizás nunca lo fui,
me dejó de importar quien ganara o perdiera,
ahora me importa simplemente saberme mejor que ayer.
Aprendí que lo difícil no es llegar a la cima, sino jamás dejar de subir.

Aprendí que el mejor triunfo que puedo tener,
es el derecho de llamar a alguien "amigo".
Descubrí que el amor es más que un simple estado de enamoramiento,
"el amor es una filosofía de vida".
Aquel día deje de ser un reflejo de mis escasos triunfos pasados
y empecé a ser mi propia tenue luz de este presente;

Aprendí que de nada sirve ser luz si no vas a iluminar el camino de los demás.
Aquel día decidí cambiar tantas cosas...
Aquel día aprendí que los sueños son solamente para hacerse realidad.

Desde aquel día ya no duermo para descansar...
… ahora simplemente duermo para soñar."

Walt Disney

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

AGRADECIMIENTO

Lograr una meta nos enseña que todo esfuerzo tiene su recompensa y que el éxito no se mide por los logros que tengamos, sino por lo que hemos tenido que superar para llegar hasta donde hemos llegado. Este logro se lo dedico:

A Dios por haberme permitido llegar hasta aquí, por darme vida, salud, paciencia y dedicación para lograr mis objetivos.

A la ilustre Universidad de Los Andes por abrirme las puertas y enseñarme el espíritu de lucha y entrega para mi preparación y desarrollo.

A mis padres Mahn y Feriel por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, valores, por la motivación que me ha permitido luchar. Son mis ejemplos a seguir.

A mis hermanos Malek y Fabiana por siempre estar a mi lado, siempre están en todo momento brindándome su apoyo.

www.bdigital.ula.ve

A mi esposa Rima por su amor y paciencia, siempre me apoyas en mi preparación profesional, por su ayuda para lograr culminar este trabajo, Te amo

A la profesora María Gabriela Gutiérrez por su ayuda y por darme la oportunidad de realizar esta tesis.

Al profesor Félix Andueza y la profesora Judith Araque por el apoyo ofrecido en este trabajo.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

INDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
INDICE GENERAL	v
INDICE DE TABLAS	vi
INDICE DE GRAFICOS	vii
INDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	vii
INTRODUCCION	1
CAPITULO I EL PROBLEMA	5
Planteamiento del problema	5
Justificación e Importancia de la Investigación	11
Objetivos de la Investigación	13
Alcances y Limitaciones de la Investigación	14
CAPITULO II MARCO TEORICO	15
Trabajos previos	15
Antecedentes Históricos o Epistemológicos	20
Bases teóricas	22
Definición de leche	22
Historia del consumo de la leche	23
Características de leche de vaca	24
Formación de la leche en el animal	26
Características generales	27
Presentación de la leche en el mercado	30
Características microbiológicas de la leche	31
Factores que influyen sobre el contenido microbiano de los alimentos	34
Enfermedades producidas por el consumo de leche cruda	35
Pasteurización	36
Diferencias entre leche cruda y pasteurizada	38
Consideraciones sobre leche pasteurizada	38
Limites microbiológicos de leche cruda y pasteurizada	39

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Procesos de pasteurización 40
Control de calidad 42
Calidad y evaluación de la leche cruda 43
Calidad y evaluación de la leche pasteurizada 44
Definición Operacional de Términos 46
Operacionalizacion del Evento de Estudio 47
Hipótesis 48
CAPITULO III MARCO METODOLOGICO 49
Tipo de investigación 49
Diseño de la investigación 49
Población y Muestra 50
Población 50
Selección del Tamaño de la Muestra 50
Procedimiento de la Investigación 51
Medios de cultivo 51
Metodología 53
Tratamiento de la muestra 53
Cuantificación de bacterias aerobias mesófilas 53
Cuantificación de coliformes 54
Determinación presuntiva de *Staphylococcus aureus* 54
Detección de *Pseudomonas aeruginosa* 55
Diseño de Análisis 55
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN 57
CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 69
CONCLUSIONES 69
RECOMENDACIONES 71
BIBLIOHEMEROGRAFIA 72
ANEXOS 79

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

INDICE DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Análisis químico proximal de la leche de diversos mamíferos	29
2	Requisitos microbiológicos para leche pasteurizada	40
3	Operación del Evento de Estudio de calidad microbiológica de leche pasteurizada expendida en un supermercado del estado Mérida	47
4	Identificación de las muestras seleccionadas aleatoriamente para el estudio	51
5	Materiales utilizados	53
6	Cuantificación del número de bacterias aerobias mesofilas en las muestras de leche pasteurizada analizadas	58
7	Cuantificación del número de coliformes totales en muestras de leche pasteurizada analizadas.	61
8	Cuantificación del número de coliformes fecales en muestras de leche pasteurizada analizadas.	63
9	Resumen de las pruebas bioquímicas realizadas a las colonias aisladas de la muestra 1	68

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Principales razas de vacas lecheras	25
2	Formación de la leche en la ubre de la vaca	26
3	Diferentes tipos de leche disponibles en el mercado	31
4	Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* en Agar Cetrimida	33
5	Crecimiento de colibacterias en medio de cultivo	34
6	Esquema del equipo de Pasteurización	37
7	Ubicación geográfica del área de estudio	50
8	Diseño experimental	56

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

INDICE DE GRAFICAS

Grafico		Pag.
1	Distribución de crecimiento bacteriano en los cinco tipos de leche pasteurizada analizadas	66

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
.FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE AGUAS

CALIDAD MICROBIOLOGICA DE LA LECHE PASTEURIZADA EXPENDIDA EN UN SUPERMERCADO DEL MUNICIPIO LIBERTADOR DEL ESTADO MÉRIDA

Autor: Salah Aziz Tarek
Tutora: MSc. Gutiérrez María Gabriela

RESUMEN

La leche pasteurizada es la leche cruda homogeneizada o no, que ha sido sometida a un tratamiento térmico que garantice la destrucción de todos los microorganismos patógenos y la mayoría de los microorganismos no patogenos. La pasteurización inadecuada o la contaminación de la leche posterior a este tratamiento puede alterar la calidad microbiológica del producto y hacerlo potencialmente riesgoso para los consumidores. El presente trabajo tuvo como objetivo analizar la calidad microbiológica de diferentes clases de leche pasteurizada expendidas en un supermercado del municipio Libertador del Estado Mérida. Para efectuarlo se recolectaron cinco muestras: dos de leche descremada, dos de leche completa y una de leche descremada saborizada. Para determinar los indicadores de calidad sanitaria de las muestras se utilizaron placas de petrifilm para bacterias aerobias mesófilas, placas de agar eosina azul de metileno para bacterias coliformes totales y fecales, agar Baird Parker para la detección presuntiva de *Staphylococcus aureus* y agar cetrimida para *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados evidenciaron la presencia de bacterias aerobias mesófilas entre 5x10 hasta ≥ 6,5 x 10^3 UFC/mL, coliformes totales igual a 26 UFC/mL y coliformes fecales 10 UFC/mL en leche descremada. No se obtuvo crecimiento alguno en las determinaciones de S. *aureus* presuntivo y P. *aeruginosa*. Se aislaron ocho cepas en agar BHI, cuya identificación mediante pruebas bioquímicas resultó indicativa del género *Streptococcus*. Se concluye que la calidad sanitaria de la mayoría de las clases de leche pasteurizada analizadas cumple con los requisitos microbiológicos establecidos por la norma venezolana COVENIN 793:1994 para Leche Pasteurizada, a excepción de la muestra que presentó crecimiento de coliformes fecales.

Palabras clave: Calidad microbiológica, Indicadores de calidad sanitaria, Leche completa, Leche descremada, Leche saborizada, Pasteurización, Venezuela.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

INTRODUCCIÓN

La leche es un líquido nutritivo de color blanquecino opaco producido por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos. La principal función de la leche es la de nutrir a las crías hasta que son capaces de digerir alimentos. Además, cumple las funciones de proteger su tracto gastrointestinal contra patógenos, toxinas e inflamación, y participa en los procesos de obtención de energía, en especial el metabolismo de la glucosa. La leche de algunos de los mamíferos domésticos (de vaca, principalmente, pero también de búfala, oveja, cabra, entre otros) forma parte de la alimentación humana corriente en algunas culturas, en las que los adultos son capaces de asimilar la lactosa (Mena, 2010).

La leche es la base de numerosos productos lácteos, como la mantequilla, el queso, la crema de leche y el yogurt, entre otros. Es muy frecuente el empleo de derivados de la leche en las industrias agroalimentarias, químicas y farmacéuticas, como son la leche condensada, la leche en polvo, la caseína o la lactosa. La leche de vaca se utiliza también en la alimentación animal. Está compuesta principalmente por agua, sales, minerales, glúcidos como la lactosa, materia grasa y proteínas (Mena, 2010).

www.bdigital.ula.ve

Si bien son incuestionables las cualidades nutritivas de la leche y los productos lácteos, no es menos cierto que, desde su síntesis en la glándula mamaria hasta su llegada al consumidor, estas cualidades están sometidas a un gran número de riesgos que hacen peligrar la calidad original. Estos riesgos son: la contaminación y multiplicación de microorganismos, contaminación con gérmenes patógenos (como *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Staphylococcus aureus),* alteración físico-química de sus componentes, absorción de olores extraños, generación de malos sabores y contaminación con sustancias químicas tales como pesticidas, antibióticos, metales, detergentes,

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

desinfectantes, partículas de suciedad, etc. Todos éstos, ya sea en forma aislada o en conjunto, alteran la calidad higiénica y nutricional del producto y, consecuentemente, podrían afectar la salud pública y economía de cualquier país (Magariños, 2000).

En este sentido, se emplea con frecuencia el proceso de pasteurización a la leche y derivados lácteos, cuyo principal objetivo es la destrucción de los microorganismos que puedan estar presentes en la leche cruda, evitando así cualquier riesgo de transmisión de enfermedades al consumidor y prolongando la vida útil del producto.

De manera específica, la pasteurización es un proceso que combina tiempo y temperatura para asegurar la destrucción de todas las bacterias patógenas que pueden estar presentes en el producto crudo con el objetivo de mejorar su capacidad de conservación. Generalmente, consiste en mantener la leche a 63°C por 30 minutos, lo que se conoce como pasteurización LTLT (del inglés “Low Temperatura Long Time”), o pasteurización a baja temperatura por largo tiempo, en el que la leche se calienta por medio de vapor o agua caliente que circula entre las paredes de un intercambiador de calor y posteriormente se enfría a una temperatura menor a 10°C por medio de una corriente de agua fría.

www.bdigital.ula.ve

Por otra parte, el proceso de pasteurización más usado es el HTST (del inglés “High Temperatura Short Time”) o pasteurización a alta temperatura por corto tiempo, en el cual el producto se mantiene a 75°C por 20 segundos utilizando un pasteurizador. Este proceso influye directamente en la vida de anaquel, que en este caso suele ser más prolongado ya que destruye todos los gérmenes patógenos y las esporas, dándole un periodo de vida a la leche de hasta noventa días (Villacres, 1997).

Dependiendo del tipo de pasteurización utilizada, la leche se denomina leche pasteurizada o leche ultrapasteurizada, ambas clases de leche se puede encontrar a su vez en presentaciones como leche entera o leche descremada. La leche entera, es un alimento rico en proteínas,

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

minerales, carbohidratos y grasas que realizan un importante aporte nutritivo, cuyo contenido suele ser alrededor de 2.5 g por cada 100 g de leche.

Por otra parte, la leche descremada es una variedad de leche a la que se le ha reducido porcentualmente su contenido de grasas cerca de 1 g por cada 100 g de leche, por lo cual aunque conserva los valores nutritivos de la leche entera, aporta un contenido graso mucho menor. Su sabor y consistencia puede parecer ligeramente insípido a pesar de que su contenido de agua es igual al de la leche entera días (Ladueño, 1997).

Además de esto, la leche suele clasificarse de manera general en cuatro grupos: 1. Leche modificada, es aquella a la que se le ha cambiado el contenido de grasa, proteínas o azúcares o se le ha adicionado vitaminas y minerales 2. Leche no modificada, es la leche entera de vaca pasteurizada 3. Leche saborizada, es leche entera a la que se ha adicionado saborizantes y azúcar 4. Fórmulas lácteas y bebidas lácteas, son aquellas que se preparan a partir de leche en polvo a la que se le extrajo la grasa y se le adiciona grasa vegetal, suero de leche y agua (Ladueño, 1997).

www.bdigital.ula.ve

Por otra parte, debido al alto consumo de productos lácteos y derivados de la leche es necesario cumplir con un estricto control de calidad, para eliminar cualquier agente contaminante tales como bacterias, hongos, materiales inertes, restos de medicamentos etc. Esto es posible cumpliendo un adecuado proceso de pasteurización de la leche seguido por un efectivo control de calidad de la misma.

Cabe destacar que cuando el proceso de pasteurización no es aplicado correctamente o se pierde la cadena de frio de la leche (refrigeración) durante su transporte o almacenamiento y la leche es distribuida contaminada, puede producir enfermedades, intolerancias, infecciones así como también intoxicaciones a quienes la consumen, especialmente en la población infantil, ancianos e inmunosuprimidos.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Por todo lo expuesto anteriormente, el presente trabajo de investigación tuvo como principal finalidad determinar la calidad microbiológica de diferentes muestras de leche pasteurizada expendida en un supermercado, municipio Libertador del estado Mérida.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

Según la norma venezolana COVENIN 903, se entiende por leche cruda o leche sin otro calificativo al producto integro, normal y fresco obtenido del ordeño higiénico e ininterrumpido de vacas sanas (Comisión Venezolana de Normas Industriales, 1993).

Asimismo en la norma COVENIN 798 explica que la leche pasteurizada es la leche cruda homogeneizada o no, que ha sido sometida a un proceso térmico aprobado por la autoridad competente, en condiciones tales que garanticen la destrucción de los microorganismos patógenos y la casi totalidad de los microorganismo banales que pudiesen estar presentes sin que se alteren sensiblemente las características organolépticas y físicoquímicas de la misma (Comisión Venezolana de Normas Industriales, 1994).

www.bdigital.ula.ve

La leche es un producto nutricional fundamental para la supervivencia de todos los mamíferos, incluidos los seres humanos. Se trata de una suspensión líquida con un contenido equilibrado de macronutrientes (hidratos de carbono, proteínas y grasas), distintos minerales, vitaminas y electrolitos. La composición y valor nutritivo de la leche, rica en proteínas de alta calidad, calcio, vitaminas liposolubles A y D, y vitaminas del complejo B, la convierten en un alimento especialmente importante en periodos de crecimiento y desarrollo (infancia y adolescencia) y en situaciones fisiológicas concretas (embarazo y lactancia). Su consumo también contribuye al mantenimiento adecuado de la masa ósea en el adulto y en el anciano (Fuentes, 2005).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Por su composición la leche es considerada como uno de los alimentos más completos que existe. Es destacable su alto contenido en calcio, y sigue siendo a lo largo de toda la vida un alimento imprescindible para el mantenimiento de los huesos. La leche mayormente consumida en el mundo es la leche de vaca y de la misma se pueden realizar diferentes productos lácteos como lo son: el yogurt, el queso, la nata, la mantequilla entre otros. Cabe destacar que existen diferentes tipos de leche como la leche entera, leche descremada, leche saborizada, leche deshidratada, leche condensada, leche evaporada, entre otras (Ladueño, 1997).

La leche, debido a su aporte nutricional es uno de los alimentos de mayor importancia en muchos países del mundo. No obstante, este alimento, cuando no es manejado de manera adecuada, es un excelente vehículo para la transmisión de enfermedades al hombre, tanto las de carácter zoonótico como las ocasionadas por patógenos que se producen por la contaminación de los productos durante los procesos de obtención y transformación de la leche (Merly, 2009). Por este motivo es importante que la misma sea analizada antes de llegar al consumidor, ya que así como es beneficiosa puede ser igualmente perjudicial si no es sometida a un procesamiento y control de calidad adecuado.

www.bdigital.ula.ve

Las condiciones de higiene y sanidad en las explotaciones lecheras tienen un efecto importante en la calidad microbiológica de la leche, cuanto mayores sean los cuidados aplicados a la obtención higiénica de este producto y a la sanidad de los animales productores de leche, menores serán los contenidos microbianos en la misma. Asimismo, corrales libres de estiércol y lodo, salas de ordeño limpias, equipo de ordeño funcionando de manera adecuada y una rutina de ordeño correcta, resultarán en una baja incidencia de mastitis, lo cual se manifestará con bajos recuentos de células somáticas (Merly, 2009).

La producción de leche de calidad higiénica adecuada, como todo sistema productivo, resulta sumamente complejo, más que otros, ya que el producto a manejar es extremadamente delicado, afectándose mucho

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

por la manipulación. En la producción de la leche, interactúan innumerables factores interrelacionados entre sí. Entre ellos se encuentran los factores zootécnicos, asociados al manejo, alimentación y potencial genético de los animales así como factores relacionados a la obtención y almacenamiento de la leche recién ordeñada. La obtención y almacenamiento de la leche cruda, por otro lado, se relaciona directamente con la calidad microbiológica del producto, determinando inclusive su tiempo de vida útil (Reyes y col., 2010).

Vázquez, Perez, Hurtado y Alcantara. (2014), realizaron una revisión sistemática de estudios sobre evaluación microbiológica de la leche, publicados en las bases de datos de MEDLINE/Pub-Med, SciELO y EBSCO, de 2003 a 2013. En esta revisión sistemática se analizaron once estudios de calidad microbiológica de la leche. En la mayoría de los estudios se identificaron microorganismos patógenos, coliformes totales, *Salmonella* spp., bacterias mesófilas, bacterias termorresistentes, hongos y levaduras. En un estudio realizado en Etiopía se identificaron bacterias como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, mientras que en un estudio realizado en Estados Unidos se identificaron *Micobacterium spp., Paenibacillus spp. y Bacillus spp.* El 73% de los estudios analizados no cumplieron con los límites establecidos por la norma de su respectivo país.

www.bdigital.ula.ve

Fuentes, Ruiz y Sanchez. (2013), analizaron el proceso de producción de leche de vaca de un sistema familiar con manejo orgánico que sirve de materia prima para lácteos, con la finalidad de mejorar la eficiencia de su producción a través de un análisis de inocuidad y calidad con un estudio de trazabilidad microbiológico. Se evaluó la calidad e inocuidad de la leche cruda, pasteurizada y sus derivados, identificando los riesgos microbiológicos de la misma desde su obtención hasta su transformación, implementando un sistema de trazabilidad. La metodología consistió en recolectar muestras de leche de vacas Jersey *(Bos taurus)* en dos etapas: en la primera, en el máximo nivel de producción; en la segunda, los animales se encontraban próximos al

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

secado. Se realizó un conteo de bacterias mesofílicas y coliformes en leche y lácteos, obteniéndose contajes por encima del límite permitido por la norma mexicana NOM-243-SSA1-2010. En el análisis bacteriológico general de leche se identificó a *Staphylococcus aureus y Escherichia coli.* Los autores resaltaron la necesidad de encaminar al personal que labora en la unidad de lácteos en buenas prácticas de higiene y manufactura para disminuir las cargas microbiológicas, cumplir con las normas establecidas y asegurar la salud del consumidor.

Según Valbuena, Castro, Lima y Acosta. (2009) el principal producto lácteo fluido que se consume en Venezuela es la leche pasteurizada, esta es susceptible a la contaminación bacteriana por diversas fuentes, antes y despues a la pasteurización. Con el fin de evaluar las condiciones microbiológicas de cinco marcas de elevado consumo (A, B, C, D, E), se analizaron 216 muestras obtenidas en panaderías y supermercados distribuidas en la ciudad de Maracaibo, a las cuales se les practicaron las pruebas de recuento de aeróbios mesófilos (RAM), coliformes, microorganismos termodúricos y psicrótrofos. Entre los resultados obtenidos se encontró un RAM promedio de 4,3 x 10^4 UFC/mL, los cuales estuvieron presentes en el 14,35% de las muestras, superando el límite establecido por la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Los coliformes totales promediaron 2,8 x 10^2 UFC/mL, con 50,93% de las muestras por encima de 1,0 x 10^2 UFC/mL. Los microorganismos termodúricos y psicrótrofos arrojaron promedios de 5,9 x 10^3 UFC/mL y 8,7 x 10^2 UFC/mL respectivamente. Se obtuvo una elevada carga bacteriana, más del 99% de las muestras resultaron negativas a la prueba de peroxidasa, lo que sugiere un marcado sobrecalentamiento en el procesamiento térmico, por lo cual se concluye que las muestras analizadas fueron con mucha frecuencia, contaminadas después de la pasteurización, probablemente por fallas en la aplicación de las buenas prácticas de manufactura.

Luigi, Rojas y Valbuena. (2013) evaluaron la calidad sanitaria de leche cruda y pasteurizada proveniente de diversas zonas del estado

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Carabobo, Venezuela. Siguiendo la metodología descrita por la APHA (American Public Health Association) y COVENIN, fueron analizadas cien muestras de leche pasteurizada y cuarenta de leche cruda. En cuanto a la leche cruda, el 72,5% de las muestras presentaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas por encima de los límites establecidos, contrario a los resultados del TRAM, según los cuales sólo 30% de las muestras incumplían la norma. Los resultados demostraron que es necesario que las autoridades de salud del país implementen medidas más estrictas en el control sanitario de la leche, desde las fincas de ordeño hasta la industria láctea regional, ya que la elevada microbiota en leche cruda y altos recuentos de coliformes totales y termotolerantes en leche pasteurizada, además de disminuir la vida útil de la leche, podrían representar un riesgo potencial a la salud del consumidor.

En leche pasteurizada se efectuaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales, termotolerantes (fecales), mohos y levaduras, en leche cruda sólo se realizaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas y la prueba del tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM). Se investigó también la presencia de *Salmonella* spp. Los resultados de la leche pasteurizada, indicaron que el 92% de las muestras cumplieron con los límites para bacterias aerobias mesófilas establecidos en la norma COVENIN. En relación a coliformes totales, 45% de las muestras se encontraron por encima del límite permitido en la Norma y 72% de las mismas excedían el límite de aceptación para coliformes termotolerantes. No se detectó presencia de *Salmonella* spp.

www.bdigital.ula.ve

Por su parte, Cermeño y Peña (1998), realizaron un estudio sobre la presencia de *Aeromonas spp.* en leche cruda y leche pasteurizada proveniente de dos municipios del estado Mérida. En dicho estudio analizaron un total de 41 muestras de leche cruda procedentes del municipio Libertador y 3 muestras del municipio Campo Elías, obteniendo como resultados una proporción de crecimiento respecto al total de las muestras igual al 27,54% de *Aeromonas. shubertii*, 25% de *Aeromonas*

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

caviae, 7,1 % de *Aeromonas trota*, 5,12% de *Aeromonas jandai* y 5,12% de *Aeromonas veronii.*

Asimismo, los mencionados autores luego de realizar el análisis de 10 muestras de leche pasteurizada de ambos municipios, solo obtuvieron positividad para cinco de las muestras. Dichos resultados evidencian el hecho de que a pesar de que la leche pasteurizada tradicionalmente se ha considerado un producto seguro para el consumo humano desde el punto de vista sanitario ya que es sometida a un tratamiento térmico y procesamiento tecnológico a diferencia de la leche cruda, no se encuentra exenta de albergar microorganismos que pudieran ser potencialmente riesgosos para los consumidores.

De manera similar, Cammarata y Gutiérrez, (1994) realizaron un estudio microbiológico en muestras de leche cruda y leche pasteurizada de consumo en el distrito sanitario Mérida y en el distrito sanitario de Santa Bárbara. Para esto determinaron la presencia de bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales y coliformes fecales en las muestras de leche, con el fin de establecer la calidad sanitaria de los productos. Para el caso de leche cruda los autores estudiaron sesenta muestras, obteniendo que en promedio los valores de los indicadores de calidad obtenidos fueron superiores a los permitidos por la normativa nacional vigente, indicando de esta manera una deficiencia en la calidad sanitaria de este producto. Inclusive lograron aislar e identificar especies de los géneros *Brucella* y *Listeria*, en un 20% y 13.3% de las muestras respectivamente.

www.bdigital.ula.ve

En lo referente a leche pasteurizada, en dicho trabajo de investigación se analizaron igual cantidad de muestras que de leche cruda, encontrándose para todas las muestras analizadas valores en los indicadores de calidad sanitaria superiores a los permitidos. Del mismo modo los autores aislaron especies de los géneros *Listeria* y *Yersinia* en un 10% y 2% de las muestras estudiadas respectivamente. Tales resultados reflejan una vez más que la leche pasteurizada puede

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

convertirse en un vehículo de microorganismos potencialmente patógenos cuando no se emplean las prácticas adecuadas durante su fabricación, transporte y almacenamiento.

Por lo expuesto anteriormente y debido a que la leche constituye uno de los alimentos de mayor consumo en los niños y de gran parte de los adultos, así como también es utilizada en distintas preparaciones gastronómicas del día a día, y cuya manipulación inadecuada puede causar enfermedades, se plantea la siguiente interrogante de investigación:

¿Cómo es la calidad microbiológica de la leche pasteurizada expendida en un supermercado del municipio Libertador del estado Mérida?

El presente trabajo se realizó desde Mayo del 2013 hasta octubre del 2017.

www.bdigital.ula.ve

Justificación e importancia de la Investigación

La leche es uno de los alimentos de origen animal más consumido y valorado en nuestra sociedad. Su gran popularidad está dada por su alto valor nutritivo, también por sus potencialidades culinarias. Sin embargo, deben tenerse en cuenta algunos de los inconvenientes o desventajas que pueda presentar su consumo (Vázquez, Perez, Hurtado y Alcantara., 2014).

La leche cruda contiene muchos agentes infectantes incluyendo bacterias, hongos y parásitos. De acuerdo con el análisis realizado por el centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, del ingles “Centers for Disease Control and Prevention”), entre 1993 y 2006 se enfermaron más de 1500 personas en los Estados Unidos y más de 2.000.000 a nivel mundial por consumir leche cruda o queso elaborado con esta. Además, el CDC informo que la leche sin pasteurizar tiene 150 veces más de probabilidades de causar enfermedades transmitidas por

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

los alimentos y genera 13 veces más hospitalizaciones que las enfermedades que involucran productos lácteos pasteurizados (Valbuena, Castro, Lima y Acostal., 2009).

Sin embargo, el proceso de pasteurización puede no eliminar completamente los microorganismos infectantes de la leche, ya sea por una mala aplicación del mismo, un inadecuado control de calidad o un transporte del producto en condiciones deficientes, pudiendo causar proliferación bacteriana en el producto e infección en los consumidores, razón por la cual en el presente trabajo se seleccionaron varias marcas de leche pasteurizada expendidas en un supermercado perteneciente al municipio Libertador del estado Mérida, planteándose las siguientes sub-preguntas de investigación en base al problema descrito anteriormente:

- ✓ ¿Cuáles son los microorganismos de importancia sanitaria que pueden estar presentes en la leche pasteurizada expendida en un supermercado del municipio Libertador del estado Mérida?

www.bdigital.ula.ve

El presente trabajo se considera de interés general para toda la población debido a que como la leche pasteurizada es uno de los productos más consumidos, si esta no cumple con los requisitos microbiológicos establecidos por la norma venezolana COVENIN puede ocasionar brotes de enfermedades diarreicas, representando un riesgo para la salud de gran cantidad de personas.

Desde el punto de vista metodológico, la presente investigación constituye un aporte en la identificación de los diversos microorganismos encontrados en leche pasteurizada, además de que permite ofrecer información a la población acerca de las marcas de leche más adecuadas para su consumo desde el punto de vista sanitario así como también realizar sugerencias acerca de las medidas higiénicas a seguir para la manipulación de la leche.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Objetivos de la Investigación

Objetivo general

Analizar la calidad microbiológica de diferentes clases de leche pasteurizada expendidas en un supermercado del municipio Libertador del Estado Mérida.

Objetivos específicos

- Determinar la presencia de bacterias aerobias mesófilas (BAM) en las diferentes clases de leche pasteurizada expendidas en un supermercado del municipio Libertador del estado Mérida.

- Evaluar la presencia de coliformes totales y fecales en las diferentes clases de leche pasteurizada comercializada en un supermercado del municipio Libertador del estado Mérida.

www.bdigital.ula.ve

- Examinar la posible presencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* como indicadores de calidad sanitaria en las muestras de leche pasteurizada analizadas.

- Aislar en agar BHI otros microorganismos que pudiesen estar presentes en las muestras de leche analizadas.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la investigación

- Analizar la calidad microbiológica de diferentes clases de leche pasteurizada expendidas en un supermercado del municipio Libertador del Estado Mérida.
- La investigación abarca únicamente a las muestras de leche pasteurizada expendidas en el Estado Mérida, para los medianos y grandes supermercados.
- Generar campañas de información dentro de las plantas pasteurizadoras de leche en las que se explique a los trabajadores y propietarios, los riesgos a los que está expuesta la población si el proceso de pasteurización no es aplicado de la manera correcta.
- Realizar una investigación a futuro que incluya el uso de galerías API para la identificación de los microorganismos aislados en leche pasteurizada.

www.bdigital.ula.ve

Limitaciones de la investigación

- La falta de actualización de los registros sobre leche pasteurizada.
- Bibliografía incompletas y no actualizadas dedicada a la leche pasteurizada expendida en el Estado Mérida
- Limitación económica para la obtención de muestras y materiales.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPITULO II

MARCO TEORICO

Trabajos Previos

Molina (2001), caracterizó la calidad bacteriológica de la leche de tanque producida en veintisiete establecimientos lecheros ubicados en diferentes cuencas lecheras de Argentina y determinaron la correlación entre los grupos bacterianos analizados. Se tomaron muestras de leche de tanque a las cuales se les realizó el recuento de mesófilos totales (RMT), coliformes (RCT), termodúricos (ROT), psicrótrofos totales, proteolíticos y lipolíticos, detección de *Salmonella spp*. y *Escherichia coli.* La correlación entre el recuento de los microorganismos asociados con fuentes de contaminación fue baja. Una alta proporción de las muestras presentaron RMT (64,4%), RCT (30,3%) y ROT (49,4%) que excedieron los valores permitidos para una leche de buena calidad microbiológica. El 1,1% de las muestras analizadas superó los valores de RMT fijados en la actualidad por el CAA (Código Alimentario Argentino). No se aisló *Salmonella spp*., aunque la mitad de las muestras fueron positivas para *E. coli*. Dada la diversidad bacteriana contaminante presente en la leche almacenada en tanques de frío, deben examinarse varios grupos bacterianos en conjunto para realizar un diagnóstico y determinar las fuentes potenciales de contaminación y de esta forma realizar las acciones para remediar las desviaciones.

www.bdigital.ula.ve

López, Blares, Herrera y Mora. (2010), verificaron las características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales a través del análisis de cuatrocientos treinta muestras de los tipos A, B y C de once marcas diferentes de leche pasteurizada regularmente vendidas en la ciudad de São Paulo. El análisis microbiológico mostró que el 70,9% de

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ciento treinta muestras de leche tipo A; 35,8% de ciento sesenta y dos muestras de leche tipo B; y el 21,2% de ciento sesenta y cinco muestras de leche tipo C respectivamente, no cumplían con las normas legales establecidas por el Ministerio de Salud de Brasil. El número de muestras que presentaron peroxidasa negativa fue excesivamente alto: 52,5% de leche de tipo B y 50,9% de leche de tipo C, evidenciando que la pasteurización no elimina completamente los microorganismos presentes en la leche.

Reyes, Vazquez y Loaiza. (2010), realizó un estudio de evaluación microbiológica de la leche cruda recibida de una línea de procesamiento de una planta de lácteos, esta leche era empacada en bolsa y contiene 2% de grasa en una planta de lácteos. El autor afirma que 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 fallas en el almacenamiento, transporte inadecuado, utilización inapropiada de las tecnologías de preservación y el excesivo desperdicio, tanto de plantas procesadoras como de los centros de distribución.

www.bdigital.ula.ve

En dicho estudio se identificaron las principales fuentes de contaminación de la leche cruda y pasteurizada empacada en bolsa con 2% de grasa de la planta lácteos de Zamorano. Se realizaron conteos de mesófilos aeróbicos, coliformes totales y *E. coli*; se registraron las temperaturas y tiempos a los cuales la leche fue sometida. se concluyó que la leche de la planta de lácteos Zamorano se clasifica como leche de grado A y la leche de los productores externos como leche grado C. por otra parte, en la línea de procesamiento, la leche presentó inestabilidad en las temperaturas, asimismo se observó que el pasteurizador presentó deficiencias en el pasteurizado, y que el manejo después de la pasteurización no fue el adecuado pues se encontró presencia de *E. coli* en el producto terminado, situación que despertó gran preocupación pues

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

el proceso de pasteurización debió asegurar la eliminación de todos los microorganismos patógenos. En la máquina envasadora, el investigador observó contacto de la película de polietileno de baja densidad (LDPE) que forma la bolsa, con el medio ambiente, lo que probablemente aumentó el riesgo de contaminación de la leche.

Barrera y Velazquez. (2011), determinaron la calidad microbiológica de las leches saborizadas de chocolate y fresa de cuatro marcas diferentes comercializadas en los principales supermercados de la zona metropolitana de San Salvador. Para esto, los investigadores seleccionaron las muestras por medio de métodos estadísticos, cuatro muestras de cada sabor por cada una de las cuatro diferentes marcas de leches saborizadas haciendo un total de veinticuatro muestras a analizar. En el desarrollo experimental, se le asignó una letra para identificar a cada una de las marcas: Marca “A”, “B”, “C” y “D”. Posteriormente las muestras fueron trasladadas en condiciones adecuadas de refrigeración hacia el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

www.bdigital.ula.ve

Además de esto, se realizó una inspección en los supermercados donde se hizo el muestreo, para identificar las condiciones en las que se encontraban las leches saborizadas en los centros de venta. A cada una de las muestras de leches saborizadas se les determinó: *Salmonella spp., E. coli y S. aureus*, empleando para ello los métodos de ensayo y análisis establecidos en Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Los resultados obtenidos, se agruparon por muestras de cada marca, en todas las determinaciones para *Salmonella spp., E. coli y S. aureus* se obtuvieron resultados negativos

Al comparar los resultados de cada muestra de leche saborizada con lo que especifica el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 “Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos”, los investigadores concluyeron que todas las marcas analizadas se consideran aptas para el consumo humano debido a que

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

cumplen con las especificaciones exigidas por dicho reglamento. La mencionada investigación se relaciona con el presente estudio debido a que constituye un aporte para todos aquellos involucrados en la calidad microbiológica de las leches saborizadas: los productores, los centros de venta (supermercados), las autoridades sanitarias y las personas que consumen este nutritivo alimento, quienes deben informarse adecuadamente para poder exigir alimentos seguros para su consumo.

Azua (2010), indica que la leche es un producto animal que está sujeto a grandes variables en su proceso de obtención primaria y se puede contaminar con gran cantidad de microorganismos provenientes de diferentes fuentes contaminantes. Algunos de estos microorganismos son patógenos para el hombre, mientras que otros, producen alteraciones en la leche, como acidificación, proteólisis y lipólisis, que dificultan su procesamiento tecnológico. Por esta razón se hace indispensable una evaluación microbiológica adecuada para la detección de estos microorganismos, con el propósito de plantear las medidas correctivas necesarias en beneficio de la salud pública.

www.bdigital.ula.ve

Sin embargo después de una pasteurización adecuada, los microorganismos pueden llegar a recontaminar la leche, a través del contacto con materiales contaminados, equipos defectuosos, con las manos o ropa de los operarios, exposición a estornudos y tos o caída de gotas de agua contaminada, lo que podría ocasionar que el producto represente un peligro potencial para el consumidor, justificando la necesidad de realizar pruebas microbiológicas del producto terminado y envasado para evaluar si hubo recontaminación y de esta manera poder evitar o reducir el riesgo al mínimo.

Rosales y Díaz (2006), realizaron un estudio denominado “Evaluación de la calidad microbiológica de los helados caseros en Merida-Venezuela”, con la finalidad de conocer la calidad higiénico-sanitaria de los helados caseros de sabor a mantecado elaborados con leche, comercializados en la ciudad de Mérida, Venezuela. Para esto

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

analizaron un total de cuarenta muestras procedentes de dos lugares de venta, aplicando la metodología de referencia, los autores investigaron cuantitativamente bacterias aerobias mesófilas (BAM), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *S. aureus* (SA), Mohos (MO) y Levaduras (LE).

Los resultados de la cuantificación microbiológica realizada en el mencionado estudio fueron los siguientes: las BAM estuvieron presentes en un rango de $1,3x10^3$ a $3,2x10^5$ UFC/mL con un promedio de $5,7x10^4$ UFC/mL; los CT se presentaron entre 23 y > 1100 NMP/mL con un valor promedio de 803; los CF estuvieron entre <3 y > 1100 NMP/mL con una media de 188; el SA no se detectó en ninguna muestra; los MO se presentaron entre <1,0x10 y $1,3x10^4$ UFC/mL con un promedio de $1,7x10^3$ y las LE estuvieron entre <1,0x10 y $1,3x10^5$ UFC/mL con un valor promedio de $5,0x10^4$ UFC/mL.

Por otra parte, Merly (2009), señala que la leche por su aporte nutricional es uno de los alimentos de mayor importancia en muchos países del mundo. No obstante, este alimento, cuando no es manejado de manera adecuada, es un excelente vehículo para la transmisión de enfermedades al hombre. De igual forma el autor afirma que el número de microorganismos presentes en la leche varía entre un cuarto y otro, así como de un animal a otro, dependiendo de los sistemas de limpieza y desinfección utilizados.

Cuando la leche es obtenida en condiciones asépticas, el número de microorganismos oscila entre 100 y 1000 UFC/mL. En la práctica, la leche recién obtenida contiene de 1000 a 10000 UFC/mL, constituidos por contaminantes procedentes del entorno de la ubre, el equipo de ordeño y los manipuladores. La calidad microbiológica de la leche cruda cambia significativamente durante su manejo y transporte, particularmente cuando no se cuenta con los medios para su enfriamiento inmediato una vez obtenida. Estos cambios ponen en riesgo el cumplimiento del requisito de calidad para ser considerada como leche apta para consumo

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

humano, ya que al encontrarse mayor cantidad de bacterias mesófilas, puede existir un mayor riesgo de contaminación de la leche por patógenos, así como el crecimiento de los mismos en los productos terminados. (Merly., 2009).

Antecedentes Históricos o Epistemológicos

La leche pasteurizada es un producto de consumo masivo obtenida básicamente por la aplicación de un tratamiento térmico ligero a la leche cruda y su posterior envasado, en la cual podrían permanecer viables microorganismos banales procedentes del centro de producción primario o de la planta de proceso. Por ser un medio compuesto por diversos principios nutritivos, la hace un alimento altamente perecedero, por lo cual debe ser producida en condiciones higiénicas óptimas, cumpliendo con los parámetros microbiológicos y físico-químicos establecidos por los entes gubernamentales. Dado que se trata de un producto de origen animal, sujeto a grandes variables en su proceso de obtención primaria, se puede contaminar con un amplio espectro de microorganismos provenientes de diferentes fuentes contaminantes. Algunos de estos microorganismos son patógenos para el hombre, mientras que otros, producen alteraciones en la leche, como acidificación, proteólisis y lipólisis, que la hacen poco apta para su consumo (Pérez, 2010).

www.bdigital.ula.ve

El proceso de pasteurización consiste en destruir mediante el empleo apropiado del calor, la totalidad de la flora patógena y la casi totalidad de la flora banal que pudiese estar presente en la leche, procurando alterar lo menos posible su estructura fisicoquímica y vitaminas. Sin embargo después de una pasteurización adecuada de la leche, los microorganismos pueden llegar a recontaminar la leche, a través de contacto con materiales contaminados, equipos defectuosos, por las manos o ropa de los operarios, exposición a estornudos y tos o caída de gotas de agua contaminada, constituyendo un peligro al consumidor, por lo que es necesario realizar pruebas microbiológicas de

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

producto terminado y envasado para evaluar si hubo recontaminación y poder así evitar o reducir el riesgo al mínimo (Pérez, 2010).

La temperatura y tiempo aplicados en la pasteurización aseguran la destrucción de los agentes patógenos tales como *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella* sp., *Salmonella* sp., etc., pero no destruye los microorganismos como el *Staphylococcus aureus* o el *Streptococcus pyogenes*, ni consigue destruir algunos microorganismos responsables de la acidez como *Lactobacillus* sp. (Díaz, 2009).

Asimismo, la temperatura de la leche durante el proceso de pasteurización y almacenamiento es uno de los factores más importantes que afectan el crecimiento bacteriano, determinando los tipos de microorganismos que se desarrollan que son causantes de los cambios o tipos de descomposición que experimentará la leche. El deterioro de la leche está principalmente relacionado al crecimiento de microorganismos psicrótrofos, entre ellos cabe destacar diversas especies del género *Pseudomonas*, las cuales alcanzan el producto por una contaminación posterior al tratamiento térmico, ya que no lo soportan, mientras que si la temperatura de conservación en cualquier punto de la cadena de almacenamiento, distribución y comercialización se encuentra sobre el rango de los 10°C a12°C, es la flora termodúrica la beneficiada y por lo tanto responsable de las alteraciones presentes.

www.bdigital.ula.ve

No obstante, en la leche pasteurizada, a diferencia de la leche cruda, la presencia de bacterias coliformes es inaceptable, ya que las temperaturas de pasteurización destruyen esta clase de bacterias. Una prueba de coliformes positiva en productos lácteos pasteurizados denota mala pasteurización ó contaminación post-pasteurización, por lo tanto debe rechazarse (Díaz, 2009).

En resumen, las plantas procesadoras son responsables directa de la calidad de la leche pasteurizada desde la recepción y hasta que el producto llegue a los lugares de comercialización de leche.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

BASES TEORICAS

Definición de Leche

Según la norma venezolana COVENIN 903: ¨Se entiende por leche cruda o leche sin otro calificativo, al producto integro, normal y fresco obtenido del ordeño higiénico e ininterrumpido de vacas sanas¨ (Comisión Venezolana de Normas Industriales, 1993). La leche, gracias a su composición ha sido considerada como el alimento más nutritivo para el hombre, pues contiene compuestos energéticos (glúcidos y lípidos), nutrientes plásticos (proteínas y minerales) y cantidades adecuadas de casi todas las vitaminas necesarias para el funcionamiento normal de los procesos bioquímicos del organismo humano.

La leche es la base de numerosos productos lácteos, como la mantequilla, crema de leche, el queso o el yogurt y gran cantidad de subproductos de la leche son utilizados en diversas industrias. Además de esto, la leche es fundamental para la formación y el mantenimiento de unos huesos fuertes y sanos ya que ayuda a prevenir la aparición de la osteoporosis, debido que es un alimento fundamental para la salud de los niños, principalmente durante el primer año de vida (Mena, 2010).

www.bdigital.ula.ve

La leche está compuesta principalmente por agua, materia grasa, proteínas, hidratos de carbono (lactosa) y calcio (Mena, 2010). Contiene vitaminas tanto hidrosolubles como liposolubles, entre las que encontramos vitaminas del grupo B, C, A, niacina y riboflavina, contiene además calcio, hierro y proteínas. Se recomienda tomar leche diariamente debido a que reduce en un 60% el riesgo de sufrir cáncer de mama, especialmente en mujeres. También es recomendable consumir leche descremada en casos de gastritis, ya que es capaz de neutralizar la acidez (Pérez, 2010).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Por su parte, López, Blares, Herrera y Mora (2010), definen la leche como una sustancia líquida y blanca que segregan las mamas de las hembras de los mamíferos para alimentar a sus crías y que está constituida por caseína, lactosa, sales inorgánicas, glóbulos de grasa suspendidos y otras sustancias, que sirve como alimento y de la cual se obtiene, además, queso, yogurt, mantequilla y otros derivados. La leche y sus derivados son considerados la principal fuente de calcio en la alimentación.

También se puede definir la leche desde los siguientes puntos de vista: 1. Biológico, es una sustancia segregada por la hembra de los mamíferos con la finalidad de nutrir a las crías 2. Legal, producto del ordeño de un mamífero sano y que no representa un peligro para el consumo humano 3. Físico-químico, sistema en equilibrio, constituido por tres sistemas dispersos: solución, emulsión y suspensión (Jensen, Ferrey, Lammi-Keefe; 1991).

www.bdigital.ula.ve

Historia del consumo de la leche

Para Jensen, Ferrey, Lammi-Keefe. (1991), el consumo humano de la leche de origen animal comenzó hace unos 11.000 años con la domesticación del ganado durante el llamado óptimo climático. El primer animal que se domesticó fue la vaca, a partir del *Bos primigenius*, después la cabra, aproximadamente en las mismas fechas, y finalmente la oveja, entre 9000 y 8000 años A. C. Existen hipótesis, como la del genotipo ahorrador, que afirman que este supuso un cambio fundamental en los hábitos alimentarios de las poblaciones cazadoras-recolectoras, que pasaron de alimentarse con ingestas abundantes pero esporádicas a recibir aportes diarios de carbohidratos. Según esta teoría, este cambio hizo que las poblaciones euro-asiáticas se volviesen más resistentes a la diabetes tipo II y más tolerantes a la lactosa en comparación con otras poblaciones humanas que solo más recientemente conocieron los productos derivados de la ganadería. Sin embargo esta hipótesis no ha

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

podido ser verificada e incluso su propio autor, James Neel la ha refutado, alegando que las diferencias observadas en poblaciones humanas podrían deberse a otros factores ambientales.

Entre las muchas teorías existentes, se ha propuesto que la producción de leche surgió porque los antepasados de los mamíferos tenían huevos con cáscara blanda, como los actuales monotremas, lo cual provocaba su rápida desecación. La leche sería de ese modo una modificación de la secreción de las glándulas sudoríparas destinada a transferir agua a los huevos. Otros autores, en una teoría que puede ser complementaria de la anterior, opinan que las glándulas mamarias proceden del sistema inmunitario innato y que la lactación sería en parte, una respuesta inflamatoria al daño tisular y la infección. Aunque existen dificultades, varios enfoques aproximan la fecha de aparición en la historia evolutiva (Molina, 2001).

La necesidad evolutiva de alimentar a las crías se ve satisfecha en la producción de leche propia de los mamíferos. En primer lugar, la caseína tiene una función, comportamiento e incluso motivos estructurales similares a la vitelogenina. Se observa que, aunque en monotremas aún existe esta proteína, fue sustituida progresivamente por la caseína, permitiendo un menor tamaño de los huevos y finalmente su retención intrauterina la caseína apareció hace entre 200 y 310 m.a. (Molina, 2001).

www.bdigital.ula.ve

Características de la leche de vaca

La leche es un líquido opaco, blanquecino o amarillento, segregado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos para la alimentación de sus crías. La leche, propiamente dicha, no aparece hasta varios días después del alumbramiento; el líquido viscoso segregado desde el momento del parto, hasta la aparición de la leche normal recibe el nombre de calostro (Albares, 2000).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

La leche para consumo humano se obtiene de un tipo de vacas destinadas específicamente a este fin. Según Araneda (2015), la vaca lechera debe poseer las siguientes características:

- ✓ Ser mayor que el tipo medio de su raza
- ✓ Recta de líneas
- ✓ Sin exceso cárnico y con capacidad abdominal de anchura y profundidad máximas
- ✓ Las ubres deben ir cómodamente dispuestas, ser altas y anchas en la parte posterior y alargadas hacia delante en la parte anterior



www.bdigital.ula.ve

Figura 1. Principales razas de vacas lecheras
Fuente: Curay (2014).

En la selección del animal, conviene tener en cuenta el rendimiento de sus ascendentes inmediatos, la longevidad, la salud y la configuración general del cuerpo. Para conseguir una producción adecuada de leche, tiene considerable importancia la aplicación de una dieta equilibrada en la que figure de buena calidad, materias nutritivas y proteínas (Araneda, 2015).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Formación de la leche en el animal

El proceso de formación de la leche está relacionado con la nutrición de la vaca, la cual se inicia con la ingestión de la hierba, que es degradada en la panza y posteriormente en el abomaso. Seguidamente, las substancias nutritivas se absorben en el intestino y se transportan mediante la sangre hasta las glándulas mamarias. La formación de la leche se inicia con la estimulación de las células musculares de las glándulas mamarias (Álvarez, 1999).

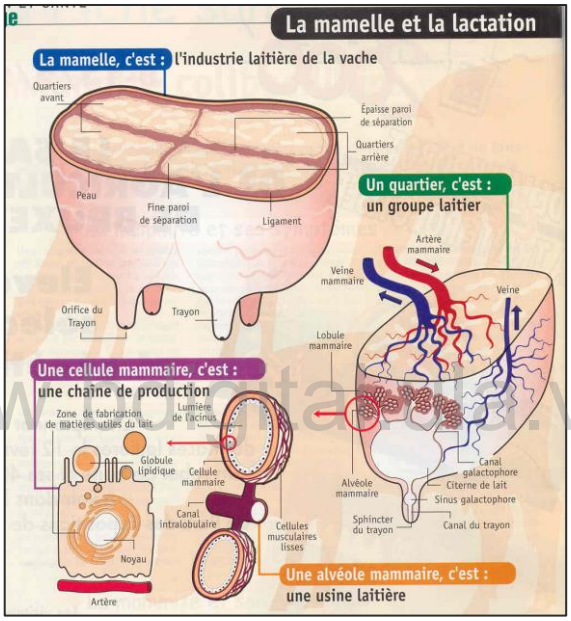


Figura 2. Formación de la leche en la ubre de la vaca
Fuente: Araneda (2015).

La prolactina (PRL), que es una hormona segregada por la adenohipófisis, activa las células secretoras para que fabriquen leche después del parto. Más tarde cuando la cría succiona el pezón, la hembra envía un impulso nervioso al cerebro, de manera que segrega la oxitocina, que provoca una estimulación de las células contráctiles de la glándula, y por lo tanto, la salida de la leche, que se produce a lo largo del conducto galactóforo, hasta las diminutas aberturas de su superficie (Álvarez, 1999).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Características generales

No todas las leches de los mamíferos poseen las mismas propiedades. La composición y características físico-químicas varían sensiblemente según las diferentes razas y especies, en el período de lactación, así como en el curso de su tratamiento (Valencia, 2001).

Entre las propiedades físicas y químicas de la leche cabe mencionar las siguientes

a. Propiedades físicas

Según Valencia (2001), la leche de vaca tiene una densidad media aproximada de 1,032 g/mL. Es una mezcla compleja y heterogénea compuesta por un sistema coloidal de tres fases:

- Solución: los minerales así como los glúcidos se encuentran disueltos en el agua.
- Suspensión: las sustancias proteicas se encuentran con el agua en suspensión.
- Emulsión: la grasa en agua se presenta como emulsión.

www.bdigital.ula.ve

Por otra parte, la leche contiene una proporción importante de agua (cerca del 87 %) mientras que el resto constituye el extracto seco que representa 130 gramos por litro, que contienen de 35 a 45 g de materia grasa (Ávila y col; 2011).

b. Propiedades químicas

El pH de la leche es ligeramente ácido, comprendido entre 6,6 y 6,8. Otra propiedad química importante es la acidez, o cantidad de ácido láctico que contiene, que suele estar en torno al 0,15-0,16 %.

La acidez de la leche se debe a la transformación de la lactosa por acción microbiana en ácido láctico. Para expresar la acidez de la leche existen varias escalas, entre ellas: Dornic (°D), Soxlet-Henkel (°SH).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

- ✓ Escala Dornic

El grado Dornic (°D), empleado en Francia, expresa el contenido de ácido láctico. La acidez Dornic es el número de décimas de centímetros cúbicos de soda (hidróxido de sodio), utilizados para valorar 9 mL de leche en presencia de un indicador (fenolftaleína).

La equivalencia es la siguiente:

1°D= 1 mg de ácido láctico en 10 mL de leche, es decir,

0,1 g por litro ó 0,01% de ácido láctico = 1° Dornic.

- ✓ Escala Soxlet-Henkel

El grado Soxlet-Henkel (°SH), utilizado en Alemania y en Suiza, no toma el ácido láctico como referencia. Equivale a 1 mL de soda, empleada para valorar 100 mL de leche. (La valoración se hace habitualmente sobre 50 mililitros) (García, 1987).

Por otra parte, las sustancias proteicas de la leche son de gran importancia en el aspecto químico. Se clasifican en dos grupos: proteínas de la ¨leche¨ (la caseína representa en 80 % del total proteínico, y proteínas del suero que constituyen un 20 % del contenido (Valencia, 2001).

www.bdigital.ula.ve

Asimismo, La actividad enzimática de la leche depende de dos factores: la temperatura y el pH; y está presente en todo el sistema de diversas formas. La fosfatasa es inhibida a temperaturas de pasteurización e indica que se realizó bien la pasteurización. La reductasa es producida por microorganismos ajenos a la leche y su presencia indica que está contaminada. La xantoxidasa en combinación con nitrato de potasio (KNO_3) inhibe el crecimiento de bacterias butíricas. La lipasa, oxida las grasas y da olor rancio a los productos y se inhibe con la pasteurización. La catalasa se incrementa con la mastitis y, si bien no deteriora el alimento, se usa como indicador microbiológico (Alais, 1971).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

En la tabla 1 se evidencia un análisis de la cantidad de agua, proteínas, minerales, entre otras sustancias, presentes en la leche de diferentes mamíferos:

Tabla 1. Análisis químico proximal de la leche de diversos mamíferos

Tipo de leche	Agua	Extracto seco	Materia seca	Caseína	Albumina	Lactosa	Materias minerales
Humana	905	117	35	10-12	4-6	65-70	3
Yegua	925	100	10-15	10-12	7-10	60-65	3-5
Asna	925	100	10-15	10-12	9-10	60-65	4-5
Vaca	900	130	35-40	27-30	3-4	45-50	8-10
Cabra	900	140	40-45	30-35	6-8	40-45	8-10
Oveja	860	190	70-75	45-50	8-10	45-50	10-12
Bufala	850	180	70-75	35-40	8-10	45-50	8-10
Reno	675	330	160-200	80-85	18-20	25-50	15-20
Cerda	850	185	65-65	25-30	25-30	50-55	12-15
Perra	800	250	90-100	45-50	50-55	30-50	12-14
Gata	850	200	40-50	30-35	60-70	40-50	10-13
Coneja	720	300	120-130	90-100	30-40	15-20	15-20
Marsopa	430	600	450-460	-	-	10-15	6-8

Fuente: Albares (2000).

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Presentación de la leche en el mercado

La presentación de la leche en el mercado es variable, ya que se acepta por regla general la modificación de sus propiedades para satisfacer las preferencias de los consumidores. Un procesamiento muy frecuente es deshidratarla (Liofilización) como leche en polvo para facilitar su transporte y almacenaje tras su ordeñado. También es usual reducir el contenido de grasa, aumentar el contenido de calcio y agregar sabores (Ladueño, 1997).

Según García (2005), entre las principales categorías de leche se encuentran las siguientes:

a. Leche entera: tiene un contenido en grasa entre 3,1 % y 3,8 %.

b. Leche Pasteurizada: según las normas COVENIN 798 es la leche cruda homogenizada o no, que ha sido sometida a un proceso térmico aprobado por la autoridad competente, en condiciones tales que garanticen la destrucción de microorganismos patógenos y la casi totalidad de microorganismos banales que pudiesen estar presentes, sin que se alteren sensiblemente las características organolépticas y físico-químicas de la misma (Comisión Venezolana de Normas Industriales, 1994).

www.bdigital.ula.ve

c. Leche Deslactosada: se somete a un proceso en el cual se transforma la lactosa en glucosa y galactosa para hacerla de mayor digestibilidad.

d. Leche descremada o desnatada: su contenido graso es inferior al 0,3 %.

e. Semidescremada o semidesnatada: es leche con un contenido graso entre 1,5 y 1,8 %.

f. Saborizada: es la leche azucarada o edulcorada a la que se la añaden sabores tales como fresa, cacao en polvo, canela, vainilla, etc. Normalmente son desnatadas o semi desnatadas**.**

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

g. **En polvo o Liofilizada:** a esta leche se le ha extraído el 95 % del agua mediante procesos de atomización y evaporación. Se presenta en un polvo color crema. Para su consumo solo hay que rehidratarla con agua o con leche.
h. **Condensada, concentrada o evaporada:** a esta leche se le ha extraído parcialmente el agua y se presenta mucho más espesa que la leche fluida normal. Puede que contenga azúcar añadida.
i. **Enriquecidas:** son preparados lácteos a los que se les añade algún producto de valor nutritivo como vitaminas, calcio, fósforo, omega-3 (Juárez, 2015).



www.bdigital.ula.ve

Figura 3. Diferentes tipos de leche disponibles en el mercado
Fuente: Guillermo (2010).

Características microbiológicas de la leche

La leche cruda sin pasteurizar contiene normalmente bacterias que si son consumidas por los seres humanos puede provocar diferentes infecciones que podrían llegar a ser perjudiciales y peligrosas para la salud del individuo. Entre las bacterias más comunes se encuentran:

a. Colibacterias: Son aquellas bacterias que llegan a la leche por higiene inadecuada, no son termoresistentes, a partir de la lactosa producen ácido acético y láctico, se destruyen a 63°C. Son bacilos rectos generalmente flagelados periticos y, por tanto, móviles. Pueden multiplicarse tanto en condiciones aerobias como anaerobias y son

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

fácilmente cultivables en medios nutritivos sencillos. Catabolizan glucosa, lactosa y otros azúcares, mientras que no pueden utilizar la urea ni citratos. El rango de crecimiento de estas bacterias se sitúa entre 4 y 46ºC**.**

b. Lácticas: Son aquellas que convierten la lactosa en ácido láctico, se inactivan al acidificar la leche, reducen el pH y se destruyen por pasteurización baja.

c. Butíricas: Son bacterias que pprovienen del forraje, forman acido butírico y CO_2 principalmente. Son las causantes de un grave accidente en quesería que se traduce por el hinchamiento tardío del queso en las cavas de maduración. este hinchamiento es producido por la fermentación de lactato de cal, con la producción de ácido butírico, ácido acético, gas hidrógeno y anhídrido carbónico. Sin embargo este fenómeno no se produce en todos los tipos de quesos madurados y en los que ocurre se manifiesta de manera inconstante (Spreer, 1986).

www.bdigital.ula.ve

d. Propiónicas: Son bacterias que producen ácido láctico, ácido acético y CO_2, forman ojos en los quesos, crecen a 24°C, no forman esporas, y se destruyen por pasteurización baja. Estas bacterias estimulan especialmente el incremento de las bacterias bífidas que de forma natural están en el colón.

e. Proteolíticas: Son bacterias termoresistentes que llegan a la leche por medio de la paja y el estiércol. son muchas las bacterias proteolíticas que descomponen la leche y sus subproductos y algunas pueden afectar la salud. Entre otras bacterias proteolíticas se encuentran: *Pseudomonas, Alcaligenes, Serratia, Micrococus, Streptococcus* y esporógenas. Especialmente las esporógenas aerobias se mantienen en la flora intestinal. Las bacterias proteolíticas desdoblan las proteínas desde péptidos hasta aminoácidos y le dan a

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

la leche un sabor amargo (por la descomposición de las proteínas) además de alterar la textura de los productos (Spreer, 1986).



Figura 4. Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* en Agar Cetrimide
Fuente: Baggini (2014).

f. Patógenas: Son bacterias que proceden del hombre y animales, la mayoría no acidifican la leche, es decir que sólo provocan daño en el hospedero, generalmente, las bacterias patógenas son específicas, ya que un tipo de bacteria origina un tipo de enfermedad (Spreer, 1986).

www.bdigital.ula.ve

g. Virus: En la leche se encuentran virus denominados bacteriófagos (atacan a las bacterias) que impiden la acidificación de la leche y son termoresistentes.

h. Mohos: No tienen importancia práctica en la leche líquida, por el contrario la tienen, y en alto grado, en la mayoría de los productos lácteos, en los que se desarrollan en la superficie y en las partes en contacto con el aire, se destruyen por pasteurización.

i. Levaduras: En la leche se encuentran levaduras productoras de gas y poco o nada de alcohol, tales como *Candida* sp., y levaduras esporulantes que fermentan la lactosa en alcohol (*Saccharomyces*

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

fragilis), en productos lácteos las levaduras pueden provocar fermentaciones gaseosas y sabores indeseables (*Torulopsis sphaerica*); en la leche azucarada condensada (*Torulopsis lactis condensi*) (Spreer, 1986).



Figura 5. Crecimiento de colibacterias en medio de cultivo
Fuente: Baggini (2014).

j. **Esporuladas:** las bacterias del género *Bacillus* son bacterias aeróbicas con actividad enzimática variada, producen acidificación, coagulación y proteólisis. Por su parte, las bacterias del género *Clostridium* son anaerobios estrictos, producen gas y algunos producen toxinas patógenas (*Clostridium botulinum*). Ambos géneros son de poca importancia en leche cruda, ya que su crecimiento es inhibido por las bacterias lácticas. No obstante, cobran importancia en productos lácteos como en leche pasteurizada, quesos fundidos, leches concentradas, quesos de pasta cocida. Resisten la pasteurización por su capacidad de producir esporas, las cuales solo se destruyen a temperaturas por encima de 100 ºC (Roldan, 2007).

www.bdigital.ula.ve

Factores que influyen sobre el contenido microbiano en alimentos

La invasión microbiana de la leche se ve influenciada por las características propias, las del entorno y las condiciones a las que se somete este alimento. En este orden de ideas, se permite clasificar estos factores en intrínsecos y extrínsecos, de la siguiente forma:

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

a. Intrínsecos:

- ✓ Humedad
- ✓ pH y acidez
- ✓ Contenido de nutrientes
- ✓ Potencial de óxido- reducción
- ✓ Agentes o compuestos inhibidores

b. Extrínsecos

- ✓ Salud del animal y mastitis
- ✓ Contaminaciones externas
- ✓ Temperatura de conservación (Díaz, 2009).

Enfermedades producidas por el consumo de leche cruda

La leche y los productos lácteos proporcionan abundantes beneficios nutricionales. No obstante, la leche cruda también puede albergar microorganismos peligrosos que representan riesgos graves para la salud humana. De acuerdo con el análisis realizado por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, del inglés "*Centers for Disease Control and Prevention*"), entre 1993 y 2006 se enfermaron más de mil quinientos personas en los Estados Unidos debido a la ingesta de leche cruda o queso elaborado con esta. Además, los CDC informaron que la leche sin pasteurizar tiene ciento cincuenta veces más probabilidades de causar enfermedades transmitidas por los alimentos y genera trece veces más hospitalizaciones que las enfermedades que involucran productos lácteos pasteurizados.

www.bdigital.ula.ve

La leche cruda, como se dijo anteriormente es aquella que proviene de las vacas, ovejas o cabras y que no ha pasado por el proceso de pasteurización para destruir las bacterias dañinas. Puede contener bacterias peligrosas como *Salmonella, E. coli* y *Listeria*, que son responsables de causar numerosas enfermedades transmitidas por los alimentos (Garrido, Gonzalez, Lemusy y Mirabal., 2013).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Estas bacterias dañinas pueden afectar gravemente la salud de cualquier persona que beba leche cruda o consuma alimentos preparados a partir de ella. Sin embargo, los microorganismos de la leche cruda pueden ser particularmente peligrosos para las personas con sistemas inmunitarios debilitados, los adultos mayores, las mujeres embarazadas y los niños. De hecho, el análisis de los CDC reveló que las enfermedades transmitidas por los alimentos provocadas por la leche cruda afectan en particular a adolescentes y niños (Garrido, Gonzalez, Lemusy y Mirabal., 2013).

Los principales síntomas de las enfermedades de origen alimentario incluyen vómitos, diarrea y dolor abdominal, así como también síntomas parecidos a los de la gripe, como fiebre, dolor de cabeza y dolor corporal. Aunque la mayoría de las personas sanas se recuperarán rápidamente de las enfermedades causadas por las bacterias perjudiciales de la leche sin pasteurizar (o de los alimentos elaborados con esta leche), otras pueden presentar síntomas crónicos, graves o, incluso, que pongan en riesgo la vida. (Garrido, Gonzalez, Lemusy y Mirabal, 2013).

www.bdigital.ula.ve

Particularmente, las mujeres embarazadas corren graves riesgos de enfermarse a causa de la bacteria *Listeria sp.*, que puede producir la pérdida del embarazo, la muerte o enfermedades del feto, o inclusive la muerte del recién nacido (Garrido, Gonzalez, Lemusy y Mirabal, 2013).

Pasteurización

La pasteurización o pasterización, es el proceso térmico realizado a líquidos (generalmente alimentos) con el objetivo de reducir la presencia de agentes patógenos (como por ejemplo ciertas bacterias, protozoos, mohos, levaduras, etc.) que puedan contener. Este proceso de calentamiento recibe el nombre del que lo llevó a cabo por primera vez, el francés Louis Pasteur (1822-1895). La primera pasteurización fue

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

realizada el 20 de abril de 1864 por el propio Pasteur y su colega Claude Bernard (Hayes, 1993).

Uno de los objetivos del tratamiento térmico es una "esterilización parcial" de los alimentos líquidos, alterando lo menos posible su estructura física, sus componentes químicos y sus propiedades organolépticas. Tras la operación de pasteurización, los productos tratados se enfrían rápidamente y se sellan herméticamente con fines de seguridad alimentaria; por esta razón, es básico en la pasteurización el conocimiento del mecanismo de la transferencia de calor en los alimentos. A diferencia de la esterilización, la pasteurización no destruye totalmente las esporas de los microorganismos, ni elimina todas las células de microorganismos termofílicos (Hayes, 1993)**.**

Louis Pasteur mejoró la calidad de vida al hacer posible que productos alimenticios básicos, como la leche, se pudieran transportar largas distancias sin ser afectados por la descomposición. En la pasteurización, el objetivo primordial no es la "eliminación completa de los agentes patógenos" sino la disminución sustancial de sus poblaciones, reduciéndolas a niveles que no causen intoxicaciones alimentarias a los humanos (siempre que el producto pasteurizado se mantenga refrigerado correctamente y que se consuma antes de la fecha de caducidad indicada) (Real Academia Española, 2001).

www.bdigital.ula.ve

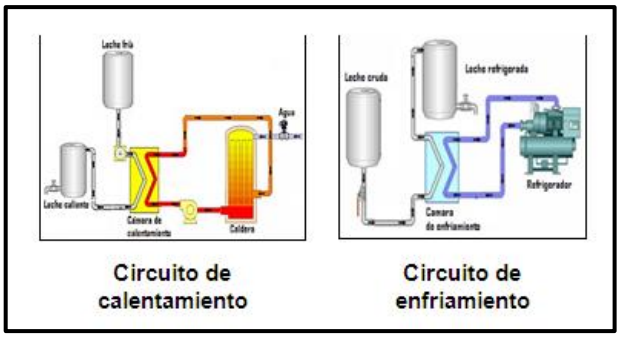


Figura 6. Esquema del equipo de Pasteurización
Fuente: Curay (1993).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Diferencia entre leche cruda y pasteurizada

En la leche cruda se ha demostrado la presencia de tres tipos diferentes de fosfatasas (monoestearasas, diestearasas y pirofosfatasas), entre ellas una monoestearasa ácida y una alcalina, basándose la prueba de eficiencia de la pasteurización en la determinación de la actividad de la monoesterasa alcalina (Román, Guerrero y Pacheco, 2009).

La fosfatasa alcalina se encuentra en la leche asociada al material fosfolipídico presente en la pseudomembrana de los glóbulos grasos, tiene un pH óptimo de actividad de 9,75; se destruye progresivamente por el calor y específicamente cuando se mantiene la leche a una temperatura de 62,8°C por 30 minutos su destrucción es total, resultando este temperatura ligeramente superior a la requerida para inactivar a cualquiera de los microorganismos patógenos presentes en la leche, entre ellos *Mycobacterium tuberculosis* y *Coxiella burnetii*, por lo tanto, una leche bien pasteurizada no debe presentar una reacción positiva a la prueba de fosfatasa (Román, Guerrero y Pacheco, 2009). La determinación de la actividad de la mencionada enzima se basa en su capacidad de hidrolizar los esteres fenil-fosfóricos que se adicionan como sustrato a la muestra, liberando fenol, el cual puede ser detectado con reactivos especiales como la di-cloro quinona clorimida (CQC), con la cual forma un complejo de indofenol azul, siendo esta coloración la clave para evidenciar la actividad enzimática (Román, Guerrero y Pacheco. 2009).

www.bdigital.ula.ve

Consideraciones sobre leche pasteurizada

- La pasteurización de la leche no produce intolerancia a la lactosa ni reacciones alérgicas.
- La leche sin pasteurizar no mata a los agentes patógenos por sí misma.
- La pasteurización no reduce el valor nutricional de la leche.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

- La pasteurización no implica que sea seguro dejar la leche fuera del refrigerador por un tiempo prolongado, especialmente después de que se haya abierto.
- La pasteurización si destruye las bacterias perjudiciales.

Limites microbiológicos en la leche cruda y pasteurizada

La leche natural (de ordeño) contiene bacterias perjudiciales para la salud de los individuos que la consumen, sin embargo la misma es sometida a un proceso llamado pasteurización que elimina la mayoría de las bacterias que se encuentran en la leche, es por esto que existen reglas y límites establecidos para una adecuada venta y distribución de leche entre las cuales tenemos:

Leche cruda:

www.bdigital.ula.ve

- Categoría A: hasta 500.000 UFC/mL Categoría B: desde 500.001 hasta 1.500.000 UFC/mL
- Categoría C: desde 1.500.001 hasta 5.000.000 UFC/mL
- Sin clasificación: más de 5.000.000 UFC/mL

Para los efectos de compra y venta de leche cruda se podrá utilizar el tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM), según la norma venezolana COVENIN 939 de la siguiente manera:

- Clase I: leche fría con más de 4 horas de TRAM
- Clase II: leche fría con 2 a 4 horas de TRAM
- Clase II: leche caliente con 30 minutos a 2 horas de TRAM (Comisión Venezolana de Normas Industriales, 1976).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

En cuanto a la calidad microbiológica de la leche pasteurizada, la norma COVENIN establece los límites indicados en la Tabla 2.

Tabla 2. Requisitos microbiológicos para leche pasteurizada

Características	Límite máximo por mL	Método de ensayo
Aerobios mesófilos (UFC/mL)	2.0×10^4	COVENIN 902
Coliformes totales (NMP/mL)	93	COVENIN 1104

Fuente: (Comisión Venezolana de Normas Industriales, 1976).

Procesos de Pasteurización

La pasteurización es un proceso térmico químico realizado a los alimentos: los procesos térmicos se pueden realizar con la intención de disminuir las poblaciones patógenas de microorganismos o para desactivar las enzimas que modifican los sabores de ciertos alimentos. No obstante, en la pasteurización se emplean generalmente temperaturas por debajo del punto de ebullición (en cualquier tipo de alimento), ya que en la mayoría de los casos las temperaturas superiores a este valor afectan irreversiblemente ciertas características físicas y químicas del producto alimenticio.

www.bdigital.ula.ve

Así, por ejemplo, si en la leche se sobrepasa el punto de ebullición, las micelas de la caseína se “coagulan” irreversiblemente (o dicho de otra forma, la leche se "cuaja"). El proceso de calentamiento de la pasteurización, si se hace a bajas temperaturas, tiene además la función de detener los procesos enzimáticos. Hoy en día, la pasteurización se realiza a los alimentos en un proceso industrial continuo aplicado a alimentos viscosos, con la intención de utilizar la energía de manera eficiente y disminuir así también costes de producción.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Existen tres tipos de procesos bien diferenciados: pasteurización VAT o lenta, pasteurización a altas temperaturas durante un breve período (HTST, del inglés *High Temperature/Short Time*) y proceso a altas temperaturas (UHT, del inglés *Ultra-High Temperature*) (Wilbey, 1993).

Proceso VAT

Fue el primer método de pasteurización, aunque la industria alimentaria lo ha ido renovando por otros sistemas más eficaces. El proceso consiste en calentar grandes volúmenes de leche en un recipiente estanco a 63 °C durante 30 minutos, para luego dejar enfriar lentamente. Debe pasar mucho tiempo para continuar con el proceso de envasado del producto, a veces más de 24 horas (Wilbey, 1993).

Proceso HTST

www.bdigital.ula.ve

Este método es el empleado en los líquidos a granel, como la leche, los zumos de fruta, la cerveza, etc. Por regla general, es el más conveniente, ya que expone al alimento a altas temperaturas durante un período breve y además se necesita poco equipamiento industrial para poder realizarlo, reduciendo de esta manera los costes de mantenimiento de equipos. Entre las desventajas del proceso está la necesidad de contar con personal altamente calificado para la realización de este trabajo, que necesita controles estrictos durante todo el proceso de producción (Wilbey, 1993).

Existen dos métodos distintos bajo la categoría de pasteurización HTST: en "batch" (o lotes) y en "flujo continuo". Para ambos métodos la temperatura es la misma (72 °C durante 15 segundos) (Durán, 2008).

En el proceso "batch" una gran cantidad de leche se calienta en un recipiente estanco (autoclave industrial). Es un método empleado hoy en día sobre todo por los pequeños productores debido a que es un proceso más sencillo. A diferencia de este, en el proceso de "flujo continuo", el

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

alimento se hace circular entre dos placas de metal, también denominadas intercambiador de calor de placas o de forma tubular (PHE). Este método es el más aplicado por la industria alimentaria a gran escala, ya que permite realizar la pasteurización de grandes cantidades de alimento en relativamente poco tiempo (Durán, Guevara y Rodriguez, 2008).

Proceso UHT

El proceso UHT es de flujo continuo y mantiene la leche a una temperatura superior más alta que la empleada en el proceso HTST, se realiza a aproximadamente 138 °C durante un período de al menos dos segundos. Debido a este muy breve periodo de exposición, se produce una mínima degradación del alimento. La leche cuando se etiqueta como "pasteurizada" generalmente se ha tratado con el proceso HTST, mientras que la leche etiquetada como "ultrapasteurizada" o simplemente "UHT", se debe entender que ha sido tratada por el método UHT.

www.bdigital.ula.ve

El reto tecnológico del siglo XXI es poder disminuir lo más posible el período de exposición a altas temperaturas de los alimentos, haciendo la transición de altas a bajas temperaturas lo más rápida posible, disminuyendo el impacto en la degradación de las propiedades organolépticas de los alimentos; por esta razón, se está investigando la tecnología basada en microondas, que permite este tipo de efectos (es empleado incluso en carnes) (Durán, Guevara y Rodriguez. 2008).

Control de calidad

El control de calidad, son todos los mecanismos, acciones, mediciones realizadas para detectar la presencia de errores. La función del control de calidad existe primordialmente como una organización de servicio, para conocer las especificaciones establecidas por la ingeniería del producto y proporcionar asistencia al departamento de fabricación,

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

para que la producción alcance estas especificaciones. Como tal, la función consiste en la recolección y análisis de grandes cantidades de datos que después se presentan a diferentes departamentos para iniciar una acción correctiva adecuada (Juran y Gryna, 1995).

Todo producto que no cumpla las características mínimas para decir que es correcto, será eliminado, sin poderse corregir los posibles defectos de fabricación que podrían evitar esos costos añadidos y desperdicios de material. Para controlar la calidad de un producto se realizan inspecciones o pruebas de muestreo para verificar que las características del mismo sean óptimas. El único inconveniente de estas pruebas es el gasto que conlleva el control de cada producto fabricado, ya que se eliminan los defectuosos, sin posibilidad de reutilizarlos. Por ello la función principal de los productos o servicios es que cumplan con los requisitos mínimos de calidad (Juran y Gryna, 1995).

Calidad y evaluación de la leche cruda

www.bdigital.ula.ve

La leche cruda de buena calidad no debe contener residuos ni sedimentos; no debe ser insípida ni tener color y olor anormales; debe tener un contenido de bacterias bajo; no debe contener sustancias químicas (por ejemplo, antibióticos y detergentes), y debe tener una composición y acidez normales. La calidad de la leche cruda es el principal factor determinante de la calidad de los productos lácteos. No es posible obtener productos lácteos de buena calidad sin contar con leche cruda de buena calidad (Soin, 1997).

La calidad higiénica de la leche tiene una importancia fundamental para la producción de una leche y productos lácteos que sean inocuos e idóneos para los usos previstos. Para lograr esta calidad, se han de aplicar buenas prácticas de higiene a lo largo de toda la cadena láctea. Los productores de leche a pequeña escala encuentran dificultades para producir productos higiénicos por causas como la comercialización, manipulación y procesamiento informal y no reglamentada de los

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

productos lácteos; la falta de incentivos financieros para introducir mejoras en la calidad, y el nivel insuficiente de conocimientos y competencias en materia de prácticas de higiene (Soin, 1997).

Las pruebas y el control de calidad de la leche deben realizarse en todas las fases de la cadena láctea. La leche puede someterse a pruebas de:

- Cantidad: medida en volumen o peso;
- Características organolépticas: aspecto, sabor y olor;
- Características de composición: especialmente contenido de materia grasa, de materia sólida y de proteínas;
- Características físicas y químicas;
- Características higiénicas: condiciones higiénicas, limpieza y calidad;
- Adulteración: con agua, conservantes, sólidos añadidos, entre otros.
- Residuos de medicamentos.

www.bdigital.ula.ve

Como ejemplos de métodos de pruebas para evaluar la leche para los productores y procesadores de leche de pequeña escala de los países en desarrollo tenemos la prueba del sabor, olor y observación visual (o prueba organoléptica); las pruebas con densímetro o lactómetro para medir la densidad específica de la leche; la prueba del cuajo por ebullición para determinar si la leche es agria o anormal; la prueba de acidez para medir el ácido láctico en la leche, y la prueba de Gerber para determinar el contenido de grasa de la leche (Soin, 1997).

Calidad y evaluación de la leche pasteurizada

Como se dijo antes, el proceso de pasteurización consiste en destruir mediante el empleo apropiado del calor, la totalidad de la Microbiota patógena y la casi totalidad de la flora banal que pudiese estar

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

presente en la leche, procurando alterar lo menos posible su estructura física, su equilibrio químico y vitaminas (Acevedo, 2015).

Sin embargo, después de una pasteurización adecuada de la leche, los microorganismos pueden llegar a ella directa o indirectamente, a través de mezclas con materiales contaminados, equipos defectuosos, contacto con las manos o ropa de los operarios, exposición a estornudos y tos o por caída de gotas de agua contaminada, produciendo de esta manera una re contaminación, constituyendo un peligro al consumidor, por lo que es necesario practicar pruebas que nos permitan evaluar si hubo recontaminación y poder así evitar o reducir el riesgo al mínimo (Acevedo, Davados y Torres, 2015).

La temperatura de la leche durante su transporte y almacenamiento es uno de los factores más importantes que afectan el crecimiento bacteriano y por lo tanto influye en su tiempo de conservación, determinando los tipos de microorganismos que se desarrollan y por ende en los cambios o tipos de descomposición que experimenta el producto (Acevedo, Davados y Torres, 2015).

www.bdigital.ula.ve

En las temperaturas de conservación óptimas de la leche, el deterioro de la misma está principalmente relacionado al crecimiento de microorganismos psicrótrofos, entre ellos cabe destacar al género *Pseudomonas*, los cuales alcanzan el producto por una contaminación posterior al tratamiento térmico, ya que no lo soportan, mientras que si la temperatura de conservación en cualquier punto de la cadena de distribución y comercialización se encuentra sobre el rango de los 10° a 12°C, situación muy común en nuestro medio, es la flora termodúrica la beneficiada y por lo tanto responsable de las alteraciones presentes (Silva, 2014).

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. Una prueba de coliformes positiva en productos lácteos pasteurizados denota mala pasteurización ó

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

contaminación post-pasteurización, por lo tanto debe rechazar (Silva, 2014).

Definición operacional de términos

Cepas

Población de células de una sola especie descendientes de una única célula, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias. De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica. (Madigan M., Martinko J., Dunlap P., Clark D.. 2009).

Colonias

Una colonia celular es un grupo de células con similares características, que actúan en conjunto, con la particularidad de no formar una unidad estructural mayor o tejido. Esta organización se observa tanto en organismos unicelulares procariotas como eucariotas. (Madigan. .2009).

www.bdigital.ula.ve

Agar

Uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio. El material alimenticio en el que crecen los microorganismos es el Medio de Cultivo y el crecimiento de los microorganismos es el Cultivo. Se han preparado más de 10.000 medios de cultivo diferentes. (Madigan M, Martinko J .2005).

Microorganismo

Un microorganismo, también llamado microbio u organismo microscópico, es un ser vivo que sólo puede visualizarse con el microscopio. Son organismos dotados de individualidad que presentan, a diferencia de las plantas y los animales, una organización biológica elemental. En su mayoría son unicelulares, aunque en algunos casos se trate de organismos cenóticos compuestos por células multinucleadas, o incluso multicelulares. (John L. Catherine A.2010)

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Operacionalización del Evento de Estudio

La operacionalización se emplea en investigaciones científicas para elegir el proceso mediante el cual se transforma la variable de conceptos abstractos a términos concretos, observables y medibles, mediante dimensiones e indicadores (Hernández, 2010).

Tabla 3. Operación del Evento de Estudio de calidad microbiológica de leche pasteurizada expendida en un supermercado del estado Mérida

Variable	Calidad microbiológica de la leche pasteurizada de diferentes clases expendida en un supermercado
Definición nominal	Según Díaz (2009), asegura que la temperatura de la leche durante el proceso de pasteurización y almacenamiento es uno de los factores más importantes a controlar para evitar la transmisión de microorganismos potencialmente patógenos mediante el consumo de este producto.
Definición operacional	La calidad microbiológica de la leche se determinará mediante análisis microbiológicos.
Dimensiones	Tipo de microorganismos Numero de microorganismos Control sanitario
Indicadores	Tipos de bacterias Bacterias aerobias mesófilas Coliformes totales Coliformes fecales Presencia de *Staphylococcus aureus* presuntivo Pseudomonas aeruginosa

Fuente: Gutierres y Salah.(2017)

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Hipótesis

La leche pasteurizada de diferentes clases, expendida en un supermercado del municipio Libertador del estado Mérida, cumple con los requisitos microbiológicos establecidos por la normativa venezolana, por lo que resulta adecuada para el consumo humano.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLOGICO

Tipo de investigación

La siguiente investigación es de tipo experimental; debido a que se caracteriza un hecho o fenómeno con la finalidad de establecer su comportamiento para comprobar una hipótesis establecida (Hernández, 2010). En este caso se evaluó la calidad microbiológica de la leche pasteurizada expendida en un supermercado del municipio Libertador del estado Mérida.

www.bdigital.ula.ve

Diseño de investigación

Este estudio se realizó con la finalidad de recolectar la información necesaria para responder a las preguntas de investigación. El diseño de la investigación es la estrategia general que adopta el investigador para responder el problema planteado (Hernández, 2010).

Es por ello que el diseño de investigación, es un diseño no experimental ya que el investigador no altera ni manipula los resultados. Esta investigación solo se limita a observar los acontecimientos sin intervenir en los mismos. A su vez es una investigación transeccional descriptiva debido a que solo recolecta datos en un momento y tiempo único y para conocer la calidad sanitaria de la leche pasteurizada expendida en el sitio estudiado en un momento definido.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Población y Muestra

Unidad de Investigación



Figura 7. Ubicación geográfica del área de estudio

Fuente: https://www.google.co.ve/maps

www.bdigital.ula.ve

Población

Estuvo representada por n=5 (16.6%) envases de leche pasteurizada de diferentes clases, de un total de 30 (100%) envases de leche pasteurizada, disponibles para la venta en un supermercado del estado Mérida al momento del muestreo.

Selección del Tamaño de la Muestra

Se seleccionaron de manera aleatoria 5 muestras de leche pasteurizada de diferentes clases (una muestra por tipo de leche) expendidas en un supermercado del municipio Libertador del estado Mérida, durante el mes de julio del año 2013, según se describe en la siguiente tabla:

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 4. Identificación de las muestras seleccionadas aleatoriamente para el estudio

Muestra	Descripción	Clase
1	Leche descremada	A
2	Leche completa	B
3	Leche descremada	A
4	Leche Completa	B
5	Leche completa saborizada	C

Fuente: Parte experimental (2017).

Todas las muestras fueron transportadas en cavas a una temperatura de aproximadamente 10ºC al Laboratorio de preparación de medios de cultivos (laboratorio 1) de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, a fin de realizar los análisis microbiológicos a la mayor brevedad posible.

www.bdigital.ula.ve

Procedimiento de la investigación

Medios de cultivo

Para realizar los análisis microbiológicos se utilizaron medios de cultivos deshidratados comerciales y medios preparados directamente por el fabricante, tales como los medios Petrifilm®, según se describe a continuación:

A) **Medios de cultivo Petrifilm® 3 M**

- Petrifilm® para recuento de bacterias mesófilas

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

B) **Medios de cultivos comerciales deshidratados**

- Agar Baird-Parker (BP) (HI-MEDIA) para la determinación de *Staphylococcus aureus.*

- Agar Eosina Azul de metileno (EMB) (HI-MEDIA) para bacterias coliformes.

- Agar Cetrimide (AC) (BD) para la determinación de *Pseudomonas aeruginosa*

Los medios de cultivo deshidratados se prepararon de acuerdo a las indicaciones del fabricante y se esterilizaron a una temperatura de 120ºC, durante un tiempo de 20 minutos y 15 PSI de presión. Posteriormente se distribuyeron en placas de Petri estériles y se dejaron solidificar hasta el momento de su utilización.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 5. Materiales utilizados

Materiales de vidrio	Equipos	Otros
Placas de Petri	Estufa	Tirro
Pipetas	Agitador magnético	Marcadores
Varilla acodada	Autoclave	Block de notas
Fiola		Asa en aro
Beaker		Mechero
Agitador de vidrio		
Matraz		

Fuente: Gutierrez y Salah (2017).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

METODOLOGIA

- ***Tratamiento de la Muestra***

Una vez adquiridas las cinco muestras de leche se transportaron en cavas refrigeradas al Laboratorio de preparación de medios de cultivos (laboratorio 1) de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. La manipulación de las muestras y realización de los análisis se hizo bajo condiciones asépticas.

- ***Cuantificación de bacterias aerobias mesófilas***

Para la detección de bacterias aerobias mesófilas se utilizaron placas de Petrifilm®, siguiendo las indicaciones establecidas en la norma COVENIN 3338 (Comisión Venezolana de Normas Industriales, 1997). En una superficie plana utilizando una pipeta en posición perpendicular a la placa, se inocularon por duplicado con un 1 ml de la muestra de leche. Las placas se incubaron a una temperatura de 30° C, por un período de 24-48 horas. Finalizado el tiempo de incubación se realizaron los cálculos correspondientes para expresar los resultados de los contajes en placas como unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL) de leche. Se consideraron bacterias aerobias mesófilas aquellas colonias pequeñas con un punto rojo en el centro.

www.bdigital.ula.ve

- ***Cuantificación de coliformes***

Para la determinación de coliformes se utilizó el método de siembra por extensión en placa, empleando el medio de cultivo Eosina Azul de metileno. Para ello se inocularon por duplicado las placas de agar con 1mL de cada muestra de leche. Las placas se incubaron a una temperatura de 37°C, por un período de 24-48 horas (APHA, 2001). Finalizado el tiempo de incubación se realizaron los cálculos correspondientes para expresar los resultados de los contajes en placas como UFC/mL. Se consideraron colonias características de coliformes

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

totales aquellas que presentaban tamaño pequeño, con un punto negro centrado, con o sin un brillo verde metálico, según lo descrito en la Norma COVENIN 3276 (Comisión Venezolana de Normas Industriales, 1997).

- ***Determinación presuntiva de Staphylococcus aureus***

Para la detección presuntiva de *S. aureus* se utilizó el medio de cultivo agar Baird-Parker. Se procedió inoculando las placas de agar por duplicado con 0,1 mL de cada muestra de leche. Seguidamente se incubaron las placas a una temperatura de 37ºC, por un periodo de 48 horas (APHA, 2001). Finalizado el tiempo de incubación se realizaron los cálculos correspondientes para expresar los resultados en unidades formadoras de colonia por mL (UFC/mL). Las colonias de apariencia negras, brillantes, pequeñas y rodeadas de un halo opaco fueron consideradas sospechosas de S*. aureus*, de acuerdo a lo establecido en la Norma COVENIN 1292 (Comisión Venezolana de Normas Industriales, 2004)

www.bdigital.ula.ve

- ***Detección de Pseudomonas aeruginosa***

Para la detección de *P. aeruginosa* como indicador de calidad sanitaria se utilizó agar cetrimide. Se inocularon placas con 0,1ml de cada una de las muestras. Las placas fueron incubadas a un temperatura de 37ºC, por un periodo de 48 horas (APHA, 2001). Una vez culminado el tiempo de incubación, se realizaron los cálculos correspondientes para expresar los resultados de los contajes en placas como unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL). Se consideraron colonias características de *P. aeruginosa* aquellas que presentaban tamaño pequeño y presencia de pigmento verde azulado alrededor.

Nota: cabe destacar que no se realizaron diluciones de la muestra (leche pasteurizada), sino que se sembraron directamente

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Diseño de Analisis

Se determinaron la media (ẋ), desviación estándar (DE), valor máximo y valor mínimo de los datos obtenidos en relación al crecimiento de colonias, utilizando el programa Excel 2010 de Microsoft®.

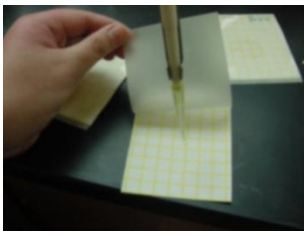
www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Diseño experimental



Leche pasteurizada



Petrifilm® para bacterias heterótrofas incubar 30ºC X 48 h

www.bdigital.ula.ve



Agar Baird Parker

Incubar 37 ºC x 48 h

Staphylococcus aureus



Agar Eosina azul de Metileno. Para coliformes

Incubar 37 ºC x 48 h



Agar Cetrimide. *Pseudomona aeruginosa*

Incubar37 ºC x 48 h

Figura 9. Diseño experimental

Fuente: Parte experimental (2017)

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los análisis de la calidad microbiológica realizada a tres clases de leche pasteurizada expendida en un supermercado del estado Mérida, se logró identificar una serie de bacterias potencialmente patógenas tales como, coliformes totales, coliformes fecales, bacterias aerobias mesófilas, S*. aureus* presuntivo, *P. aeruginosa* como indicador de calidad sanitaria, mohos y levaduras. La presencia de dichos microorganismos en la leche constituye un factor de riesgo para la comunidad, ya que estos podrían ocasionar enfermedades de transmisión alimentaria.

Debido a que la leche es uno de los alimentos más conocidos y consumidos mundialmente, una pasteurización inadecuada puede transformarla en un medio de transmisión de agentes bacterianos, parasitarios, virales y micoticos, representando un gran riesgo para la salud de los consumidores .en cuanto a la adquisición de enfermedades infecciosas

www.bdigital.ula.ve

En el presente trabajo de investigación, los resultados para bacterias aerobias mesófilas en las muestras de leche pasteurizada analizadas, evidenciaron crecimiento sólo en tres de las cinco muestras, a saber, en las dos leches descremadas y en una de las marcas de leche completa, tal como puede apreciarse en la tabla 5.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 6. Cuantificación del número de bacterias aerobias mesófilas en las muestras de leche pasteurizada analizadas

Muestra	BAM UFC/mL	Frecuencia	Porcentaje (%)
1	≥ 6,5 x 10^3	1	20
2	15 x 10	1	20
3	5 x 10	1	20
4	≤ 1 x 10	1	20
5	≤ 1 x 10	1	20
Total	-	5	100

Fuente: Parte Experimental (2017).

Como se puede observar en la tabla anterior, la muestra 1 (Leche descremada) resultó con el mayor recuento de bacterias aerobias mesófilas, alcanzando un valor ≥ 6,5 x 10^3 UFC/mL, lo que se considera un recuento bastante elevado en comparación con el resto de las muestras analizadas, sin embargo se encuentra dentro de los límites permitidos por la norma venezolana COVENIN 798:1994 para leche pasteurizada, la cual establece hasta 2.0 x 10^4 UFC/mL de bacterias aerobias mesófilas.

www.bdigital.ula.ve

De manera similar, los recuentos bacterianos de la muestra 2 (Leche completa) el cual fue de 15 x 10^1 UFC/mL y muestra 3 (Leche descremada) que fue de 5 x 10^1 UFC/mL resultaron menores en comparación al mencionado límite. Por su parte, las muestras 4 y 5 no evidenciaron crecimiento de bacterias aerobias mesófilas. En resumen, la totalidad de las muestras de leche analizadas se encuentran conformes con respecto a la normativa nacional de calidad en cuanto al indicador bacterias aerobias mesófilas.

En este sentido, es necesario destacar que el recuento de bacterias aerobias mesófilas estima la microflora total existente sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de un alimento, condiciones de manipulación, las condiciones higiénicas de la

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

materia prima, estima en cierta medida la posibilidad de que existan patógenos y puede ser indicativo de la inmediata alteración del producto. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera que un recuento elevado no significa presencia de flora patógena, razón por la cual es necesario realizar pruebas microbiológicas adicionales de aislamiento e identificación.

En un trabajo de investigación realizado por Luigi y col. (2013), en leche pasteurizada proveniente del estado Carabobo se obtuvo un recuento de bacterias aerobias mesófilas de 1,8 x 10^4 UFC/mL, es decir menor que el contaje de bacterias aerobias mesófilas obtenido en las tres muestras de leche provenientes de un supermercado que presentaron crecimiento bacteriano, lo que probablemente es debido a que el control de calidad interno de la planta procesadora en la que se elaboró la leche del mencionado estudio resultó eficiente y a que los tiempos, temperaturas de pasteurización y cadena de frio fueron aplicados correctamente.

www.bdigital.ula.ve

De manera similar, en un estudio realizado por Pinzón (2006), se obtuvo un recuento de bacterias aerobias mesófilas en leche pasteurizada proveniente de Popayán de 8 x10^3 UFC/mL. Este valor se considera superior a lo establecido por la norma sanitaria colombiana, lo que es indicativo de prácticas higiénicas inadecuadas durante la manipulación de este alimento, incluyendo deficiencias en el proceso de pasteurización y almacenamiento adecuado.

En vista de esta no conformidad, el mencionado autor realizó un segundo muestreo de un lote de leche pasteurizada después de aplicar estrictamente la cadena de frio, encontrándose que para las mismas marcas de leche analizadas el recuento de bacterias aerobias mesófilas había disminuido y era aceptable comparándolo con dichas normas. Estos resultados demuestran la gran importancia que posee el cumplimiento de la cadena de frio en la leche, ya que cuando se rompe esta cadena hay

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

proliferación de bacterias aerobias mesófilas afectando la calidad sanitaria de la misma.

Por su parte, Cammarata y Gutiérrez (1994), analizaron sesenta muestras de leche pasteurizada en el estado Mérida, encontrando para todas las muestras valores en los indicadores de calidad sanitaria, superiores a los permitidos por las normas nacionales. Del mismo modo los autores aislaron especies de los géneros *Listeria* y *Yersinia* en un 10% y 2% de las muestras analizadas respectivamente. Tales resultados reflejan una vez más que la leche pasteurizada puede convertirse en un vehículo de microorganismos potencialmente patógenos cuando no se emplean las prácticas adecuadas durante su fabricación, transporte y almacenamiento.

De manera similar, Cermeño y Peña (1998), analizaron la presencia de *Aeromonas spp.* en diez muestras de leche pasteurizada provenientes de los municipios Libertador y Campo Elías del estado Mérida, en el cual solo obtuvieron positividad para cinco de las muestras. Los mencionado autores aislaron en total cinco cepas, dos de ellas pertenecían a la especie *Aeromonas hydrophilia* (40%), otras dos cepas correspondieron a *Aeromonas shuberti* (40%) y una de las cepas resultó identificada como *Aeromonas caviae* (20%). Dichos resultados evidencian el hecho de que a pesar de que la leche pasteurizada tradicionalmente se ha considerado un producto seguro para el consumo humano desde el punto de vista sanitario ya que es sometida a un tratamiento térmico y procesamiento tecnológico a diferencia de la leche cruda, no se encuentra exenta de albergar microorganismos que pudieran ser potencialmente riesgosos para la salud de los consumidores. Por todo lo descrito anteriormente, no es de sorprender que este tipo de leche no cumpla en ocasiones con los requisitos de calidad microbiológica establecidos por la normativa nacional vigente y que resulte imperativo el hecho de mantener ciertas precauciones al momento de ingerir el producto.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

En relación al crecimiento de coliformes totales en las muestras de leche pasteurizada analizadas en el presente trabajo, se observó la aparición de colonias características (puntos negros con brillo metálico) en dos de las muestras, correspondientes a leche descremada y leche completa respectivamente (Tabla 6).

Tabla 7. Cuantificación del número de coliformes totales en las muestras de leche pasteurizada estudiadas

Muestra	Coliformes Totales UFC/mL	Frecuencia	Porcentaje (%)
1	26 x 10	1	20
2	1 x 10	1	20
3	≤ 1 x 10	1	20
4	≤ 1 x 10	1	20
5	≤ 1 x 10	1	20
Total	-	5	100

www.bdigital.ula.ve

Fuente: Parte Experimental (2017).

Tal como se puede observar en la tabla anterior, en la muestra 1 (Leche descremada) se obtuvo un recuento de 26 x10 UFC/mL, mientras que en la muestra 2 (Leche completa) sólo se evidenció la aparición de una colonia característica de la presencia de coliformes totales (1 UFC/mL) al finalizar el período de incubación.

A pesar de que la norma COVENIN 798:1994 Leche pasteurizada, establece como límite máximo para coliformes totales 93 NMP/mL, mediante el método del número más probable, se considera que la presencia de coliformes totales en las muestras estudiadas por el método de recuento en placa puede ser un indicativo de contaminación del producto ya que este grupo de microorganismos se encuentra ampliamente difundido en la naturaleza, agua y suelo, además, son habitantes normales del tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente, razón por la cual es necesario descartar la presencia de

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

coliformes fecales debido al potencial riesgo para la salud que estos representan.

En un estudio similar, Pérez (2004), encontró altos índices de bacterias coliformes totales en leche pasteurizada. En dicho estudio luego de que el autor realizó pruebas bioquímicas de los microorganismos aislados en las muestra de leche, logró demostrar la presencia de los géneros *Klebsiella* y Chromobacterium, así como la especie *Escherichia coli,* cuyo hallazgo es indicativo de la presencia de coliformes fecales.

Tal como se mencionó anteriormente, la presencia de estos microorganismos en los alimentos indica una posible contaminación de origen intestinal, es decir que los consumidores en caso de ingerir alimentos contaminados podrían estar expuestos a bacterias entéricas como *E. coli,* la cual está presente universalmente en las heces y en las aguas residuales y es fácilmente detectable por métodos rápidos. Muchas cepas de *E. coli* son causantes de enfermedad en humanos y animales, razón por la que no es aceptable su presencia en alimentos.

www.bdigital.ula.ve

En cuanto a la determinación de Coliformes Fecales, en los diferentes tipos de leche pasteurizada comercializados en un Supermercado del estado Mérida, sólo se obtuvo crecimiento en la muestra 1 (Leche descremada), según se describe en la siguiente tabla:

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 8. Cuantificación del número de coliformes fecales en muestras de leche pasteurizada analizadas.

Muestra	Coliformes Fecales UFC/mL	Frecuencia	Porcentaje (%)
1	10 x 10	1	20
2	≤ 1 x 10	1	20
3	≤ 1 x 10	1	20
4	≤ 1 x 10	1	20
5	≤ 1 x 10	1	20
Total	-	5	100

Fuente: Parte Experimental (2017).

La presencia de coliformes fecales en la muestra 1 refleja una inadecuada higiene de la planta industrial en la que fue elaborada y podría ser indicativo de un proceso de pasteurización inadecuado o de recontaminación del producto con materia fecal o aguas residuales, debido a que estos microorganismos pueden ser fácilmente destruidos por el calor utilizado en las diversas etapas de elaboración de la leche pasteurizada. En este sentido, la detección de contaminación fecal se debe realizar de forma rápida y precisa para proteger la salud humana y el medio ambiente. Los coliformes pueden proliferar en gran cantidad de alimentos, en agua y productos lácteos, razón por la cual la detección oportuna puede evitar daños a la salud humana (Vázquez, 2013).

www.bdigital.ula.ve

Algunos coliformes fecales de los géneros *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Escherichia* son causantes de enfermedades gastrointestinales agudas y crónicas. Estos microorganismos se encuentran presentes en ambientes naturales tales como los bosques, el agua fresca, el suelo, así como también en los productos provenientes de la agricultura (vegetales) donde residen normalmente como microflora (Reyes y col., 2010).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Adicionalmente, los coliformes fecales pueden ser recolectados de las heces de individuos potadores que no presentan síntomas de enfermedad así como también a partir de productos lácteos, mariscos crudos y vegetales frescos. Estos microorganismos al contaminar las aguas pueden estar presentes en el suelo usado para la producción de cultivos y en las aguas de pesca de mariscos, constituyendo un peligro para la salud (Fuentes, 2005). En otras palabras, las bacterias coliformes fecales pueden llegar a la leche por diferentes vías de contaminación, debido a prácticas sanitarias y pasteurización inadecuadas. el riesgo que representan para la salud se incrementa debido a que pueden permanecer en la leche e incrementar su población rápidamente.

En un trabajo de investigación realizado por Juarez (2015), realizó un estudio en leche pasteurizada proveniente de México, en el que no se observó crecimiento de coliformes termotolerantes, es decir que el producto alimenticio resultó aceptable en cuanto a este parámetro. Además de esto, el autor resaltó que en la leche pasteurizada, a diferencia de la leche cruda, la presencia de bacterias coliformes es inaceptable, ya que la temperatura de pasteurización las destruye y por ende su presencia puede ser indicativo de un proceso de pasteurización deficiente. En este sentido, las plantas procesadoras de leche son responsables directamente de la calidad del producto, desde el momento de recepción hasta que el alimento llegue a los lugares de comercialización de leche.

www.bdigital.uta.ve

Por otra parte, en los diferentes tipos de leche pasteurizada provenientes de un supermercado, no se obtuvo crecimiento alguno en las determinaciones de los indicadores de calidad sanitaria S. *aureus* presuntivo y P. *aeruginosa* en los respectivos medios de cultivo usados para su determinación, razón por la cual se considera que cumplen con las normativas de calidad sanitaria en cuanto a estos dos indicadores. Particularmente, la importancia de la detección de Staphylococcus *aureus* en muestras de leche se debe a que este microorganismo es el principal agente causal de mastitis en vacas lecheras, razón por la cual puede

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

estar presente en leche cruda e inclusive si el proceso de pasteurización de la leche es mal aplicado pueden sobrevivir estos microorganismos.

La presencia de S. *aureus* en alimentos se interpreta como indicador de contaminación proveniente de la piel, boca y fosas nasales de los manipuladores de alimentos así como falta de higiene en los materiales y equipos utilizados en el procesamiento del producto. Por su parte, el indicador de calidad sanitaria *Pseudomonas aeruginosa* resulta de interés debido a que es un microorganismo frecuentemente encontrado en agua y ambientes húmedos tales como una planta de fabricación de lácteos, en la cual el agua es un elemento utilizado en diversas etapas del procesamiento de la leche (para enfriamiento de leche cruda, lavado de equipo, vapor para calderas entre otras). La importancia de P. *aeruginosa* como indicador se incrementó cuando se comprobó su capacidad de inhibir los coliformes, siendo los indicadores de contaminación fecal más usados en el mundo, se corre un gran riesgo de consumir alimentos con índice de coliformes cero, los cuales podrían estar inhibidos por *Pseudomonas* (Valbuena y col. 2009).

www.bdigital.ula.ve

De manera general, en el siguiente gráfico se puede observar un resumen de los resultados obtenidos de los indicadores de calidad sanitaria en cada una de las clases de leche pasteurizada estudiadas:

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

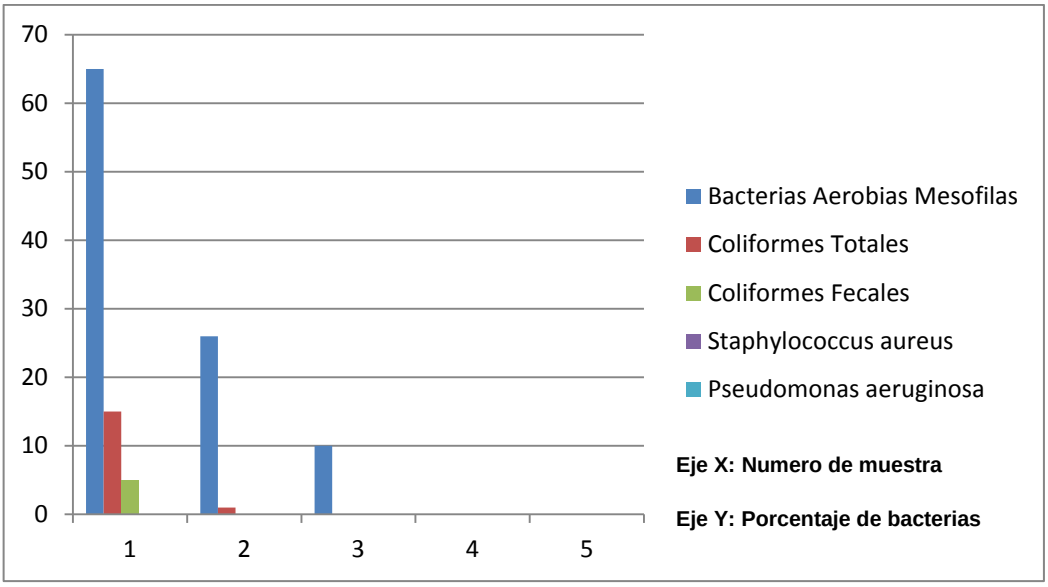


Grafico 1. Distribución de crecimiento bacteriano en los cinco tipos de leche pasteurizada analizadas

www.bdigital.ula.ve

A partir del grafico anterior se puede afirmar que la leche que resultó con mayor contaminación bacteriana fue la muestra 1 (Leche descremada), en la que se obtuvo crecimiento de bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales y fecales, seguida por las muestras 2 (Leche completa) que evidenció presencia de bacterias aerobias mesófilas y coliformes totales y muestra 3 (Leche descremada), en la que sólo se obtuvieron bacterias aerobias mesófilas. Por el contrario, en las muestras 4 (Leche completa), y 5 (Leche saborizada), no hubo crecimiento bacteriano de ningún tipo, por lo tanto estas dos últimas podría considerarse que resultaron con una calidad microbiológica superior que el resto de las muestras.

Es necesario destacar que las leches aromatizadas esterilizadas, mejor conocidas como leches saborizadas, tal como la muestra 5, las cuales gozan de gran aceptación en determinados países, suelen contener entre sus ingredientes sustancias estabilizantes para evitar la pérdida del aroma y otorgar mejor consistencia al producto. Este tipo de sustancias estabilizantes pueden actuar como conservadores del

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

producto, retrasando el crecimiento microbiano y por ende mejoran la calidad sanitaria del alimento. No obstante, aunque no existe un método oficial de análisis bacteriológico de las leches saborizadas, dicho control se realiza igual que el de leche pasteurizada (Alais, 1985).

Además de esto, a partir del Gráfico 1 se puede afirmar, que a excepción de la Leche descremada (muestra 1), la cual presentó crecimiento de coliformes fecales, el resto de las marcas de leche pasteurizada estudiadas se consideran aceptables desde el punto de vista microbiológico para el consumo de la población ya que cumplen con los requisitos microbiológicos establecidos por las normas COVENIN para leche pasteurizada.

En el caso de la muestra 1, se considera que estos resultados probablemente son debido a que algunas plantas pasteurizadoras de leche no cumplen con el control sanitario estricto que debiese existir, desde el personal humano hasta las condiciones de asepsia del equipo y maquinaria utilizada, por lo cual se recomienda a los organismos reguladores de dichas plantas realizar un seguimiento y evaluación periódica de estos establecimientos.

www.bdigital.ula.ve

Adicionalmente, luego de realizar la determinación de los indicadores de calidad sanitaria, las muestras 1, 2 y 3 se sembraron en placas de agar BHI a fin de realizar aislamiento y caracterización de colonias bacterianas. En total se aislaron y purificaron 14 colonias de las cuales sólo crecieron en repiques sucesivos ocho cepas provenientes de la muestra 1, identificadas con los números 7 al 14.

Los resultados de las pruebas bioquímicas realizadas a estas cepas (Winn y col., 2008) se presentan en la siguiente tabla:

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 9. Resumen de las pruebas bioquímicas realizadas a las colonias aisladas de la muestra 1

Cepas	7	8	9	10	11	12	13	14
Crecimiento	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalasa	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemolisis	No	No	No	No	No	No	No	No
BHI NaCl 6.5%	-	-	-	-	-	-	-	-
Bilis Esculina	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir de los resultados obtenidos anteriormente se puede afirmar que las colonias aisladas pertenecen al género *Streptococcus,* lo cual es sumamente importante ya que la identificación de este grupo bacteriano en leche quiere decir que en algún momento la vaca de la cual se extrajo la leche estaba infectada con dichos microorganismos o probablemente habría sufrido un cuadro de mastitis (inflamación de la glándula mamaria), y el proceso de pasteurización no fue suficiente para destruir estos microorganismos o no fue aplicado de manera correcta.

www.bdigital.ula.ve

Díaz (2009), afirma que los miembros del genero *Streptococcus* se presentan en forma esférica u ovoidea, agrupados en cadenas o pares, particularmente cuando se observan a partir de cultivos líquidos; inmóviles, no esporulados, Gram positivos, anaerobios facultativos, requieren para crecer medios enriquecidos, metabolismo homofermentativo, catalasa negativo. A pesar de que estos microorganismos no son patógenos para el hombre son indicativos del estado de salud del animal, en especial el *Streptococcus* causante de mastitis en las vacas es el *S. agalactiae*, que a diferencia de otros miembros del mismo género necesita obligatoriamente la glándula mamaria para su crecimiento.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- ✓ Se evidenció crecimiento de bacterias aerobias mesófilas (BAM) en tres de las cinco clases de Leche Pasteurizada analizadas en un rango de 5x10 hasta ≥6,5x10^3UFC/mL.

- ✓ En la muestra 1 presentó el mayor recuento de bacterias aerobias mesófilas, resultando un contaje de ≥6,5x10^3UFC/mL.

- ✓ Las tres clases de Leche Pasteurizada estudiadas cumplen con los límites establecidos por la Norma COVENIN 798:1994 Leche Pasteurizada en cuanto al recuento de bacterias aerobias mesófilas.

www.bdigital.ula.ve

- ✓ Se obtuvo crecimiento de coliformes totales igual a 26 UFC/mL en la Leche descremada.

- ✓ En la muestra 1 presentó coliformes fecales igual a 10x10 UFC/mL, lo cual es indicativo de contaminación o deficiencia en la higiene durante el envasado de la leche, por lo que no es recomendable su consumo.

- ✓ En ninguna de las tres muestra de leche pasteurizada analizadas se presentó crecimiento de *Staphylococcus aureus* ni de *Pseudomonas aeruginosa,* lo que se consideran conformes respecto a estos parámetros.

- ✓ Se aislaron ocho colonias provenientes de la Leche descremada, correspondientes al género *Streptococcus*, lo cual probablemente se

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

debe a que la materia prima utilizada en su elaboración provenía de vacas con mastitis y el proceso de pasteurización no eliminó completamente los microorganismos.

- ✓ Se acepta la hipótesis principal en la que se afirmaba que la leche pasteurizada expedida en un supermercado cumple con los requisitos establecidos por la normativa venezolana COVENIN y es apta para el consumo humano.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

RECOMENDACIONES

- ✓ Generar campañas de información dentro de las plantas pasteurizadoras de leche en las que se explique a los trabajadores y propietarios, los riesgos a los que está expuesta la población si el proceso de pasteurización no es aplicado de la manera correcta.

- ✓ Ampliar el número de muestras de leche pasteurizada, de manera que los resultados del análisis microbiológico sean más representativos.

- ✓ Orientar a la población en general, fundamentalmente a los representantes de niños en edad escolar sobre el consumo indiscriminado de leche pasteurizada, dado que este alimento no siempre se encuentra libre de microorganismos potencialmente perjudiciales para la salud.

www.bdigital.ula.ve

- ✓ Realizar una investigación a futuro que incluya el uso de galerías API para la identificación de los microorganismos aislados en leche pasteurizada e inclusive su caracterización mediante estudios de biología molecular.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

Acevedo Rojas, I. Davados Flores, L. Torres, F. (2015). Importancia de la calidad certificada de la leche bovina para consumidores del área metropolitana de la Ciudad de México. *Agrociencia,* 49 (1), 405-409.

Alais, C. y Lacasa, A. (1985). Alais, C. y Lacasa, A. (1985). Ciencia de la leche: principios de técnica lechera. Mexico: Editorial Reverte. Pp 234-236.

Alais, C. (1971). Ciencia de la leche. Barcelona: Editorial Continental. Pp 81-82.

www.bdigital.ula.ve

Albarez, S. (2000). Biología de la leche. Archivos latinoamericanos de Nutrición, 63 (1), 22-24.

Álvarez, J. (1999). Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico. Zootecnia tropical, 23 (3), 3-7.

Amiot, J. (1991). Ciencia y tecnología de la leche: principios y aplicaciones . Zaragoza-España: Editorial Acribia.

Araneda, M. (2015). *Leche y derivados, composición y propiedades,* Medellín-Colombia: Editorial Lvieco.

Ávila, J. Morales, A. Perez, F. Yañez, J. (2011). Características microbiológicas de la leche. Propiedades físicas. Atom, 21 (21), 2-3.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Azua, N. (2005). *Control de calidad de la leche pasteurizada.* Tesis de licenciatura no publicada. Universidad de Bolivia. Bolivia.

Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. Universidad Iberoamericana, campus Ciudad de México: Editorial Pearson.

Baggini, S. (2014). Seguridad alimentaria, bromatología y microbiología de los alimentos. Disponible en: https://bagginis.blogspot.com/2014/07/guia-practica-del-laboratorio_8.html. Recuperado el 29 septiembre 2017.

Barrera, S. y Velásquez, F. (2011). *Evaluación de la calidad microbiológica de leches saborizadas comercializadas en los principales supermercados del Distrito dos de la Zona Metropolitana de San Salvador*, Tesis de licenciatura no publicada. Universidad del Salvador, Salvador.

www.bdigital.ula.ve

Boscán, J. (2009). Bacterias patógenas potenciales al inicio del periodo seco de vacas doble propósito con mastitis subclinicas. *Revista científica,* 19 (3), 358-361.

Cammarata, E. y Gutiérrez, L. (1994). *Estudio microbiológico de muestras de leche cruda y pasteurizada de consumo en el distrito sanitario Mérida, Edo Mérida y Distrito Sanitario Santa Bárbara Edo Zulia,* Tesis de licenciatura no publicada. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Cermeño, T. y Peña, A. (1998). *Presencia de Aeromonas spp. en leche cruda de los municipios del estado Mérida, comparación con leche pasteurizada,* Tesis de licenciatura no publicada. Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Comisión venezolana de normas industriales (COVENIN). (1993). Norma 903: Leche cruda. Fondonorma, Caracas-Venezuela.

Comisión venezolana de normas industriales (COVENIN).(1994). Norma 798: Leche pasteurizada. Fondonorma, Caracas-Venezuela.

Comisión venezolana de normas industriales (COVENIN). (1993). Norma 939: Limites microbiológicos de la leche. Fondonorma, Caracas-Venezuela.

Courdent, M. (2004). La fábrica de leche. *Nuevo comienzo*, 16 (2), 5-6.

Curay, I. (2014). Razas de ganado lechero. Disponible en: http://israelcuray1993.blogspot.com/2012/07/razas-de-ganadolechero.html. Recuperado el 26 Diciembre 2014.

www.bdigital.ula.ve

Dávila, J. y Reyes, G. (2006). Evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo gouda en una industria venezolana. . *Archivos latinoamericanos de nutrición,* 56 (1), 122-124.

Díaz, C. (2009). *Microbiología de la leche y productos lácteos,* Mérida: Editorial Venezolana.

Durán, Z. Guevara, A. Rodríguez, C. (2008). Calidad microbiológica de la leche humana procesada en el banco de leche materna Ruiz y Páez, ciudad Bolívar. *Archivos venezolanos de puericultura y pediatría,* 71 (1), 649-685.

Fawcet, D. W. y Jensh, R. P. (1999). *Compendio de histología*, México: McGraw Hill.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Fuentes, G. Ruiz, R. Sánchez, J. (2013). Análisis metodológico de leche de origen orgánico. *Revista autónoma de México,* 10, 147-156.

Fuentes, F. (2005). Calidad Sanitaria de Alimentos disponibles al Público de la Ciudad de Sonora, México. *Revista Salud Pública y Nutrición,* 6(3), 231-237.

García, L. (2005). *La globalización productiva y comercial de la leche y sus derivados,* México: SOMEXAA.

García, O. (1987). *Acidez de la leche y determinación de adulteraciones.* Bogotá: Cartilla.

Garrido M, Gonzales V, Lemus A, Mirabal R. (2013). *Enfermedades infecciosas transmitidas por leche contaminada.* Tesis de licenciatura no publicada Universidad Central de Venezuela, Caracas.

www.bdigital.ula.ve

Gómez, M. (1938). Controversias entre la leche cruda y pasteurizada. *Armchair Science,* 5(1), 45-50.

Guillermo, A. (2010). Diferentes tipos de leche en el mercado. Disponible en: https://www.google.co.ve/search?q=diferentes+tipos+de+leche+disponibles+en+el+mercado&source html. Recuperado el 27 de septiembre del 2017.

Hayes P, R.. (1993). Microbiología e higiene de los alimentos. Zaragoza-España: Editorial Acribia. Pp 1230-1234.

Hernández, R.; Fernández, C. y Baptista, P. (2010). *Metodología de la Investigación*. (Quinta edición). México: McGraw-Hill Educación.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Jensen R, G. Ferris y, C. Lammi-Keefe, C . (1991). The Composition of Milk Fat. *Rev. Dairy Science,* 74 (9), 3228-3243.

John L. Catherine A.. (2010). *Introducción a la Microbiología* . mexico: Reverte S.A.

Juárez Barrientos, J. (2015). Evaluación y clasificación de la calidad de leches comerciales consumidas en Tuxtepec, Oaxaca, México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios,* 2(6), 1208-1215.

Juran, J. y Gryna, F. (1995). *Análisis y Planeación de la Calidad,* México: McGraw Hill.

www.bdigital.ula.ve

Ladueño, F. (1997). *Elaboración de derivados de la leche,* Lima: Bruño.

Larrañaga, I. Carballo, J. Rodríguez, M. y Fernández, J. (1999). *Control e higiene de los alimentos,* España: McGraw Hill.

Lodoño, A. Mejia, M. (2010). Exclusive Breastfeeding Related Factors and Early Introduction of Whole Milk in Low Socioeconomic Status Communities. *Gerenc. Polit. Salud*, 9(19), 124-137.

López, M. Blanes, M. Herrera, M. Mora, C. (2010) ``Estudio de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche humana colectada por el banco de leche del hospital materno infantil San Pablo´´. Tesis de licenciatura no publicada, Universidad Nacional de Asunción, La Asunción.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Luigi, T. Rojas, L. y Valbuena, O. (2013). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. Leche, bacterias *Salmonella* spp., calidad microbiológica. *Salud*, 17(1), 25-33.

Madigan M., Martinko J., Dunlap P., Clark D. (2009). *Biología de los microorganismos.* mexico: Pearson Educación.

Magariños, H. (2000). *Producción higiénica de leche cruda,* Guatemala: Editorial Peluma.

Mena, W. (2010). *La Leche,* Guárico, Venezuela: Editorial Cultura. Pp 12-13.

Merli, G. (2009). Microbiología de la leche. Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional, 11 (1), 56-57.

www.bdigital.ula.ve

Molina, J. (2001) *La leche y sus caracteristicas*, Puerto rico: Editorial Combel. Pp 41-42.

Pérez, C. (2010). Importancia de la leche en nuestra salud. *Agrociencia*, 49 (1), 101-112.

Pérez, V (2004), Determinación de coliformes totales en los productos lácteos y su comparación entre dos queserías del municipio de pijijiapan, Chiapas, México. Tesis de licenciatura no publicada, Facultad de ciencias químicas UNACH. México.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Pinzón, A. (2006). Determinación del índice de bacterias mesófilas aerobias presentes en la leche cruda versus leche pasteurizada que se comercializan en la zona urbana de la ciudad de Popayán. Universidad nacional abierta y a distancia, Colombia.

Piña, B. Zambrano de F, M. (2001) Calidad Microbiológica de la leche del tanque y aislamiento de patógenos contagiosos en la hacienda La Morusca. Tesis de licenciatura no publicada, Universidad Nacional Experimental del Táchira UNET, San Cristóbal, Táchira, Venezuela.

Ray, B. y Bhunia, A. (2010). *Fundamentos de microbiología de los alimentos,* México: McGraw Hill.

Real Academia Española. (2001). *Diccionario de la lengua española, Pasterización.* España: Espasa Calpe.

www.bdigital.ula.ve

Reyes, G. Vásquez, S. Loaiza, E. (2010). Calidad higiénica y sanitaria de leche cruda acopiada en diferentes regiones colombianas. *Orinoquia*, 16(2), 2012-2014.

Ríos, A. (1987). Estudio citológico y microbiológico de leche equina en diferentes estados de lactancia. *Monografías de medicina veterinaria,* 9(2), 87-93.

Roldan, M. (2007). Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de *Escherichia coli*, a partir de productos cárnicos y leche. *Revista argentina de microbiología*, 39(2), 1759-1768.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Román, S. Guerrero, L. Pacheco, L. (2009). Evaluación de la calidad fisicoquímica, higiénica y sanitaria de la leche cruda almacenada en frio. Tesis de licenciatura no publicada, Universidad de Los Andes, Táchira.

Rosales, Y. Díaz, C. (2006). Evaluación de la calidad microbiológica de helados caseros en Mérida, Venezuela. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/268375920_EVALUACION_DE_LA_CALIDAD_MICROBIOLOGICA_DE_HELADOS_CASEROS_EN_MERIDA_VENEZUELA. Recuperado el 28 Enero 2015.

Silva, R. (2014). Evaluación de las prácticas de ordeño, la calidad higiénica y nutricional de la leche en el municipio de Granada, Antioquia-Colombia. *U.D.C.A Act. & Div. Cient.*, 17(2), 467-475.

Soin, S. (1997). *Control de Calidad Total,* México: McGraw Hill.

www.bdigital.ula.ve

Solano, C. (2005). *Prácticas de microbiología general,* Navarra: ITA.

Spreer, E. (1986). *Propiedades Microbiológicas de la leche,* España: Acribia.

Valencia, O. (2001). *Manual para la elaboración de productos lácteos,* México: Colima.

Valero, K. Olivares, Y. Perozo, A. Valbuena, E. (2010). Susceptibilidad a los agentes antimicrobianos en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en leche de bovinos con mastitis subclínica y leche de tanque. *Revista científica.* 20(4), 2100-2109.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Valbuena, E. Castro, G. Lima, K. Acosta, W. (2009). Calidad microbiológica de las principales marcas de leche pasteurizada distribuidas en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. *Revista científica,* 14(1), 59-67.

Vázquez, E. Pérez, E. Hurtado, L. Alcántara, L. (2014). Evaluación de la calidad microbiológica de la leche: Revisión Sistemática de 2003 a 2013. *ICE,* 5, 587-591.

Vázquez, S. (2013). *Importancia de los coliformes en los alimentos,* México: Interamericana.

Villacres, P. (1997). La pasteurización y sus beneficios. *Contexto ganadero*, 12, 650-655.

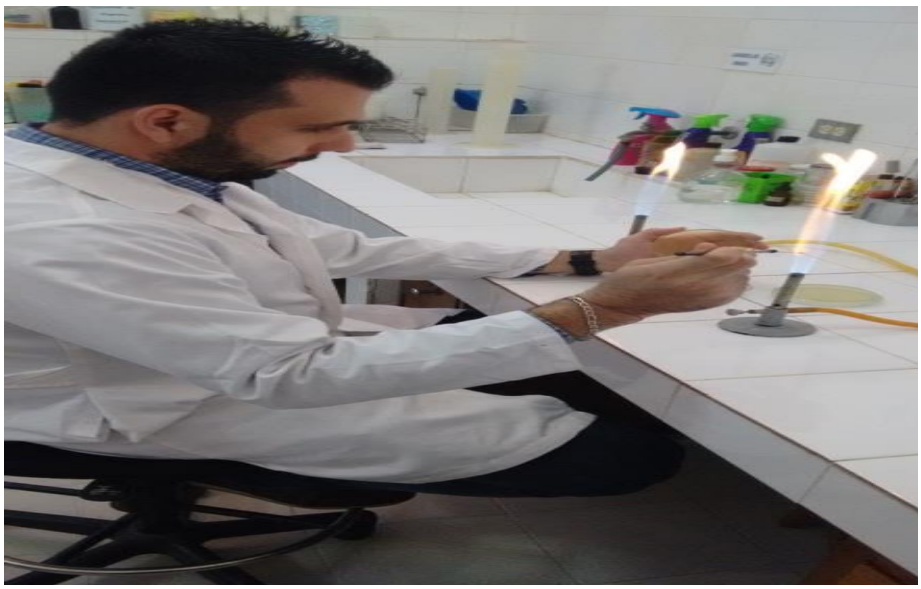
Wilbey, R. (1993). *Pasteurization of foods: Principles of pasteurization,* USA: Academic press.

www.bdigital.ula.ve

Winn, W. Allen, S. Janda, W. Woods, G. Procop, G, Schrenckenberger, P (2008). *Koneman Diagnóstico microbiológico.* Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ANEXOS



Anexo 1. Fotografía de la preparación del área para siembra de las muestras de leche pasteurizada

www.bdigital.ula.ve



Anexo 2. Fotografía de las placas de agar para siembra de las muestras de leche pasteurizada

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)



Anexo 3. Fotografía de la incubación de las muestras en estufa



Anexo 4. Fotografía del área de las neveras en las que se recolectaron las muestras de leche en un supermercado

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)