



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

POSGRADO

PROGRAMA DE MAESTRÍA

MODALIDAD DE TITULACIÓN PROYECTO DE

DESARROLLO

Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico de

Magister en LABORATORIO CLÍNICO MENCIÓN

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Tema: Control microbiológico en la empresa de productos lácteos
SOPRAB alimentos KAZU del cantón Ambato en la provincia de
Tungurahua

Autora: Grimanesa Thalía Tobar Martínez

Directora: Bqf. Mg. María Fernanda Tinajero Vasconez

Ambato – Ecuador

2022



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN LABORATORIO CLÍNICO
MENCIÓN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

INFORMACIÓN GENERAL

TEMA: Control microbiológico en la empresa de productos lácteos SOPRAB
alimentos KAZU del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua

AUTOR: Grimanesa Thalía Tobar Martínez

Grado académico: Licenciada en Laboratorio Clínico

Correo electrónico: grimismayo@gmail.com

DIRECTOR: Bqf. Mg. María Fernanda Tinajero Vasconez

LINEA DE INVESTIGACION

- Epidemiología y Salud pública

APROBACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

A la Unidad Académica de Titulación de Posgrado de la Facultad Ciencias de la Salud. El Tribunal receptor de la Defensa del Trabajo de Titulación presidido por la **Dra. Especialista Elena Vicenta Hernández Navarro Phd**, e integrado por los señores: **Bqf. Anabell del Rocío Urbina Salazar PHD**, y **Bqf. Pacha Jara Ana Gabriela Mg**, designados por la Unidad Académica de Titulación de Posgrado de la Facultad Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Titulación con el Tema: **CONTROL MICROBIOLÓGICO EN LA EMPRESA DE PRODUCTOS LÁCTEOS SOPRAB ALIMENTOS KAZU DEL CANTÓN AMBATO PROVINCIA DE TUNGURAHUA** elaborado y presentado por la señorita: **Lcda. Grimanesa Thalía Tobar Martínez**, para optar por el Grado Académico de Magister en Laboratorio Clínico, Mención Microbiología Clínica, según Resolución del CES: RPC-S0-32-No.537-2018; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Titulación el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la Universidad Técnica de Ambato.



Firmado electrónicamente por:
**ELENA VICENTA
HERNANDEZ
NAVARRO**

Dra. Esp. Elena Vicenta Hernández Navarro Phd.
Presidente y Miembro del Tribunal de Defensa



Firmado electrónicamente por:
**ANABELL DEL
ROCIO URBINA
SALAZAR**

Bqf. Anabell del Rocío Urbina Salazar Phd.
Miembro del Tribunal de Defensa



Firmado electrónicamente por:
**ANA
GABRIELA**

Bqf. Pacha Jara Ana Gabriela Mg
Miembro del Tribunal de Defensa

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el trabajo de Titulación presentado con el tema: **CONTROL MICROBIOLÓGICO EN LA EMPRESA DE PRODUCTOS LÁCTEOS SOPRAB ALIMENTOS KAZU DEL CANTÓN AMBATO PROVINCIA DE TUNGURAHUA** le corresponde exclusivamente a la **Lcda. Grimanesa Thalía Tobar Martínez** Autora bajo la Dirección del **Bqf. María Fernanda Tinajero Vasconez Mg.**, Directora del Trabajo de Titulación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.



Firmado electrónicamente por:
GRIMANESA
THALIA TOBAR
MARTINEZ

Lcda. Grimanesa Thalía Tobar Martínez
CC: 1805188107
AUTORA



Firmado electrónicamente por:
MARIA FERNANDA
TINAJERO
VASCONEZ

Bqf. María Fernanda Tinajero Vasconez Mg
CC: 1803569472
DIRECTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Titulación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad Técnica de Ambato.



Firmado electrónicamente por:
**GRIMANESA
THALIA TOBAR
MARTINEZ**

Lcda. Grimanesa Thalía Tobar Martínez
CC: 1805188107
AUTORA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

DEDICATORIA

A Dios por guiar cada pasó en mi camino, por darme fortaleza y llenar mi vida de bendiciones

A mi familia por su compañía y guía incesante.

Al amor de mi vida porque a lo largo de la realización de la tesis me brindó su apoyo y amistad incondicional, por ser guía y ser parte importante de este trabajo. Gracias por confiar en mí.

A mis amigos por su cariño y apoyo en esta etapa.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

AGRADECIMIENTO

Al concluir esta hermosa etapa de mi vida quiero dedicar este trabajo a quienes me enseñaron a ser perseverante y a luchar por mis sueños.

Por sus consejos, motivación constante, y sobre todo por el amor infinito que me han brindado les dedico todo mi esfuerzo y triunfos



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	1
AGRADECIMIENTO.....	2
ÍNDICE GENERAL.....	3
ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	6
ÍNDICE DE ANEXOS.....	7
RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	9
CAPÍTULO I.....	10
EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	10
1.1. Introducción.....	10
1.2. Justificación	11
1.3. Objetivos.....	13
CAPITULO II	14
ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	14
CAPÍTULO III.....	22
MARCO METODOLÓGICO.....	22
3.1. Ubicación.....	22
3.2. Equipos y materiales.....	22
3.3. Métodos de análisis microbiológico	23
3.4. Tipo de investigación	24



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

3.5. Población o muestra	25
Criterios de inclusión	27
Criterios de exclusión	27
Tamaño de la muestra	28
3.6. Recolección de información:	28
3.7. Variables respuesta o resultados alcanzados	29
CAPÍTULO IV	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
CAPÍTULO IV.....	42
5.3. BIBLIOGRAFÍA.....	46
ANEXOS.....	50



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Puntos de muestreo de leche en línea de proceso.....	25
TABLA 2. Requisitos microbiológicos según la Norma Técnica Ecuatoriana 27	
TABLA 3. Recuento de ufc/ml de Aerobios Mesófilos en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.	30
TABLA 4. Recuento de ufc/ml de Coliformes totales en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.....	33
TABLA 5. Recuento de ufc/ml de Mohos en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.....	35
TABLA 6. Recuento de ufc/ml de Levaduras en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.....	37



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Recuento de ufc/ml de Aerobios Mesófilos en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.	31
GRÁFICO 2. Recuento de ufc/ml de Coliformes totales en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.	33
GRÁFICO 3. Recuento de ufc/ml de Mohos en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.....	35
GRÁFICO 4. Recuento de ufc/ml de Levaduras en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.....	37



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012 (Leche Cruda, 50 Requisitos) Quinta revisión	50
ANEXO 2 Formato de recolección de datos.....	54
ANEXO 3: Recuento de unidades formadoras de colonia para coliformes totales	55
ANEXO 4: Recuento de unidades formadoras de colonia para aerobios mesófilos	56
ANEXO 5: Recuento de unidades formadoras de colonia para mohos y levaduras.....	57
ANEXO 6 Diagrama de flujo para el proceso de fabricación de majares	58
ANEXO 7 Diagrama de flujo para el proceso de fabricación de yogurt.....	59
ANEXO 8: MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	60



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

RESUMEN

Los productos lácteos son un componente esencial de la dieta diaria y la economía, pero pueden llegar a ser potencialmente peligrosos si no son procesados y distribuidos de la manera adecuada, por lo que es importante introducir un sistema que garantice la seguridad en toda la cadena alimentaria.

El objetivo principal del presente proyecto fue realizar un control microbiológico en la línea de producción en la empresa SOPRAB alimentos Kazu del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua,

Utilizando la técnica de recuento en placas Petrifilm para identificación de Aerobios Mesófilos, Coliformes totales, Mohos y Levaduras se realizaron muestreos en cinco puntos distintos en la línea de producción, en donde se obtuvo mayor recuento de microorganismo indicadores en el punto uno correspondiente a la materia prima, en los puntos posteriores los recuentos fueron disminuyendo hasta obtener ≤ 1 ufc/ml en el producto final.

Los resultados indican que en los dos primeros puntos muestreados el 100 % de las muestras se obtuvo un recuento elevado tanto para aerobios mesófilos (recuento promedio de 4971868.2 ufc/ml) y coliformes totales(recuento promedio de 49428.46 ufc/ml), pero a medida que se dio inicio al proceso de pasteurización los recuento para los microorganismos indicadores disminuyo, obteniendo un recuento promedio para aerobios mesófilos de 0 ufc/ml mientras que para coliformes totales, mohos y levaduras el recuento fue de 0 ufc/mL.

Los datos obtenidos se encontraron dentro de los valores recomendados en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012, se presentó total conformidad en la calidad microbiológica de la leche pasteurizada.

Palabras Clave: Leche pasteurizada, Control microbiológico. Placas Petrifilm, Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ABSTRACT

Dairy products are an essential component of the daily diet and the economy, but they can become potentially dangerous products if they are not processed and distributed properly, so it is important to introduce a system that ensures safety throughout the food chain.

The main objective of this project was to carry out a microbiological control in the milk pasteurization line in the dairy products company SOPRAB Alimentos Kazu in the Ambato canton in the province of Tungurahua.

Using the Petrifilm plate count technique for the identification of Mesophilic Aerobes, total coliforms, molds and yeasts, samples were taken at five different points in the pasteurization line, obtaining the highest count of indicator microorganisms at point one corresponding to the raw material; at subsequent points, the counts decreased until ≤ 1 cfu/mL was obtained in the final product.

The results indicate that in the first two points sampled, 100 % of the samples had a high count for both aerobic Mesophiles (average count of 4971868.2 cfu/ml) and total coliforms (average count of 49428.46 cfu/ml), but as the pasteurization process began, the counts for the indicator microorganisms decreased, obtaining an average count for Mesophilic aerobes of 306 cfu/ml while for total coliforms, molds and yeasts the count was 0 cfu/mL.

These data obtained were within the values recommended in the Ecuadorian Technical Standard NTE INEN 9:2012, showing total conformity in the microbiological quality of pasteurized milk.

Keywords: Pasteurized milk , Microbiological control, Petrifilm Plates, Ecuadorian Technical Standard NTE INEN 9:2012



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1.Introducción

Los productos lácteos son un componente esencial de la dieta diaria, pero pueden llegar a ser potencialmente peligrosos si no son procesados y distribuidos de la manera adecuada, por lo que es importante introducir un sistema que garantice la seguridad en toda la cadena alimentaria.

El análisis de peligros y puntos críticos de control es un enfoque de la seguridad alimentaria que permitirá la gestión del procesamiento higiénico y su trazabilidad, siendo una estrategia para reducir la prevalencia de enfermedades transmitidas por los alimentos. La higiene en la producción de los alimentos es un objetivo principal y generalizado para la industria alimentaria, así como el desarrollo y la implementación de tecnologías y sistemas mejorados para controlar la proliferación de microorganismos patógenos, la inocuidad de los alimentos ha mejorado significativamente la calidad de los productos lácteos y reducido los peligros para la salud pública asociados con estos productos (Boor et al., 2017).

Un monitoreo microbiológico constituye una importante herramienta para controlar que los procesos se realicen de forma correcta garantizando un producto de calidad, ya que la presencia de microorganismos indicadores como Coliformes totales, aerobios, mohos y levaduras presentes en los alimentos y superficies de trabajo son una señal de contaminación (Carrascosa et al., 2016).



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Existen normas establecidas con los criterios microbiológicos en las cuales se detallan los límites que pueden ser reconocidos como aceptables ante la presencia de microorganismos los cuales son seleccionados por su importancia como patógenos o como indicadores de higiene según el Codex Alimentarius (Código de prácticas de higiene para la leche y productos lácteos)(MINAGRI, 2009).

Durante la última década, se han investigado nuevos métodos con el propósito de desarrollar medios más precisos y eficientes para detectar el deterioro de la leche. Estos métodos incluyen indicadores basados en recuentos de bacterias, de pH y conjuntos de sensores de gas. Las placas Petrifilm son medios de cultivo versátiles compactados en una lámina delgada que posee un solidificante soluble al agua que permite la identificación rápida y eficiente de microorganismos en un periodo de tiempo corto, están diseñadas para el recuento de unidades formadoras de colonias en diferentes tipos de muestras (Lu et al., 2013).

Con esta investigación se pretende realizar controles microbiológicos dentro de la empresa de productos lácteos Kazu, para determinar los puntos críticos de control mediante la identificación de Coliformes totales, Aerobios, Mohos y levaduras utilizando placas Petrifilm, para poder corregir y minimizar el riesgo de contaminación de los alimentos

1.2. Justificación

Las enfermedades causadas por la ingesta de alimentos contaminados constituyen un problema grave de salud pública que afecta a la población mundial, teniendo gran influencia en la tasa mortalidad y morbilidad ya que pueden ir de una simple infección tratable hasta una complicada que llegaría a causar la muerte, sin embargo, estas



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

enfermedades no solo afectan al sector de salud, sino que tiene un impacto negativo en el área socioeconómica debido a la disminución en la productividad.

Estas enfermedades se generan principalmente por la ingesta de productos alimenticios contaminados con agentes infecciosos como bacterias, parásitos, hongos, virus los cuales son responsables del 70% de diarreas, afectando principalmente a personas vulnerables como niños, adultos mayores, mujeres embarazadas, inmunodeprimidos; aunque la fuente de transmisión varía continuamente. En la actualidad gracias a los avances tecnológicos (pasteurización, enlatados, agua potable), ayudan a la seguridad alimentaria de la población.

En la Gaceta General de enfermedades transmitidas por alimentos publicada por la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, menciona que en Ecuador se ha notificado 4925 casos de intoxicación alimentaria, las cuales en su mayoría fueron reportadas en la provincia del Oro con 1263 casos, mientras que en Tungurahua existieron 68 casos reportados.

Ecuador produce aproximadamente 3.5 millones de leche cruda, en donde la región sierra aporta con un 76.55%, seguido por la región costa con el 18.80% y el Oriente con 4.64 %; la provincia de Tungurahua ocupa el cuarto lugar de producción de leche a nivel nacional obteniendo 430.000 litros diarios.

Los agentes bacterianos pueden contaminar la leche en varias etapas: como la de obtención, procesamiento y distribución; convirtiéndose en los causantes del deterioro de la leche y los productos lácteos siempre que existan condiciones de crecimiento adecuadas para la proliferación de estos microorganismos



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

En la actualidad SOPRAB es una empresa familiar ubicada en el cantón Ambato provincia de Tungurahua dedicada a la elaboración de productos lácteos como yogurt, manjar de leche, quesos que son distribuidos en el centro del país. Diariamente recolectan 3000 litros de leche, los cuales son divididos en las diferentes áreas, 500 litros para yogurt, 300 litros para queso y 2200 litros para elaboración de manjar de leche. Frente a la responsabilidad de brindar alimentos inocuos a los consumidores se hace necesario realizar un seguimiento del proceso de producción para evaluar si se encuentra dentro de lo establecido en la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1529-10:2012 en la cual se especifica los requisitos que debe cumplir la leche pasteurizada de vaca, destinada para consumo directo o un procesamiento adicional.

1.3.Objetivos

1.3.1. General

Realizar un control microbiológico en la empresa de productos lácteos SOPRAB alimentos Kazu del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua.

1.3.2. Específicos

Desarrollar un seguimiento microbiológico en las diferentes etapas en la línea de producción de leche en la empresa SOPRAB.

Evaluar el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos aplicando la técnica de placas Petrifilm según la NTE INEN 9: 2008

Determinar el recuento de Coliformes Totales en la línea de producción en la empresa SOPRAB según la NTE INEN 10:2009

Observar el recuento microbiológico de mohos y levaduras mediante la utilización de placas Petrifilm según la NTE INEN 1529-10



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

CAPITULO II

ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Las enfermedades transmitidas por alimentos son una afección que se da por la contaminación de los productos con microorganismos patógenos como bacterias, virus y parásitos que afecta al consumidor de manera individual o colectiva.

Es un importante problema de salud pública, debido al aumento de casos, al desarrollo de nuevos medios de transmisión causando enormes pérdidas económicas en todo el mundo, afectando especialmente a países en vías de desarrollo, a los grupos poblacionales vulnerables como personas inmunodeprimidas, niños, ancianos y mujeres embarazadas (Kirk et al., 2015).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) señala que, de 9180 casos reportados, se atribuye el 69% a agentes bacterianos, el 9.7 % virus y un 1.8% a parásitos; causados frecuentemente por una contaminación de tipo biológica según los reportes OPS entre los años de 1993-2010. Por lo anterior recomienda instaurar sistemas de vigilancia permanentes que ayuden de manera oportuna la identificación de posibles brotes de enfermedades transmitidas por alimentos para el diseño de nuevas estrategias de prevención y control (Vora et al., 2014).

En Estados Unidos, los brotes asociados al consumo de productos lácteos son responsables de 760 enfermedades y 22 hospitalizaciones por año. La leche sin pasteurización fue responsable del 96% de las enfermedades causadas por la ingesta



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

de productos contaminados. La mayor parte de estos brotes son causados por la contaminación de patógenos en la granja lechera, que al consumir leche cruda directamente sin ningún tipo de tratamiento representa un problema grave de salud (Costard et al., 2017).

El Sistema Nacional de Vigilancia en Salud pública de Colombia reportó que entre 1998 y 2003 se presentaron 24089 casos de enfermedades transmitidas por alimentos, 5563 en 2007, aumentado a 6033 para el año 2008, señalando a los alimentos frecuentemente contaminados el pollo, queso y derivados lácteos y el pescado (Rios-Muñiz et al., 2019).

La incidencia de estas enfermedades es un indicador directo de la calidad de los alimentos, demostrándose que la contaminación se puede dar durante todo el procesamiento (elaboración, almacenamiento, transporte, distribución y expendio de alimentos) (Flores & Herrera, 2005).

El principal componente de la leche es el agua, en el cual se suspenden una amplia gama de nutrientes, como proteínas, grasas, vitaminas y carbohidratos. Estos ricos contenidos nutricionales, los procedimientos de producción y procesamiento la hacen susceptible a la contaminación por una gran cantidad de patógenos que podrían causar enfermedades en los humanos, convirtiéndose en un vehículo de transmisión de agentes infecciosos (Donkor et al., 2010).

La leche cruda incluso cuando se obtiene de manera adecuada, posee una amplia gama de bacterias gram positivas y negativas, que pueden ser patógenas u organismos comensales del animal o ser responsables de enfermedades en estos. La pasteurización



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

fue introducida en Estados Unidos en 1940 reduciendo los niveles de estos microorganismos contaminantes, algunas bacterias tienen la capacidad de sobrevivir a la pasteurización pero no pueden desarrollarse en refrigeración (Martin et al., 2018).

Existen varios puntos de contaminación de la leche cruda, el principal deriva de la recolección (ordeño debido a contacto de las ubres con el ambiente), procesamiento y almacenamiento. Si bien la pasteurización es un método eficaz para reducir microorganismos contaminantes y ha minimizado enfermedades, siguen existiendo casos asociados al consumo de productos lácteos contaminados, esto se atribuye a una alta carga bacteriana en la leche cruda aumentando el riesgo de supervivencia y por contaminación posterior a la pasteurización (Rodríguez-Díaz et al., 2022).

La prevención del crecimiento de bacterias contaminantes en la leche implica limitar los niveles de contaminación manteniendo las temperaturas de almacenamiento en frío. La pasteurización de la leche es un método eficaz para reducir el riesgo de contaminación y propagación de enfermedades (Gopal et al., 2015).

La pasteurización ha minimizado en gran medida la cantidad de enfermedades transmitidas por alimentos relacionados con productos lácteos, y los esfuerzos para reducir la contaminación de la leche durante todo el proceso antes y posterior a la pasteurización contribuye aún más a la disminución de estas (Costard et al., 2017).

La leche cruda contiene una amplia variedad de microorganismos contaminantes que influyen en la calidad del producto terminado, como las bacterias formadoras de esporas las cuales representan un reto porque pueden sobrevivir a los procesos típicos como la pasteurización. Estos microorganismos tienen la capacidad de producir



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

encimas que degradan la calidad del producto final, debido a esto existe un gran interés en reducir su presencia en leche cruda (Martin et al., 2019).

El recuento de bacterias Aerobias Mesófilos es un indicador de la presencia de flora total, pero sin especificación del tipo de bacteria, ayuda a determinar calidad sanitaria indicando las condiciones de higiene de la materia prima, mostrando el proceso y manipulación durante la elaboración (Lücking et al., 2013).

La industria láctea se ha basado en los Coliformes como un marcador que refleja la condición microbiológica de un alimento para detectar condiciones insalubres. Los coliformes son bacterias Gram negativas, facultativas anaerobias, que tienen forma de bastón y son capaces de fermentar lactosa para producir gas y ácido en 48 horas de 32 a 35 oC. Los coliformes representan un contaminante común de la leche cruda que se origina a partir de diversas fuentes ambientales y fecales (Martin et al., 2016) (Rojas et al., 2020).

Los mohos y levaduras están distribuidos ampliamente en el ambiente, se los puede encontrar conformando la flora normal de un alimento o como indicador de contaminación, algunas especies son productoras de micotoxinas que pueden alterar sustratos permitiendo la proliferación de patógenos.

La ubre de la vaca puede verse afectada por hongos patógenos, causándoles mastitis bovina llegando a contaminar la leche durante la extracción, estos agentes pueden llegar a transmitirse a los humanos a través de leche mal procesada, representado una amenaza de infección por hongos que pueden afectar principalmente a pacientes



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

inmunodeprimidos o con enfermedades crónicas (Milk-borne infections. An analysis of their potential effect on the milk).

Un estudio en el norte de Etiopía acerca de los peligros para la salud de las bacterias transmitidas por la leche, informó una mayor prevalencia de contaminación bacteriana de la leche (52%), de las 315 muestras cultivadas, el 52,1% (164) del recuento bacteriano total y el 40.6% (128) *Staphylococcus* (SC) > 10⁵, recuento de coliformes (CC) > 10² CFU / ml, excedieron el límite umbral de la calidad aceptable de la leche catalogando de mala calidad, ya que más de la mitad de leche muestreada muestran contaminación bacteriana (Berhe et al., 2020).

En Bangladesh se evaluó la calidad organoléptica, fisicoquímica y microbiana de diferentes leches comerciales y locales; en el análisis microbiológico se realizó un recuento en placa estándar y recuento de coliformes totales para identificar el estado microbiano de las muestras de leche. Encontraron ufc/ml en la leche cruda, mientras que en muestras de leche procesada están libres de microorganismos contaminantes (Karmaker et al., 2020).

En una fábrica en Bangladesh se realizó un estudio para evaluar la calidad microbiológica de la leche, donde se analizaron 348 muestras de leche cruda y 95 muestras de leche procesada. Casi el 72 % de las muestras de leche cruda estaban contaminadas con coliformes totales (≥ 100 UFC/ml), alrededor del 10 % de los productos estaban contaminados con *B. cereus* y *S. aureus*, Pero en la mayoría el recuento de los organismos estaba dentro del límite aceptable.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

En las muestras de leche pasteurizada se obtuvo que el 37% de muestras presentaban coliformes totales (>10 ufc/ml), mientras que no se encontraron recuento de estafilococos, *Shigella* spp, *Salmonella* spp. No se observó crecimiento bacteriano en estas muestras. Se concluyó que existe la presencia de coliformes totales en la materia prima como en el producto final, indicando que para la intervención se debe dar énfasis a nivel de productor (Islam et al., 2018).

En México se realizó un análisis longitudinal de la calidad microbiológica de muestras de leche para poder enfatizar la necesidad de implementar pautas nacionales de calidad microbiológica. Cada muestra se analizó para el recuento de bacterias aeróbicas-Mesófilos (BMA), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *E. coli*, con los métodos descritos en la Norma Mexicana de Lineamientos (NOM-243-SSA1- 2010) para leche pasteurizada, los resultados arrojaron que 83% de las muestras fueron positivas para coliformes totales, 54% para coliformes fecales y 46 % para *E. coli*; el 42% de las muestras excedieron los límites microbiológicos (Ríos-Muñiz et al., 2019).

En un artículo de revisión de literatura científica se analizó la prevalencia y los niveles de bacterias indicadoras encontradas en diferentes tipos de leche cruda, ya que en muchos países utilizan *Escherichia coli* y coliformes totales como indicadores de calidad sanitaria de alimentos y han establecido límites para poder catalogar a los productos según su nivel de inocuidad.

Estos estudios de todo el mundo mostraron que *E. coli* y los coliformes se encuentran en diferentes tipos de leche cruda pero generalmente en <100 UFC / ml o no se encuentran. Los casos en los que la leche cruda contenía niveles indicadores > 1000 ufc / ml se han atribuido principalmente a condiciones / producciones insalubres (Metz et al., 2020).



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

En Bolivia se realizó un estudio analítico, descriptivo y cuantitativo de Implementación del método alternativo Petrifilm en la empresa de lácteos Pairumani y el laboratorio LIDIVECO de SENASAG, donde se comparó y se realizó paralelamente los métodos de Placas Petrifilm y medios de cultivo convencionales para determinar bacterias aerobias mesófilas, coliformes/*Escherichia coli*, en muestras de leche que hayan permanecido más de dos horas en su tanque de almacenamiento. Se concluye que el método Petrifilm permite cuantificar bacterias indicadoras de contaminación a menos costo, en tiempo reducido, utilizando menor espacio y disminución de equipos que se utilizaba en métodos tradicionales (Augusto & Figueroa, n.d.).

En Venezuela se analizó la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada en expendios comerciales, receptoría de leche y finca productora de queso artesanal, evaluándose los microorganismos indicadores de calidad sanitaria en 100 muestras de leche pasteurizada y 40 de leche cruda.

Se encontró que los coliformes totales y termo tolerables un 45 % rebasaron los límites permisibles y el 72 % rebasan los límites establecidos, mientras que en Mesófilos aerobios el 92% de las muestras están dentro del límite permisible. En leche cruda el 72.5% de las muestras sobrepasan los límites de Mesófilos aerobios indicando deficiencias higiénicas (Ulises Espinoza et al., 2017).

En la normativa colombiana no se establece el recuento de coliformes totales y fecales como requisito para la evaluación de la calidad microbiológica de la leche, ya que la presencia de estos agentes indicadores afecta la vida útil de los productos derivados. Por lo que se realizó una investigación de la calidad de la leche de consumo humano



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

en dos localidades de Sucre, se tomaron 97 muestras de leche cruda y se sembraron en un método de recuento rápido de UFC/ ml.

Los resultados microbiológicos obtenidos fueron de 838941 coliformes/ml y 182155 coliformes/ml respectivamente demostrando la utilidad del recuento de coliformes totales y fecales para la inocuidad del producto (Arrieta B et al., 2019).

En un estudio realizado en las ganaderías de Cotopaxi Ecuador, se evaluó la calidad higiénica de la leche, se recogieron las muestras de acuerdo con la Norma Oficial Ecuatoriana INEN 0004, en donde se encontró valores hasta de 50 veces más del límite permitido en la norma ecuatoriana (1.5×10^6 UFC/ml), la cual afecta a la calidad del producto. Concluyeron que la mayoría de los parámetros de calidad composicional y fisicoquímica se ajustan a la normativa, exceptuando la calidad microbiológica cuyos resultados se le atribuyen al inadecuado almacenamiento de la leche (Guevara-Freire et al., 2019).



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación

El proyecto se llevó a cabo en la empresa de productos lácteos SOPRAB alimentos KAZÚ ubicada entre Itamaraty y Av. 22 de enero en la parroquia Atahualpa en el cantón Ambato provincia de Tungurahua, en la cual se destaca la producción de majar de leche para repostería, leche condensada, yogurt, quesos los cuales son distribuidos en el centro del país.

3.2. Equipos y materiales

Equipos de Laboratorio

- Incubadora
- Balanza de precisión
- Autoclave
- Estufa
- Refrigeradora

Materiales de Laboratorio

- Plantillas para muestreo de 20 cm²
- Pipetas de 100 – 1000 ul calibradas
- Agua Peptona Bufferada
- Puntas de 1 ml
- Papel absorbente
- Cinta para esterilización
- Fundas rojas para desecho de materiales
- Guantes Mascarillas



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

- Placas Petrifilm TM 3M para Mesófilos Aerobios, *Escherichia coli* / Coliformes totales Mohos y Levaduras.

3.3.Métodos de análisis microbiológico

Placas Petrifilm

Medios de cultivo versátiles compactados en una lámina delgada que posee un solidificante soluble al agua que permite la identificación rápida y eficiente de microorganismos en un periodo de tiempo corto, están diseñadas para el recuento de unidades formadoras de colonias en diferentes tipos de muestras.

Algunas de estas placas están recubiertas por polipropileno para poder evidenciar el gas producido por ciertas bacterias, también poseen indicadores de pH que facilita el recuento de las UFC en la cuadrícula gracias a la coloración de las colonias

Placas Petrifilm para recuento de Aerobios Mesófilos

Recuento de Población total de bacterias anaerobias, contiene nutrientes del Agar Standar Methods, un agente gelificante y un indicado de color rojo para el recuento de las colonias.

La determinación de aerobios Mesófilos en las diferentes muestras de leche durante toda la línea de pasteurización se realizó según la metodología de la norma técnica estandarizada nte INEN 1 259-5:2006



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Placas Petrifilm para recuento de Coliformes Totales

Posee nutrientes de bilis y rojo violeta, un agente gelificante soluble en agua fría. Un indicador de la actividad de glucoronidasa.

La determinación de Coliformes totales en las diferentes muestras de leche durante toda la línea de pasteurización se realizó según la metodología de la norma técnica estandarizada nte INEN 1 259-6:2006

Placas Petrifilm para recuento de Mohos y Levaduras.

Medio de cultivo con nutrientes de “Sabhi”, antibióticos (cloranfenicol y clorotetraciclina), un indicador de fosfatos, un agente gelificante soluble y un tinte indicador que facilita el recuento de las colonias.

La determinación de Mohos y levaduras en las diferentes muestras de leche durante toda la línea de pasteurización se realizó según la metodología de la norma técnica estandarizada nte INEN 1529-10:2013

3.4. Tipo de investigación

Investigación Cuasi experimental

Se identificó los microorganismos patógenos para conocer los puntos críticos de control y adoptar medidas correctivas para eliminar o minimizar a dichos microorganismos. Aplicando la técnica de recuento de coliformes totales - *Escherichia coli*, aerobios mesófilos, mohos y levaduras con placas Petrifilm, realizadas en dos muestreos, un inicial para identificar a los microorganismos y un segundo muestreo para verificar la eficiencia de las medidas correctivas adoptadas.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

3.5. Población o muestra

Para este estudio se tomaron muestras al inicio y final de la línea de producción, en 5 puntos (ver tabla 1), los dos primeros correspondientes a la leche antes del tratamiento térmico, y los tres posteriores a la leche después de la pasteurización.

TABLA 1. Puntos de muestreo de leche en línea de proceso.

PUNTOS DE MUESTREO	
P1	Silo de leche cruda
P2	Zona de precalentamiento
P3	Producto posterior a la pasteurización
P4	Producto antes del envasado
P5	Producto terminado

Elaborado: Tobar G, 2022 (Islam et al., 2018)

En cada punto se recolectó aproximadamente 50 ml de leche del mismo lote de producción, en el caso del punto una la materia prima (leche cruda) proviene de distintas fuentes de acopio de agricultores de la zona.

Se las colocó en tubos cónicos estériles para su transporte al laboratorio de análisis microbiológico. Se realizó una dilución 1:10, colocando 10 ml de cada producto o muestra obtenida junto con 90 ml de agua peptonada.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Técnica de recuento de Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales y *E.coli*, Mohos y Levaduras con placas petrifilm. 3M.

En el laboratorio se realizó el siguiente procedimiento para la siembra y posterior recuento de colonias:

1. Homogenizamos la muestra
2. Colocamos la placa Petrifilm en una superficie plana, levantamos el film de la parte superior
3. Utilizando una pipeta en posición perpendicular a la placa Petrifilm colocamos 1 ml de la muestra en la zona central del film inferior sin tocarlo.
4. Bajamos el film superior y lo dejamos caer, con la cara lisa hacia arriba colocamos el aplicador en el film superior del inóculo.
5. Ejercemos una leve presión en el aplicador para esparcir el inóculo sobre toda el área. No deslizar ni girar el aplicador.
6. Retiramos el aplicador, esperamos un minuto a que el gel se solidifique.
7. Incubamos las placas caras arriba y apiladas en grupos que no sobrepasen las 20 placas de acuerdo con los tiempos y temperaturas respectivas de cada microorganismo. Aerobios Mesófilos: 48 hrs. (± 3 hrs.) a 35°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$). Mohos y Levaduras: 25°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 3 a 5 días. Coliformes Totales y *E. coli*: 35°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 24 horas.
8. Transcurrido el tiempo se procedió a la lectura de las unidades formadoras de colonias de cada placa Petrifilm identificando así el microorganismo predominante y el alimento que lo contiene (3M Microbiology, 2003).



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

TABLA 2. Requisitos microbiológicos según la Norma Técnica Ecuatoriana

Requisitos	n	m	M	C	Método de ensayo
Recuento de microorganismos mesófilos, UFC/cm ³	5	30000	50000	1	NTE INEN 9: 2008
Recuento coliformes, UFC/cm ³	5	<1	10	1	NTE INEN 10:2009
Mohos y Levaduras UFC/g	5	ausencia	ausencia	1	NTE INEN 1529-10

Fuente: (INEN, 2012)

- **n:** unidades que constituyen la muestra.
- **c:** unidades de la muestra cuyo recuento se encuentran entre m y M (resultado aceptable si el número es menor o igual a m)
- **m:** Valor umbral del recuento (resultado satisfactorio si es igual o menor a m)
- **M:** Nivel límite de aceptabilidad (resultado no aceptable si tiene recuento de bacterias igual o mayor a M)

Criterios de inclusión

Muestras tomadas correctamente en los cinco puntos de procesamiento.

Muestras tomadas en tubos cónicos estériles.

Criterios de exclusión

Muestras derramadas

Tubos mal rotulados o codificados



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Tamaño de la muestra

Se realizó un muestreo en los cinco puntos de la línea de producción (ver tabla 1), de cada uno se obtuvo 50 ml de muestra, en un periodo de 15 días se analizaron 75 muestras.

3.6.Recolección de información:

Los datos se obtuvieron en base a los resultados obtenidos en la aplicación de la técnica de recuento de Coliformes Totales - *Escherichia coli*, Aerobios Mesófilos, Mohos y Levaduras con placas Petrifilm.

Todos los resultados obtenidos serán ingresados a un diario de campo en hojas de cálculo de Microsoft Excel 2010, en donde se llenarán los siguientes ítems:

1. Número asignado de la muestra (Rotulación o identificación de la placa)
2. Fecha, hora y personal responsable de la observación
3. Tiempo y temperatura de incubación
4. Cantidad (Unidades formadoras de colonias) y características de colonias observadas.
5. Tipo de microorganismo identificado (Según placa PETRIFILM utilizada)

Procesamiento de la información y análisis estadístico

Tomando como base el diario de campo realizado con los resultados de las unidades formadoras de colonias observadas en las placas Petrifilm para la identificación de Aerobios Mesófilos, Coliformes totales - *Escherichia coli*, hongos y levaduras respectivamente. El análisis estadístico se realizará en el Software estadístico SPSS.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

3.7. Variables respuesta o resultados alcanzados

La calidad microbiológica del proceso de pasteurización de la leche se basa en los resultados obtenidos de los cinco puntos muestreados de la línea de producción, si estos se encuentran dentro de los que establece la norma técnica ecuatoriana nte INEN 1529-10:2012, se utilizó un diario campo para la recolección de datos, el análisis se realizó utilizando la aplicación Excel 2021 y basa de datos estadísticos SPSS, para la tabulación de resultados identificando los principales microorganismos indicadores de contaminación.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

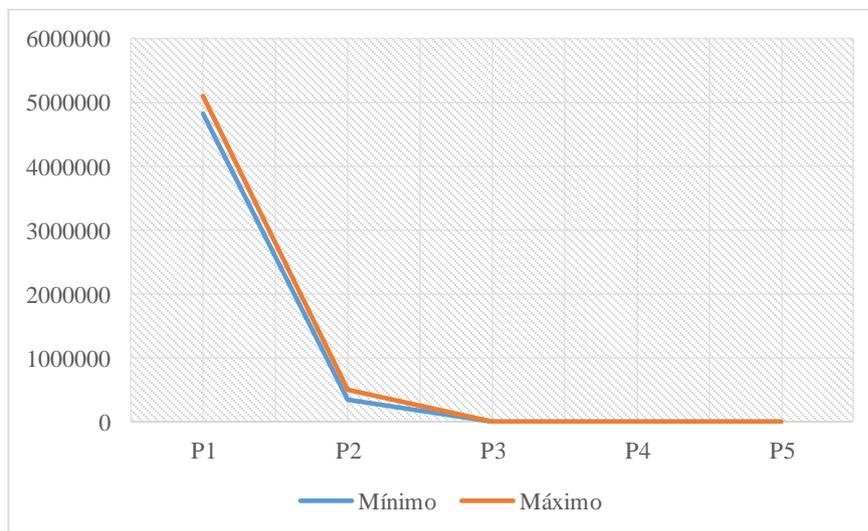
Los resultados que aquí se exponen corresponden al tema investigado sobre Control microbiológico en la empresa de productos lácteos SOPRAB alimentos KAZU del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua.

TABLA 3. Recuento de ufc/ml de Aerobios Mesófilos en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.

	Etapa de proceso	N	Mínimo	Máximo	Desv. Tip.
P1	Silo - Leche cruda	15	4823567	5099861	86801,2899
P2	Zona de precalentado	15	341259	496358	36450,1998
P3	Leche posterior a la pasteurización	15	0	0	0,000
P4	Producto antes del envasado	15	0	0	0,000
P5	Producto final	15	0	0	0,000

Elaborado: Tobar G, 2022

GRÁFICO 1. Recuento de ufc/ml de Aerobios Mesófilos en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.



Elaborado: Tobar G, 2022

En la tabla tres podemos observar que en el punto uno que corresponde al silo de leche cruda se obtuvo un recuento elevado de Aerobios Mesófilos con un valor mínimo de 4823567 ufc/ml y un máximo de 5099861 ufc/ml con una desviación típica de 86801,28; estos recuentos altos se atribuyen a que la leche no tiene ningún tipo de tratamiento previo, es importante tener presente la calidad de la materia prima para garantizar un producto de calidad.

En el punto dos que es la zona de precalentado se obtuvo valor mínimo de 341259 ufc/ml y un máximo de 496358 ufc/ml con una desviación típica de 36450,1998; la diferencia encontrada se atribuye al aumento de la temperatura que se somete la leche, la cual pasa de 4°C en el punto uno hasta 72 °C en el punto dos, evidenciándose una disminución considerable de microorganismos mesófilos pero el recuento obtenido sigue siendo alto, por lo que la leche no cumple con los requisitos para envasarse.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

En el punto tres que corresponde a la leche posterior a la pasteurización se obtuvieron valor mínimo de 0 ufc/ml y un máximo de 0 ufc/ml con una desviación típica de 0.000, un recuento que demuestra la eficiencia del proceso de pasteurización, cuyo objetivo es la eliminación de microorganismos patógenos y la reducción de la carga microbiana.

En el punto cuatro que corresponde a la leche antes del envasado el recuento mínimo fue de 0 ufc/ml y un máximo de 0 ufc/ml con una desviación típica de 0.000, mientras que en punto cinco del producto final se obtuvo un valor mínimo de 0 ufc/ml y un máximo de 0 ufc/ml con una desviación típica de 0.00; estos resultados reflejan una reducción notable de los microorganismos Mesófilos, un recuento que demuestra la eficiencia del proceso de pasteurización.

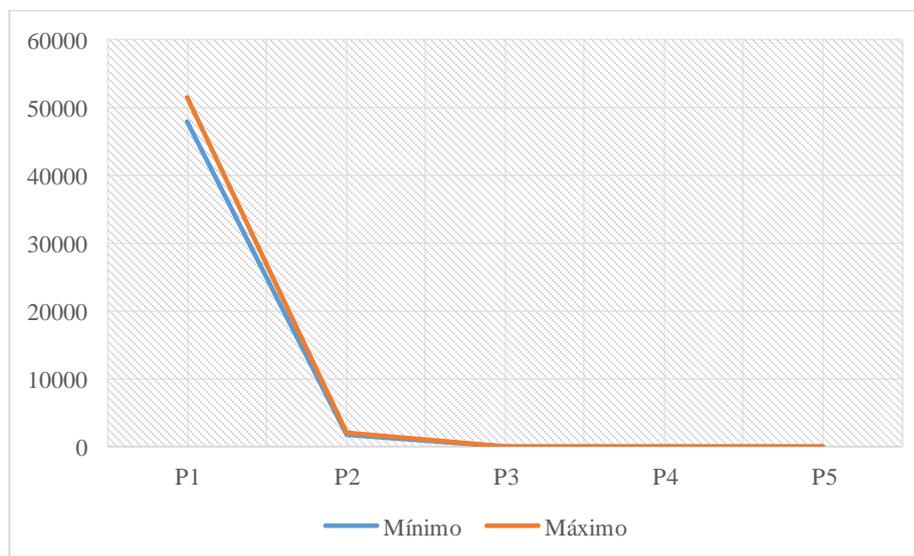
En el recuento de los últimos tres puntos no refleja variaciones significativas, lo que denota la baja probabilidad de contaminación en el transporte de la leche de un punto hacia el otro y la correcta conservación del producto procesado ya que los valores se encuentran dentro del rango permitido por la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN :2012

TABLA 4. Recuento de ufc/ml de Coliformes totales en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.

	Etapa de proceso	N	Mínimo	Máximo	Desv. Tip.
P1	Silo - Leche cruda	15	47890	51480	886,874
P2	Zona de precalentado	15	1756	1988	67,911
P3	Leche posterior a la pasteurización	15	0,00	0,00	0,000
P4	Producto antes del envasado	15	0,00	0,00	0,000
P5	Producto final	15	0,00	0,00	0,000

Elaborado: Tobar G, 2022

GRÁFICO 2. Recuento de ufc/ml de Coliformes totales en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.



Elaborado: Tobar G, 2022

Se puede observar en la tabla cuatro y en el gráfico dos los valores obtenidos del recuento de coliformes totales presentes en los cinco puntos que corresponde al proceso de pasteurización, donde podemos evidenciar que el punto uno de leche cruda valor mínimo de 47890 ufc/ml y un máximo de 51480 ufc/ml con una desviación típica



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

de 886,874 evidenciándose la falta de inocuidad de los agricultores en la extracción de la leche cruda.

El punto dos del precalentado el recuento presenta un valor mínimo de 1756 ufc/ml y un máximo de 1988 ufc/ml con una desviación típica de 67.911, los valores van disminuyendo en comparación del punto uno, ya que la leche fue sometida a un cambio térmico.

En el punto tres correspondiente a la leche pasteurizada se obtuvieron valores mínimos de 0 ufc/ml y un máximo de 0 ufc/ml con una desviación típica de 0.00; se presentó una disminución total 99.9 % de recuento de coliformes totales en comparación a los dos puntos anteriores. Esto se debe al tratamiento térmico al que se somete la leche para reducir en su totalidad los microorganismos patógenos existentes, la ausencia de coliformes totales en leche sometida a pasteurización es un indicador de eficiencia del proceso.

Con respecto al punto cuatro y cinco de post- pasteurización que corresponde al envasado y producto terminado se pudo evidenciar que no existe variación en los recuentos de coliformes totales, lo que representa la ausencia de puntos de contaminación en el transporte y en el proceso de envasado. Estos resultados demuestran un buen indicador de los procesos de limpieza y desinfección aplicados al pasteurizador y el área de procesos.



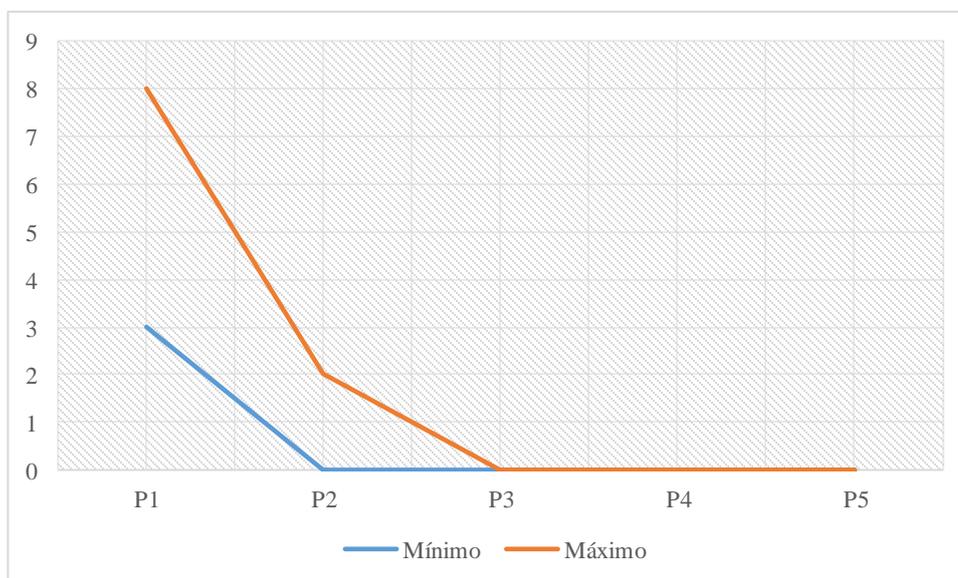
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

TABLA 5. Recuento de ufc/ml de Mohos en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.

Etapa de proceso	N	Mínimo	Máximo	Desv. Tip.
P1 Silo - Leche cruda	15	3	8	1,59463
P2 Zona de precalentado	15	0	2	0,63246
P3 Leche posterior a la pasteurización	15	0	0	0
P4 Producto antes del envasado	15	0	0	0
P5 Producto final	15	0	0	0

Elaborado: Tobar G, 2022

GRÁFICO 3. Recuento de ufc/ml de Mohos en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.



Elaborado: Tobar G, 2022



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

En la tabla cinco podemos observar el porcentaje de unidades formadoras de colonias de mohos, obteniendo en el punto uno que tiene un valor mínimo de 3 ufc/ml y un máximo de 8 ufc/ml con una desviación típica de 1,59463; su presencia podría atribuirse a una carencia en la higiene y desinfección de las ubres, contaminación por parte del operario en la materia prima.

En el punto dos tenemos un recuento mínimo de 0 ufc/ml y un máximo de 2 ufc/ml con una desviación típica de 0,63246, reducción que se atribuye al cambio de temperatura.

En los tres puntos siguientes que corresponde a la leche pasteurizada, al producto antes del embazado y el producto final los recuentos fueron de 0 ufc/ml, los cuales se encuentran dentro del límite de aceptación, ninguna muestra excedió el límite recomendado



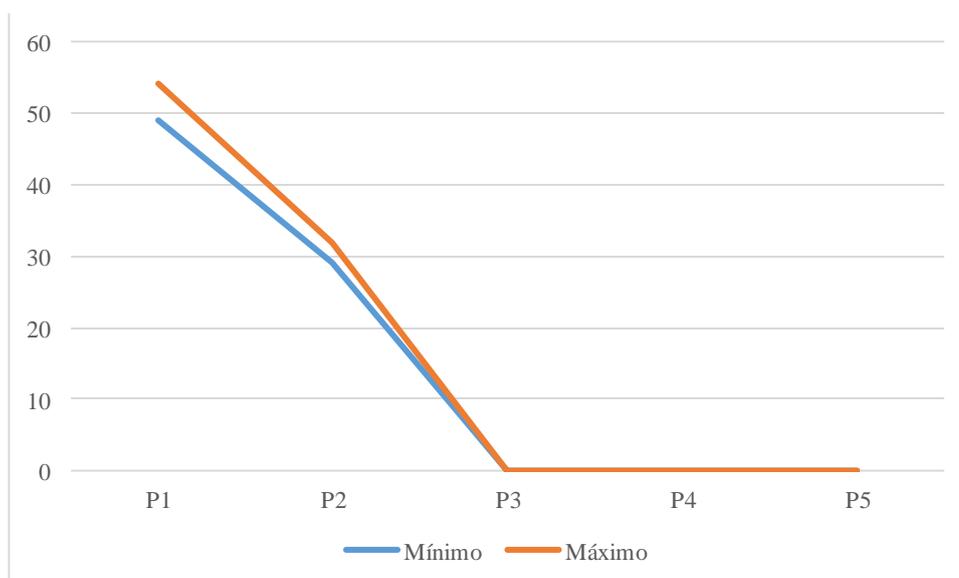
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

TABLA 6. Recuento de ufc/ml de Levaduras en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.

Etapa de proceso	N	Mínimo	Máximo	Desv. Tip.
P1 Silo - Leche cruda	15	49	61	3,622
P2 Zona de precalentado	15	29	35	0,63246
P3 Leche posterior a la pasteurización	15	0	0	0
P4 Producto antes del envasado	15	0	0	0
P5 Producto final	15	0	0	0

Elaborado: Tobar G, 2022

GRÁFICO 4. Recuento de ufc/ml de Levaduras en los diferentes puntos en la línea de producción en la empresa SOPRAB.



Elaborado: Tobar G, 2022



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Podemos observar en la tabla seis el recuento de levaduras en el punto uno obtuvo un valor mínimo de 49 ufc/ml y un máximo de 61 ufc/ml con una desviación típica de 3,622; estos datos pueden indicarnos una mala higiene en el momento de la obtención y transporte de la materia prima.

En el punto dos el recuento fue menor con un valor mínimo de 29 ufc/ml y un máximo de 35 ufc/ml con una desviación típica de 0,63246.

Como nos indica el gráfico cuatro en los tres puntos siguientes que corresponde a la leche pasteurizada, al producto antes del envasado y el producto final los recuentos fueron de 0 ufc/ml, cumpliendo con los límites permitidos.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Discusión

El objetivo principal de las industrias lácteas es lograr productos de buena calidad para satisfacer los estándares del mercado y la seguridad del consumidor, es esencial el monitoreo de la materia prima (leche cruda) para la identificación de microorganismo indicadores de contaminación. La calidad de la leche y sus derivados puede verse afectada por factores de tiempo y temperatura del proceso de pasteurización, las condiciones de higiene durante la manipulación y envasado, condiciones de almacenamiento y transporte.

Un factor limitante que afecta a la vida útil de la leche es el deterioro bacteriano, siendo que su proliferación durante el almacenamiento produce la descomposición de componentes propios de la leche acortando su vida útil, ya que los metabolitos resultantes causan modificaciones en las características propias de la leche afectando su calidad (Angelidis et al., 2016).

En la presente investigación, al evaluar la calidad microbiológica en la empresa de productos lácteos SOPRAB se realizó un muestreo en cinco puntos de la línea de producción (Tabla 1), analizándose 15 muestras por cada uno de ellos.

Según los resultados obtenidos se observó un elevado recuento de bacterias aerobias mesófilas (Tabla 3), obteniéndose en el punto uno un recuento promedio de 4971868 ufc/ml y el punto dos con un valor promedio de 387938 ufc/ml, en los puntos posteriores los valores se fueron minimizando por el proceso de pasteurización obteniéndose en el punto 3 un promedio de 0 ufc/ml, en el punto cuatro un recuento de 0 ufc/ml y el producto final que corresponde al punto cinco un recuento promedio



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

de 0 ufc/ml, el grado de aceptabilidad de las muestras de leche pasteurizada fueron satisfactorias según lo establecido en la Norma técnica ecuatoriana.

En una investigación de detección y caracterización de contaminantes post pasteurización en leche líquida pasteurizada, se caracterizó 105 muestras de leche líquida obtenida de 20 plantas de procesamiento lácteos mostrando recuentos bacterianos de > 20.000 ufc/ml durante la vida útil del producto.

Entre las 60 muestras mostraron evidencia de contaminación con 20% (12/60) con coliformes y 7% (4/60) mostró evidencia de contaminación con EB no Coliformes. Entre las 45 muestras restantes, 28 mostraron niveles de bacterias Gram positivas superiores a 20.000 ufc / ml y las 17 muestras restantes no superaron las 20.000 ufc / ml durante la vida útil. Estos resultados muestran que las pruebas que aún se requieren y se usan tradicionalmente en la industria láctea (por ejemplo, pruebas de coliformes) no son adecuadas para el monitoreo (Alles et al., 2018).

En Venezuela se analizó la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada en expendios comerciales, receptoría de leche y finca productora de queso artesanal, evaluándose los microorganismos indicadores de calidad sanitaria en 100 muestras de leche pasteurizada y 40 de leche cruda.

Se encontró que los coliformes totales y termo tolerables un 45 % rebasaron los límites permisibles y el 72 % rebasan los límites establecidos, mientras que en Mesófilos aerobios el 92% de las muestras están dentro del límite permisible. En leche cruda el 72.5% de las muestras sobrepasan los límites de Mesófilos aerobios indicando deficiencias higiénicas (Ulises Espinoza et al., 2017).



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

En el recuento de los coliformes totales se obtuvo un promedio de 49428 ufc/ml en el punto uno que corresponde a la leche cruda, en el punto dos tenemos una disminución del recuento con un promedio de 1898 ufc/ml, esta variación se debe al cambio térmico al cual se somete a la leche, posterior a la pasteurización en los tres puntos siguientes los recuentos fueron de 0 ufc/ml (Tabla 4). Estos microorganismos son indicadores de calidad sanitaria, el 100% de las muestras de leche pasteurizada están dentro de los límites establecidos respecto al recuento de coliformes totales.

En los recuentos de Mohos (Tabla 4) y levaduras (Tabla 5) estos fueron mínimos en los puntos uno y dos que corresponden a la materia prima, mientras que en las muestras obtenidas posterior a la pasteurización el recuento fue de 0 ufc/ml, reflejando que ninguna muestra excedió el límite establecido en la norma técnica ecuatoriana.

En comparación al estudio realizado en las ganaderías de Cotopaxi Ecuador en donde se recogieron las muestras de acuerdo con la Norma Oficial Ecuatoriana INEN 0004, encontrándose valores hasta de 50 veces más del límite permitido en la norma ecuatoriana (1.5×10^6 UFC/ml de aerobios mesófilos), la cual afecta a la calidad del producto. Concluyeron que la calidad microbiológica no se encuentra dentro de los parámetros establecidos y le atribuyeron este resultado al inadecuado almacenamiento de la leche. (Guevara-Freire et al., 2019).



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

CAPÍTULO IV

5.1.CONCLUSIONES

Desarrollamos un control microbiológico en la empresa de productos lácteos SOPRAB alimentos Kazu del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua, mediante la técnica en placas Petrifilm en donde se obtuvo que el 100 % de las muestras cumplieron con los límites teniendo recuentos dentro de los valores recomendados en la norma técnica Ecuatoriana, se presentó total conformidad en la calidad microbiológica de la leche pasteurizada.

Desarrollamos un seguimiento microbiológico en las diferentes etapas de la línea de producción en la empresa SOPRAB, con un muestreo en cinco puntos distintos (tabla1), iniciando en el punto uno que corresponde a la leche cruda (materia prima), donde se obtuvo el mayor porcentaje de recuento de los microorganismos indicadores los cuales sobrepasan el límite de aceptabilidad, el punto dos que corresponde al precalentado antes de la pasteurización, los valores fueron disminuyendo progresivamente; en el punto tres que corresponde al proceso de pasteurización, el punto cuatro leche antes del envasado y el punto cinco el producto final se obtuvieron valores mínimos evidenciándose la eficacia del proceso de pasteurización y el buen manejo del producto.

Evaluamos el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos aplicando la técnica de placas Petrifilm, en donde se obtuvo en el punto uno, un contaje con valor mínimo de 4823567 ufc/ml y un máximo de 5099861 ufc/ml con una desviación típica de 86801,28; estos recuentos altos se atribuyen a que la leche no tiene ningún tipo de tratamiento previo, es importante tener presente la calidad de la materia prima para garantizar un producto de calidad. En el punto dos que es la zona de precalentado se obtuvo valor mínimo de 341259 ufc/ml y un máximo de 496358 ufc/ml con una desviación típica de 36450,1998; la



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

diferencia encontrada se atribuye al aumento de la temperatura que se somete la leche. En los puntos posteriores se obtuvo un recuento de 0 ufc/mL en donde se evidencio que el 100% de las muestras analizadas se encuentran dentro de la Norma Técnica Ecuatoriana la NTE INEN 9: 2008 reflejando eficiencia en los procesos de conservación y refrigeración de la leche.

Determinamos el recuento de Coliformes Totales en la línea de producción en la empresa SOPRAB obteniendo en el punto uno un recuento promedio de 49428 ufc/ml, mientras que en el punto dos que corresponde al silo de precalentado el porcentaje disminuye a 1898 ufc/ml, En el punto tres correspondiente a la leche pasteurizada se obtuvieron valores mínimos de 0 ufc/ml y un máximo de 0 ufc/ml con una desviación típica de 0.00; se presentó una disminución total 99.9 % de recuento de coliformes totales en comparación a los dos puntos anteriores (Tabla 4). Esto se debe al tratamiento térmico al que se somete la leche para reducir en su totalidad los microorganismos patógenos existentes, la ausencia de coliformes totales en leche sometida a pasteurización es un indicador de eficiencia del proceso, hasta que en los puntos finales del muestreo se obtiene recuentos de 0 ufc/ml los cuales se encuentran dentro de la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 10:2009, indicando la ausencia de factores contaminantes en la línea de pasteurización.

Observamos el recuento de Mohos y levaduras mediante la utilización de placas Petrifilm según la NTE INEN 1529-10, en donde se evidenció la presencia de Mohos con un recuento inicial de 5 ufc/ml en el silo uno de leche cruda, mientras iniciaba el proceso térmico este descendió hasta llegar a 0 ufc/ml en los cuatro puntos posteriores (Tabla 5). Así mismo en el recuento de Levaduras en el punto uno obtuvo un valor mínimo de 49 ufc/ml y un máximo de 61 ufc/ml con una desviación típica de 3,622; estos datos pueden indicarnos una mala higiene en el momento de la obtención y transporte de la materia



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

prima., en los tres últimos puntos de la pasteurización el recuento fue de 0 ufc/ml, su detección es importante ya que es un indicador de mucho interés para establecer calidad higiénica y vida útil del producto.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

5.2.RECOMENDACIONES

Realizar un seguimiento continuo de la calidad microbiológica del proceso de pasteurización de la leche.

Se debe implementar en la empresa el análisis microbiológico de la leche para garantizar buena calidad del producto.

Realizar un estudio sobre las prácticas de obtención, manipulación y almacenamiento de la leche para poder determinar los potenciales contaminantes durante estos procesos para mejorar la calidad de la materia prima



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

5.3. BIBLIOGRAFÍA

- 3M Microbiology. (2003). 3MTM Petrifilm™ Placas para Recuento de Aerobios. *Guía de Interpretación*, 5–7. https://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf
- Alles, A. A., Wiedmann, M., & Martin, N. H. (2018). Rapid detection and characterization of postpasteurization contaminants in pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Science*, *101*(9), 7746–7756. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14216>
- Appcc, L. O. S. P. D. E. L. (2010). *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA*. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_3062.pdf
- Armas, Y. F., Amaya, M. A., Alemán, Y. R., & Vasallo, D. R. D. iD A. M. (2020). *Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de los quesos frescos artesanales de la provincia Mayabeque, Cuba*. *42*(2).
- Arrieta B, B. G., Gomezcaceres, P. L., Albis F, D., Calderón-Rangel, A., & Rodríguez R, V. (2019). Calidad de la leche cruda para consumo humano en dos localidades de Sucre, Colombia. *Revista MVZ Cordoba*, *24*(3), 7355–7361. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1829>
- Augusto, I., & Figueroa, G. (n.d.). *NAR COLIFORMES Y BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS EN LA INDUSTRIA DE LÁCTEOS “ PAIRUMANI ” Y EL LABORATORIO “ LIDIVECO ” DE SENASAG PETRIFLIM ALTERNATIVE METHOD IMPLEMENTATION TO DETERMINE COLI- FORMS AND AEROBIC MESOPHILIC BACTERIA IN THE DAIRY INDUSTRY “ PA*. 58–65.
- Berhe, G., Wasihun, A. G., Kassaye, E., & Gebreselasie, K. (2020). Milk-borne bacterial health hazards in milk produced for commercial purpose in Tigray, northern Ethiopia. *BMC Public Health*, *20*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09016-6>
- Bird, P., Bastin, B., Klass, N., Crowley, E., Agin, J., Goins, D., Bakken, H., Lingle, C., & Schumacher, A. (2021). Evaluation of the 3MTM Petrifilm™ Rapid E. coli/ Coliform Count Plate for the Enumeration of E. coli and Coliforms: Collaborative Study, First Action: 2018.13. *Journal of AOAC International*,

- 103(2), 513–522. <https://doi.org/10.1093/JAOCINT/QSZ013>
- Boor, K. J., Wiedmann, M., Murphy, S., & Alcaine, S. (2017). A 100-Year Review: Microbiology and safety of milk handling. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9933–9951. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12969>
- Carrascosa, C., Millán, R., Saavedra, P., Jaber, J. R., Raposo, A., & Sanjuán, E. (2016). Identification of the risk factors associated with cheese production to implement the hazard analysis and critical control points (HACCP) system on cheese farms. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2606–2616. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10301>
- Donkor, E. ., Aning, K. ., & Quaye, J. (2010). Bacterial contaminations of informally marketed raw milk in Ghana. *Ghana Medical Journal*, 41(2), 58–61. <https://doi.org/10.4314/gmj.v41i2.55302>
- Flores, T. G., & Herrera, R. A. R. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud Pública de México*, 47(5), 388–390. <https://doi.org/10.1590/s0036-36342005000500010>
- Gonzales Malca, J., Portocarrero Villegas, S. M., & Abanto López, M. S. (2019). Calidad de los derivados lácteos producidos en la Región Amazonas, Perú, 2018. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(3), 14–19. <https://doi.org/10.25127/ucni.v1i3.421>
- Gopal, N., Hill, C., Ross, P. R., Beresford, T. P., Fenelon, M. A., & Cotter, P. D. (2015). The prevalence and control of Bacillus and related spore-forming bacteria in the dairy industry. *Frontiers in Microbiology*, 6(DEC), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01418>
- Guevara-Freire, D., Montero-Recalde, M., Valle, L., & Avilés-Esquivel, D. (2019). Calidad de leche acopiada de pequeñas ganaderías de Cotopaxi, Ecuador. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 30(1), 247–255. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15679>
- INEN. (2012). Instituto ecuatoriano de normalización- Norma Técnica Ecuatoriana Nte Inen 9:2012 Leche Cruda. Requisitos. *Leche Cruda. Requisitos.*, 1–7. http://181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_9-5.pdf
- Islam, M. A., Roy, S., Nabi, A., Solaiman, S., Rahman, M., Huq, M., Siddiquee, N.

- A., & Ahmed, N. (2018). Microbiological quality assessment of milk at different stages of the dairy value chain in a developing country setting. *International Journal of Food Microbiology*, 278(February), 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.028>
- Karmaker, A., Das, P. C., & Iqbal, A. (2020). Quality assessment of different commercial and local milk available in the local markets of selected area of bangladesh. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 7(1), 26–33. <https://doi.org/10.5455/JAVAR.2020.G389>
- Kirk, M. D., Pires, S. M., Black, R. E., Caipo, M., Crump, J. A., Devleeschauwer, B., Döpfer, D., Fazil, A., Fischer-Walker, C. L., Hald, T., Hall, A. J., Keddy, K. H., Lake, R. J., Lanata, C. F., Torgerson, P. R., Havelaar, A. H., & Angulo, F. J. (2015). World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLoS Medicine*, 12(12), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001921>
- Lu, M., Shiao, Y., Wong, J., Lin, R., Kravis, H., Blackmon, T., Pakzad, T., Jen, T., Cheng, A., Chang, J., Ong, E., Sarfaraz, N., & Wang, N. S. (2013). Milk Spoilage: Methods and Practices of Detecting Milk Quality. *Food and Nutrition Sciences*, 04(07), 113–123. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.47a014>
- Lücking, G., Stoeckel, M., Atamer, Z., Hinrichs, J., & Ehling-schulz, M. (2013). International Journal of Food Microbiology Characterization of aerobic spore-forming bacteria associated with industrial dairy processing environments and product spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 166(2), 270–279. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.004>
- Martin, N. H., Trmcic, A., Hsieh, T. H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2016). The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 7(SEP), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01549>
- Metz, M., Sheehan, J., & Feng, P. C. H. (2020). Use of indicator bacteria for monitoring sanitary quality of raw milk cheeses – A literature review. *Food Microbiology*, 85(July 2019), 103283. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103283>



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

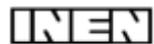
- MINAGRI. (2009). Código de Prácticas de Higiene para la Leche y los Productos Lácteos. *Cac/Rcp*, 1–54.
www.codexalimentarius.net/input/download/standards/.../CXP_057s.pdf
- Rios-Muñiz, D., Cerna-Cortes, J. F., Lopez-Saucedo, C., Angeles-Morales, E., Bobadilla-Del Valle, M., Ponce-De Leon, A., & Estrada-Garcia, T. (2019). Longitudinal analysis of the microbiological quality of raw cow's milk samples collected from three small family dairy farms in Mexico over a 2-year period. *Journal of Food Protection*, 82(12), 2194–2200. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-155>
- Rojas, A., Murphy, S. I., & Martin, N. H. (2020). Short communication : Coliform Petrifilm as an alternative method for detecting total gram-negative bacteria in fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 103(6), 5043–5046. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17792>
- Ulises Espinoza, M., Palencia, A., Fernández, Y., Nicita, G., Coccione, S., Angulo, Y., Castrillo, S., Martínez, E., Flores, A., Barrios, E., & González, N. (2017). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada. *Salus : Revista de La Facultad de Ciencias de La Salud, Universidad de Carabobo.*, 21(1), 16–21. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382013000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=pt%0Ahttp://www.scielo.org/ve/scielo.php?pid=S1316-71382017000100004&script=sci_arttext&tlng=es
- Vásquez A., V., Salhuana G., J. G., Jimenez D., L. A., & Abanto Ríos, L. M. (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecología Aplicada*, 17(1), 45. <https://doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172>
- Vora, N. M., Osinubi, M., Wallace, R. M., Aman-Oloniyo, A., Gbadegesin, Y. H., Sebastian, Y. K., Saliman, O. A., Niezgod, M., Davis, L., Recuenco, S., & Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2014). Assessment of potential zoonotic disease exposure and illness related to an annual bat festival--Idanre, Nigeria. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 63(15), 334. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24739343%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5779396>



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ANEXOS

**ANEXO 1: Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012 (Leche Cruda,
Requisitos) Quinta revisión**



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

**NTE INEN 9:2012
Quinta revisión**

LECHE CRUDA. REQUISITOS.

Primera Edición

RAW MILK. REQUIREMENTS.

First Edition



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

CDU: 637.133.4
ICS: 67.100.01

INEN

CIM: 3112
AL 03.01-401

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	LECHE CRUDA REQUISITOS	NTE INEN 9:2012 Quinta revisión 2012-01
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la leche cruda de vaca, destinada al procesamiento.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica únicamente a la leche cruda de vaca. La denominación de leche cruda se aplica para la leche que no ha sufrido tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación, ni ha tenido modificación alguna en su composición.</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p>3.1.1 Leche. Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo.</p> <p>3.1.2 Leche cruda. Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40°C).</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 La leche cruda se considera no apta para consumo humano cuando:</p> <p>4.1.1 No cumple con los requisitos establecidos en el Capítulo 5 de la presente norma.</p> <p>4.1.2 Es obtenida de animales cansados, deficientemente alimentados, desnutridos, enfermos o manipulados por personas afectadas de enfermedades infectocontagiosas.</p> <p>4.1.3 Contiene sustancias extrañas ajenas a la naturaleza del producto como: conservantes (formaldehído, peróxido de hidrógeno, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio, lactoperoxidasa adicionada), adulterantes (harinas, almidones, sacarosa, cloruros, suero de leche, grasa vegetal), neutralizantes, colorantes y residuos de medicamentos veterinarios, en cantidades que superen los límites indicados en la tabla 1.</p> <p>4.1.4 Contiene calostro, sangre, o ha sido obtenida en el período comprendido entre los 12 días anteriores y los 7 días posteriores al parto.</p> <p>4.1.5 Contiene gérmenes patógenos o un contaje microbiano superior al máximo permitido por la presente norma, toxinas microbianas o residuos de pesticidas, y metales pesados en cantidades superiores al máximo permitido.</p> <p>4.2 La leche cruda después del ordeño debe ser enfriada, almacenada y transportada hasta los centros de acopio y/o plantas procesadoras en recipientes apropiados autorizados por la autoridad sanitaria competente.</p> <p>4.3 En los centros de acopio la leche cruda debe ser filtrada y enfriada, a una temperatura inferior a 10°C con agitación constante</p> <p>4.4 Los límites máximos de pesticidas serán los que determine el Codex Alimentarius CAC/MRL 1</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p>		
DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos, leche cruda, requisitos.		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 11-01-3998 - Baquijano Moreno 88-29 y Altagro - Quito Ecuador - Prohibida la reproducción



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

NTE INEN 9

2012-01

4.5 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para la leche serán los que determine el Codex Alimentario CAC/MRL 2.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos específicos

5.1.1 Requisitos organolépticos (ver nota 1)

5.1.1.1 Color: Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

5.1.1.2 Olor: Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

5.1.1.3 Aspecto: Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

5.1.2 Requisitos físicos y químicos

5.1.2.1 La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos fisicoquímicos de la leche cruda.

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.	MÉTODO DE ENSAYO
Densidad relativa: a 15 °C A 20 °C	-	1,029 1,028	1,033 1,032	NTE INEN 11
Materia grasa	% (fracción de masa) ¹	3,0	-	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	-	-
Carbohidratos	% (fracción de masa)	0,85	-	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico) **	°C °H	-0,536 -0,555	-0,512 -0,530	NTE INEN 15
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno) ^{***}	h	3	-	NTE INEN 218
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 88 % en peso o 75 % en volumen; y para la leche destinada a ultrapasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en peso o 78 % en volumen.			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes ¹⁾	-	Negativo	-	NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes ²⁾	-	Negativo	-	NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes ³⁾	-	Negativo	-	NTE INEN 1500
Grasas vegetales	-	Negativo	-	NTE INEN 1500
Suero de Leche	-	Negativo	-	NTE INEN 2401
Prueba de Brucelosis	-	Negativo	-	Prueba de anillo PVAL (Ring Test)
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS ⁴⁾	ug/l	—	MRL, establecidos en el CODEX Alimentario CAC/MRL 2	Los establecidos en el compendio de métodos de análisis identificados como idóneos para respaldar los LMR del codex ⁵⁾

Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasas.
¹⁾ °C=°H · E donde E=0,9668
²⁾ Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento
³⁾ Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, dióxido de cloro, hipocloritos, cloraminas, lactoperoxidasa adicionada y dióxido de cloro.
⁴⁾ Neutralizantes: oína, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.
⁵⁾ Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, leche en polvo, suero de leche, grasas vegetales.
⁶⁾ "Fracción de masa de lípido, W₂". Esta cantidad se expresa frecuentemente en por ciento, %. La notación "% (m/m)" no deberá usarse.
⁷⁾ Se refiere a aquellos medicamentos veterinarios aprobados para uso en ganado de producción lechera.
⁸⁾ Establecidos por el comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos

NOTA 1. Se podrán presentar variaciones en estas características, en función de la raza, estación climática o alimentación, pero estas no deben afectar significativamente las características sensoriales indicadas.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

NTE INEN 9

2012-01

5.1.3 Contaminantes. El límite máximo para contaminantes es el que se indica en la tabla 2.

TABLA 2. Límites máximo para contaminantes

Requisito	Límite máximo (LM)	Método de ensayo
Piomo, mg/kg	0,02	ISO/TS 6733
Aflatoxina M1, µg/kg	0,5	ISO 14674

5.1.4 Requisitos microbiológicos. La leche cruda debe cumplir con los requisitos especificados en la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos microbiológicos de la leche cruda tomada en hato

Requisito	Límite máximo	Método de ensayo
Recuento de microorganismos aeróbicos mesófilos REP, UFC/cm ³	$1,5 \times 10^6$	NTE INEN 1529-5
Recuento de células somáticas/cm ³	$7,0 \times 10^5$	AOAC – 978.26

5.2 Requisitos complementarios. El almacenamiento, envasado y transporte de la leche cruda debe realizarse de acuerdo a lo que señala el Reglamento de leche y productos lácteos del Ministerio de Salud Pública.

6. INSPECCIÓN

6.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 4.

6.2 Aceptación o rechazo. Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ANEXO 2 Formato de recolección de datos

		UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD PROGRAMA DE MAESTRÍA			
Control microbiológico en la empresa de productos lácteos SOPRAB alimentos KAZU del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua					
Formato de recolección de datos microbiológicos					
Producto: Leche		No de Ficha:			
Fecha de muestreo:					
Recuento total					
Código	P1	P2	P3	P4	P5
Placas 3M™ Petrifilm™	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g
Aerobios Mesófilos					
E. Coli / Coliformes					
Mohos					
Levaduras					

(Bird et al., 2021) (Appcc, 2010)



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ANEXO 3: Recuento de unidades formadoras de colonia para coliformes totales

		UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD PROGRAMA DE MAESTRÍA		
Control microbiológico en la empresa de productos lácteos SOPRAB alimentos KAZU del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua				
Evaluación microbiológica de la leche				
Recuento de UFC/mL para Coliformes fecales				
N de muestra	Fecha de recolección.	Recuento de UFC/mL	Observaciones	Responsable

(Bird et al., 2021) (Appcc, 2010)



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ANEXO 4: Recuento de unidades formadoras de colonia para aerobios

mesófilos

 <p>UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD PROGRAMA DE MAESTRÍA</p>				
Control microbiológico en la empresa de productos lácteos SOPRAB alimentos KAZU del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua				
Evaluación microbiológica de la leche				
Recuento de UFC/mL para Aerobios mesófilos				
N de muestra	Fecha de recolección.	Recuento de UFC/mL	Observaciones	Responsable

(Bird et al., 2021) (Appcc, 2010)



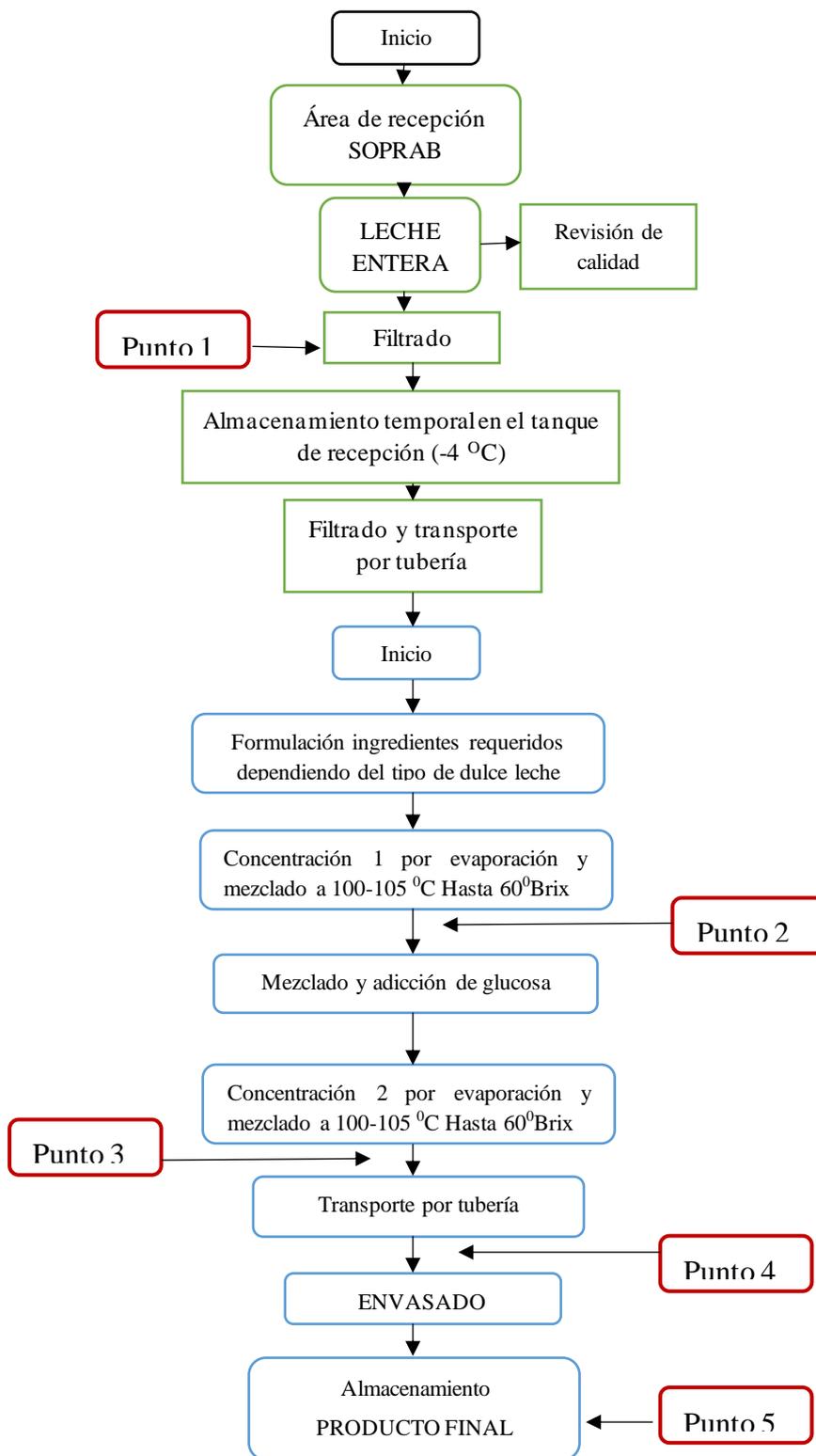
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

**ANEXO 5: Recuento de unidades formadoras de colonia para mohos y
levaduras**

				
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD PROGRAMA DE MAESTRÍA				
Control microbiológico en la empresa de productos lácteos SOPRAB alimentos KAZU del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua				
Evaluación microbiológica de la leche				
Recuento de UFC/mL para Mohos y levaduras				
N de muestra	Fecha de recolección.	Recuento de UFC/mL	Observaciones	Responsable

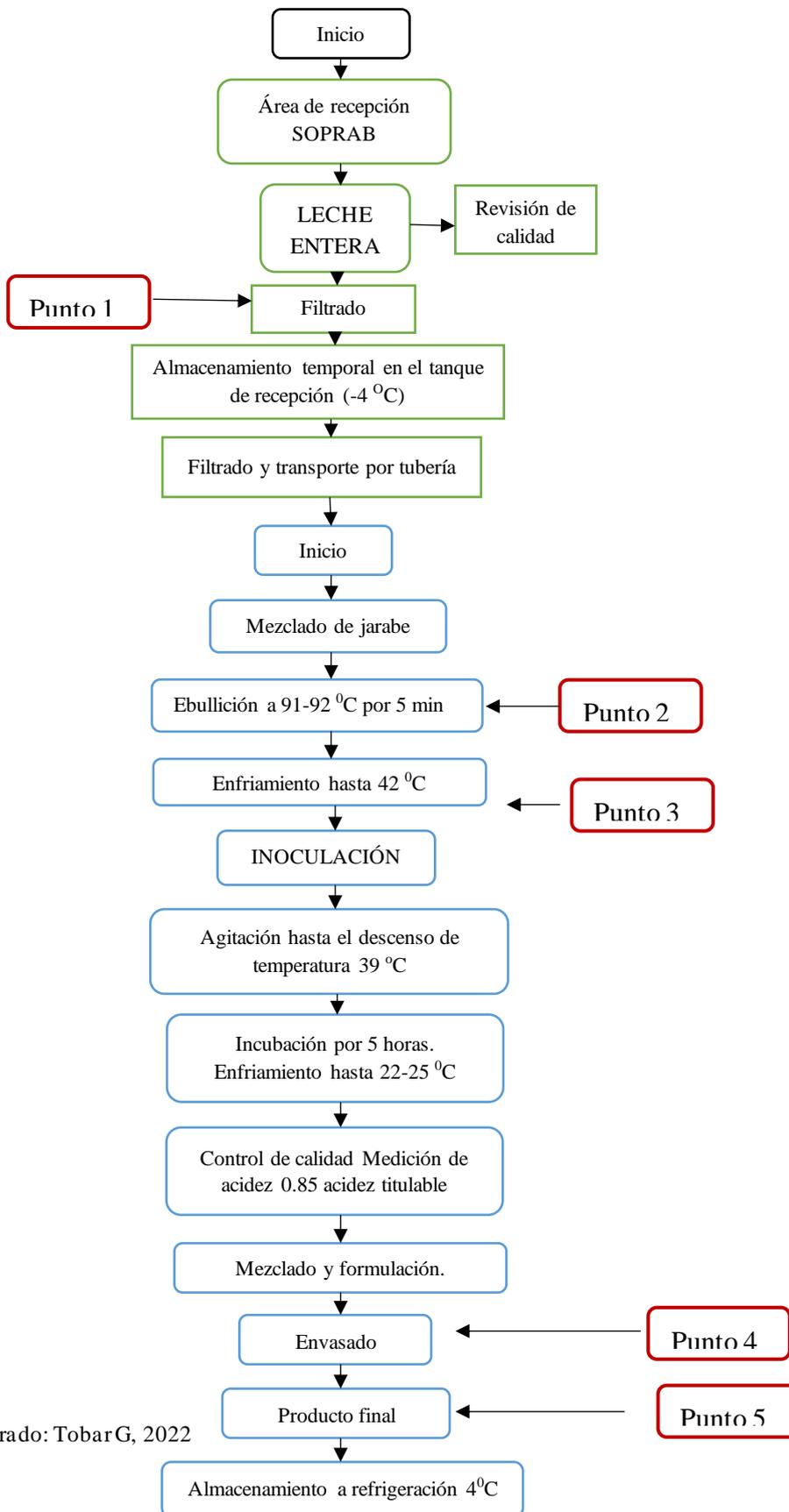
(Bird et al., 2021) (Appcc, 2010)

ANEXO 6 Diagrama de flujo para el proceso de fabricación de majares



Elaborado: Tobar G, 2022

ANEXO 7 Diagrama de flujo para el proceso de fabricación de yogurt



Elaborado: Tobar G, 2022



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

**ANEXO 8: MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL ANÁLISIS
MICROBIOLÓGICO**



EMPRESA DE PRODUCTOS LÁCTEOS SOPRAB
MANUAL MICROBIOLÓGICO

FECHA DE ELABORACIÓN
VERSIÓN: 1
FECHA:

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO



ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	4
2. OBJETIVO	4
3. ANTECEDENTES	4
4. CONCEPTOS GENERALES	6
4.1. Enfermedades de transmisión alimentaria	6
4.2. Contaminación Alimentaria	6
4.3. Criterios microbiológicos	6
4.4. Criterio obligatorio	6
4.5. Criterio complementario	6
4.6. Especificación de microorganismos	7
4.7. Organismos indicadores	7
4.8. Organismos patógenos	7
5. PLANES DE MUESTREO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS	7
6. MÉTODOS DE LABORATORIO MICROBIOLÓGICO	8
6.1. Placas 3M™ Petrifilm™	8
6.2. Técnica de recuento de Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales y E.coli, Mohos y Levaduras con placas petrifilm. 3M.	9
6.2.3. Placas Petrifilm para Recuento de Aerobios Mesófilos	10
6.2.4. Placas Petrifilm para Recuento de E. coli y Coliformes Totales.	11
6.2.5. Placas Petrifilm para Recuento de Mohos y Levaduras.	11
7. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS	11
7.1. Recuento de Aerobios Mesófilos	11
7.2. Recuento de Coliformes totales	12
7.3. Recuento de mohos y levaduras	12
8. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS SEGÚN LA NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 10:2012	13
8.1. Recuento de Aerobios Mesófilos	13
8.1.1. Requisitos microbiológicos.	13
8.2. Recuento de Coliformes totales	13
8.2.1. Requisitos microbiológicos.	13
8.3. Recuento de mohos	14



**EMPRESA DE PRODUCTOS LÁCTEOS SOPRAB
MANUAL MICROBIOLÓGICO**

FECHA DE ELABORACIÓN
VERSIÓN: 1
FECHA:

8.3.1.	Requisitos microbiológicos.	14
8.4.	Recuento de levaduras	14
8.4.1.	Requisitos microbiológicos.	14
9.	BIBLIOGRAFÍA	15



1. INTRODUCCIÓN

Los análisis microbiológicos en alimentos son una herramienta eficaz para la evaluación de microorganismos indicadores de contaminación, pero el correcto análisis e interpretación de resultados se torna compleja, involucrando el criterio profesional y las circunstancias del muestreo (Línea de recepción, producción o almacenamiento de la muestra).

El manual fue elaborado como un complemento de los criterios microbiológicos para productos lácteos incluidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 10:2012.

2. OBJETIVO

El objetivo del Manual de procedimientos microbiológicos en productos lácteos es ayudar en el correcto análisis e interpretación de resultados, para la evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos y establecer niveles de contaminación que sean considerados como un riesgo para la salud de los consumidores según la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 10:2012.

3. ANTECEDENTES

Las ETA son un importante problema de salud pública, debido al aumento de casos, al desarrollo de nuevos medios de transmisión causando enormes pérdidas económicas en todo el mundo, afectando especialmente a países en vías de desarrollo, a los grupos poblacionales vulnerables como personas inmunodeprimidas, niños, ancianos y mujeres embarazadas.



La incidencia de estas enfermedades es un indicador directo de la calidad de los alimentos, demostrándose que la contaminación puede producirse durante todo el proceso de la cadena alimentaria (producción, transporte, almacenamiento, elaboración, distribución y consumo de alimentos). (Flores & Herrera, 2005)

En un artículo de revisión de literatura científica se analizó la prevalencia y los niveles de bacterias indicadoras encontradas en diferentes tipos de leche cruda, ya que en muchos países utilizan *Escherichia coli* y coliformes totales como indicadores de calidad sanitaria de alimentos y han establecido límites para poder catalogar a los productos según su nivel de inocuidad.

Estos estudios de todo el mundo mostraron que *E. coli* y los coliformes se encuentran en diferentes tipos de leche cruda pero generalmente en <100 UFC / ml o no se encuentran. Los casos en los que la leche cruda contenía niveles indicadores > 1000 UFC / ml se han atribuido principalmente a condiciones / producción insalubres. (Metz et al., 2020)

En un estudio realizado en las ganaderías de Cotopaxi Ecuador, se evaluó la calidad higiénica de la leche, se recogieron las muestras de acuerdo con la Norma Oficial Ecuatoriana INEN 0004, en donde se encontró valores hasta de 50 veces más del límite permitido en la norma ecuatoriana (1.5×10^6 UFC/ml), la cual afecta a la calidad del producto (Guevara-Freire et al., 2019)



4. CONCEPTOS GENERALES

4.1. Enfermedades de transmisión alimentaria

Las enfermedades transmitidas por alimentos es una afección que se da por la contaminación de los productos alimenticios con microorganismos patógenos como bacterias, virus y parásitos que afecta al consumidor de manera individual o colectiva

4.2. Contaminación Alimentaria

Se puede dar en cualquiera de los pasos de la cadena alimentaria, es la transmisión de organismos patógenos como bacterias, virus, parásitos y hongos de un alimento contaminado a otro convirtiéndose en dañinos para el consumidor causando infecciones e intoxicaciones.

Los dos principales riesgos de esta contaminación es el contacto directo entre alimentos y una manipulación inadecuada.

4.3. Criterios microbiológicos

Es la aceptabilidad de un proceso, producto o lote de un alimento, basándose en la presencia (número de microorganismos) o ausencia total de estos. La inocuidad requiere la determinación de microorganismos patógenos.

4.4. Criterio obligatorio

Se basa en aquellos microorganismos considerados patógenos con importancia en salud pública y en base al tipo de alimentos. Su identificación conlleva a la toma de medidas preventivas o represalia imponiendo sanciones si fuera el caso

4.5. Criterio complementario

Forma de ayuda en procesos de evaluación, orientado para la identificación de puntos críticos de contaminación, su seguimiento y control posterior. No tiene finalidad de inspección es una guía para corrección de errores analíticos o de manipulación



4.6. Especificación de microorganismos

En una evaluación de calidad microbiológica de un alimento específico todos los microorganismos transmisibles deben ser considerados, aunque la presencia de alguno no indique necesariamente riesgo al consumidor.

4.7. Organismos indicadores

En la evaluación de la calidad microbiológica los organismos indicadores son utilizados frecuentemente, su identificación se realiza mediante técnicas sencillas y rápidas.

- Recuento de aerobios Mesófilos: Calidad de materia prima, temperatura, almacenamiento inadecuado, vida útil.
- Recuento de Coliformes totales: Contaminación fecal, malas normas de higiene

La presencia de estos nos ayuda a identificar las condiciones en que se ha sometido el producto que pudiera significar un peligro potencial

4.8. Organismos patógenos

Organismos que alteran la composición del alimento convirtiéndolo en la principal causa de enfermedades al consumidor.

5. PLANES DE MUESTREO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

El desarrollo de un plan de muestreo es un componente fundamental del criterio microbiológico, contesta de:

- Procedimiento de análisis de la muestra
- Toma de decisiones en base a resultados obtenidos



Plan de muestreo de tres clases

Utilizado para el análisis y evaluación de indicadores de inocuidad de alimentos con la cuantificación (ufc) de los microorganismos identificados

Los valores establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012 Quinta Revisión $n=5$, $c=2$, $m=103$, $M=104$ donde:

- **n:** unidades que constituyen la muestra.
- **c:** unidades de la muestra cuyo recuento se encuentran entre m y M (resultado aceptable si el número es menor o igual a m)
- **m:** valor umbral del recuento (resultado satisfactorio si es igual o menor a m)
- **M:** Nivel límite de aceptabilidad (resultado no aceptable si tiene recuento de bacterias igual o mayor a M) (INEN, 2012)

6. MÉTODOS DE LABORATORIO MICROBIOLÓGICO

Los métodos de laboratorio utilizados para el recuento o identificación del microorganismo forman parte del criterio microbiológico, su elección deben ser métodos estandarizados con alta sensibilidad validados por organismos de referencia.

6.1. Placas 3M™ Petrifilm™

Es un medio selectivo y diferencial diseñado por cuadrículas para la numeración o recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de microorganismos en poco tiempo en diferentes tipos de muestras, posee un indicador de pH para colorear las colonias facilitando su identificación. (Safety, 2019)

3M Food Safety cuenta con la certificación ISO 9001 para el diseño y la fabricación.

- Placas 3M™ Petrifilm™ para Recuento de Aerobios Mesófilos (Certificate Number 121403)
- Placas 3M™ Petrifilm™ para Recuento de *E. coli* / Coliformes. (Certificate Number 051801)



- Placas 3M™ Petrifilm™ para Recuento de Mohos y Levaduras. (Certificate Number 121301)(3M Microbiology, 2003)

6.2. Técnica de recuento de Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales y E.coli, Mohos y Levaduras con placas petrifilm. 3M.

6.2.1. Almacenamiento de placas

- Las fundas sin abrir deben ser refrigeradas respetando la fecha de caducidad.
- Abrir las fundas por el lado indicado, retirando las placas que se vayan a utilizar y volviendo a sellar la funda. Se deben mantener a una temperatura de ≤ 21 oC utilizándose antes de un mes.

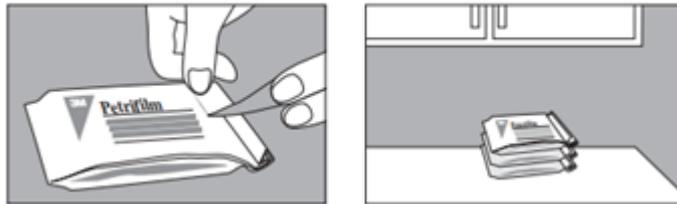


Figura1: Almacenamiento de placas

6.2.2. Procedimiento para la siembra y posterior recuento de colonias

1. Homogenizar la muestra
2. Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana, levantamos el film superior
3. Con una pipeta en posición perpendicular a la placa Petrifilm colocar 1 mL de la muestra en la zona central del film inferior sin tocarlo.

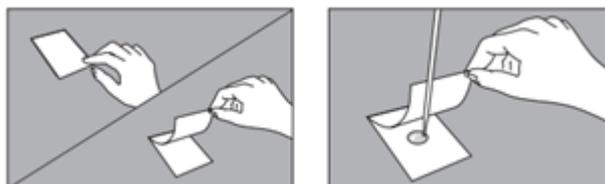


Figura2: Procedimiento de inoculación en la placa

4. Bajamos el film superior dejándolo caer, con la cara lisa hacia arriba colocamos el aplicador en el film superior del inóculo.
5. Ejercemos una leve presión en el aplicador para esparcir el inóculo sobre todo el centro de la placa. No deslizar ni girar el aplicador
6. Levantamos el aplicador, esperamos un minuto a que el gel se solidifique.



Figura3: Utilización del aplicador sobre la placa

7. Incubamos las placas cara arriba y apiladas en grupos que no sobrepasen las 20 placas de acuerdo a los tiempos y temperaturas respectivas de cada microorganismo. Aerobios Mesófilos: 48 hrs. (± 3 hrs.) a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). Mohos y Levaduras: 25° ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 3 a 5 días. Coliformes Totales y E. coli: $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 24 horas.
8. Transcurrido el tiempo se procederá a la lectura de las unidades formadoras de colonias de cada placa Petrifilm identificando así el microorganismo predominante y el alimento que lo contiene.

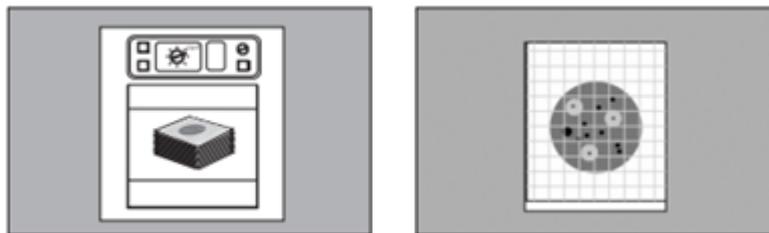


Figura4: Placas incubadas y lectura de UFC

6.2.3. Placas Petrifilm para Recuento de Aerobios Mesófilos



Las placas Petrifilm AC se utilizan para el recuento total de bacterias aerobias siendo un sistema listo para usar que contiene elementos nutritivos, un agente gelificante soluble en agua, y un indicador color rojo que facilita la enumeración de las colonias.

6.2.4. Placas Petrifilm para Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales.

El Petrifilm rápido *E. coli* / Coliformes recuento en placa permite la enumeración rápida y diferenciación de coliformes y *E. coli* en alimentos y muestras ambientales.

El recuento total de coliformes está indicado por colonias rojas con producción de gas y colonias azules con y sin producción de gas (*E. coli*).

6.2.5. Placas Petrifilm para Recuento de Mohos y Levaduras.

Es un método de cultivo cromogénico simple y listo para usar para la detección y enumeración rápida de levaduras y hongos en productos alimenticios

Posee dos antibióticos (clortetraciclina y cloramfenicol), un indicador de fosfatos (BCIP) y un agente gelificante soluble en agua fría.

7. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

7.1. Recuento de Aerobios Mesófilos

Son un grupo de bacterias que tienen la capacidad de desarrollarse entre 20 y 40 °C, su recuento permite estimar la carga microbiana presente en la muestra, reflejando la calidad sanitaria del producto, aunque no arroja datos sobre el tipo de especies proporciona información de malas prácticas ya sea en las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas.



Cuando se obtiene un recuento alto de este tipo de microorganismos los alimentos no son seguros para su consumo a pesar que estos no sean considerados patógenos y no hayan alterado la composición de alimento. (Augusto & Figueroa, n.d.)

7.2. Recuento de Coliformes totales

Son bacterias aerobias y anaerobias gram negativas facultativas no conformadoras de esporas, fermentadoras de lactosa con producción de ácido y gas. Generalmente habitan en el tracto gastrointestinal, diferenciándose dos grupos coliformes totales y fecales.

El recuento de coliformes totales es utilizado como un indicador de malas prácticas sanitarias. La evaluación microbiológica de un producto es ideal para determinar su calidad, aunque la presencia de coliformes totales no implica un riesgo sanitario como los de origen fecal, esto indica una deficiente manipulación e higiene de las personas que procesan los alimentos.

Se pueden eliminar mediante procesos térmicos a elevadas temperaturas, su presencia indica deficiencia en el procedimiento o una contaminación por la manipulación posterior (contaminación cruzada). (Bird et al., 2021)

7.3. Recuento de mohos y levaduras

Las levaduras son microorganismos eucariotas de crecimiento unicelular, mientras que los mohos se caracterizan por su estructura filamentosa (hifas). Se encuentran en el ambiente distribuidos como flora normal de un producto, siendo útiles en su producción o como un contaminante ayudando en su descomposición. Tiene un desarrollo lento, crecen en niveles altos de humedad, sales o carbohidratos, mientras que en bajos niveles de pH y temperatura, convirtiéndose en un gran problema de contaminación en alimentos.



Algunas especies pueden metabolizar mico toxinas que soportan algunas sustancias químicas o tiene la capacidad de alterar sustratos poco favorables permitiendo el desarrollo de bacterias patógenas, tiene resistencia al calor, congelamiento, también pueden causar malos olores y sabores.

8. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS SEGÚN LA NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 10:2012

8.1. Recuento de Aerobios Mesófilos

8.1.1. Requisitos microbiológicos.

<i>Requisitos</i>	<i>n</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	<i>C</i>	<i>Método de ensayo</i>
Aerobios Mesófilos UFC/g	5	10	10 ²	1	Placas 3M TM Petrifilm TM

Fuente: (INEN, 2012)

8.2. Recuento de Coliformes totales

8.2.1. Requisitos microbiológicos.

<i>Requisitos</i>	<i>n</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	<i>C</i>	<i>Método de ensayo</i>
E. Coli / Coliformes UFC/g	5	ausencia	ausencia	1	Placas 3M TM Petrifilm TM 3M 70201174037

Fuente: (INEN, 2012)



8.3. Recuento de mohos

8.3.1. Requisitos microbiológicos.

Requisitos	n	m	M	C	Método de ensayo
Mohos UFC/g	5	ausencia	ausencia	1	Placas 3M TM Petrifilm TM

Fuente: (INEN, 2012)

8.4. Recuento de levaduras

8.4.1. Requisitos microbiológicos.

Requisitos	n	m	M	C	Método de ensayo
Levaduras UFC/g	5	ausencia	ausencia	1	Placas 3M TM Petrifilm TM

Fuente: (INEN, 2012)



9. BIBLIOGRAFÍA

- 3M Microbiology. (2003). 3MTM Petrifilm™ Placas para Recuento de Aerobios. *Guía de Interpretación*, 5–7.
https://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf
- Augusto, I., & Figueroa, G. (n.d.). *NAR COLIFORMES Y BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS EN LA INDUSTRIA DE LÁCTEOS “ PAIRUMANI ” Y EL LABORATORIO “ LIDIVECO ” DE SENASAG PETRIFILM ALTERNATIVE METHOD IMPLEMENTATION TO DETERMINE COLI- FORMS AND AEROBIC MESOPHILIC BACTERIA IN THE DAIRY INDUSTRY “ PA. 58–65.*
- Bird, P., Bastin, B., Klass, N., Crowley, E., Agin, J., Goins, D., Bakken, H., Lingle, C., & Schumacher, A. (2021). Evaluation of the 3MTM Petrifilm™ Rapid E. coli/ Coliform Count Plate for the Enumeration of E. coli and Coliforms: Collaborative Study, First Action: 2018.13. *Journal of AOAC International*, 103(2), 513–522.
<https://doi.org/10.1093/JAOCINT/QSZ013>
- Flores, T. G., & Herrera, R. A. R. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud Pública de México*, 47(5), 388–390.
<https://doi.org/10.1590/s0036-36342005000500010>
- Guevara-Freire, D., Montero-Recalde, M., Valle, L., & Avilés-Esquivel, D. (2019). Calidad de leche acopiada de pequeñas ganaderías de Cotopaxi, Ecuador. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 30(1), 247–255.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15679>
- INEN. (2012). Instituto ecuatoriano de normalización- Norma Técnica Ecuatoriana Nte Inen 9:2012 Leche Cruda. Requisitos. *Leche Cruda. Requisitos.*, 1–7.
http://181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_9-5.pdf
- Metz, M., Sheehan, J., & Feng, P. C. H. (2020). Use of indicator bacteria for monitoring sanitary quality of raw milk cheeses – A literature review. *Food Microbiology*, 85(July 2019), 103283. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103283>
- Safety, 3M Food. (2019). *Certifications, Recognitions and Validations.*