

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS PRINCIPALES MARCAS DE LECHE PASTEURIZADA DISTRIBUIDAS EN LA CIUDAD DE MARACAIBO, VENEZUELA

Bacteriological Quality of Main Pasteurized Milk Brands Distributed in Maracaibo City, Venezuela

Emiro Valbuena¹, Gustavo Castro¹, Keidy Lima², Wendy Acosta², Wilfido Bríñez¹ y Armando Tovar¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias. Laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Leche. Maracaibo, estado Zulia. Apartado 15252.

²Facultad de Medicina. Universidad del Zulia, Maracaibo, estado Zulia. 4005-A, Venezuela. E-mail: eavalbue@telcel.net.ve

RESUMEN

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

Palabras clave: Leche pasteurizada, calidad bacteriológica, sobrecalentamiento.

ABSTRACT

Pasteurized milk is the main dairy product consumed in Venezuela, being through different ways very sensitive to bacterial

contamination before and after pasteurization. In order to analyze the microbiological quality of five milk brands, a total of 216 samples gotten from both bakeries and supermarkets located in Maracaibo city, were analyzed. Standard plate count (SPC), coliforms, thermoduric and psychrotrophic plate count tests were performed. Results indicated a SPC average of 4.3×10^4 cfu/mL upon a 14.35% of the samples by exceeding the limit established by Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Number of coliforms averaged 2.8×10^2 cfu/mL with a 50.93% of samples over 1.0×10^2 cfu/mL. Both thermoduric and psychrotrophs counted for 5.9×10^3 cfu/mL and 8.7×10^2 cfu/mL, respectively. In spite of a high bacterial count, more than 99% of the samples were peroxidase negative, indicating a possible milk overheating during the pasteurization process. It was concluded that a great deal of samples were contaminated after pasteurization probably due to failures in the enterprise good manufacture procedures.

Key words: Pasteurized milk, bacteriological quality, overheating.

INTRODUCCIÓN

La leche pasteurizada es un producto de consumo masivo obtenida básicamente por la aplicación de un tratamiento térmico ligero a la leche cruda y su posterior envasado, en la cual podrían permanecer viables microorganismos banales procedentes del centro de producción primario o de la planta de proceso. Por ser un medio compuesto por diversos principios nutritivos, la hace un alimento altamente perecedero, por lo cual debe ser producida en condiciones higiénicas óptimas, cumpliendo con los parámetros microbiológicos y físico-químicos establecidos por los entes gubernamentales.

Dado que se trata de un producto de origen animal, sujeto a grandes variables en su proceso de obtención primaria, se

puede contaminar con un amplio espectro de microorganismos provenientes de diferentes fuentes contaminantes [12]. Algunos de estos microorganismos son patógenos para el hombre, mientras que otros, producen alteraciones en la leche, como acidificación, proteólisis y lipólisis, que la hacen poco apta para su consumo.

Algunos microorganismos patógenos son capaces de persistir en la leche sin causarle cambios en sus características organolépticas, con lo que aumenta el riesgo sanitario, al no poderse evidenciar su presencia por parte del consumidor. Es por ello que se hace indispensable una evaluación adecuada para la detección de estos gérmenes, con el propósito de plantear medidas correctivas en beneficio de la salud pública.

El proceso de pasteurización consiste en destruir mediante el empleo apropiado del calor, la totalidad de la flora patógena y la casi totalidad de la flora banal que pudiese estar presente en la leche, procurando alterar lo menos posible su estructura física, su equilibrio químico y vitaminas [23]. Sin embargo, después de una pasteurización adecuada de la leche, los microorganismos pueden llegar a ella directa o indirectamente, a través de mezclas con materiales contaminados, equipos defectuosos, contacto con las manos o ropa de los operarios, exposición a estornudos y tos o por caída de gotas de agua contaminada, produciendo de esta manera una recontaminación, constituyendo un peligro al consumidor, por lo que es necesario practicar pruebas que nos permitan evaluar si hubo recontaminación y poder así evitar o reducir el riesgo al mínimo [14].

La temperatura de la leche durante su transporte y almacenamiento es uno de los factores más importantes que afectan el crecimiento bacteriano y por lo tanto influye en su tiempo de conservación, determinando los tipos de microorganismos que se desarrollan y por ende en los cambios o tipos de descomposición que experimenta el producto. En las temperaturas de conservación óptimas de la leche, el deterioro de la misma está principalmente relacionado al crecimiento de microorganismos psicrótrofos, entre ellos cabe destacar al género *Pseudomonas* [9, 10, 15, 16, 17], los cuales alcanzan el producto por una contaminación posterior al tratamiento térmico, ya que no lo soportan, mientras que si la temperatura de conservación en cualquier punto de la cadena de distribución y comercialización se encuentra sobre el rango de los 10° a 12°C, situación muy común en nuestro medio, es la flora termodúrica la beneficiada y por lo tanto responsable de las alteraciones presentes [17].

En la leche pasteurizada, a diferencia de la leche cruda, la presencia de bacterias coliformes es inaceptable, ya que las temperaturas de pasteurización las destruye. Una prueba de coliformes positiva en productos lácteos pasteurizados denota mala pasteurización ó contaminación post-pasteurización, por lo tanto debe rechazarse [3, 14].

Para la realización de esta investigación se propuso como objetivo evaluar las características microbiológicas de cinco marcas de leche pasteurizada de mayor consumo en la ciudad de Maracaibo, mediante la determinación del recuento de aerobios mesófilos, coliformes totales, determinación de grupo de bacterias termodúricas y psicrótrofas. También fueron realizadas pruebas para evaluar la eficiencia de pasteurización, la presencia de inhibidores y la determinación del pH y la acidez titulable.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de la muestra: Se analizaron un total de 216 muestras de leche pasteurizada de las cinco marcas (A, B, C, D, E) de gran distribución en la ciudad de Maracaibo, obtenidas de diferentes expendios (supermercados y panaderías) ubicados en distintos puntos en toda la ciudad. Se analizaron 48 muestras de la marca "A", 41 de la marca "B", 49 de la "C", 48 de la "D" y 30 de la marca "E" durante el lapso comprendido entre octubre 1999 y abril 2000, procesando de 18 a 20 muestras quincenalmente.

Al momento de obtener las muestras se tomó la temperatura a la cual estaban almacenadas, luego fueron transportadas dentro de cavas con hielo hacia el laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Leche, de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia, donde fueron procesadas y analizadas. Se tomó la previsión de tomar muestras con fecha de elaboración reciente con relación al muestreo y similares entre las marcas utilizadas. Se les practicó análisis microbiológicos, pruebas para evaluar la eficiencia de la pasteurización, presencia de inhibidores, pH y acidez titulable.

Análisis microbiológico: El análisis microbiológico comprendió pruebas para el recuento de gérmenes aerobios mesófilos, psicrótrofos y termodúricos, y recuento de coliformes totales en placas.

Para el recuento de aerobios mesófilos (RAM), se utilizó el procedimiento descrito para tal fin por COVENIN 902-78 [7], mediante el cual se prepararon diluciones seriadas (1: 10 hasta 1: 10.000) sembradas en placas con agar estándar a 32°C por 48 horas.

El recuento de psicrótrofos se realizó de manera similar al RAM, variando la temperatura de incubación, que fue a 10°C durante 7 días.

Para la determinación de microorganismos termodúricos se tomó aproximadamente 10 mL de la muestra y se re-pasteurizó a 62,5°C por 30 min. en un baño de María, antes de proceder a preparar las diluciones para la siembra, según el procedimiento utilizado para el RAM. Todas las placas fueron incubadas de manera invertida, bajo las condiciones correspondientes a cada grupo.

Finalizado el período de incubación, se seleccionaron las placas donde se encontraban entre 25 y 250 unidades formadoras de colonias [1] y con la ayuda de un cuenta colonias tipo Quebec, se contaron todas las colonias presentes.

Para la determinación de coliformes se empleó el método de Recuento de bacterias coliformes en placas de petri según la metodología de la APHA [1], para lo cual se procedió a la preparación de las diluciones de igual manera que para el RAM, utilizando agár bilis rojo neutro cristal violeta, aplicando una capa superficial posterior a la coagulación del medio, luego se incubaron a 35°C por 24 horas, para luego realizar el conteo respectivo con ayuda de un cuenta colonias tipo Québec. En todos los casos (mesófilos, psicrótrofos, termodúricos y coliformes) las siembras se realizaron por duplicado, tomándose como resultado el número promedio de colonias de las dos placas de una misma dilución multiplicado por la dilución correspondiente [3].

Pruebas para evaluar la eficiencia de la pasteurización: Se evaluó mediante la determinación de las enzimas fosfatasa alcalina y lactoperoxidasa. La determinación de la fosfatasa alcalina se realizó por el método de Scharer, según la norma COVENIN 573-79 [6]. La valoración semicuantitativa de la cantidad de fenol liberada, la cual a su vez depende de la concentración de fosfatasa alcalina en la leche, se realizó por comparación visual con el color obtenido en patrones de fenol de concentración conocida [3].

La determinación de la Lactoperoxidasa se realizó mediante el Método de Storch, tomando en un tubo 10 mL de leche pasteurizada más 2 gotas de peróxido de hidrógeno y 2 gotas de p-fenilendiamina; se mezcló y se dejó en reposo por 5 minutos. La aparición de un color azul violeta indicó la positividad de la prueba, indicando que la temperatura de pasteurización fue adecuada; cuando no se observó cambio de color se interpretó que hubo sobrecalentamiento y destrucción de la enzima peroxidasa [3].

Determinación de inhibidores: Las muestras donde se pudo observar escaso o ningún crecimiento bacteriano, se catalogaron como sospechosas de contener inhibidores (antibióticos, sulfamidas u otros), por lo cual se les realizó la prueba del DELVOTEST SP[®] (Gist-Brocades), la cual permite detectar la presencia de cantidades trazas de antibióticos o cualquier otro inhibidor bacteriano como sulfamidas, desinfectantes, etc.

Pruebas de pH y acidez titulable: La medición del pH a 25°C se realizó con un potenciómetro marca Orion modelo 420 A, el cual posee un electrodo marca Orion, modelo 91-57 B.

La acidez titulable se realizó según lo establecido en la norma COVENIN 798-94 [8]. El resultado se expresó en mL de NaOH 0,1N/100mL de leche.

Análisis estadístico: Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza, distribución de frecuencia y comparación de medias por marcas por el método

de los cuadrados mínimos (LSMEANS), utilizando el paquete computarizado SAS [20].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La TABLA I muestra el promedio de la temperatura de almacenamiento bajo la cual estaban almacenadas las leches muestreadas y el promedio de la vida útil. La temperatura promedio de recolección de las muestras fue de 6,06°C, ligeramente superior a lo establecido en la norma COVENIN, la cual establece el mantenimiento del producto a una temperatura menor de 5°C [8].

Este parámetro es importante para evaluar el cumplimiento de la cadena de frío, ya que influye directamente sobre el desarrollo de la carga bacteriana. La temperatura máxima obtenida fue de 18,24°C y la mínima de 0,72°C. No obstante se debe tener en cuenta que esta temperatura representa simplemente las condiciones de almacenamiento en los refrigeradores de exhibición, pero no se recabó la información sobre la historia térmica durante el transporte de la planta procesadora hasta los establecimientos de ventas, ni las variaciones en este punto.

Es importante destacar, que una de las principales causas de rechazo de este tipo de productos, esta dada por la presencia de péptidos amargos producto de la actividad de las proteasas generadas por microorganismos del género *Pseudomonas*, sin embargo esta actividad enzimática es muy reducida cuando se almacena la leche por debajo de los 7°C [17].

Recuento de aeróbios mesófilos: La media general para la variable RAM se muestra en la TABLA II; Se observa que el valor obtenido de $4,3 \times 10^4$ ufc/mL, supera marginalmente lo establecido por la Norma COVENIN (Máx. 2×10^4 ufc/mL) [7]. Igualmente se observan las medias por marcas para la variable y las diferencias entre marcas con su significancia estadística. La marca "A" fue la que obtuvo el promedio más bajo con $8,5 \times 10^3$ ufc/mL, y fue estadísticamente diferente a la marca "C"; mientras que esta última presentó la media más alta con $8,9 \times 10^4$ ufc/mL, la cual resultó ser significativamente más alta que las muestras "A" y "B". Se encontró dife-

TABLE I
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL
DE DIFERENTES MARCAS DE LECHE PASTEURIZADAS
DE CONSUMO EN MARACAIBO

Marca	Temperatura Promedio (°C)	Vida Útil (días)
A	5,20 ± 3,97	4,75
B	6,28 ± 4,09	5,90
C	5,88 ± 4,06	4,60
D	6,55 ± 4,30	3,56
E	6,41 ± 2,64	3,77

TABLA II
MEDIAS POR CUADRADOS MÍNIMOS PARA LAS
VARIABLES MESÓFILOS Y COLIFORMES

Marca	Mesófilos (ufc/mL)	Coliformes (ufc/mL)
	Media	Media
General	$4,3 \times 10^4$	$2,8 \times 10^2$
A	$8,5 \times 10^{3b}$	$0,4 \times 10^{2b}$
B	$1,9 \times 10^{4b}$	$4,3 \times 10^{2a}$
C	$8,9 \times 10^{4a}$	$1,1 \times 10^{3a}$
D	$2,6 \times 10^{4ab}$	$4,3 \times 10^{2a}$
E	$2,2 \times 10^{4ab}$	$2,6 \times 10^{2a}$

Los valores de una misma columna con diferente superíndice difieren significativamente ($P < 0,005$).

rencia significativa entre marcas, siendo las "D" y "E" similares entre sí y al resto de las marcas. Sólo las marcas "A" y "B" cumplen estrictamente con la norma COVENIN.

El análisis de frecuencia que se presenta como resumen en la TABLA V, señala que el 85,65% de las muestras analizadas cumplen con lo normalizado por COVENIN en cuanto al parámetro RAM [8], siendo la marca "A" la que obtuvo el mayor número de muestras aceptables (91,67%) y la "C" (20,41%) la que presentó un mayor porcentaje de muestras fuera de la misma.

A pesar de que la media general indica que las leches pasteurizadas tienen conteos de mesófilos por encima de lo establecido por COVENIN [8], los resultados reflejados en el análisis de frecuencia indican que un gran porcentaje de las muestras están cumpliendo con la norma, lo cual se explica por la amplia variabilidad que se presentó entre los valores máximos y mínimos.

En trabajos similares realizados en la misma ciudad en 1985 [2], se obtuvo un valor promedio de $1,8 \times 10^3$ ufc/mL, y luego en 1990 de $1,4 \times 10^4$ ufc/mL, mientras que en productos analizados en la región central de Venezuela en 1985, se obtuvo un promedio ligeramente superior de $1,4 \times 10^5$ ufc/mL, los cuales son, en general, bastante aproximados a los valores obtenidos en esta investigación.

Estos resultados son comparables con un estudio realizado en Italia por De Nisco y col. en 1989 [9], quienes reportaron que el 97% de las muestras de leches pasteurizadas analizadas cumplieron con lo normalizado para el RAM tomando como límite máximo 3×10^4 ufc/mL, y sólo un 3% superaron el límite establecido.

Sankara y col. [19], demostraron que la calidad microbiológica de las leches pasteurizadas comerciales en la India fue pobre, encontrando valores de $9,9 \times 10^5$ ufc/mL para aerobios mesófilos, lo cual representa un valor microbiológico sumamente elevado, según el autor, esto fue debido, entre otras co-

sas, a las prácticas antihigiénicas en la producción, métodos inadecuados en el manejo y transporte bajo condiciones climáticas cálidas sin facilidades de refrigeración.

Coliformes: La variable Coliformes obtuvo una media general de $2,8 \times 10^2$ ufc/mL (TABLA II), es de hacer notar que este análisis se efectuó mediante siembra en placa y no con el método en tubos del NMP según la última norma COVENIN, a efectos de comparar los resultados con trabajos previos en el país, en los cuales se utilizaba el valor máximo de $1,0 \times 10^2$ ufc/mL [5], además de que en la mayor parte de los trabajos reportados a nivel internacional se utiliza también el recuento en placa [9]. En el análisis de medias por marcas para las variables mesófilos y coliformes (TABLA II), se observa en mesófilos, que la marca "A" obtuvo la media más baja con $0,4 \times 10^2$ ufc/mL, y la marca "C" la media más alta $1,1 \times 10^3$ ufc/mL; encontrándose diferencia significativa solo para la marca "A".

En la TABLA V se observa que un 50,93% de las muestras analizadas superan el valor exigido por la norma COVENIN [5], siendo la marca "C" la que presenta el mayor número de muestras (67,35%) con valores en coliformes por encima de lo establecido, lo cual resulta inaceptable ya que representa una contaminación post-proceso demasiado frecuente, considerando que este grupo no soporta el tratamiento térmico de pasteurización.

La presencia de microorganismos coliformes ha sido utilizada como indicador de un proceso o un estado sanitario poco satisfactorio, su presencia en gran número en alimentos procesados indican que pudo haber una contaminación post-proceso, con el riesgo de proliferación, que permitiera también la multiplicación de otros microorganismos.

Estos valores son tan elevados como los conseguidos por otras investigadores en Venezuela en los años 1985-1987, donde se reportan valores máximos en Maracaibo de $2,0 \times 10^4$ ufc/mL, en la región central de $5,8 \times 10^3$ ufc/mL y en el oriente (Cumaná) de $1,3 \times 10^4$ ufc/mL [2], resaltando en este caso que en aquellos años no se observaba con tanta frecuencia el marcado sobrecalentamiento al cual se somete el producto hoy en día.

Estos resultados difieren de los encontrados en el estudio realizado por De Nisco y col. [9] quienes encontraron en Italia que sólo el 26% de las muestras analizadas presentaron violación de las normas en los contajes de coliformes.

Psicrótrofos: La variable Psicrótrofos presentó un valor ($8,7 \times 10^2$ ufc/mL) por debajo de lo reportado como límite en la literatura revisada ($< 1,0 \times 10^7$ ufc/mL) [14, 15]. En el análisis de medias por marcas (TABLA III), la marca "A" obtuvo un promedio significativamente más bajo ($1,3 \times 10^2$ ufc/mL) y la marca "C" el más alto ($4,3 \times 10^3$ ufc/mL); la marca "A" no presentó diferencia significativa con la "E" pero sí con el resto de las marcas, las cuales a su vez fueron estadísticamente similares.

En general, todas las marcas presentaron poblaciones aceptables de psicrótrofos, por lo cual se considera que las le-

TABLA III
MEDIAS POR CUADRADOS MÍNIMOS PARA LAS
VARIABLES PSICRÓTROFOS Y TERMODÚRICOS

Marca	Psicrótrofos (ufc/mL)	Termodúricos (ufc/mL)
	Media	Media
General	$8,7 \times 10^2$	$5,9 \times 10^3$
A	$1,3 \times 10^{2b}$	$2,1 \times 10^{3b}$
B	$1,3 \times 10^{3a}$	$5,4 \times 10^{3ab}$
C	$4,3 \times 10^{3a}$	$1,9 \times 10^{4a}$
D	$8,3 \times 10^{2a}$	$5,5 \times 10^{3ab}$
E	$8,1 \times 10^{2ab}$	$6,8 \times 10^{3ab}$

Los valores de una misma columna con diferente superíndice difieren significativamente ($P < 0,005$).

ches pasteurizadas estudiadas, no alcanzaron un contejo tal, que pudiera provocar alteraciones de las características organolépticas como sabor y aroma, dada la estrecha relación entre el crecimiento de este grupo de bacterias y la producción de enzimas proteolíticas y lipolíticas a temperaturas de refrigeración [11].

Las bacterias psicrótrofas son destruidas en el proceso de pasteurización, sin embargo es frecuente que lleguen al producto como contaminantes en forma posterior al proceso, aunque en cantidades muy bajas. Entre los grupos que logran llegar de esta forma encontramos a representantes de la familia *Enterobacteriaceae* y en menor cuantía bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Flavobacterium*, entre otras [11], presentándose esta situación por la relativa resistencia de los mismos a los agentes de saneamiento más frecuentemente utilizados en las superficies en contacto con la leche tratada [21].

Sin embargo, su presencia en las muestras analizadas no indica necesariamente contaminación post-pasteurización, ya que algunos microorganismos psicrótrofos (microorganismos mesófilos capaces de crecer a temperaturas bajas), que son capaces de formar colonias a temperaturas comerciales de refrigeración (2 a 7°C), independientemente de su temperatura óptima de crecimiento [16]. Existen además, microorganismos termodúricos, que tienen la capacidad de sobrevivir a la pasteurización en su forma esporulada, pero al mismo tiempo se comportan como psicrótrofos en su forma vegetativa, tal es el caso de algunas especies del género *Bacillus* [11, 21].

En general, se puede decir que la predominancia de los grupos bacterianos va a depender básicamente de la temperatura de conservación, así, a temperaturas óptimas para la misma (<5°C), serán las especies del género *Pseudomonas*, principalmente y alternativamente *Flavobacterium* y *Alcaligenes* los que pondrán de manifiesto su mayor capacidad de adaptación a las condiciones, rebasando ampliamente las poblaciones de *Enterobacteriaceae* que pudieron encontrarse en mayor número como contaminación inicial [21]. El efecto del cre-

cimiento de los géneros anteriormente citados es muy importante, ya que describen el tipo de alteración a la cual va estar expuesto el producto (proteólisis, lipólisis, etc.), incrementando la importancia de controlar su presencia en el producto [21].

Termodúricos: Los microorganismos termodúricos pueden estar representados por aquellas formas esporuladas que resisten el tratamiento térmico, generalmente en leche se encuentran los géneros *Bacillus* y *Clostridium*, además de formas vegetativas muy termorresistentes como *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, algunos *Lactobacillus* y otros [11, 21]. Para lograr su proliferación, estos grupos necesitan de temperaturas bastante elevadas, lo cual se evita dadas las condiciones de conservación en frío del producto, además de que algunos como *Clostridium*, requieren de condiciones de potencial redox muy bajo, situación que no se consigue en leche pasteurizada [11, 18, 23]. Su control a nivel de leche cruda es la principal forma de disminuir su presencia en el producto pasteurizado, por su resistencia al tratamiento térmico.

La media general para esta variable resultó en $5,9 \times 10^3$ ufc/mL. La marca "A" obtuvo los contejos más bajos con un promedio de $2,1 \times 10^3$ ufc/mL, el cual solo fue significativo en relación con la marca "C" que a su vez presentó un contejo de $1,9 \times 10^4$ ufc/mL; las marcas "B", "D" y "E" no presentan diferencia alguna con el resto de las marcas para esta variable (TABLA III). Tomando en cuenta que se ha propuesto un recuento de $1,0 \times 10^4$ ufc/mL como límite aceptable para el contejo de termodúricos [18] se puede decir que la media general se encontró por debajo del valor recomendado, sin embargo, en las medias por marcas, la "C" fue la única que superó ligeramente el valor establecido ($1,9 \times 10^4$ ufc/mL).

Estos valores indican claramente que la cadena de frío desde la planta hasta el expendio se ha cumplido aceptablemente, ya que, cuando se presentan elevaciones importantes o prolongadas en la temperatura, los microorganismos termorresistentes presentan valores muy elevados dado su extensa proliferación.

Al analizar los valores obtenidos para el recuento total y los de psicrótrofos y termodúricos, puede apreciarse que la proporción de estos últimos es mucho más importante (un ciclo log) que la de psicrótrofos, de hecho, su presencia representa una fracción muy importante del total de microorganismos presentes (aerobios mesófilos), lo cual permite inferir que dadas las bajas temperaturas de almacenamiento reportadas, no transcurrió suficiente tiempo de almacenamiento como para que las poblaciones de microorganismos psicrótrofos sobrepasen a los termodúricos, o en todo caso, la contaminación inicial de los primeros fue convenientemente baja.

pH: En la TABLA IV se observa que la variable pH tiene una media general de 6,70; valor que coincide con el reportado por Lee y col. [13] y Vásquez [22] y que a la vez se encuentra dentro de lo establecido en la norma COVENIN 798-94 (6,5-6,7) [8], sólo las marcas "A" y "D" superaron marginalmente los valores legales. La frecuencia para las variables mesófi-

TABLA IV
MEDIAS POR CUADRADOS MÍNIMOS PARA LAS
VARIABLES ACIDEZ TITULABLE Y pH

Marca	pH		Acidez Titulable (mL NaOH 0,1N/ 100 mL leche)	
	Media	DE	Media	DE
General	6,70	0,11	14,85	1,07
A	6,71 ^{ab}	0,07	14,48 ^b	0,77
B	6,69 ^{ab}	0,07	14,67 ^b	0,70
C	6,68 ^b	0,18	15,44 ^a	1,67
D	6,73 ^a	0,09	14,67 ^b	0,97
E	6,67 ^b	0,08	15,01 ^{ab}	0,86

Los valores de una misma columna con diferente superíndice difieren significativamente ($P < 0,005$).

los, coliformes, pH y acidez titulable por marcas, mostrada en la TABLA V, evidenció que todas las marcas presentaron una proporción de al menos 20% de las muestras con una ligera tendencia a sobrepasar el límite superior para este parámetro ($>6,7$), lo cual pudiese deberse, entre otras causas, a la presencia de neutralizantes en la leche o a la dilución de la acidez natural por presencia de agua añadida.

Acidez titulable: En la misma TABLA IV, también se puede observar que la media general para la Acidez Titulable fue de 14,85 mL NaOH 0,1N/ 100 mL de leche, valor que se encuentra marginalmente por debajo de lo establecido por la normativa legal vigente (15 -19 mL de NaOH 0,1N/100mL de leche) [8]. Este resultado es similar a los reportados por Vásquez y col. (15,72 \pm 1,32) [22] y diferente de lo encontrado por Boscán y col. (12,38-14,41) [4].

En el análisis de frecuencia de las variables en estudio, presentada en la TABLA V, se observa que del total de las muestras, la mayoría (52,8%) se encuentran por debajo del rango permitido para acidez titulable, lo cual coincide con la media general obtenida, siendo las marcas "A" y "D" las que representan el mayor porcentaje de esta desviación con 66,67% para cada una. De igual forma se evidencia, que solo las marcas "C" y "E" están dentro de lo normalizado por COVENIN (15-19 mL NaOH/100 mL de leche) y se aprecia que las medias para esta variable reflejaron diferencia significativa entre marcas, siendo la "C" significativamente más elevada en comparación con las marcas "A", "B" y "D".

Una leche con baja carga bacteriana tendrá un menor desarrollo de acidez, debido a que son las bacterias, las responsables de la producción del ácido láctico, por lo tanto estas leches presentarán un pH mayor. Si por el contrario, existe una alta carga bacteriana, habrá mayor producción de ácido láctico que disminuye el pH y aumenta la acidez.

Los resultados encontrados permiten trazar un paralelismo, aunque poco consistente, entre los contajes de aerobios mesófilos y la acidez, así podemos apreciar como la marca "A" fue la que obtuvo uno de los contajes más bajos, por lo cual es lógico que se presente un menor desarrollo de la acidez y un pH más elevado, aun cuando las diferencias no resultaron significativas.

Fosfatasa alcalina y peroxidasa: El 100% de las muestras analizadas resultó negativa a la prueba de la Fosfatasa ($<1\mu\text{g/mL}$ de fenol) cumpliendo con lo establecido en la norma COVENIN respectiva, indicando que en el proceso de pasteurización se están alcanzando las temperaturas mínimas requeridas (72°C), ya que un tratamiento térmico por debajo de éste, no destruye el enzima y al mismo tiempo no asegura la eliminación de los microorganismos patógenos que pudiesen estar presentes en la leche.

En cuanto a la determinación de la Peroxidasa, se observó que en el 99% de las muestras analizadas, el enzima estuvo ausente, indicando que las leches analizadas se están sometiendo a un tratamiento térmico excesivo, por encima de los $77,8^\circ\text{C}$, lo cual si bien garantiza la destrucción de la mayor parte de los microorganismos presentes, trae como consecuencia pérdida del valor nutritivo por la destrucción de nutrientes, como algunas vitaminas y aminoácidos esenciales de las proteínas [23]. Estos valores coinciden con los reportados por De Nisco y col. [9], donde el 86,5% de las muestras examinadas en Italia, resultaron negativas a la prueba de la peroxidasa, haciéndose evidente que la situación planteada se presenta de forma similar en algunos países desarrollados como el citado.

Las plantas procesadoras de leche aplican temperaturas superiores a las establecidas, posiblemente porque la materia prima (leche cruda) presenta una alta carga bacteriana [2], caso típico de nuestro medio, por lo cual se requiere de tratamientos térmicos excesivos para su apropiada reducción, y lograr alargar la vida útil de la leche.

Prueba de inhibidores: a las muestras con crecimientos bacterianos menores de $5,0 \times 10^1$ ufc/mL de aerobios mesófilos, se les realizó la prueba de Delvotest[®], con la finalidad de detectar la presencia de posibles sustancias inhibidoras como antibióticos o sulfamidas. Esta se le realizó a 12 del total de las muestras, resultando positiva en 2 de ellas (estos resultados no entraron en el análisis estadístico) indicando que la mayoría de las muestras que presentaron una baja carga bacteriana no contenían los inhibidores estudiados, por lo cual se presume que los contajes obtenidos no estuvieron afectados por esta razón.

CONCLUSIONES

Debido a que un gran porcentaje de las muestras superaron las normas en el contaje de coliformes, se puede decir

TABLA V
ANÁLISIS DE FRECUENCIA PARA LAS VARIABLES MESÓFILOS, COLIFORMES, pH Y ACIDEZ TITULABLE
EN DIFERENTES MARCAS DE LECHE PASTEURIZADA

		MARCAS										TOTAL	
		A	B	C	D	E	F		%		T	%	
VARIABLE	RANGO	F	F	F	F	F	F	F	F	F	T	%	
Mesófilos (ufc/mL)	≤2,0 x 10 ⁴	44	36	39	41	25	83,33	185	85,65				
	>2,0 x 10 ⁴	4	5	10	7	5	16,67	31	14,35				
Coliformes (ufc/mL)	≤1,0 x 10 ²	34	20	16	20	16	53,33	106	49,07				
	>1,0 x 10 ²	14	21	33	28	14	46,67	110	50,93				
pH	<6,5	0	0	2	1	1	3,33	4	1,85				
	6,5 - 6,7	30	32	30	20	23	76,67	135	62,50				
	>6,7	18	9	17	27	6	20,00	77	35,65				
Acidez Titulable (mL NaOH/100mL)	<15,0	32	26	14	32	10	33,33	114	52,77				
	15,0 A 19,0	16	15	34	15	20	66,67	100	46,30				
	>19,0	0	0	1	1	0	0,00	2	0,93				

que las muestras analizadas presentaron una elevada contaminación post-proceso, probablemente por mala aplicación de las buenas prácticas de procesamiento, limpieza y saneamiento a nivel de las plantas.

Se debe tomar en cuenta que casi todas las muestras dieron negativa la prueba de la peroxidasa, lo que indica que las plantas pasteurizadoras están sobre calentando el producto, lo cual pudiera producir pérdida en el valor nutritivo, así como también, en las características organolépticas de la leche pasteurizada.

Los resultados obtenidos señalan claramente que la marca "A" presenta la mejor calidad higiénica y la marca "C" resultó tener menor calidad higiénica, violando varias de las normas establecidas por COVENIN.

Resultaría interesante estudiar la fuente y el nivel específico que pudo determinar la elevada contaminación por coliformes, con la finalidad de identificarlos en nuestras condiciones de fabricación y aplicar los correctivos más convenientes en cada caso.

Se hace necesario recurrir a la capacitación del personal a nivel de planta con el fin de que estos apliquen los conocimientos técnicos necesarios a objeto de elevar los estándares de higiene en sus operaciones.

El estudio de la dinámica de crecimiento de los indicadores microbiológicos analizados sería conveniente para lograr un mejor control sobre los periodos de vida útil que pudieran estimarse convenientes, según sus características y condiciones propias de fabricación, almacenamiento y distribución, para cada una de las plantas procesadoras de leche pasteurizada.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar el más profundo agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES), por el financiamiento prestado para la realización de este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION APHA. **Compendium of Methods for the microbiological examination of food**. 3rd ed. 80 pp. 1996.
- [2] BOSCAN, L.; FARÍA, J.; SÁNCHEZ, M. Calidad química y microbiológica de la leche en Venezuela. Cap. XXIX. En: **Ganadería Mestiza de Doble Propósito**. 1^{ra} ed. Editorial Astro Data, S. A. Venezuela. 606-607 pp. 1980.
- [3] BOSCÁN, L. A. **Guías Prácticas del Laboratorio de Industrias Lácteas**. 11^{va} Ed. FCV-LUZ. 75-81 pp. 1983.
- [4] BOSCÁN, L. A.; MENDOZA, S.; NAVARRO, D. La leche pasteurizada en la región capital de Venezuela. Deficiencia en su calidad química y microbiológica. **Acta Cientif. Venez.** 28: 147. 1977.
- [5] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). **Alimentos**. Métodos para el recuento de bacterias coliformes en placas de petri. **Norma 1086-77**. 1977.
- [6] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). **Leche y sus derivados**. Determinación de la actividad fosfatásica. Método de referencia. **Norma 573-79**. 1979.
- [7] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) **Alimentos**. Métodos para el recuento de microorganismos aeróbios en placas de petri. **Norma 902-78**. 1978.
- [8] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). **Leche Pasteurizada**. **Norma 798-94**. 1994.
- [9] DE NISCO, F.; BERTANI, G.; SALVADORI, C.; PUELLI, S.; ZANNONI, G., Indagine microbiológica sul latte pastorizzato in Italia. **Industria Alimentari** XXVIII: 1188-1192. 1989.
- [10] FOSTER, E. **Microbiología de la leche**. Ed. Herrero, S. A. México. 165-172 pp. 1994.
- [11] JAY, J.M. **Modern Food Microbiol.** 6th ed. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland. 679 pp. 2000.
- [12] JUDKINS, H.; KEENER, H. **La leche, su producción y procesos industriales**. 11^{va} Ed. Editorial Continental S. A. México. 270-277 pp. 1984.
- [13] LEE, M.; CHOI, C.; KWON, I.; KIM, H. Physico chemical properties of market milk in Korea. **L.A.B. of Dairy Tech & Microbiol.** SEÚL NATIONAL UNIV.SWWEON-KOREA (1): 31-34. 1983.
- [14] Organización Mundial de la Salud. **Normas para el examen de los Productos Lácteos**. 11^{va} ed. Washington. 145-179 pp. 1960.
- [15] RAVANIS, S.; LEWIS, M. Observations on the effect of raw milk quality on the keeping quality of pasteurized milk. **Let. appl. microbiol.** 20 (3): 164-167. 1995.
- [16] REFAI, M. **Manual para el control de calidad de los alimentos. Análisis Microbiológico**. F.C.V. Ciza-Egipto. 351-353 pp. 1981.
- [17] REINHEIMER, J.A; SÚAREZ, V.B.; y HAYE, M.A. Microbial and chemical changes in refrigerated pasteurised milk processed in the Santa Fé area (Argentina). **The Australian J. of Dairy Tech.** 48 (1): 5-9. 1993.
- [18] ROBINSON, R. K.; **Microbiología Lactológica**. Vol. 1. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. 34-181 pp. 1987.
- [19] SANKARA, I.; JAIRAM, B.; VENKAYYA, D. Bacteriological quality of cow milk. **Indian J. Dairy Sci.** 42 (3): 650-652. 1989.

- [20] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. Statistics version 6,12. Cary, NC. USA. 1996.
- [21] VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. Liquid milk and liquid milk products. Chapter 2. In: **Milk and milk products**. 1st Ed. Chapman & Hall, 88-100 pp. 1996.
- [22] VÁSQUEZ, L. **Calidad físico química de las leches pasteurizadas consumidas en la región zuliana durante 1991-1994**. F.C.V. - L.U.Z. (Trabajo de ascenso). 87 pp. 1995.
- [23] VEISSEYRE, R. **Lactología Técnica**. 2da. Ed. Editorial Acribia. España. 186-189 pp. 1988.