



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**

**DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL PROCESO DE LIMPIEZA EN LA  
SUPERFICIE INTERNA DEL TANQUE DE CONSERVACION DE LA LECHE EN  
LA UNIDAD DE ORDEÑO DE LA FES-C4, UTILIZANDO COMO ELEMENTOS  
CUANTIFICABLES LA DETECCION DE ORGANISMOS COLIFORMES  
TOTALES Y FECALES.**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**  
P R E S E N T A:  
**SEDYGHE SAYNES LOPEZ**

ASESOR: M en C. ESPERANZA GARCIA LÓPEZ  
COASESOR: M en C. PATRICIA MORA MEDINA

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

2005

0352376



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**  
**UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR**  
**DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN



DEPARTAMENTO DE  
EXÁMENES PROFESIONALES

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO**  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Determinación de la Eficiencia del proceso de limpieza en la Superficie  
Interna del tanque de Conservación de la leche en la Unidad de Ordeño de la  
FES-C4, utilizando como elementos cuantificables la Detección de Organismos  
Coliformes Totales y Fecales"  
que presenta la pasante: Sedyghe Saynes López  
con número de cuenta: 09959087-5 para obtener el título de:  
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de Octubre de 2005

PRESIDENTE	<u>MVZ. Susana Elvira García Vázquez</u>	<u><i>Susana E. García Vázquez</i></u>
VOCAL	<u>MVZ. Dora Luz Pantoja Carrillo</u>	<u><i>Dora Luz PC</i></u>
SECRETARIO	<u>M.C. Esperanza García López</u>	<u><i>[Firma]</i></u>
PRIMER SUPLENTE	<u>MVZ. Ma. de Lourdes Jara Ramírez</u>	<u><i>[Firma]</i></u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MVZ. María Reyes Pichardo Molinero</u>	<u><i>[Firma]</i></u>

## **DEDICATORIA**

*A TODOS LOS QUE CREYERON EN MI Y ME APOYARON INCONDICIONALMENTE;  
MIS PADRES, HERMANOS, ESPOSO Y AMIGOS  
GRACIAS POR ESTAR CUANDO LOS NECESITE.*

## **AGRADECIMIENTOS**

***A DIOS, GRACIAS...***

*A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
EN ESPECIAL A LA FES-C4, QUE ME APOYO CON SUS INSTALACIONES,  
INVESTIGACIONES Y PROFESORES QUE ME PREPARARON Y AYUDARON A  
CRECER COMO PERSONA*

***A MIS PADRES***

*QUE ME HAN BRINDADO SU APOYO A LO LARGO DE TODA LA CARRERA, Y ME  
HAN ENSEÑADO A SALIR ADELANTE ANTE LAS ADVERSIDADES DE LA VIDA*

***A MI ESPOSO***

*POR ESTAR A MI LADO CUANDO MAS LO NECESITE Y BRINDARME SU APOYO  
PARA SEGUIR ADELANTE, NO IMPORTANDO LAS CIRCUNSTANCIAS Y A QUIEN  
ESPERO PODER CORRESPONDER DE LA MISMA MANERA*

*A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE COLABORARON CON SU GRANITO DE  
ARENA PARA HACER POSIBLE ESTE TRABAJO*

***A TODOS  
GRACIAS***

## ÍNDICE

	Pags.
Resumen	4
1. Introducción	
1.1. Definición y composición química de la leche	6
1.2 . Características organolépticas	12
1.3. Limpieza y desinfección del equipo para controlar el crecimiento microbiano	26
2. Objetivos	33
3. Materiales y métodos	34
4. Resultados	39
5. Discusión	56
6. Conclusión	65
7. Recomendaciones	67
8. Bibliografía	70
9. Anexo 1	73
10. Anexo 2	75

## INDICE DE CUADROS

	Pags.
<b>Cuadro No. 1.</b> Composición química de la leche de vaca.	7
<b>Cuadro No. 2.</b> Valor nutritivo de la leche consumida en México en 100 g de alimento crudo.	9
<b>Cuadro No. 3.</b> Composición de la leche de diferentes razas de ganado bovino representada en porcentaje.	10
<b>Cuadro No. 4.</b> Relación entre el desarrollo de bacterias en la leche (expresado en UFC/ml) y la temperatura ( °C) en leche colectada con procedimientos higiénicos.	15
<b>Cuadro No. 5.</b> Microorganismos patógenos para el humano que pueden contaminar y han sido aislados en la leche y sus derivados.	19
<b>Cuadro No. 6.</b> Géneros de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> que pueden contaminar y han sido aislados en la leche y sus derivados.	22
<b>Cuadro No. 7.</b> Zonas del Tanque.	35
<b>Cuadro No. 8.</b> Cuenta de coliformes totales por la técnica del número más probable (NMP) expresada como NMP/ cm <sup>2</sup> .	41
<b>Cuadro No. 9.</b> Cuenta de coliformes fecales por la técnica del número más probable (NMP) expresada como NMP/ cm <sup>2</sup> .	42
<b>Cuadro No. 10.</b> Cuenta de coliformes totales por la técnica del número más probable (NMP) expresada como Log (Y + 1).	43
<b>Cuadro No. 11.</b> Cuenta de coliformes fecales por la técnica del número más probable (NMP) expresada como Log (Y + 1).	44
<b>Cuadro No. 12.</b> Cálculo de medida de tendencia central y de dispersión para la variable coliformes totales.	45
<b>Cuadro No. 13.</b> Análisis de varianza de la variable coliformes totales.	46
<b>Cuadro No. 14.</b> Prueba de Tukey de la variable coliformes totales.	47
<b>Cuadro No. 15.</b> Cálculo de medida de tendencia central y de dispersión para la variable coliformes fecales.	50
<b>Cuadro No. 16.</b> Análisis de varianza de la variable coliformes fecales.	51
<b>Cuadro No. 17.</b> Prueba de Tukey de la variable coliformes fecales.	52

## RESUMEN

En la actualidad la calidad higiénica de cualquier alimento y las superficies con las que tiene contacto ha tomado gran importancia en los últimos años, debido al papel tan importante que juegan algunos microorganismos y sus toxinas presentes en estos y en la diseminación de enfermedades en los seres humanos y otros animales.

Por esta razón la determinación de bacterias coliformes totales y fecales es de gran utilidad como indicador de calidad sanitaria de un alimento como la leche, ya que debido a la naturaleza de su composición química es un medio óptimo para la proliferación bacteriana la cual generalmente se ve reflejada en las superficies con las que tiene contacto, en este punto radica la importancia de un correcto procedimiento de lavado y desinfección de manera rutinaria de dichas superficies.

Con el presente trabajo se determinó la presencia de coliformes totales y fecales en el tanque de conservación de la leche de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán campo 4, con la finalidad de determinar el grado de contaminación y eficiencia de lavado de dicho tanque por la técnica del Numero más probable (NMP) según lo establecido en la "NOM-112-SSA1-1994, *Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica de número más probable.*"

Las muestras fueron obtenidas de toda la superficie del tanque de conservación de la leche en la unidad de ordeño de la FES-C4, antes y después del lavado de la misma para posteriormente ser procesadas en el Laboratorio de Medicina Preventiva (L-812) de la misma Facultad según lo establecido en la "NOM-109-SSA1-1994, *Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.*" Y la "NOM-110-SSA1-1994, *Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.*"

Considerando que el estudio es de tipo no experimental transversal descriptivo, los datos se estudiaron por el diseño factorial 5 x 6 en donde tomamos como Factor A = Zona del tanque y B =Eficiencia del lavado. El modelo estadístico para los



finés de este estudio fue Análisis de Varianza Unidireccional por la prueba de Tukey.

Los resultados obtenidos por este estudio, mostraron que el diseño del tanque de conservación de la leche sí influye sobre la eficiencia del proceso de limpieza y desinfección, demostrado por el nivel de microorganismos coliformes totales y fecales detectados antes y después del mismo, donde la zona con una superficie más accidentada como lo es la tubería de salida de la leche resultó la más sucia después del lavado y no así las demás zonas; a excepción de la correspondiente a la tapa del tanque, donde otras fuentes de contaminación externas pudieron hacer variar los resultados, aumentando las cargas bacterianas en vez de disminuirlas como se esperaba después del lavado.

A partir de estos resultados, se procedió a dar recomendaciones para mejorar la calidad bacteriológica de la leche que se conserva en dicho tanque.

## INTRODUCCIÓN

La composición química propia de la leche, le confiere un gran valor en la dieta del ser humano, pero al mismo tiempo ésta rica concentración de nutrientes la hace un medio óptimo para el crecimiento de una gran cantidad de microorganismos, como bacterias, hongos y levaduras que pueden ser benéficas para ella, por ejemplo en la elaboración de una gran variedad de derivados lácteos como el queso en el que dichos microorganismos le confieren propiedades y características diferentes a las de la leche, además de aumentar su valor económico en el mercado. Su composición también puede ser causa de alteraciones en la leche y hasta óptima para el desarrollo de patógenos que a final de cuentas provocan rechazo por parte del consumidor o afectar su salud y por consiguiente generar pérdidas económicas para el productor y para toda la industria de la transformación de la misma . Todo esto ha traído consigo avances en el estudio de la microbiología de la leche (Robinson, 1987).

La calidad higiénica de la leche "cruda" depende de las condiciones sanitarias durante su obtención. Así, una leche de buena calidad sanitaria proviene de vacas sanas, limpias, ordeñadas con un equipo que cumple los estándares funcionales y que se encuentra limpio. Empleando buenas prácticas de ordeño, enfriada rápidamente y conservada de esta manera hasta su recolección sin perder de vista la correcta sanitización de todas las superficies que se encuentran en contacto con ésta, por ejemplo el tanque de almacenamiento o de conservación (Ralph, 1998; Hayes, 1993; Congreso Nacional de mastitis y calidad de la leche, 2001; Scheaffer, 1987).

### 1. Definición y composición química de la leche

Se define como leche para consumo humano, a la secreción natural de la glándula mamaria de la vaca sana o de cualquier otra especie animal, excluido el calostro de acuerdo al Reglamento de control sanitario de productos y servicios vigente (1999), referido en el apéndice, apartado III; leche, sus productos y derivados.

Leche de consumo humano: "La leche cruda o bronca podrá destinarse para consumo humano, cuando cumpla con los requisitos sanitarios que están establecidos o de uso industrial, bajo las condiciones señaladas en el mismo reglamento" (capítulo 2. Art.4).

Entendiendo como leche "cruda" o "bronca" aquella que no ha sido sometida a ningún tratamiento tendiente a disminuir considerablemente su carga microbiana inicial.

La leche desde el punto de vista fisicoquímico está compuesta por minerales, vitaminas hidrosolubles, azúcares y gases en solución, algunas vitaminas liposolubles y grasas en emulsión y proteínas y enzimas en suspensión coloidal. En el Cuadro No.1 se presenta la composición química general de la leche de vaca:

**Cuadro No. 1. Composición química de la leche de vaca:**

	<b>Grupo de constituyentes</b>	<b>Constituyentes</b>	<b>Concentración aproximada en peso en 1 litro de leche</b>
<b>Agua 85%</b>	Lípidos en emulsión 6%	Grasa (triglicéridos)	30 a 50 g.
	Proteínas en dispersión 4.5%	Caseína Albúmina Lactoalbúmina Proteína del glóbulo graso Enzimas Fosfatasa, catalasa, peroxidasa	25 g. 0.6 g. 4 g. 0.2 g.  Huellas
<b>Sólidos de la leche o materia seca total 15%</b>			

...continuación <b>Sólidos de la            leche o materia            seca total</b> <b>15%</b>	Compuestos disueltos		
	4.5%	<u>Carbohidratos</u>	
		Lactosa	45 a 50 g.
		Glucosa	50 mg.
		Otros azúcares	Huellas
		<u>Iones y sales</u>	
		Calcio	1.15 g.
		Magnesio	0.1 g.
		Potasio	1.5 g.
		<u>Vitaminas hidrosolubles</u>	0.33 mg.
	<u>Materiales nitrogenados</u>		
	Aminoácidos (nitrógeno)	3.5 mg.	
	Urea (Como N)	100 mg.	
	<u>Gases</u>		
	Anhídrido carbónico	100 mg.	
	Oxígeno	7.5 mg.	
	Nitrógeno	1.5 mg.	

Fuente: López y col (1999).

En este cuadro se observa que uno de los sólidos no grasos más abundantes en la leche son los carbohidratos y en especial la lactosa con 45 a 50 g por litro de leche, el cual es un constituyente muy importante para la nutrición humana, pero también se ha demostrado que es un importante sustrato para el metabolismo de una gran cantidad de bacterias.

Asimismo, es uno de los alimentos más completos ya que aporta proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales, en el Cuadro 2 se muestra el valor nutritivo de la leche en donde se observa que aporta 61 Kcal por porción y se considera fuente de calcio y potasio.

Cuadro No. 2 Valor nutritivo de la leche consumida en México en 100 g de alimento crudo.

<b><u>LECHE PASTEURIZADA</u></b>		
<b><u>Composición química</u></b>	Humedad	87.9%
	Fibra	0 g
	Energía	61 K / cal
	Hidratos de carbono	4.7 g
	Proteínas	3.3 g
<b><u>Ácidos grasos</u></b>	Grasas totales	3.3 g
	Colesterol	14 g
	Saturados totales	2.10 g
	Monosaturado (oleico)	1.0 g
	Polisaturados (linoleico)	1.0 g
<b><u>Minerales</u></b>	Calcio	119 mg
	Hierro	0.1 mg
	Magnesio	13 mg
	Sodio	49 mg
	Potasio	152 mg
	Zinc	0.38 mg
<b><u>Vitaminas</u></b>	Retinol	31 mg
	Ácido ascórbico	1 mg
	Tiamina	0.04 mg
	Riboflavina	0.16 mg
	Niacina	0.1 mg
	Piridoxina	0.04 mg
	Ácido fólico	5 mcg
	Cianocobalamina	0.36 mcg
<b><u>Aminoácidos</u></b>	Isoleucina	162 mg
	Leucina	328 mg

	Lisina	286 mg
	Metionina	86 mg
	Fenilalanina	185 mg
	Treonina	153 mg
	Triptofano	48 mg
	Valina	199 mg
	Arginina	113 mg
	Histidina	92 mg

Tomado de Chávez de M., M. Hernández, M. y Roldán, J.A.: Tablas de uso práctico del Valor Nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México.

Sin embargo la composición varía ampliamente, dependiendo de diversos factores entre los que destacan: especie, raza, individuo, periodo de lactación, edad, y nutrición (Robinson, 1987).

La raza tiene un efecto muy claro sobre la composición de la leche como se puede observar en el Cuadro No. 3

Cuadro No. 3. Composición de la leche de diferentes razas de ganado bovino representada en porcentaje.

RAZA	GRASA(%)	PROTEÍNA(%)	LACTOSA(%)	CENIZAS(%)
Holstein	3.40	3.32	4.87	0.68
Shorthorn	3.94	3.32	4.99	0.70
Guernsey	4.95	3.91	4.93	0.74
Jersey	5.37	3.92	4.93	0.71

Centro de estudios agropecuarios ( 2001).

En el cuadro anterior se observa que las vacas raza Jersey son las que más aportan grasa y proteína a la leche, mientras la raza Shorthorn aporta más lactosa a la leche y la que aporta menos proteína, grasa y lactosa es la raza Holstein.

Pero el cambio más profundo en la composición de la leche es el que depende de la curva de lactación. El calostro, la primera secreción que sale de la ubre al inicio de la lactación, tiene una alta concentración de grasas y proteínas y un bajo contenido en lactosa. Todas las fracciones proteicas presentan una concentración alta, pero principalmente las inmunoglobulinas solo durante uno o dos días. A medida que la lactación progresa, se produce un descenso de la grasa y de las proteínas alcanzándose el mínimo entre las 6-8 semanas de lactación; la lactosa aumenta progresivamente hasta alcanzar el máximo entre las 2-4 semanas después del parto.

Durante el resto de la lactación estos cambios se invierten primero lentamente y después de una forma muy rápida. Igualmente, se observan cambios similares en la concentración de los principales minerales y demás componentes minoritarios. La grasa del calostro tiene una proporción muy baja de ácidos grasos de cadena corta, especialmente el butírico y un mayor porcentaje de palmítico, en comparación con la grasa de la leche segregada durante la primera semana de lactación. Las proporciones de los ácidos grasos de cadena corta tienden a elevarse durante las primeras 8-10 semanas de lactación, a expensas, principalmente de los ácidos esteárico y octadecanoico, el palmítico permanece prácticamente constante. Los siguientes cambios al progresar la lactación son mínimos (Robinson, 1987).

Los factores ambientales también pueden afectar su composición, de ellos la mastitis de origen bacteriano y la composición de la dieta son los más importantes. La mastitis ya sea en su forma clínica o subclínica, ocasionan un descenso característico en las concentraciones de lactosa y potasio y un incremento en las de sodio, cloruros y en las proteínas derivadas del suero sanguíneo. Existe además una entrada masiva de células somáticas que pueden liberar enzimas degradativas. Los contenidos de grasa y de proteínas específicas de la leche pueden también modificarse, especialmente bajo la forma clínica de esta (Robinson, 1987).

Los efectos de la dieta son complejos. El contenido de materia grasa depende de la cantidad y tipo de grasa presente en la dieta y de la proporción de los componentes no lipídicos, este efecto se cree que se debe principalmente a una alteración de los procesos fermentativos habituales del rumen. El cambio de dichos procesos que influye en una disminución de la concentración de grasa normalmente origina también un aumento en el contenido proteico. La modificación de la cantidad y composición de la dieta puede también alterar de forma permanente durante el resto de la lactación e influir en el destino de los nutrientes, es decir, en su reparto entre la glándula mamaria y otros tejidos del organismo; esto es un factor de gran importancia cuando las reservas energéticas del organismo pueden estar extensamente movilizadas para soportar un alto nivel de secreción de leche (Robinson, 1987).

## **2. Características organolépticas**

**Color:** el color de la leche varía de un blanco azulado a un blanco amarillento, dependiendo principalmente de la raza, alimentación del ganado y contenido de grasa presente en ella. Este color puede también verse afectado por la pasteurización, homogeneización y descremado (Robinson, 1987).

**Olor:** el olor de la leche fresca es característico, pudiendo ser modificado por la alimentación del animal, olores obtenidos del medio ambiente o bien olores producidos por la acción de microorganismos en el producto. Los olores ajenos se pueden controlar parcialmente por medio de la deodorización (Robinson, 1987).

**Sabor:** el sabor de la leche fresca es ligeramente dulce debido principalmente a la lactosa, ya que es el sólido más abundante en ésta. Dicha característica se puede ver afectada por el medio ambiente o por acción de microorganismos, adquiriendo un sabor ácido (Robinson, 1987).



Se debe tener cuidado en la forma de obtención y conservación de la leche debido a que sus características organolépticas pueden verse modificadas desfavorablemente si este proceso no se desarrolla de forma higiénica.

Se observarán las disposiciones generales siguientes durante su obtención según el Reglamento de control sanitario de productos y servicios vigente (1999), referido en el apéndice apartado III

- El ganado debe estar limpio durante la ordeña.
- Las ubres se deben lavar, desinfectar y secar inmediatamente antes de la ordeña y al terminar se deben sellar los pezones.
- Antes de la ordeña de cada animal, se deben obtener las tres primeras extracciones de leche de cada uno de los pezones, esta leche se debe recolectar en un recipiente especial e inutilizarla.
- El lugar de la ordeña debe estar limpio y provisto de un canal con declive para recibir el estiércol y orina de las vacas mientras se ordeñan. El estiércol debe ser retirado continuamente y recolectarse en un sitio alejado del lugar de la ordeña.

En el mismo reglamento, apéndice y apartado se mencionan los requisitos para el personal y equipo de donde se desprende lo siguiente:

Los ordeñadores:

- Deben lavarse las manos con jabón y agua, para lo cual utilizarán cepillo y se enjuagarán con agua que contenga alguna solución antiséptica, antes de la ordeña; tener limpias y cortadas al ras las uñas de las manos, mantenerse limpios en todo el proceso y usar batas, gorros de color claro y botas de hule limpios.
- No deben tener heridas ni infecciones en la piel, ni tener enfermedades infectocontagiosas

La ordeña mecánica se sujetará a las disposiciones siguientes:

- Las máquinas ordeñadoras, tubos, conexiones y pezoneras deben lavarse, desinfectarse y enjuagarse con suficiente agua potable antes y después de cada ordeña y dejarse escurrir en lugares apropiados.
- Las pezoneras deben lavarse, desinfectarse y enjuagarse con suficiente agua potable antes de la ordeña de cada animal y no deben estar en contacto con el piso.

Enseguida la leche cruda, se debe filtrar y depositar en tanques provistos con sistema de refrigeración o enfriamiento y sólo se permitirá la permanencia de la leche en estas condiciones hasta 24 h. Dentro de este tiempo se debe transportar a los expendios que no formen parte de los establos. Cuando no se cuente con sistemas de refrigeración, la leche cruda debe expendirse en un lapso no mayor de 6 h. después de la ordeña. Una vez rebasado este tiempo, la leche cruda debe ser sometida a un proceso de industrialización con tratamiento térmico (Artículo 42 del Reglamento de control sanitario de productos y servicios, 1999).

La etapa de filtración consiste en el empleo de medios físicos que en forma mecánica eliminen la mayor cantidad posible de elementos ajenos o extraños a la leche (macropartículas, como serían polvo, pelos, estiércol etc.). La forma más higiénica de filtrado consiste en el empleo de filtros desechables de algodón o nylon. En el caso de usar lienzos, se recomienda que estén perfectamente lavados con detergentes y además de un recambio frecuente durante el ordeño ya que, al ensuciarse el filtro, éste se convierte en contaminante del resto de la leche (Keating, 1999).

Durante mucho tiempo se consideró que la leche al ser producida por la vaca era prácticamente estéril, pero estudios posteriores han demostrado que aunque provenga de vacas sanas, siempre tiene un cierto contenido bacteriano. Si a ello aunamos las contaminaciones subsecuentes a las que está sujeto este producto, es fácil darse cuenta de que una gran variedad de agentes bacterianos pueden

estar presentes en ella. Por esta razón, es de importancia capital el someterla a un rápido enfriamiento, ya que con ello se retardará el desarrollo acelerado de los mismos. Por ejemplo: el *Streptococcus lactis* puede reproducirse cada 20 a 30 minutos si la temperatura es favorable (Keating, 1999).

Con el enfriamiento, este fenómeno se detiene considerablemente, aunque no se impide, debido a que existen microorganismos que pueden desarrollarse a estas temperaturas. Ejemplos: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas trifolii* y *Aeromona punctata*. Se han realizado estudios en los que se ha demostrado que las cuentas bacterianas no aumentan considerablemente en 24 horas si la leche se ha enfriado y mantenido a 4°C. Para ilustrar lo anterior, a continuación se presenta el Cuadro No. 4 en el que se muestra la temperatura de conservación de la leche y su relación con la cuenta de colonias por ml después de determinado tiempo. (Keating, 1999; Robinson, 1987).

Cuadro No. 4. Relación entre el desarrollo de bacterias en la leche (expresado en UFC/ml) y la temperatura ( °C) en leche colectada con procedimientos higiénicos.

Temperatura de conservación	Horas				
	Carga inicial	24	48	72	96
	Unidades formadoras de colonias (UFC/ml)				
4.4 °C	4 295	4 295	4 566	8 427	19 693
10.0 °C	4 295	13 961	127 727	5 725 277	39 490 625
15.6 °C	4 295	1 587 333	33 011 111	326 500 000	962 785 714

Fuente: Keating (1999) y Memorias del III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la leche (2001).

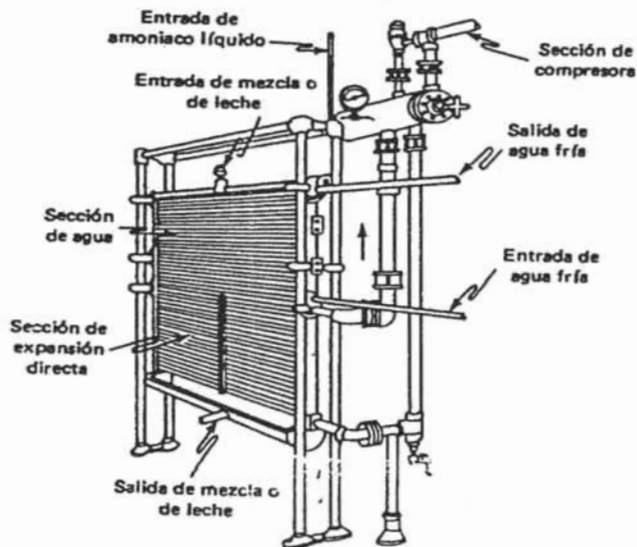
Del cuadro anterior se deduce que la temperatura crítica de proliferación bacteriana es de 10°C, por ello es imprescindible disminuir la temperatura de la leche para retardar el crecimiento y reproducción de los microorganismos.

En la actualidad los equipos de enfriamiento usados se basan en la refrigeración de tipo mecánico.

Entre los mecanismos que actualmente se emplean con este fin se tienen los siguientes:

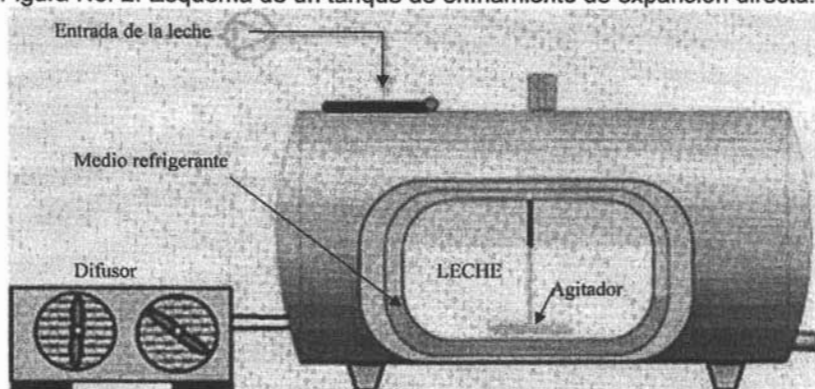
- ✓ **Enfriadores de superficie abierta.**- Los más usados son los enfriadores de cortina, que están compuestos por una serie de tubos colocados en posición horizontal soldados entre sí a lo largo de toda una línea de contacto y por los cuales circula en su interior un medio refrigerante (que puede ser agua fría, amoníaco etc). La leche es colocada en la parte superior, en una cubierta de fondo perforado desde donde desciende formando una película a lo largo de los tubos enfriadores (ver figura No. 1). En este tipo de enfriador, la leche esta en contacto con el medio ambiente, lo cual supone la posibilidad de contaminarse ya sea con el aire, polvo y/o moscas; además de enfriar sólo momentáneamente por lo que se necesitará de la instalación de una cámara fría para conservar la temperatura, aunado a lo anterior este tipo de enfriador es de difícil lavado y desinfección, aunque con la ventaja de ser económico y enfriar rápidamente la leche (Keating, 1999).

Figura No. 1. Esquema de un enfriador de superficie tipo expansión directa.



- ✓ **Tanques de enfriamiento y almacenamiento.**- El más común. Deben ser construidos de acero inoxidable y de ser posible con enfriamiento de expansión directa, diseñados para enfriar la leche rápidamente a  $4^{\circ}\text{C}$  , con una gran capacidad de hasta 2,000 litros o más, cuando la leche es conservada adecuadamente estos tanques permiten la recolección cada 2 ó 3 días a  $0^{\circ}\text{C}$  . En este tipo de sistema, la leche es enfriada directamente y agitada después de llegar al tanque (ver figura No. 2). (Keating, 1999).

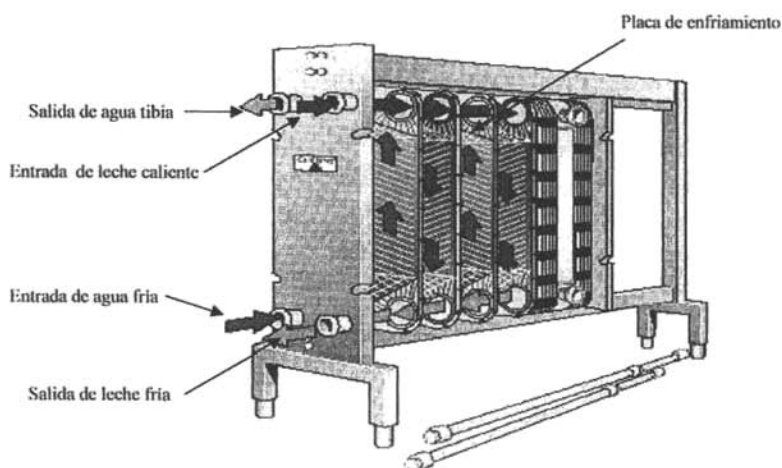
Figura No. 2. Esquema de un tanque de enfriamiento de expansión directa.



- ✓ **Placas de enfriamiento.**- (Permutador de calor por placas) Este equipo está compuesto por un conjunto de placas de acero inoxidable, en forma de paralelogramo, superpuestas verticalmente y separadas entre sí por empaques de goma. Su disposición está organizada de tal forma que se establezcan corrientes de leche y agua fría de manera alternada entre las placas, de tal modo que el medio de enfriamiento absorba el calor de la leche a través de la placa. El encuentro alterno entre ambos líquidos es rápido y continuo (ver figura No. 3). Al salir fría la leche se envía al tanque de almacenamiento o de enfriamiento como el del esquema anterior para conservar su temperatura.

La temperatura del agua fría es por lo general de 2 a 2.5 °C y no menor a 0°C, para descartar la posibilidad de inducir la congelación de la leche en el interior de las placas del enfriador (Keating, 1999).

Figura No. 3. Esquema de las placas de enfriamiento.



Aún cuando la leche se obtenga en condiciones de higiene contiene siempre microorganismos que son contaminantes del entorno, por ejemplo de la ubre, del equipo de ordeño, de enfriamiento o de conservación y de los manipuladores. Son muy variados los microorganismos que puede contaminar la leche, tales como *Pseudomonas*, *Actinobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y Coliformes (Hayes, 1993).

Este espectro tan amplio de microorganismos puede repercutir en la salud del consumidor final, que es el hombre; tal como se muestra en el Cuadro No. 5 en donde se observan algunos microorganismos patógenos que llegan a causar enfermedad en los consumidores.

Cuadro No. 5. Microorganismos patógenos para el humano que pueden contaminar y han sido aislados en la leche y sus derivados.

Microorganismo	Enfermedad que produce en el humano
<b>Fam. Enterobacteriaceae</b>	
<i>Escherichia coli</i> , incluyendo O157:H7	Gastroenteritis, Síndrome urémico hemolítico
<i>Salmonella spp</i>	Gastroenteritis, Fiebre tifoidea
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gastroenteritis
<b>Otras bacterias Gram negativas</b>	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Gastroenteritis
<i>Brucella spp</i>	Brucelosis
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenteritis
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gastroenteritis
<b>Bacterias Gram positivas formadoras de esporas</b>	
<i>Bacillus cereus</i>	Gastroenteritis
<i>Clostridium perfringens</i>	Gastroenteritis
<i>Clostridium botulinum</i> (tipo E, psicotrofa)	Botulismo
<b>Cocos Gram positivos</b>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Intoxicación
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Dolor de garganta
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Fiebre escarlatina Dolor de garganta
<b>Otras bacterias Gram positivas</b>	
<i>Corynebacterium diphtheriae var. intermedius</i>	Difteria
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeriosis
<i>Mycobacterium bovis</i>	Tuberculosis
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculosis
<i>Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis</i>	Micobacteriosis no tuberculosa (Enf. Pulmonar crónica, Linfadenitis)

Fuente: Adaptado de Boor (1997) y Johnson et al. (1990), tomado de Marth y Steele (2001) y de Acha (2001).

Cabe mencionar que algunas de las bacterias antes citadas no son eliminadas por la vaca, como es el caso de *Mycobacterium tuberculosis* y algunas especies de salmonellas como *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi*, pero al abarcar también a los derivados lácteos se hace referencia a productos que ya han sido procesados y por lo mismo han tenido contacto con la mano del hombre con la consiguiente posibilidad de haber sido contaminados por este y pasar a convertirse en vehículos de estos microorganismos.

Como se observa también en el cuadro anterior la mayoría de los microorganismos Gram negativos mencionados producen gastroenteritis en el hombre. Dentro de este grupo, una familia que merece especial atención es la *Enterobacteriaceae*, ya que algunos de los microorganismos pertenecientes a ella forman parte de un grupo denominado coliformes, que tiene importancia desde el punto de vista de la alteración de los alimentos y de la salud pública, aunque no todas las bacterias que conforman este grupo se consideren patógenas para el ser humano.

En el Cuadro No. 6 se mencionan los géneros de la familia *Enterobacteriaceae* que merecen una consideración especial debido a las alteraciones que producen en la leche así como por ser causantes de enfermedades en el ser humano.

Dentro de las propiedades que determinan que las bacterias coliformes sean importantes en las alteraciones que experimentan los alimentos están las siguientes:

- Su capacidad para crecer en sustratos muy distintos y para utilizar como fuente de energía algunos carbohidratos y otros compuestos orgánicos.
- Su capacidad para sintetizar la mayoría de las vitaminas que necesitan.
- La capacidad de las bacterias de este grupo para crecer perfectamente dentro de un intervalo de temperaturas bastante amplio, desde temperaturas inferiores a 10°C hasta una temperatura próxima a los 46°C.
- Su capacidad para producir importantes cantidades de ácido y gas a partir de azúcares.
- Su capacidad para producir sabores desagradables.
- La capacidad de *Enterobacter aerogenes* para producir mucosidad y viscosidad (Fraizer, 1993)



De manera general el grupo llamado coliformes, incluye a todos los bacilos Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos, oxidasa negativa, no esporulados, capaces de fermentar la lactosa con producción de gas y ácido en su mayoría en 48 horas a 37°C, en medios de cultivo sólidos o líquidos. Los géneros que integran este grupo son *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella* pertenecientes a la familia ya citada e incluso especies de *Aeromonas*, siendo las especies más importantes de este grupo *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes* (Fraizer, 1993; Londinsky, 2004).

Nota: Algunas cepas de *Arizona hainshawii* y de *Hafnia alvei* fermentan accidentalmente la lactosa, pero generalmente no la fermentan en 48 horas y algunas cepas de *Pantoea agglomerans* son lactosa positiva a las 48 horas. Lo anterior es importante mencionar ya que generalmente la lectura de resultados se realiza 48 h. después de sembradas las muestras ( Jay. 1994).

Cuadro No.6. Géneros de la familia *Enterobacteriaceae* que pueden contaminar y han sido aislados en la leche y sus derivados.

GÉNERO	ESPECIES IMPORTANTES	CARACTERÍSTICAS GENERALES	FUENTE DE CONTAMINACIÓN/ ORIGEN	OBSERVACIONES
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> )	Produce una fermentación fórmica mixta (forma ácido láctico, acético y fórmico), esta característica le permite diferenciar de otros coliformes por medio de pruebas bioquímicas como IMVIC (Producción de Indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y utilización de citrato) dando como resultado (++) Algunas cepas presentan cápsula.	Se encuentra en intestino grueso de la mayoría de los animales de sangre caliente y por lo tanto contamina la leche directa o indirectamente a través de la materia fecal.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Algunas cepas pueden ser patógenas oportunistas produciendo mastitis aguda. El inadecuado manejo de los animales y las instalaciones donde se encuentran, tales como mucha humedad e inadecuado manejo de excretas agudizan el problema</li> <li>▪ <i>E.coli</i>, si las condiciones son favorables, pueda alterar la leche y sus derivados produciendo gas y olor fecaloide.</li> <li>▪ Algunas cepas capsuladas de <i>E. coli</i>, <i>Citrobacter</i> y <i>Klebsiella</i>, pueden producir viscosidad en la leche aun cuando ésta haya sido mantenida a bajas temperaturas.</li> </ul>
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Salmonella dublin</i> <i>Salmonella typhi</i> *	No requiere factores de crecimiento especiales. La mayoría de las cepas producen gas a excepción de <i>S. typhi</i> .	Contamina la leche a través de la materia fecal y en ciertas circunstancias las vacas que padecen salmonelosis eliminan microorganismos viables en la leche.	* <i>Salmonella typhi</i> , contamina la leche a través del contacto con el hombre, ya que esta especie sólo es eliminada por el mismo.
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Algunas cepas presentan cápsula Fermenta la glucosa por la vía butanediol/fórmica, por ello en la prueba Voges-Proskauer es habitualmente positiva.	Pueden tener origen fecal o pueden provenir del suelo, vegetales y del agua. Y la leche puede contaminarse a partir de cualquiera de estas fuentes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Algunas cepas producen viscosidad en la leche.</li> </ul>

<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Inmóviles a 37°C. No tienen cápsula. Aunque estos microorganismos crecen mejor entre 30 y 37 °C, su temperatura de crecimiento puede oscilar de -2 °C a 45 °C	Contamina la leche ya sea directamente por el hombre o indirectamente por medio de agua contaminada con heces y orina ( tanto del hombre como de animales) o a través de insectos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Todas las especies son patógenas para el hombre y/o los animales.</li> <li>▪ <i>Y. enterocolitica</i> es un microorganismo psicotrofo.</li> <li>▪ La leche solo funciona como vehículo</li> </ul>
-----------------	--	---	--	--

Fuente: Adaptado de Robinson (1987) y Acha ( 2001).

Como se mencionó en el cuadro no. 6 la leche cruda se contamina comúnmente con bacterias coliformes, esta contaminación puede provenir del estiércol, polvo, suelo, alimentos del ganado, agua, insectos (especialmente moscas), de las manos del ordeñador o del contacto con residuos lácteos que quedan en los utensilios de ordeño y tanques de transporte o almacenamiento, mal lavados y desinfectados; donde estas bacterias suelen desarrollarse con gran facilidad. Por lo anteriormente expuesto es difícil obtener leche cruda libre de coliformes y aunque es indeseable, se toleran hasta cierto punto. No obstante, altas cuentas bacterianas de coliformes son indicativas de condiciones no higiénicas de producción, transporte o almacenamiento y producen alteraciones en la leche, razones suficientes para evitar su desarrollo. Mediante buenas prácticas de producción. (Fraizer, 1993; Londinsky; Jay, 1994).

Como se acaba de mencionar, la cuestión no es simplemente la presencia de coliformes, sino sus cifras relativas, si estas cifras tienden a ser muy bajas carecen de importancia real desde el punto de vista de la salud pública, pero si por el contrario se tiene cuentas elevadas de coliformes, se estaría hablando de un posible daño a la salud del consumidor, tomando en cuenta por ejemplo que de manera general la mínima dosis infectante (MDI) de *E. coli* es de  $10^6$ /g ó ml de alimento y la de *Salmonella sp* es de  $10^5$  o más/ g ó ml de alimento (Jay, 1994) que se consideran MDI altas, aunque también hay sus excepciones como *Salmonella typhi* con una MDI en humanos de tan solo 108 bacterias y *E. coli* O157:H7 con una MDI de tan sólo 100 bacterias, que por la cantidad se consideran tienen MDI bajas ( Moore and Griffith, 2002; ICMSF, 1981). Cabe mencionar que el término MDI hace referencia a la cantidad mínima de bacterias necesarias para causar un síndrome o enfermedad en un individuo, expresado por g o ml de alimento (López y col., 2005).

Este grupo de bacterias dependiendo de su origen contaminante se puede a su vez subdividir en coliformes fecales que como su nombre lo dice tiene origen en la materia fecal y en coliformes no fecales, que tienen su origen en otras fuentes como el agua, suelo y vegetales (Fraizer,1993; Jay, 1994).

El grupo de coliformes fecales incluye a los coliformes capaces de crecer a temperatura elevada es decir entre 44.5-45 °C (ya que los coliformes totales crecen a temperatura de 37°C y para poder diferenciar los de origen fecal se requiere reincubar a dicha temperatura). Por lo tanto, el primer objetivo de las pruebas de incubación a temperatura elevada fue la diferenciación de los coliformes de origen fecal de los que no tienen origen fecal. Cabe hacer mención que las denominaciones "coliforme fecal" y "coliforme" no tienen validez taxonómica; estos términos sirven más bien para designar a grupos de bacterias capaces de crecer en las condiciones experimentales que ya se han especificado anteriormente (Fraizer,1993; Jay, 1994).

El medio que generalmente se usa para determinar coliformes fecales es el caldo EC (*Escherichia coli*) a las temperaturas antes mencionadas al observar la producción de ácido y gas. Es fundamentalmente una prueba para el tipo I de *E. coli*, aunque algunas cepas de *Citrobacter* y de *Klebsiella* también crecen muy bien en este medio. Constituyen excepciones notables las cepas enterohemorrágicas de *E. coli* (EHEC) que no crecen a 44.5 °C en la formulación convencional del medio EC, pero crecen cuando el porcentaje de sales biliares del medio se reduce de 0.15% a 0.112% (Jay, 1994).

Se utilizan mucho las técnicas de recuento de coliformes totales y de recuento de coliformes fecales e incluso la de recuento de *E. coli* en lo relacionado a los alimentos, habiéndose admitido como "recuentos indicadores del grado de contaminación". El concepto de microorganismos indicadores se basa en la afirmación hecha por Schardiger en el año 1892 según la cual la bacteria *E. coli*

podía ser utilizada como índice o indicador de contaminación fecal, ya que podían ser aisladas con mayor facilidad que las especies de *Salmonella* (Fraizer, 1993).

La facilidad en general con que los coliformes pueden ser cultivados y diferenciados los hace ideales como indicadores, con la excepción de que su identificación se puede complicar por la presencia de cepas atípicas, no obstante estas cepas atípicas tienen una importancia higiénica dudosa, ya que no se han relacionado con daño al consumidor (Jay. 1994).

Es importante hacer hincapié en que los microorganismos indicadores se emplean con mayor frecuencia para evaluar la inocuidad y la higiene de los alimentos que para determinar su calidad ( Jay. 1994).

En los productos lácteos, las pruebas de coliformes no están ideadas para indicar la contaminación fecal, pero reflejan la higiene general del establo lechero y de la planta procesadora de é sta (Jay, 1994).

### **3. Limpieza y desinfección del equipo para controlar el crecimiento microbiano.**

La calidad microbiológica de un alimento no se garantiza únicamente mediante el control del producto final, sino también a través de medidas consecuentes para asegurar la higiene en la empresa (Ellner, 2000).

Por eso mismo la higiene en la empresa debe abarcar el control del personal en este caso el ordeñador, las materias primas es decir las vacas, todo el equipo (el cual incluye la ordeñadora, los filtros, el equipo de enfriamiento y el tanque de almacenamiento), el material de embalaje, el aire y el agua. Y para lograr este objetivo una de las medidas tendientes a controlar esta posible contaminación están la limpieza y la desinfección (Ellner, 2000).

El lavado y desinfección tanto de las vacas como del equipo utilizado tienen la finalidad de reducir y minimizar el aporte microbiológico, para lograrlo es necesario conocer la eficacia de la rutina de lavado y desinfección y la eficiencia de estas operaciones ejerce una enorme influencia en la calidad final del producto (Páez, 2003).

Entendiendo por limpieza al proceso de separación y alejamiento de la suciedad existentes en las superficies y paredes, de tal modo, que al menos aparentemente se pueda considerar desaparecida. (Sainz, 1990), y como superficie limpia, aquella que se encuentra de forma visible libre de cualquier sustancia o materia diferente al material intrínseco del que está hecha (NOM-093-SSA1-1994).

Es decir una superficie limpia es la que está libre de suciedad de cualquier tipo y no emite olores. Por lo tanto, es aquella en la que se han eliminado restos alimenticios, detergentes y desinfectantes. No contaminará los alimentos que contacten con ella y los microorganismos que posee, no afectarán a la calidad del producto durante su elaboración. Una superficie limpia no es necesariamente estéril (Bibek, 2001).

Es esencial para evitar la contaminación microbiana de la leche la limpieza e higiene de las superficies que entran en contacto con ellas. Esta precaución es importante no sólo desde el punto de vista de calidad sino también de salud pública. (Robinson, 1987)

La eficacia de la limpieza, tanto de los equipos como de la planta tiene importantes consecuencias sobre la calidad higiénica del producto. Los locales (suelos, paredes y techos) deben estar contruidos con materiales que acumulen la mínima suciedad posible y sean fáciles de limpiar. Los equipos también tienen que cumplir estos requisitos, además de las siguientes características:

- ✓ Todas las superficies que están en contacto con los alimentos serán inertes en las condiciones de fabricación empleadas. El material más adecuado es el acero inoxidable.

Las llaves de salida pueden, a veces estar muy contaminadas aunque su apariencia no lo demuestre, debido a que, el metal y los tapones de goma están unidos de manera insatisfactoria. Por esto mismo se recomienda que al menos una vez al mes estos tapones se sumerjan en agua hirviendo durante dos minutos para su efectiva limpieza.

- ✓ Las superficies que contactan con los alimentos serán lisas y no porosas para que no se acumulen restos alimenticios difíciles de eliminar durante la limpieza. A este respecto son más adecuadas las juntas y codos de soldadura que las superpuestas o las de rosca; las entradas y salidas de los tanques deberán estar alineadas con las superficies interiores. También los agitadores, sondas y dispositivos para controlar el nivel son superficies que facilitan la acumulación de suciedad. En estas zonas ya citadas, radica gran importancia el recuento de organismos coliformes y de enterococos, ya que precisamente la acumulación de suciedad facilita la multiplicación de microorganismos y por lo tanto su presencia en la leche refleja las malas condiciones sanitarias del equipo.

Se ha dicho con frecuencia que el equipo de ordeño debe estar muy contaminado para que origine un incremento marcado del recuento de bacterias por ml de leche que pasa a través del mismo. Pero por otra parte, rara vez el equipo de ordeño está contaminado de una manera uniforme; las bacterias y los residuos lácteos se acumulan en zonas difíciles de limpiar y en los sitios de los componentes mal diseñados ejemplo de estos puntos son hendiduras, finales ciegos y empalmes, los que se necesitan desmontar periódicamente porque no se pueden limpiar ensamblados. Por el contrario las superficies lisas se limpian con facilidad, simplemente



haciendo circular soluciones limpiadoras ó desinfectantes a través de las máquinas. (Robinson, 1987; Early, 2000; Hayes, 1993).

En el caso de los tanques de almacenamiento, conservación o recepción de la leche la mayoría de estos son de superficie lisa, de acero inoxidable más fáciles de limpiar que las máquinas ordeñadoras; pero los accesorios tales como el agitador, llaves de salida, válvulas y en algunos modelos, las juntas de los orificios de inspección pueden a veces ser causa de acumulo de materia orgánica difícil de retirar (Robinson, 1987).

En la práctica, la contribución de la contaminación del equipo de ordeño a la flora total de la leche no se puede determinar con precisión mediante los recuentos en la leche obtenida, debido a la amplia variación tanto en número como en tipo, de los microorganismos procedentes de las ubres de las vacas. El método más eficaz de determinar el grado de contaminación de la leche derivada de las paredes del equipo es mediante lavados con un líquido esterilizado y la determinación de la tasa bacteriana en el líquido tras el lavado (Robinson, 1987).

Se desconoce la relación precisa entre la tasa de bacterias recogidas por el lavado de la máquina ordeñadora y la contribución de la flora presente en este equipo al recuento total de la leche. Sin embargo, a partir de los resultados de lavados repetidos y de otros métodos se puede deducir que la proporción de bacterias recogidas en los lavados es, al menos del 10% de la flora total de la leche. Este porcentaje será aún mayor si las bacterias se han multiplicado en las superficies húmedas o en los residuos del equipo insuficientemente limpio (Robinson, 1987).

Para verificar la limpieza y controlar así la presencia de microorganismos se pueden utilizar diferentes técnicas:

- ✓ La inspección visual, se puede emplear para detectar películas, incrustaciones o depósitos visibles, cuando el acero inoxidable se ve opaco se debe al uso o a la acción de agentes químicos lo cual es posible limpiar, pero la opacidad también puede ser debida a una película o incrustación de material residual.
- ✓ En la inspección mediante el tacto se detectan residuos de suciedad pasando los dedos por las superficies, siempre y cuando se tenga acceso a estas.
- ✓ Olor, la leche no debe presentar ni olores metálicos, ni el equipo oler a leche. La presencia de cualquier olor prueba que ha habido una contaminación u oxidación.
- ✓ Las pruebas con un paño seco, los residuos de leche y las incrustaciones debidas al agua se ven blanquecinos sobre un paño negro. La herrumbre o los óxidos metálicos se aprecian mejor sobre un paño blanco (Robinson, 1987).

La limpieza debe llevarse a cabo, sino continuamente, al menos a intervalos regulares y frecuentes de forma que se mantenga aceptable la buena calidad del producto. La forma en que debe realizarse la limpieza depende principalmente de:

- ✓ La naturaleza de la suciedad o mugre que debe eliminarse, la leche deja más residuos de grasa y lactosa que de cualquier otro componente.
- ✓ El tipo de superficie a limpiar, en este caso el tanque es de acero inoxidable, y debe tenerse en cuenta que hay ciertos detergentes que pueden causar corrosión intensa y extensa a este material como los elaborados a base de ácido clorhídrico.

- ✓ Los materiales empleados para la limpieza, ya sean escobas, zacátes, etc.
- ✓ El grado de dureza del agua, ya que esta puede ayudar a que se adhieran sales minerales en la superficie e inactivar o disminuir las propiedades de algunos detergentes y desinfectantes (Bibek, 2001).

Las fases básicas de un programa de limpieza pueden resumirse así:

- ✓ Eliminación de la suciedad más grosera,
- ✓ Eliminación con detergentes de todo resto de mugre o suciedad
- ✓ Arrastre o enjuagado con agua para eliminar los detergentes y la suciedad.
- ✓ Secado de las superficies por exposición al medio ambiente (Bibek, 2001 y Hayes, 1993).

Frecuentemente la limpieza debe ir seguida de la desinfección y/o esterilización, según el grado de eliminación de microorganismos deseado.

La desinfección (Sanitización) Se define como la reducción del número de microorganismos presentes en una superficie inanimada o alimento, a un nivel que no dé lugar a contaminación nociva, mediante agentes y/o métodos químicos, físicos o ambos (NOM-093-SSA1-1994).

El principal objetivo de la desinfección es minimizar el acceso de microorganismos a los alimentos de diferentes orígenes y en cualquier etapa del procesamiento (Bibek, 2001).

La correcta desinfección ayuda a reducir la contaminación microbiana a niveles deseados en cualquier proceso de alimentos. Un ejemplo de esto es que los bajos niveles microbianos en leche cruda producidos en ambientes poco contaminados y con una efectiva desinfección ayuda a que cuando la leche sea pasteurizada obtenga los niveles microbiológicos seguros, ya que mientras más altos sea el

número de microorganismos en la leche antes de su pasteurización mayor será el número de bacterias que sobrevivan después de la misma. Aunado a esto, una correcta desinfección prolongará la vida de anaquel de un producto y reducirá la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) (Bibek, 2001).

De manera general la eficiencia de estos procesos (lavado y desinfección), se juzga por el cálculo de microorganismos que quedan en la superficie del equipo que entra en contacto con la leche (Keating, 1999).

Un adecuado proceso de limpieza y desinfección en toda la línea de producción es primordial ya que las superficies del equipo mal sanitizado podrían convertirse en una importante fuente de contaminación de un sinnúmero de microorganismos para la leche cruda. Por lo que este estudio pretende determinar la eficiencia del proceso de limpieza y desinfección del tanque de conservación de la leche, por ser la última superficie de contacto con la misma antes de su industrialización, para lo que se emplearán como indicadores los microorganismos del grupo coliformes tanto totales como fecales.

## OBJETIVOS

1. Determinar el grado de contaminación por coliformes **totales** y coliformes fecales previo al proceso de limpieza de la superficie interna **del tanque** de conservación de la leche en la unidad de ordeño de la FES-C4.

2. Obtener las cuentas de organismos coliformes **totales y** fecales posterior al proceso de limpieza de la superficie interna del **tanque de** conservación de la leche en la unidad de ordeño de la FES-C4.

3. Determinar la eficiencia del proceso de limpieza del **tanque** de conservación de la leche en la unidad de ordeño de la FES-C4 con **base** en los datos que se obtendrán de los objetivos anteriores.

4. Sentar las bases para que se implemente un **sistema** de evaluación bacteriológica del proceso de limpieza en la unidad de **ordeño** de la FES-C4.

## MATERIAL Y METODOS

1. De acuerdo a la clasificación realizada por Canales (1986), este estudio fue considerado como observacional, descriptivo, transversal y prospectivo.

a) Ubicación del estudio. Sala de ordeño de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4 -UNAM.

b) Los análisis bacteriológicos se hicieron en el Laboratorio de Medicina Preventiva (L-812) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo-4.

### 2. Duración del Estudio.

La investigación se realizó de Noviembre del 2003 a Diciembre del 2004.

### 3. Sujeto de Estudio.

La unidad de análisis fue la superficie interna del tanque de conservación de la leche cruda, el cual cuenta con las siguientes características; fabricado en acero inoxidable por Alfa Laval, con una capacidad total de 1, 700 l, este tipo de tanque no cuenta con sistema de refrigeración o enfriamiento, pero si con doble pared para poder conservar la temperatura a la que se recibe la leche .

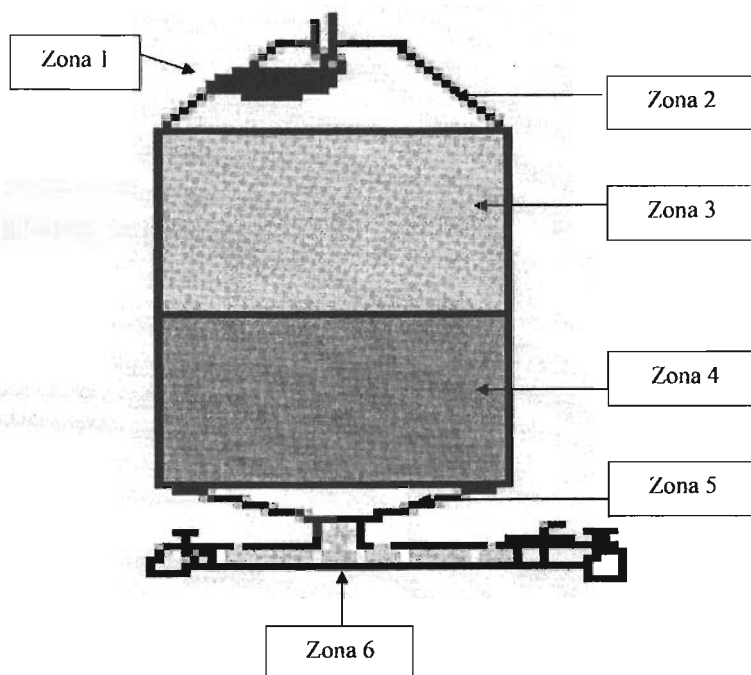
### 4. Tamaño de muestra.

Debido a que el tanque de conservación no está contaminado de una manera uniforme, ya que las bacterias y los residuos lácteos se acumulan en zonas difíciles de limpiar y en los sitios de los componentes mal diseñados, el tanque se dividió en 6 zonas físicas de acuerdo a sus características de forma, realizándose el censo bacteriológico por zona y por la categorización de riesgo en la que se clasifican los organismos coliformes totales y fecales (ICMSF, 1981). Se programaron 5 repeticiones, tal como se representa en el Cuadro No. 7 y Figura No. 4

Cuadro No. 7. Zonas del Tanque.

ZONA	AREA CORRESPONDIENTE
1	Tapa
2	Parte superior (techo del tanque de recepción)
3	Pared superior del cuerpo del tanque de recepción
4	Pared inferior del cuerpo del tanque de recepción
5	Parte inferior (piso del tanque)
6	Tubería de salida de la leche del tanque de recepción

Figura no. 4. Diagrama del tanque de conservación de la leche dividido en 6 zonas para su muestreo



El muestreo de superficie es no probabilístico, se hizo de forma secuencial y ordenado. Para fines de muestreo se dividió el tanque en seis zonas específicas para determinar su limpieza ( Zona 1, Zona 2, Zona 3, Zona 4, Zona 5 y Zona 6) de las cuales se hicieron 5 repeticiones, cada repetición se realizó semanalmente. El muestreo por zona a su vez se realizó antes del Lavado o Tanque de conservación “sucio” y después del Lavado o Tanque de conservación “limpio”.

#### **6. Tipo de variable estudiada.**

Cuantitativa discreta.

- Identificación de los microorganismos indicadores de contaminación (Coliformes totales y coliformes fecales), señalando cuentas bacterianas expresadas como Número más probable por centímetro cuadrado (NMP/cm<sup>2</sup>) antes de lavado y después de éste.

#### **7. Toma y manejo de muestras.**

Se realizó una variante de la técnica descrita por Collins y Lyne para la toma de muestras de superficies por la “técnica de frotación” (Microbiological methods, 1999) usando esponjas estériles de la marca comercial Nasco WHIRL-PAK® y auxiliándose de un aditamento de aluminio fabricado especialmente para este fin. Inmediatamente de conseguidas las muestras se llevaron al laboratorio y fueron sometidas a refrigeración hasta el momento de ser procesadas.

También se tomó como referente la metodología señalada en la “NOM-109-SSA1-1994, *Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico*”(ver anexo 1).

#### **8. Análisis Bacteriológico.**

Para su análisis, las muestras se procesaron en el laboratorio de Medicina Preventiva realizando su preparación y dilución en base a lo establecido en la “NOM-110-SSA1-1994, *Preparación y Dilución de Muestras de alimentos para su análisis microbiológico*” (ver anexo 1).



Las determinaciones bacteriológicas para coliformes totales y coliformes fecales se realizaron según lo dispuesto en la "NOM-112-SSA1-1994, *Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable*", usando para el fin de determinar coliformes totales, tubos de serie de tres de caldo lauril sulfato de sodio al doble de la concentración establecida por el fabricante e incubadas 48 h. a 37°C y caldo EC para determinar coliformes fecales a la concentración establecida por el fabricante e incubadas 48 h. a 45-45.5°C (ver anexo 2).

### **9. Análisis de resultados.**

Las pruebas estadísticas realizadas para el análisis de resultados fueron bajo un diseño factorial 5 x 6 donde:

- Factor A = Zona del tanque.
- Factor B = Eficiencia de lavado.

De donde se obtuvieron:

- Medidas de tendencia central y de dispersión (media y desviación estándar).
- Análisis de varianza unidireccional (Hernández; Fernández ; Baptista, 2003).
- Prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.001 (Daniel, 2002).

Para realizar la interpretación de la prueba estadística, se postularon las siguientes hipótesis:

**H<sub>0</sub>:** El grado de contaminación determinado por el número de microorganismos coliformes totales y coliformes fecales sobre la superficie interna del tanque de conservación de la leche, independientemente de la zona del mismo, es igual tanto antes como después del lavado.

**Hi:** El grado de contaminación determinado por el número de microorganismos coliformes totales y coliformes fecales sobre la superficie interna del tanque de conservación de la leche, tanto antes como después del lavado, dependerá de la zona del tanque de la que se trate.

## RESULTADOS

De la observación que se hizo del proceso antes y después del lavado se desprende lo siguiente:

El llenado del tanque de conservación de la leche, se realiza diariamente después de cada ordeña, previo enfriamiento de la leche al pasar por placas intercambiadoras de calor, generalmente la cantidad de leche contenida, no pasa de la mitad de la capacidad total del tanque (1, 700 l), que es lo correspondiente a las zonas 4 y 5.

Por el contrario el vaciado del tanque no se realiza diariamente, sino en días terciados, es decir solo los días lunes, miércoles y viernes. Lo que significa que la leche contenida el día lunes antes del lavado, corresponde a la leche recolectada de la ordeña del viernes en la tarde, las dos ordeñas del sábado, las dos ordeñas del domingo y la del lunes en la mañana, por lo tanto parte de la leche contenida en el tanque pasa más de 60 horas en su interior. Cabe mencionar que el tanque sólo almacena la leche fría (en promedio llega a una temperatura de 7.8°C y después de 48 horas su temperatura aumenta hasta los 12.5°C), ya que no cuenta con sistema de refrigeración. Después del vaciado se procede al lavado de la manera siguiente:

1. Eliminación de materia más grosera por arrastre con agua a temperatura ambiente
2. Lavado con detergente alcalino auxiliándose con un cepillo de material plástico y una fibra de material sintético
3. Enjuagado con agua a temperatura ambiente
4. Aplicación de vapor (por lo general una vez por semana)
5. Secado por exposición al medio ambiente

Nota: No se mencionan tiempos de duración de cada etapa del proceso porque no están estipulados. Este proceso solamente se realizaba los días lunes, miércoles y viernes.

Debido a que el personal encargado no tiene un horario fijo para lavar el tanque, las 5 repeticiones del muestreo no se tomaron a una hora determinada.

Las muestras que se trabajaron se dividieron en dos categorías: Antes del lavado (tratamiento 1) y después de lavado (tratamiento 2).

Las variables estudiadas fueron: Determinación de coliformes totales y fecales expresadas como NMP/cm<sup>2</sup> y como logaritmo (Y + 1).

Los resultados obtenidos del conteo expresados como número más probable difieren demasiado entre si (Ver Cuadros No. 8 y 9), la presencia de valores negativos o "0" y de valores tan amplios que van desde 3 NMP/ cm<sup>2</sup> hasta más de 1100 NMP/ cm<sup>2</sup>, hicieron que los resultados se transformaron como logaritmo (Y + 1), para facilitar su estudio y comparaciones entre zonas del tanque tanto antes como después de lavado. Se ordenaron de tal forma que, se procesaron en el programa estadístico MINITAB. (Ver Cuadros No. 10 y 11).

Se pretende que al final del procedimiento de limpieza del tanque de conservación de la leche se disminuyan las cargas bacteriológicas de coliformes totales y fecales.

**CUADRO No.8. CUENTA DE COLIFORMES TOTALES POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) EXPRESADA COMO NMP/ cm<sup>2</sup>**

SEMANA	ZONA DEL TANQUE	ANTES DEL LAVADO (NMP/cm <sup>2</sup> )	DESPUÉS DEL LAVADO (NMP/cm <sup>2</sup> )
1	1	7	14
	2	Menos de 3	14
	3	64	21
	4	Más de 1100	23
	5	Más de 1100	3
	6	Más de 1100	15
2	1	Menos de 3	Menos de 3
	2	Más de 1100	Menos de 3
	3	Menos de 3	Menos de 3
	4	Más de 1100	Menos de 3
	5	Más de 1100	Menos de 3
	6	Más de 1100	Más de 1100
3	1	9	Menos de 3
	2	9	Menos de 3
	3	15	Menos de 3
	4	1100	Menos de 3
	5	Más de 1100	Menos de 3
	6	Más de 1100	240
4	1	43	Más de 1100
	2	Menos de 3	Menos de 3
	3	Más de 1100	Menos de 3
	4	Más de 1100	Menos de 3
	5	Más de 1100	Más de 1100
	6	Más de 1100	Más de 1100
5	1	Menos de 3	43
	2	Menos de 3	23
	3	Menos de 3	Menos de 3
	4	Más de 1100	240
	5	Más de 1100	240
	6	Más de 1100	Más de 1100

SLS, 2004

DISEÑO FACTORIAL 5 x 6 DONDE:

- Factor A = Zona del tanque.
- Factor B = Eficiencia de lavado.

**CUADRO No. 9. CUENTA DE COLIFORMES FECALES POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) EXPRESADA COMO NMP/cm<sup>2</sup>**

SEMANA	ZONA DEL TANQUE	ANTES DEL LAVADO (NMP/cm <sup>2</sup> )	DESPUÉS DEL LAVADO (NMP/cm <sup>2</sup> )
1	1	Menos de 3	3
	2	Negativo	Menos de 3
	3	39	Menos de 3
	4	Más de 1100	Menos de 3
	5	Más de 1100	Menos de 3
	6	Más de 1100	4
2	1	Negativo	Negativo
	2	93	Negativo
	3	Negativo	Negativo
	4	Más de 1100	Negativo
	5	Más de 1100	Negativo
	6	Más de 1100	28
3	1	Menos de 3	Negativo
	2	Menos de 3	Negativo
	3	Menos de 3	Negativo
	4	460	Negativo
	5	Más de 1100	Negativo
	6	93	Menos de 3
4	1	15	Menos de 3
	2	Negativo	Negativo
	3	21	Negativo
	4	93	Negativo
	5	150	43
	6	23	43
5	1	Negativo	Menos de 3
	2	Negativo	Menos de 3
	3	Negativo	Negativo
	4	23	Menos de 3
	5	93	3
	6	120	23

SLS, 2004

DISEÑO FACTORIAL 5 x 6 DONDE:

- Factor A = Zona del tanque.
- Factor B = Eficiencia de lavado

**CUADRO No. 10. CUENTA DE COLIFORMES TOTALES POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) EXPRESADA COMO  $\text{Log}(Y + 1)$**

SEMANA	ZONA DEL TANQUE	ANTES DEL LAVADO O $\text{Log}(Y + 1)$	DESPUÉS DEL LAVADO $\text{Log}(Y + 1)$
1	1	0.903	1.176
	2	0.602	1.176
	3	1.813	1.342
	4	3.042	1.380
	5	3.042	0.602
	6	3.042	1.204
2	1	0.602	0.602
	2	3.042	0.602
	3	0.602	0.602
	4	3.042	0.602
	5	3.042	0.602
	6	3.042	3.042
3	1	1.000	0.602
	2	1.000	0.602
	3	1.204	0.602
	4	3.042	0.602
	5	3.042	0.602
	6	3.042	2.382
4	1	1.643	3.042
	2	0.602	0.602
	3	3.042	0.602
	4	3.042	0.602
	5	3.042	3.042
	6	3.042	3.042
5	1	0.602	1.634
	2	0.602	1.380
	3	0.602	0.602
	4	3.042	2.382
	5	3.042	2.382
	6	3.042	3.042

SLS, 2004

DISEÑO FACTORIAL 5 x 6 DONDE:

- Factor A = Zona del tanque.
- Factor B = Eficiencia de lavado

**CUADRO No. 11. CUENTA DE COLIFORMES FECALES POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) EXPRESADA COMO Log (Y + 1)**

SEMANA	ZONA DEL TANQUE	ANTES DEL LAVADO Log (Y + 1)	DESPUÉS DEL LAVADO Log (Y + 1)
1	1	0.602	0.602
	2	0	0.602
	3	1.602	0.602
	4	3.042	0.602
	5	3.042	0.602
	6	3.042	0.699
2	1	0	0
	2	1.973	0
	3	0	0
	4	3.042	0
	5	3.042	0
	6	3.042	1.462
3	1	0.602	0
	2	0.602	0
	3	0.602	0
	4	2.664	0
	5	3.042	0
	6	1.973	0.602
4	1	1.204	0.602
	2	0	0
	3	1.342	0
	4	1.973	0
	5	2.179	0.602
	6	1.380	1.643
5	1	0	0.602
	2	0	0.602
	3	0	0
	4	1.380	0.602
	5	1.973	0.602
	6	2.083	1.380

SLS, 2004

DISEÑO FACTORIAL 5 x 6 DONDE:

- Factor A = Zona del tanque.
- Factor B = Eficiencia de lavado



De todos los resultados obtenidos de coliformes totales, se procedió a obtener tanto las medias como la desviación estándar, expresados como log (Y+1), tanto por lavado (antes y después) como por zona del tanque (ver Cuadro No. 12)

**CUADRO No. 12. Cálculo de medida de tendencia central y de dispersión para la variable coliformes totales**

Variable dependiente: Logaritmo (Y+ 1) de coliformes totales

LAVADO	ZONA	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	n (No. de muestras)
<b>Antes del lavado</b>	1	0.95000	0.42637	5
	2	1.16960	1.06080	5
	3	1.45260	1.02041	5
	4	3.04200	0.00000	5
	5	3.04200	0.00000	5
	6	3.04200	0.00000	5
	Total	2.11637	1.11002	30
<b>Después del lavado</b>	1	1.41300	1.00972	5
	2	0.87240	0.37722	5
	3	0.75000	0.33094	5
	4	1.11360	0.78502	5
	5	1.44600	1.17902	5
	6	2.54240	0.80091	5
	Total	1.35623	0.94814	30
<b>TOTAL</b>	1	1.18150	0.77037	10
	2	1.02100	0.76675	10
	3	1.10130	0.80534	10
	4	2.07780	1.14318	10
	5	2.24400	1.15125	10
	6	2.79220	0.59534	10
	Total	1.73630	1.09288	60

SLS, 2005

De manera general, se puede observar que tanto antes como después de lavado, la zona 6 es la más sucia, seguida de la zona 5 y 4, por el contrario la zona más limpia es la 2.

Otro dato que vale la pena mencionar, es que antes de lavado las zonas 4, 5 y 6, durante las cinco repeticiones que tuvo el muestreo de cada zona, se aprecia que

los resultados coincidieron entre sí y entre zonas como lo demuestra la poca o nula desviación estándar que tuvieron con respecto a la media.

El análisis de varianza realizado para coliformes totales se muestra en el Cuadro No. 13

**Cuadro No. 13. Análisis de varianza de la variable coliformes totales**

Variable dependiente: Logaritmo (Y+ 1) de coliformes totales

Fuente de variación (F.V.)	g.l	Suma de cuadrados (S.C.)	Cuadrado medio (C.M.)	F calculada (Fc)	Significancia
<b>Tratamientos:</b>	<b>11</b>	<b>45.400</b>	4.127	7.902	0.000
• Lavado	1	8.667	8.667	16.594	0.000
• Zona	5	27.120	5.424	10.385	0.000
• Lavado * Zona	5	9.613	1.923	3.681	0.007
<b>Error</b>	<b>48</b>	<b>25.070</b>	0.522		
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>70.469</b>			

SLS, 2005

Como se puede observar en el Cuadro No. 13, el proceso de lavado como la zona del tanque de conservación tienen un efecto altamente significativo sobre el número de coliformes totales presentes en este, ya que ambos tienen un valor de  $\alpha$  menor a 0.001, esto quiere decir que la zona correspondiente del tanque y sus características de forma influyen notoriamente sobre el conteo de coliformes totales antes y después de cada lavado.

Cada variable mencionada anteriormente influye de forma independiente en dicho conteo. Ahora, si se toma en cuenta la interacción de las dos variables (lavado y zona del tanque) también influyen significativamente pero no tanto como cada variable por separado.

Al comparar las zonas del tanque de conservación entre sí, como se observa en el Cuadro No. 14 tanto antes como después del lavado, por los resultados obtenidos en la prueba de Tukey, se pueden dividir las zonas básicamente en tres grupos en base al número de coliformes totales que presentó cada una.

**Cuadro No. 14. Prueba de Tukey de la variable coliformes totales.**

ZONA	N*	DATOS AGRUPADOS		
		1	2	3
2	10	1.02100		
3	10	1.10130		
1	10	1.18150	1.18150	
4	10		2.07780	2.07780
5	10			2.24400
6	10			2.79220
<b>Significancia</b>		0.996	0.080	0.252

SLS, 2005

\*Número de muestras

El primer grupo corresponde a las zonas 2, 3 y 1, este grupo en general contempla a las zonas en general más limpias del tanque, respectivamente. Dentro de este grupo la zona 2 resultó más limpia que la zona 3 y 1.

El segundo grupo está conformado por las zonas 1 y 4, donde la zona 1 en comparación con la zona 4 es más limpia, pero no más que la zona 2 y 3.

El tercer grupo lo constituyen las zonas 4, 5 y 6 en ese orden de la menos contaminada a la más contaminada.

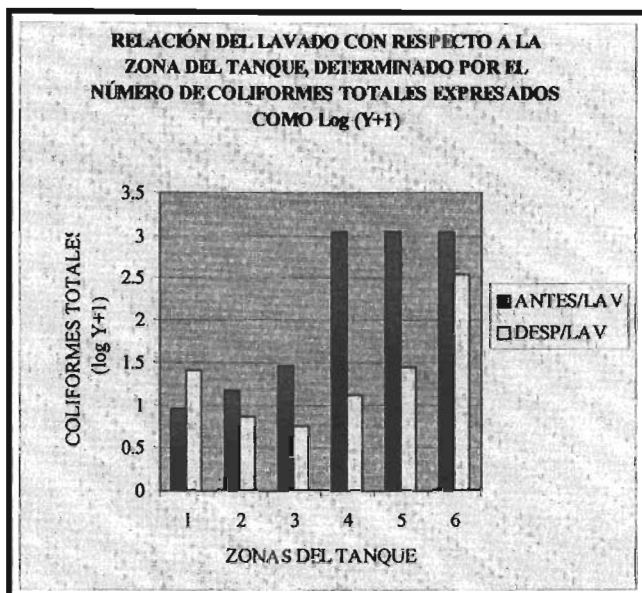
La zona 1 y 4 comparten grupos debido a la similitud de resultados con ambos grupos, lo cual no permite definir totalmente los grupos.

En la Grafica No. 1, es posible comparar la carga de coliformes totales antes y después del lavado, se hace evidente que las zonas con mayor carga bacteriana antes del lavado son la 4, 5 y 6; y las menos contaminadas son las zonas 1, 2 y 3 respectivamente.

Esto puede entenderse ya que las zonas más contaminadas (4, 5 y 6) corresponden a la superficie del tanque de mayor contacto con la leche y aunado a esto un deficiente enfriamiento de la misma, que además se conservaba hasta 3 días en el tanque antes de ser vaciado, todas estas condiciones conforman un

medio favorable para la multiplicación de la microflora inicial, y estos factores en conjunto dan como resultado elevados conteos de coliformes totales.

**Grafica No.1. Relación del lavado con respecto a la zona del tanque, determinado por número de coliformes totales expresado como logaritmo (Y + 1)**



SLS, 2005

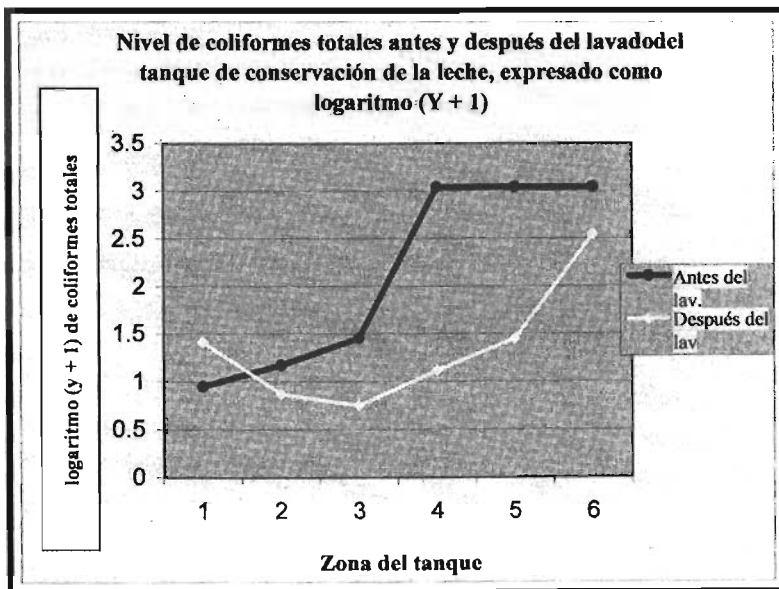
Por otro lado, después del lavado las zonas 3, 4 y 5 disminuyen la carga de coliformes totales en más del 50%, mientras que las zonas 2 y 6 aunque también disminuyeron su carga no fue considerable (menos del 17%).

La zona 1, que corresponde a la tapa del tanque de conservación, al contrario de lo que se esperaba aumentó su índice de contaminantes (coliformes totales), lo cual se considera que se pudiera deber a una contaminación de origen ambiental ya que después de lavar, la tapa se mantenía abierta, posiblemente para permitir el secado del interior del tanque, de esta manera se expone al contacto con microorganismos que entran del exterior a través del aire, ya que la puerta de

acceso al lugar donde se encuentra el tanque se dejaba abierta. Por otro lado, la presencia de un estercolero a 25.5m de distancia puede ser una importante fuente de propagación de coliformes de importancia como *E. coli*, *Yersinia* y *Enterobacter aerogenes* e incluso *Salmonella spp* que se desarrolla favorablemente en el suelo.

Tomando el tanque de conservación de la leche como una unidad y para comparar de manera general la eficiencia del lavado, se puede observar la Grafica no. 2, donde se desprende que a excepción de la tapa (zona 1), el número de coliformes totales si disminuye, siendo evidente en esta zona una contaminación posterior al lavado que puede tener su origen, como ya se mencionó anteriormente del medio ambiente o también provenir de otras fuentes como los utensilios usados como auxiliares del lavado, o hasta de las manos de la persona encargada de su lavado ya que la tapa corresponde a una zona de fácil alcance con las manos.

**Grafica No. 2. Nivel de coliformes totales antes y después del lavado del tanque de conservación de la leche, expresado como logaritmo (Y + 1)**



SLS, 2005

Con los resultados obtenidos de coliformes fecales, se procedió de la misma manera que con los datos de coliformes totales, obteniéndose las medias y la desviación estándar, expresados como log (Y+1), tanto por lavado (antes y después) como por zona del tanque (ver Cuadro No. 15)

**Cuadro No. 15. Cálculo de medida de tendencia central y de dispersión para la variable coliformes fecales**

Variable dependiente: Logaritmo (Y+ 1) de coliformes fecales

LAVADO	ZONA	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	n (No. de muestras)
<b>Antes del lavado</b>	1	0.48160	0.50367	5
	2	0.51500	0.85572	5
	3	0.70920	0.74414	5
	4	2.42020	0.72710	5
	5	2.65560	0.53409	5
	6	2.30400	0.72482	5
	Total	1.51427	1.15693	30
<b>Después del lavado</b>	1	0.36120	0.32973	5
	2	0.24080	0.32973	5
	3	0.12040	0.32973	5
	4	0.24080	0.32973	5
	5	0.36120	0.32973	5
	6	1.15720	0.47348	5
	Total	0.41360	0.47149	30
<b>PROMEDIO</b>	1	0.42140	0.40632	10
	2	0.37790	0.62821	10
	3	0.41480	0.61206	10
	4	1.33050	1.26597	10
	5	1.50840	1.27961	10
	6	1.73060	0.83574	10
	Total	0.96393	1.03691	60

SLS, 2005

Del cuadro anterior, se observa que las medias de las zonas antes del lavado, no son homogéneas, algunos valores se disparan bastante como los de las zonas 4, 5 y 6 en comparación con los de las zonas 1, 2 y 3.

Después del lavado, la zona 6 tiene un valor de coliformes fecales mucho mayor que el de las otras zonas siendo esta diferencia hasta tres veces mayor.

También es notorio después del lavado la similitud en la desviación estándar entre zonas a excepción de la zona 6.

En el análisis de varianza como se puede observar en el Cuadro No. 16, el lavado, la zona del tanque de conservación y la interacción de ambas variables, tienen un efecto altamente significativo sobre el nivel de coliformes fecales, ya que las tres fuentes de variación tienen un nivel  $\alpha$  menor a 0.001, lo que significa que las dos variables tomadas independientemente o en conjunción si ejercen influencia sobre el nivel de coliformes fecales presentes en la superficie del tanque.

#### **Cuadro No. 16. Análisis de varianza de la variable coliformes fecales**

Variable dependiente: Logaritmo (Y+ 1) de coliformes fecales

<b>Fuente de variación (F.V.)</b>	<b>g.l</b>	<b>Suma de cuadrados (S.C.)</b>	<b>Cuadrado medio (C.M.)</b>	<b>F calculada (Fc)</b>	<b>Significancia</b>
<b>Tratamientos:</b>	<b>11</b>	<b>48.993</b>	<b>4.454</b>	<b>14.803</b>	<b>0.000</b>
• Lavado	1	18.172	18.172	60.397	0.000
• Zona	5	19.579	3.916	13.015	0.000
• Lavado * Zona	5	11.242	2.248	7.473	0.000
<b>Error</b>	<b>48</b>	<b>14.442</b>	<b>0.301</b>		
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>63.435</b>			

SLS, 2005

Para poder comparar la eficiencia de lavado por zona del tanque de conservación, se realizó la prueba de Tukey, la información se muestra en el Cuadro No. 17.

**Cuadro No. 17. Prueba de Tukey para la variable coliformes fecales**

ZONA	N*	DATOS AGRUPADOS	
		1	2
2	10	0.37790	
3	10	0.41480	
1	10	0.42140	
4	10		1.33050
5	10		1.50840
6	10		1.73060
<b>Significancia</b>		1.000	0.583
<b>SLS, 2005</b>			

\*Número de muestras

Como se puede observar en el Cuadro No. 17, las semejanzas y diferencias entre zonas del tanque tanto antes como después del lavado, permiten dividir dichas zonas en dos grupos.

El primer grupo corresponde a las zonas del tanque con un menor grado de contaminación por coliformes fecales, a este grupo pertenecen las zonas 2, 3 y 1, mencionadas en este orden de la menos a la más contaminada.

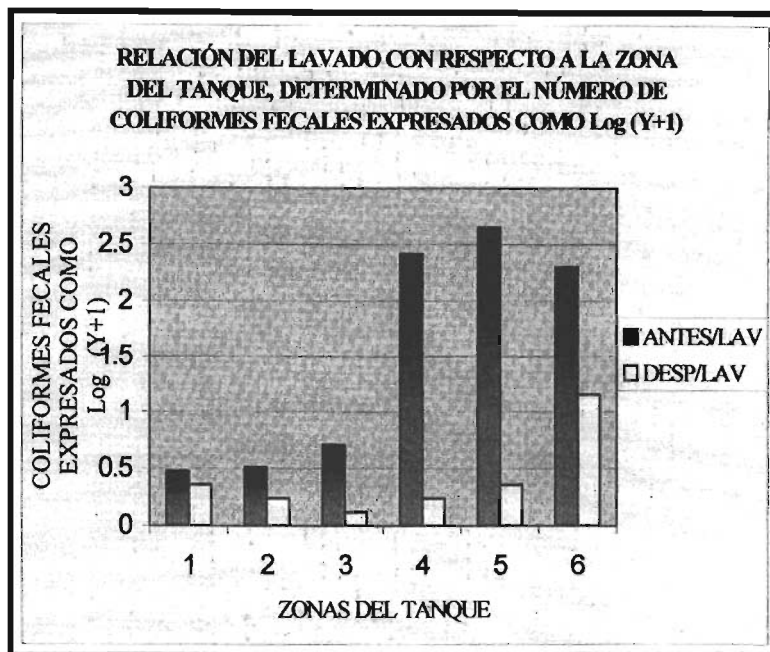
El grupo 2 comprende las zonas con un mayor grado de contaminación que corresponde a las zonas 4, 5 y 6 respectivamente, de la menos a la más contaminada.

A diferencia de los resultados de coliformes totales, los valores obtenidos de coliformes fecales permiten definir perfectamente los dos grupos.

Esto es aún más evidente en la Gráfica No. 3, donde se observa que antes del lavado se disparan mucho los resultados de las zonas 4, 5 y 6 debido (como ya se mencionó anteriormente para coliformes totales) a que estas zonas corresponden a la superficie del tanque que tiene un mayor contacto con la leche y aunado a esto las condiciones óptimas sobre todo de temperatura y tiempo que se dan para la proliferación bacteriana.



**Gráfica No. 3. Relación del lavado con respecto a la zona del tanque, determinado por número de coliformes fecales expresado en logaritmo (Y + 1).**

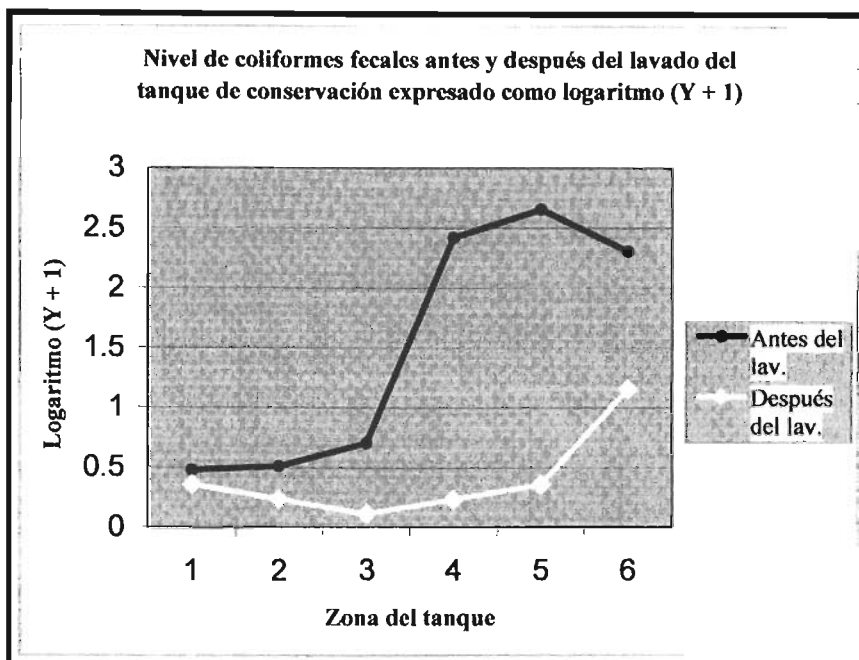


SLS, 2005

Después del lavado las zonas 3, 4 y 5 si sufren una disminución considerable de la cantidad presente de coliformes fecales, inclusive en las zonas 2 y 6 hay una reducción en la contaminación hasta en un 50%. No así en la zona 1 que corresponde a la tapa del tanque, que aunque si disminuye su grado de contaminación éste fue mínimo lo cual se puede deber a los factores antes mencionados (para coliformes totales.)

En la Gráfica No. 4 al analizar el tanque como una unidad en general, y no como zonas independientes se puede verificar que después del lavado si se disminuyó el grado de contaminación por coliformes fecales, aunque no de igual manera sobre toda la superficie interna del tanque de conservación de la leche

**Grafica No. 4. Nivel de coliformes fecales antes y después del lavado del tanque de conservación de la leche, expresado como logaritmo (Y + 1)**



SLS, 2005

En base a todos los resultados obtenidos tanto para coliformes totales y coliformes fecales; si la hipótesis nula ( $H_0$ ) dice que el grado de contaminación sobre toda la superficie interna del tanque de conservación de la leche independientemente de la forma, es igual, tanto antes como después del lavado. Y la hipótesis alterna ( $H_1$ ) dice que si hay diferencias en el grado de contaminación de la superficie del tanque de conservación de la leche tanto antes como después del lavado, debido a que la forma del tanque no es regular; podemos concluir que  $H_1$  se acepta y  $H_0$  se rechaza, esto quiere decir que de manera general la eficiencia del lavado considerada por la disminución de coliformes totales y fecales en el tanque de conservación de la leche se ve determinada en gran medida por la zona del tanque de la que se trate, siendo más efectiva en las zonas con una superficie más lisa y regular (zonas 2, 3, 4 y 5) y menos efectiva en superficies irregulares

(zona 6), aunque también hay otros factores externos a considerar como fuentes de contaminación de origen ambiental, y de personal probablemente, que también van a modificar el resultado final de la limpieza como se observó en la zona 1 o tapa del tanque de conservación.

## DISCUSIÓN

Para poder analizar el proceso de lavado y desinfección interna del tanque de conservación de la leche de la FESC C-4, se hace necesario tomar en cuenta varios factores que pueden estar afectando la cantidad de bacterias presentes en la leche y por ende en las superficies de contacto con la misma, ya que mientras más condiciones favorables se proporcionen para la multiplicación bacteriana, mayor será la supervivencia de las mismas aún después del lavado y desinfección. Por lo observado desde el momento en que inicia el proceso de obtención y conservación de la leche, se hacen evidentes algunas fallas al respecto:

El tiempo y la temperatura a la que permanece la leche en el tanque de conservación de la FES C-4 (más de 60 horas a 7.8°C y en aumento), pudieron haber sido los factores que más influyeron en la cantidad de microorganismos presentes en la leche y por ende en las superficies de contacto con ella, hay que recordar que, siempre contendrá una cierta cantidad de bacterias procedente de la ubre y de contaminaciones subsecuentes a las que está sujeto y que considerando otros factores microambientales propios de este alimento es de esperarse que después de cierto tiempo comiencen a multiplicarse las bacterias, tal como lo menciona Keating (1999) y Robinson (1987). Por eso mismo el Reglamento de control sanitario de productos y servicios (1999) en su artículo 42, menciona que la leche cruda, sólo podrá permanecer en estas condiciones hasta 24 h, esta información es confirmada con lo publicado por Keating (1999) y Robinson (1987), que demuestran que después de 48 h la multiplicación de microorganismos es exponencial aún conservada a 4°C.

Cabe mencionar que de manera general en la superficie del tanque antes del lavado, el número de muestras mayor a 1100 NMP/cm<sup>2</sup> de coliformes totales fue mayor al 50% lo que demuestra la facilidad con que las bacterias coliformes se multiplicaron sobre las superficies, esto se explica como menciona Wildbret (2000)

a que dentro de la composición de los residuos que deja la leche fría, el 38.11% corresponde a la lactosa (constituyente sólido más abundante en la leche) como lo indica Keating (1999) y cabe recordar que es el principal sustrato para las bacterias del grupo coliforme como lo menciona Fraizer (1993) y Londinsky (1999).

Otro factor que posiblemente contribuyó a la alta cantidad de bacterias presentes en el tanque antes del lavado, es el proceso de obtención de la leche, ya que como lo mencionan Amiot (1991), Fraizer (1993), Robinson (1987), Hayes (1993), Londinsky (1999), Jay (1994) y Loo; Jones; Sumner (1999) este punto donde se realizó el muestreo corresponde a la última superficie de contacto con ésta antes de entrar a cualquier otro proceso y por ende refleja la higiene o la falta de ésta durante todas las etapas previas.

Lo anterior es importante, ya que como Jay (1994) menciona, la cuestión no es simplemente la presencia de coliformes, sino las cifras relativas totales, porque elevadas cuentas de coliformes implicarán posible daño al consumidor tomando en cuenta que muchos de los microorganismos del grupo coliforme tienen MDI altas, y si las superficies tienen un alto índice de estos microorganismos, con mayor razón la leche que estuvo y que estará en contacto con dichas superficies estará contaminada.

Aunado a todo lo anterior, el no tener un programa regular de lavado y desinfección también se ve reflejado en la gran dispersión de los datos obtenidos a partir del muestreo, además de los elevados conteos bacterianos en algunos casos y en algunas zonas del tanque de conservación.

Por otro lado, el elevado nivel de significancia (menor de 0.001), obtenido en el análisis de varianza en este estudio demostró la gran influencia que tuvieron la zona del tanque con respecto al nivel de coliformes totales y fecales presentes, lo que se puede explicar con lo descrito por Robinson (1987), que considera que las bacterias y los residuos lácteos se acumulan en zonas difíciles de limpiar y en los

sitios de los componentes mal diseñados, ejemplo de estos puntos son hendiduras, finales ciegos y empalmes, en donde las bacterias coliformes y los enterococos se multiplican con mayor facilidad y su presencia en la leche refleja las malas condiciones sanitarias del equipo (Hayes, 1993). Este punto se hizo evidente en la zona 6 del tanque de conservación que correspondía a la tubería de salida de la leche, en donde los valores encontrados fueron elevados.

Por el contrario, como menciona Robinson (1987), las superficies lisas se limpian con facilidad, simplemente haciendo circular soluciones a través de las máquinas como se demostró en las zonas 3, 4 y 5 que correspondían al cuerpo y fondo del tanque de conservación, donde se disminuyó en más del 50% la carga bacteriana con el proceso de limpieza y desinfección que se realizaba.

Los resultados obtenidos son similares a los publicados por Páez y col. (2003), en un estudio donde se evaluó la higiene del equipo de ordeño y de refrigeración mediante la técnica de bioluminiscencia de ATP, donde encontraron que del total de muestreos realizados a la boca de descarga del tanque, el 89% presentaron resultados equivalentes a zonas "sucias", mientras que las paredes del tanque sólo presentaron entre 11 y 22% de resultados equivalentes a zonas "sucias", es decir valores mayores a 2.5 unidades relativas de luz (URL, que corresponde a las unidades de medida para bioluminiscencia de ATP), según el autor, este fenómeno se explicó con respecto a la boca de descarga al reducido contacto del agua de enjuague con la totalidad de la zona.

Para poder comparar los resultados obtenidos entre este estudio y el realizado por Páez y col. es necesario saber que la técnica bioluminiscencia de ATP no puede diferenciar entre ATP de origen bacteriano y el de origen en la suciedad (materia orgánica). Adicionalmente estudios previos han sugerido que la técnica de bioluminiscencia de ATP es una valiosa herramienta para detectar la presencia de un bajo número de bacterias en la superficie (hasta  $10^3$  UFC/  $\text{cm}^2$ ) en ausencia de suciedad. Sin embargo para detectar la presencia de microorganismos específicos

o indicadores en una superficie, normalmente su monitoreo involucra las técnicas microbiológicas basadas en el cultivo bacteriano (Moore and Griffith, 2002).

Con respecto a la zona 1 (tapa del tanque de conservación de la leche), contrario a lo que se esperaba, el aumento en el índice de coliformes totales después del lavado, podría explicarse por el fenómeno que Hyginov Crit (2001) denomina como "limpiezas contaminantes", es decir el riesgo de contaminación debida a la limpieza con agua a alta presión, que produce aerosoles que pueden mantener a los microorganismos en suspensión en el aire durante cierto tiempo, y por ende generar una atmósfera contaminante, si bien como mencionan Frazier y Westhoff (1993), aunque la cantidad de microorganismos añadidos por esta fuente suele ser insignificante, este puede aumentar el número total de los mismos en un determinado alimento y/o superficie sobre todo si está mucho tiempo en contacto con éste, como ocurre durante la etapa del secado por exposición al medio ambiente, después del lavado.

Otras posibles fuentes de contaminación cercanas pudieron ser el estercolero que se encuentra a corta distancia de la ubicación del tanque de conservación, el personal en contacto con estas superficies, y hasta el agua de lavado, por lo cual se necesitaría realizar estudios bacteriológicos para evaluar la influencia del ambiente y poder confirmar o descartar cualquiera de estas sospechas.

Un estercolero relativamente a corta distancia (25.5 m), se sabe es una fuente muy importante de propagación de bacterias coliformes y en general enterobacterias incluyendo patógenas para el ser humano como *Salmonella*, tal como lo mencionan Robinson (1987), Amiot (1991), Marth (2001) y Marth (2001); sumado a una continua entrada y salida de personas tanto propias como ajenas al lugar que pudieran vehiculizar a través de sus ropas estos agentes contaminantes y el hecho de dejar en varias ocasiones abierta la puerta que permite aislar la ubicación del tanque con el exterior pudieron también contribuir a una atmósfera contaminante que se encuentra alrededor del mismo, aunado a la posibilidad ya

mencionada de la formación de aerosoles durante el lavado podrían explicar el aumento de la carga contaminante en la tapa del tanque o zona 1, posterior al lavado y desinfección.

Otro factor a considerar es la calidad microbiológica del agua usada para el lavado. En un estudio realizado por Reginensi (2005) para determinar las principales fuentes de contaminación de leche en Uruguay, encontró que de la flora total contaminante presente en el agua de uso durante la ordeña y el lavado, el 70% correspondía a bacterias coliformes, cabe mencionar que esto no significa que la calidad microbiológica del agua en este lugar sea similar a la de la FESC, pero sí podría existir esta posibilidad, aunque si este fuera el caso el efecto encontrado en la tapa del tanque se hubiera hecho presente en toda la superficie de éste y no sólo limitado a la zona 1, por lo que cabría considerar la otra posible fuente de contaminación, el personal ya que al ser una zona de fácil alcance con las manos la (s) persona (s) encargadas del proceso de lavado pudieran ser la fuente de contaminación de bacterias como *Salmonella sp* y *Escherichia* por citar algunas (Amiot, 1991).

En base a todo lo anterior y de manera general, a excepción de este último punto correspondiente a la tapa del tanque se puede decir que si se disminuyó la carga bacteriana después del lavado. Pero para poder afirmar que fue efectivo el proceso de limpieza y desinfección, los valores obtenidos deberán poder ser comparables con valores de referencia previamente estandarizados como lo mencionan Leveau y Bouix (2002), pero lamentablemente no existen textos reglamentarios al que se puedan referir los productos agroalimentarios y que precisen los criterios guía de aceptabilidad. Sin embargo, ciertos autores, organizaciones y fabricantes proponen tablas de interpretación, un ejemplo de lo anterior, lo publicaron Leveau y Bouix (2002) tomado de Beerens, al aplicar niveles para determinar la eficiencia de la limpieza, donde se calificaba el grado de limpieza obtenido, en base a 5 categorías, correspondiendo a la categoría 5, las superficies que tuvieran menos de 1 UFC/ cm<sup>2</sup> y así sucesivamente hasta



llegar a la categoría 1 cuando las superficies tienen más de 50 UFC/ cm<sup>2</sup>, que es cuando se estará hablando de un deficiente proceso de limpieza. Hay que tener en cuenta, que los valores antes mencionados, básicamente hacen referencia al número total de microorganismos presentes en una superficie y no solamente a las bacterias del grupo coliforme que puedan existir en ella.

En lo que si coinciden varios autores, entre los que destaca Hyginov Crit (2001), es que después de la desinfección los coliformes deben estar ausentes. Por otro lado hay autores como Loor, Jones y Sumner (1999) que consideran recuentos de coliformes (típicamente *E. coli*) por encima de 500 UFC/cm<sup>2</sup> o NMP/cm<sup>2</sup> como indicadores de poca higiene durante la limpieza del equipo de ordeño, durante el ordeño o entre cada ordeño, donde se puede observar que estos valores están muy alejados de los encontrados en este trabajo, si hacemos referencia a coliformes fecales, pero no así de los valores obtenidos para coliformes totales como lo demostraron los resultados, esto desde un inicio nos hace pensar en un deficiente proceso de lavado aplicado al tanque de conservación de la leche.

Será difícil poder hacer una comparación entre los valores de coliformes totales obtenidos en este estudio y los marcados por la literatura primeramente por los valores tan amplios que se obtuvieron, que van desde menos de 3 NMP/cm<sup>2</sup> hasta más de 1100 NMP/cm<sup>2</sup>, estos últimos haciendo referencia a la zona 6 del tanque de conservación, y segundo, como lo apoyan varios autores como Hyginov Crit (2001) y Leveau y Bouix (2002), que consideran que cada empresa debe establecer sus propios valores umbral, los cuales pueden variar en función del nivel de higiene deseado, estado de las superficies, de la carga microbiana del propio producto y a quien va destinado el producto, en este caso la leche, y que lamentablemente se carecen en esta institución, ya que no se realizan evaluaciones del proceso de limpieza y desinfección y por lo tanto no se cuenta con información a este respecto.

Ahora, con base en los resultados obtenidos de coliformes totales y además los fecales, donde casi el 50% de las muestras tomadas de la superficie del tanque de conservación tuvieron resultados negativos, pero también se obtuvieron valores de menos de 3 NMP/cm<sup>2</sup> (30%) y 13.3% por encima de 23 NMP/cm<sup>2</sup>, se puede decir que el proceso de limpieza y desinfección es deficiente ya que no hay una eliminación total de la flora contaminante presente antes del lavado. Ya que como se mencionó, la presencia de coliformes fecales después del lavado, es importante desde el punto de vista sanitario, ya que aunque no hay valores de referencia para superficies en la normatividad mexicana, para la gran mayoría de los alimentos inclusive el agua para consumo humano, los coliformes fecales tienen que estar ausentes, y recordando que las superficies que entran en contacto con los alimentos son una fuente de contaminación muy importante de éstos, se debe tomar en cuenta por lo tanto que dichas superficies también deben estar libres de estos microorganismos como lo indican Amiot (1991) y Fraizer (1993), sobretodo por la posible presencia de microorganismos patógenos, particularmente aquellos con MDI bajas, como lo son *Salmonella typhi* y *E. coli* O157:H7 ( Moore and Griffith, 2002; ICMSF, 1981), lo anterior nos indica la importancia de plantear parámetros para evaluar el proceso de limpieza en el tanque de la FES-C4.

En cuanto a lo observado, por un lado la ausencia de un horario y de un protocolo establecido de limpieza que pudiera evaluarse realmente. Ya que para tener la mayor eficiencia con el proceso de limpieza debe haber una combinación de temperatura de agua usada en el lavado, concentración de los productos a usar como los detergentes y tiempos de duración de cada fase de dicho proceso. Según los requisitos planteados por Spreer (1991), Bibek (2001), Hayes (1993) y Wildbret (2000) y además la falta de utensilios de limpieza específicos para el lavado del tanque como el cepillo que al estar en contacto con el suelo, agregaron microorganismos contaminantes a la superficie interna del tanque y por consiguiente afectaron los resultados obtenidos.

Y por otro lado, autores como Spreer (1991) han descrito procedimientos de limpieza para el tanque de conservación de la leche que incluyen el uso de un detergente ácido posterior al uso del detergente alcalino con la finalidad de eliminar todo resto de suciedad que haya quedado en las superficies, tales como las proteínas y películas salinas o también llamadas piedra de leche (Bibek, 2001; Hayes, 1993 ; Wildbret, 2000 y Robinson, 1987), la cual está compuesta por fosfato de calcio, que a su vez retiene la proteína y grasa, es insoluble en los detergentes alcalinos por lo que para eliminarla se hace necesario el uso de un detergente ácido para remover el esqueleto calcáreo que recubre y contiene otras impurezas, una vez usado éste, si se puede usar el detergente alcalino para provocar la peptidización de las proteínas principalmente la caseína en masa esponjosa, al mismo tiempo que se emulsionan y se saponifican las grasas como menciona Keating (1999). Al no ser utilizada esta fase en el programa de limpieza se está dando paso a crear las condiciones óptimas para la sobrevivencia y multiplicación de bacterias Gram negativas como lo son los coliformes y *Pseudomonas* y además de algunos organismos Gram positivos como *Streptococcus* en el interior del tanque (Loor; Jones; Sumner, 1999; Amiot, 1991).

Aunado a lo anterior, como lo describen Spreer (1991), Bibek (2001), Hayes (1993) y Wildbret (2000), la inconstancia del proceso de desinfección, pudieron haber contribuido a la alta tasa de microorganismos presentes en el interior del tanque tanto antes del lavado como se demostró principalmente en las últimas tres zonas del tanque de conservación de la leche y después de mismo como se observó en la tubería de salida de la leche (zona 6), que como Bibek (2001) menciona, son muy importantes ya que la leche cruda producida en ambientes poco contaminados y con una efectiva desinfección ayudan a que cuando la leche sea pasteurizada se obtengan los niveles microbiológicos seguros, que en el caso de México están establecidos en el apéndice del Reglamento de control sanitario de productos y servicios (1999) y en la NOM-184-SSA1-2002.

A pesar de que el uso de vapor se considera un buen método de desinfección según lo mencionan autores como Keating (1999), ya que además de su poder bactericida por calor húmedo, penetra a través de cualquier residuo de leche que haya quedado en el equipo aún en todos los poros del material; el no tener un tiempo específico y constante de contacto con las superficies no estará provocando el efecto deseado sobre las bacterias presentes como lo demostraron los resultados obtenidos en este estudio, posiblemente el que se considere un método costoso como lo menciona el mismo autor sea la razón de su uso ocasional.

Lo que si es un hecho, como menciona Robinson (1987) es que en la práctica, la contribución de la contaminación del equipo a la flora total en la leche no se pueden determinar con precisión mediante los recuentos de la leche producida debido a la amplia variación tanto en número como en tipo, de los microorganismos procedentes de distintas fuentes. Sin embargo, a partir de los resultados de lavados repetidos y de otros métodos se puede deducir que la proporción de bacterias recogidas es, al menos, el 10% de la flora total de la leche. Este porcentaje será aún mayor si las bacterias se han multiplicado en las superficies húmedas o en los residuos del equipo insuficientemente limpio.

## CONCLUSIONES

A partir del presente trabajo se desprenden las siguientes conclusiones:

- ✓ La presencia de bacterias coliformes en las superficies de contacto con la leche refleja la higiene de todo el proceso de obtención de la misma, por lo tanto el alto conteo de bacterias coliformes totales y fecales antes del lavado del tanque de conservación de la leche de la FES-C4, indica un manejo sanitario deficiente de la misma por lo cual será importante revisar todo el proceso para evidenciar los principales problemas y hasta crear un plan de monitoreo continuo para detectar los principales puntos ó zonas de mayor riesgo de contaminación para la leche y así dar solución a dichos problemas.
  
- ✓ A pesar de no existir en la normatividad mexicana emitida y publicada, parámetros establecidos para determinar la eficiencia del proceso de limpieza, pero tomando como base la literatura antes citada y las especificaciones sanitarias para diversos alimentos incluyendo el agua para consumo humano, emitidas en México y en base a los resultados obtenidos, es posible decir que el objetivo de dicho proceso (incluyendo la desinfección) de eliminar totalmente los organismos coliformes presentes antes del lavado no fue cumplido.
  
- ✓ Esta deficiencia en el proceso de lavado conlleva a la necesidad de mejorar y establecer un protocolo de limpieza más completo que incluya horarios y tiempos específicos para cada etapa del proceso incluyendo la desinfección. Además de la necesidad de evaluar la efectividad de dichos procesos a través de un continuo monitoreo bacteriológico de las superficie interna del tanque para comprobar que se está llevando a cabo adecuadamente y a partir de los datos que se obtengan poder establecer

los parámetros para calificar la eficiencia del lavado y desinfección propios para el tanque de conservación de la leche en la unidad de ordeño de la FES-C4.

- ✓ Una leche con un bajo contenido de bacterias coliformes, también tiene gran importancia desde el punto de vista sanitario, higiénico y técnico en el proceso de elaboración de quesos, sobretodo aquellos que utilizan como materia prima leche cruda. Esto último es importante porque es uno de los principales problemas en el taller de lácteos de la FES-C4.

## RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar un monitoreo continuo de la temperatura a la que se conserva la leche dentro del tanque de conservación evitando en lo posible que la leche se encuentre a temperaturas superiores a los 10 °C y como óptimo de 2 a 4°C. Además de evitar que la leche almacenada en el tanque pase más de 48 horas en estas condiciones ya que después de este tiempo la proliferación bacteriana se da de manera exponencial.
- ✓ Tener control de la puerta de acceso al área de recepción y conservación de la leche, cerrándose inmediatamente que entra o sale persona alguna para evitar la entrada de corrientes de aire que sirven como vehículo a varios microorganismos sobretodo bacterias coliformes presentes en el polvo del estercolero ubicado a poca distancia del lugar .
- ✓ A pesar de que el uso del cepillo facilita la eliminación de residuos de leche, se recomienda que el utensilio para este fin sea de uso específico en el lavado del tanque y no para ser usado en el piso u otras áreas, además de un lavado y desinfección de este utensilio diariamente para evitar que se convierta en fuente de propagación de microorganismos al estar en contacto nuevamente con las superficies.
- ✓ Se recomienda que la temperatura del agua que se usa para el preenjuague, enjuague y la que se usa durante el lavado tenga una temperatura entre 40-50°C.
- ✓ A determinados intervalos de tiempo, se recomienda realizar una limpieza con detergente ácido, después de un previo enjuague al que le antecede el lavado con el detergente alcalino. Para obtener el efecto deseado con el uso de los detergentes estos deben tener contacto con las superficies entre 15 y 20 minutos cada uno (Spreer, 1991).

Dentro de los productos ácidos que se pueden utilizar son a base de ácido nítrico y en menor medida ácido fosfórico y ácidos orgánicos como el ácido cítrico, los menos recomendables son los detergentes a base de ácido clorhídrico porque en el acero inoxidable tienden a causar corrosión intensa y extensa (Keating, 1999).

- ✓ Las válvulas de desviación, de cierre y de estrangulación, las llaves de tres vías, los limitadores de caudal y demás piezas parecidas se deben desmontar después de la limpieza general y repasar el lavado de manera manual con ayuda de un cepillo pequeño de material plástico, evitando el uso de estropajos de acero y cepillos de alambre que podrían dañar las superficies y sólo se volverán a montar dichos componentes una vez que estén totalmente secos (Spreer, 1991 y Paéz y col. , 2003).
- ✓ El uso del vapor si es un efectivo método de desinfección de tipo físico, si se deja actuar el tiempo suficiente y se aplica constantemente, después de una efectiva limpieza, y manteniendo este a una temperatura de 85°C (determinado por la temperatura que alcanza el agua de condensado) o más durante 1-5 y hasta 10 minutos, pero si el problema con su uso es el costo, se puede utilizar un método de desinfección químico que es menos costoso, los más recomendables también por su amplio espectro de acción son los productos a base de cloro y yodo, de estos últimos, los lodóforos se consideran muy útiles ya que además de su poder bactericida, el hecho de que generalmente estén combinados con ácido fosfórico ayuda a controlar la formación de “piedra de leche”. Otros productos recomendables son los elaborados a base de extractos cítricos que son biodegradables y además de fácil preparación .
- ✓ Se recomienda que los tapones de goma de la llave de salida se sumerjan en agua hirviendo durante 2 minutos al menos una vez al mes, ya que aunque en apariencia no lo demuestren llegan a estar muy contaminados. El efecto que se obtendrá será la transmisión de calor de la parte metálica a la parte de unión



con el tapón, que es donde más se acumulan las bacterias, por lo cual desinfectará eficazmente el tapón.

- ✓ Después de terminado el proceso de limpieza y desinfección es recomendable la inmersión del cepillo y demás utensilios auxiliares de la limpieza en agua caliente para su desinfección como se explicó para el caso de los componentes de goma.
  
- ✓ Crear un programa de monitoreo bacteriológico continuo después del proceso de lavado y desinfección que incluya no solo al tanque de conservación de la leche, sino también las pezoneras, los tanques colectores, zonas significativas de la línea de la leche sobretodo juntas y codos que por su forma son zonas de menor contacto y arrastre ejercido por el agua durante el enjuague y por lo mismo de mayor proliferación bacteriana y hasta la salida de las placas de enfriamiento que podrán ser utilizados como puntos indicadores de la eficiencia de dichos procesos y así poder corregir los problemas subsecuentes en base a los resultados.



” BIBLIOTECA  
CENTRAL ”

## BIBLIOGRAFIA.

1. Acha, N. y B. Szyfres. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Vol 1. 3ra ed. Edit. OPS. USA.2001
2. Amiont, J. Ciencia y tecnología de la leche principios y aplicaciones. Edit Acribia, S.A. España. 1991.
3. Aviles, D.; Cortes, A.; Hernández, E.; Lugo, G.; Flores, M.; Mota, L.; Mora, J.; Padierna, M. y P. Rodríguez. Manual de laboratorio de microbiología sanitaria. Edit. IPN. México. 1983.
4. Bibek, R. Fundamental food microbiology. 2da ed. Edit. CRC Press. USA. 2001.
5. Canales, F. Metodología de la investigación: Manual para el desarrollo de personal de salud. Edit. Limusa. México.1986.
6. Chávez de M.; Hernández, M. y Roldán, J..Tablas de uso práctico del Valor Nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. 2ª. ed. Edit. *Comisión Nacional de Alimentación Instituto Nacional de la Nutrición* "Salvador Zubirán", México.
7. Collins C.H. and Lyne's P.M. Microbiological methods. 7ma ed. Edit Acribia S.A. España. 1999.
8. Daniel, W. Bioestadística. 4ta ed. Edit. Limusa Wiley. México.2002.
9. Early, R. Tecnología de los productos lácteos. Edit Acribia. España. 1998.
10. Ellner, R. Microbiología de la leche y de los productos lácteos. Edit Díaz de Santos. España. 2000.
11. Fraizer, W.. y D. Westhoff. Microbiología de los alimentos. Edit Acribia S.A. 4ª ed. España. 1993.
12. Hayes, P. Microbiología e Higiene de los alimentos. Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1993.
13. Hernández, S.; Fernández, C. y L. Baptista. Metodología de la investigación. Edit. Mc Graw\_Hill. México. 2003.

14. HYGINOV CRIT. Guía para la elaboración de un plan de limpieza y desinfección de aplicación en empresas del sector alimentario. Edit. Acribia S.A. España. 2001.
15. ICMSF. Microorganismos de los alimentos 2: Métodos de muestreo para análisis microbiológicos. Edit Acribia S.A. España. 1981.
16. Jay, J. Microbiología moderna de los alimentos. Edit Acribia S.A. España. 1994.
17. Keating, P.; Gaona R. Introducción a la lactología. 2da ed. Edit. Limusa-Noriega editores S.A. México. 1999.
18. Leveau, J-Y y M. Bouix. Manual técnico de higiene, limpieza y desinfección. AMV ediciones Mundi Prensa. España. 2002.
19. Londinsky, A. y E. Lazaneo. Estudio de la correlación existente entre la contaminación microbiana de las fuentes de agua y de la leche. ([www.iica.org.uy/p2-10.htm](http://www.iica.org.uy/p2-10.htm)). 1999.
20. Loor, J.; Jones, G. y S. Summer. Analizando la calidad de la leche del tanque de almacenamiento. (<http://www.ext.vt.edu/pubs/dairy/404-405/404-405w.pdf>). 1999.
21. López, J.; Mora, P.; Pantoja, D.; Garcia, E.; Arellano, H. y col. Manual Teórico de la asignatura: Inspección de Productos de Origen Animal. Edit. UNAM. México. 2005.
22. Marth, E. y J. Steele. Applied dairy microbiology. 2da ed. Edit Marcel Dekker Inc. USA. 2001.
23. Memorias del III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche. León Gto. México. 2001.
24. Moore, G. and C. Griffith. A comparison of surface sampling methods for detecting coliforms on food contact surfaces. Food. Micro. 19 (65-73). 2002.
25. Páez, R.; Taverna, M.; Charlón, V.; Coatrin, A. y F. Etcheverry. Procedimiento de evaluación de la higiene de la ordeñadora, el equipo de refrigeración y la cisterna de transporte de leche mediante la técnica de bioluminiscencia. ([http://rafaela.inta.gov.ar/anuario2001/a2001\\_30htm](http://rafaela.inta.gov.ar/anuario2001/a2001_30htm) ). 2003.

26. Ralph, E. Tecnología de los productos lácteos. Edit Acribia S.A. Zaragoza, España. 1998.
27. Robinson, R. Microbiología lactológica Vol. II. Edit. Acribia S.A. España. 1987.
28. Reginensi, R. Conferencia Importancia de los microorganismos en la calidad láctea y sus productos. FES Cuautitlán, 22 de Junio 2005.
29. Scheaffer, L.; Mendenhall, W. Y O. Lyman. Elementos de muestreo, S.A. de C.V. 1987.
30. Secretaria de Salud. NOM-109-SSA1-1994, Procedimientos para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.
31. Secretaria de Salud. NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.
32. Secretaria de Salud. NOM-112-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
33. Secretaria de Salud. NOM-184-SSA1-2002, Bienes y Servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.
34. Secretaria de Salud. Reglamento de control sanitario de productos y servicios. 1999.
35. Silliker, J; Elliot, R.; Baird – Parker, A.; Bryan, F.; Christian, J.; Clark, D.; Olson, J. and T. Roberts. Ecología de los alimentos 2. Edit. Acribia S.A. España 1985.
36. Spreer, E. Lactología industrial. Edit Acribia S.A. España. 1991.
37. Centro de estudios agropecuarios. Vacas lecheras. Edit. Iberoamericana S.A. de C.V. Serie agronegocios. México. 2001.
38. Varnam, A.; Sutherland, J.P.: Milk and milk products technology chemistry and microbiology. Chapman & Hall. Great Britain. 1994.
39. Wildbrett, G. Limpieza y desinfección en la industria alimentaria. Edit. Acribia S.A. España. 2000.

## ANEXO 1

### **Toma, manejo, transporte y dilución de las muestras.**

La "técnica de frotación" consiste en pasar la esponja sobre toda la superficie del equipo a muestrear de la siguiente manera:

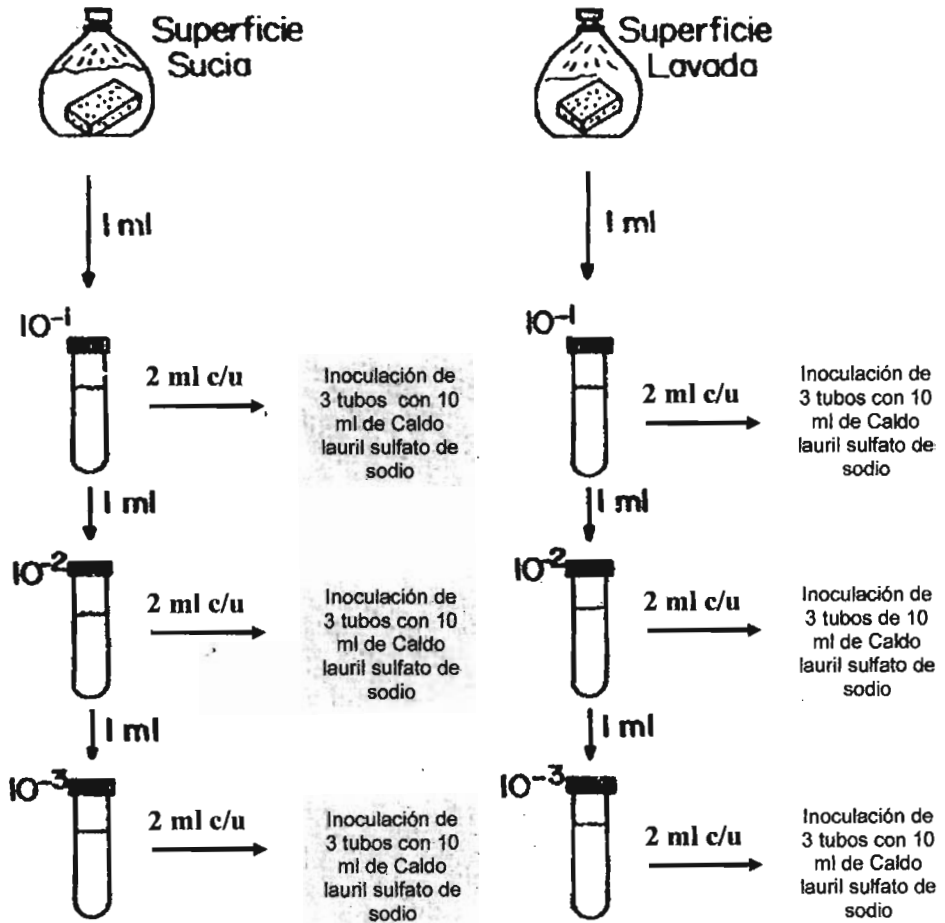
Con un guante estéril se tomó la esponja retirándose de la bolsa de plástico que la contenía pero previamente se humedeció en una parte de un total de 200 ml de Solución Salina Fisiológica estéril (SSF) al 0.9%. Posteriormente se frotó completamente la superficie a muestrear, terminada esta tarea se procedió a introducir nuevamente la esponja en la bolsa y se adicionó la parte restante de los 200 ml de la SSF estéril al 0.9% y se homogenizó exprimiendo repetidamente la esponja.

En las zonas de difícil alcance con las manos se utilizó como auxiliar de muestreo una aditamento de aluminio elaborado para este fin (de 1.2 m de longitud) el cual fue previamente esterilizado en autoclave.

Inmediatamente de obtenida la muestra, se remitió al laboratorio para su procesamiento, siendo transportada en un contenedor de material plástico.

La suspensión que se obtuvo, se consideró como la muestra directa y a partir de ella se realizaron las diluciones en 9 ml de SSF al 0.9% (previamente esterilizada) como lo muestra el siguiente esquema:

REPRESENTACIÓN ESQUEMATICA DE LA DILUCION DE MUESTRAS  
PARA SU ANALISIS MICROBIOLÓGICO

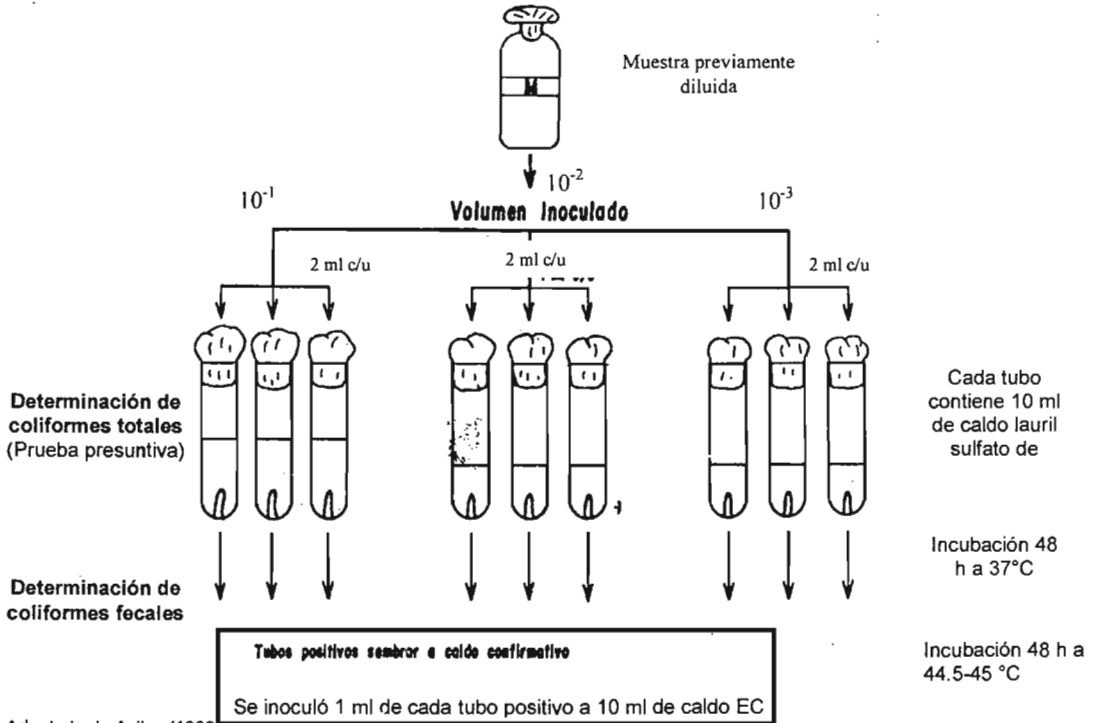


Adaptado de Aviles (1983).

## ANEXO 2

### REPRESENTACIÓN ESQUEMATICA DE LA INOCULACIÓN DE LOS TUBOS PARA LA DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES

#### Recuento de microorganismos por la técnica (NMP)



Para la lectura de los tubos en serie de 3, se utilizaron las tablas de Número Más Probable (NMP), presentes en la NOM-112-SSA1-1994, *Bienes y servicios "Determinación de bacterias coliformes. Técnica de número más probable"*.