DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE PRODUCTOS PREFABRICADOS EN UNA PLANTA DE CONFITERÍAS APLICANDO UN ESTUDIO EN TIEMPO REAL

ERIKA LIZETH ROMERO TORRES

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2016

DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE PRODUCTOS PREFABRICADOS EN UNA PLANTA DE CONFITERÍAS APLICANDO UN ESTUDIO EN TIEMPO REAL

ERIKA LIZETH ROMERO TORRES

TRABAJO DE PASANTÍA Presentado como requisito parcial para optar al título de MICROBIÓLOGA

Asesor:

Ph.D ENRIQUE CABEZA HERRERA

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2016

PÁGINA DE ACEPTACIÓN

	Nota de aceptación.	
_		
_		
		Jurado
		Jurado
		Jurado

TABLA DE CONTENIDO

	Página.
INTRODUCCIÓN	1
1. OBJETIVOS	4
1.1. OBJETIVO GENERAL	4
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
3. JUSTIFICACIÓN	6
4. MARCO REFERENCIAL	7
4.1. LECHE CONDENSADA	7
4.1.1. Principales defectos que afectan la leche condensada	8
3.1.2. Principales alteraciones microbiológicas	8
3.1.3. Propiedades fisicoquímicas	9
3.1.4. Elaboración de la leche condensada en el área de prefabricados	9
4.2. GELATINA	10
4.2.1. Propiedades fisicoquímicas	11
4.2.2. Elaboración de la gelatina en el área de prefabricado	11
4.3. VIDA ÚTIL	11
4.3.1. Factores que afectan la vida útil de un producto	12
4.3.2. Diseño de un ensayo de vida útil	13
4.3.3. Estimación de la vida útil	14
4.4. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS	14
4.5. NORMATIVIDAD	16
4.6. ANTECEDENTES	17
5. METODOLOGÍA	19
5.1. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO DE VIDA ÚTIL	19
5.1.1. Diseño básico del estudio de vida útil	19
5.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	20
5.2.1. Aerobios mesófilos	21
5.2.2. Coliformes totales y <i>E. coli</i>	22
5.2.3. Mohos y Levaduras	23
5.2.4. Sthaphylococcus aureus	23
5.3. ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS	24
5.4. Estimación de la vida útil de almacenamiento de los subproductos	24
5.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
5.6. ACTIVIDADES COMPLEMENTARIAS	25
6. CRONOGRAMA	28
7. RESULTADOS	29
7.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	29
7.1.1. Gelatina almacenada en cocimientos blandos y en cuarto frio	29
7.1.2. Leche condensada almacenada en prefabricados y cuarto frio	32 35

7.2.1. Gelatina almacenada en cocimientos blandos y en cuarto frio	35
7.2.2. Leche condensada almacenada en prefabricados y en cuarto frio	37
7.3. Estimación de la vida útil de almacenamiento de los subproductos	38
7.3.1. Gelatina	38
7.3.2. Leche condensada	42
7.4. ANÁLISIS DE CORRELACIONES	46
7.4.1. Gelatina	46
7.4.2. Leche condensada	48
7.5. ANÁLISIS DE REGRESIÓN MÚLTIPLE	50
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	56
9. CONCLUSIONES	64
10. RECOMENDACIONES	65
11. GLOSARIO	66
12. BIBLIOGRAFÍA	68
13. ANEXOS	73

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Requisitos microbiológicos de la leche condensada azucarada	16
Tabla 2. Requisitos microbiológicos de la gelatina	16
Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos internos establecidos por la planta de confiterías	17
Tabla 4. Planteamiento del estudio de vida útil para la gelatina almacenada en cuarto frio y área de cocimiento blandos	20
Tabla 5. Planteamiento del estudio de vida útil para la gelatina almacenada en cuarto frio y área de cocimiento blandos	20
Tabla 6. Identificación de las muestras objeto de estudio	35
Tabla 7. Resultados fisicoquímicos de la gelatina almacenada en cocimientos blandos	35
Tabla 8. Resultados fisicoquímicos de la gelatina almacenada durante 10 días	36
Tabla 9. Resultados fisicoquímicos de la gelatina en el área de cocimiento blandos durante 12 horas de almacenamiento	36
Tabla 10. Resultados fisicoquímicos de la leche condensada almacenada en el área de prefabricados por un tiempo de 10 días	37
Tabla 11. Resultados fisicoquímicos de la leche condensada almacenada en cuarto frio por 10 días	38
Tabla 12. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos en gelatina almacenada en cocimiento blandos durante 10 días	39
Tabla 13. Vida útil estimada para la gelatina almacenada en cocimiento blandos durante 10 días e indicadores usados para el cálculo de la vida útil.	39

Tabla 14. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos; mesófilos y coliformes en la gelatina almacenada en cocimientos blandos durante 12 horas	40
Tabla 15. Vida útil estimada para la gelatina almacenada durante 12 horas en el área de cocimiento blandos e indicadores usados para el cálculo de la vida útil.	41
Tabla 16. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos en la gelatina almacenada en cuarto frío	41
Tabla 17. Vida útil estimada para la gelatina almacenada en el cuarto frío, e indicadores usados para el cálculo de la vida útil	42
Tabla 18. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos en leche condesada almacenada en área de prefabricados durante 10 días	42
Tabla 19. Vida útil estimada para la leche condesada almacenada en el área de prefabricados, e indicadores usados para el cálculo de la vida útil	43
Tabla 20. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos en leche condesada almacenada en cuarto frío durante 10 días	44
Tabla 21. Vida útil estimada para la leche condesada almacenada en cuarto frío, e indicadores usados para el cálculo de la vida útil	44
Tabla 22. Estimación de la vida útil para la gelatina	45
Tabla 23. Estimación de la vida útil para la leche condensada	46
Tabla 24. Análisis de correlaciones entre las variables extrínsecas e intrínsecas sobre el crecimiento microbiano en la gelatina	47
Tabla 25. Análisis de correlaciones entre las variables extrínsecas e intrínsecas sobre el crecimiento microbiano en la leche condensada	49
Tabla 26. Modelos para el análisis de regresión de la gelatina	50
Tabla 27. Resumen de los datos estadísticos obtenidos de cada uno de los modelos planteados para la gelatina	51

Tabla 28. Análisis de varianza (ANOVA) obtenido de cada uno de los modelos establecidos para la gelatina	52
Tabla 29. Coeficientes de los modelos establecidos para la gelatina	53
Tabla 30. Modelos para el análisis de regresión de la leche condensada	54
Tabla 31. Resumen de los datos estadísticos obtenidos de cada uno de los modelos planteados para la leche condensada	54
Tabla 32. Análisis de varianza (ANOVA) obtenido de cada uno de los modelos establecidos para la leche condensada	54
Tabla 33. Coeficientes de cada uno de los modelos establecidos para la leche condensada	55

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Curva de crecimiento microbiano en la gelatina almacenada en cocimiento blandos durante 10 días	30
Figura 2. Curva de crecimiento microbiano en la gelatina almacenada en cocimiento blandos durante 12 horas	31
Figura 3. Curva de crecimiento de Aerobios mesófilos en la gelatina almacenada en cuarto frio durante 10 días	32
Figura 4. Curva de crecimiento microbiano en la leche condensada almacenada en prefabricados durante 10 días	33
Figura 5. Curva de crecimiento microbiano en la leche condensada almacenada en cuarto frio durante 10 días	34

INTRODUCCIÓN

La vida útil está basada en la cantidad de pérdida de calidad que se permitirá antes del consumo de un producto (Chavarria, 2010), es decir que se puede definir como el tiempo finito después de su producción en condiciones controladas de almacenamiento, en las que tendrá una pérdida de sus propiedades sensoriales y fisicoquímicas y sufrirá un cambio en su perfil microbiológico (Carrillo y Reyes, 2013). La vida útil de un alimento desde el punto de vista de la seguridad y del aspecto organoléptico, depende de cuatro factores principales; conocer la formulación, el procesado, el empacado y las condiciones de almacenamiento, estos factores son orientados en el concepto de HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), donde se comprende una metodología del control de calidad que apunta a asegurar una "alta calidad". Estos cuatro factores son críticos pero su relativa importancia depende de la peresibilidad del alimento (Posada, 2011).

La planta de confiterías ofrece una variedad de productos de venta tanto en el mercado nacional como en el internacional, productos como los caramelos blandos y las gomas producidos en la planta requieren para su manufactura de componentes (agentes de textura) que se fabrican dentro de esta y otros que se establecen como materias primas para su elaboración. Los componentes que se fabrican dentro de la planta en el área de suministros son llamados productos prefabricados y hacen referencia a los alimentos elaborados como la leche condensada, gelatina, dextrina, fondant, entre otros, que serán usados en la fabricación de dulces y demás confiterías en las áreas de producción.

Dentro de los productos prefabricados la leche condensada y la gelatina son considerados críticos al provenir de materias primas de origen animal, es decir que son más propensos a deterioro de las propiedades sensoriales y fisicoquímicas o alteraciones bacterianas por factores externos. Las materias primas usadas para la elaboración de la leche condensada y la gelatina son leche y gelatina en polvo, productos deshidratados a los cuales se les ha eliminado el agua por evaporación o sublimación, evitando así el desarrollo microbiológico y alargando la vida útil (Rodríguez y Vélez, 2012).

La leche condensada se define como el producto que ha sido obtenido mediante la evaporación del agua de la leche a través de presión reducida, a la que se le ha agregado sacarosa y/o dextrosa u otro edulcorante natural, hasta alcanzar una determinada concentración de grasa butírica y sólidos totales. Tiene un alto contenido energético y la alta concentración de sacarosa aumenta la presión osmótica hasta tal punto que la mayoría de los microorganismos son inactivados. La leche utilizada puede ser entera, semidescremada o descremada, que se somete a tratamiento térmico (pasteurización) y se conserva mediante adición de sacarosa. La leche condensada también se puede elaborar a partir de leche en

polvo la cual presenta características similares a la leche líquida, en cuanto a las sales y los azucares (glucosa y galactosa), las proteínas (lactosa) y materia grasa (Rodríguez y Vélez, 2012).

La gelatina es proteína pura obtenida de materias primas que contienen colágenos. Los componentes de las proteínas son los aminoácidos, la gelatina contiene un total de 18 aminoácidos, entre ellos ocho de los 10 aminoácidos esenciales. La forma de presentación más habitual de la gelatina alimenticia es en polvo, y está presente en los yogures, las cremas ligeras, las jaleas y el áspic. Proporciona a las gominolas y caramelos de goma una consistencia única (GME, 2016).

En el área de suministros estos dos productos son elaborados y utilizados en producción de manera frecuente, pero en ocasiones deben ser almacenados por periodos largos. Para que la leche condensada y la gelatina se usen en la elaboración de los dulces y las gomas, se analizan las características microbiológicas según la NTC 879 para leche condensada azucarada y la NTC 1629 para gelatinas en las industrias alimentarias. También se analizan las características fisicoquímicas (apariencia, color, sólidos solubles totales, pH). Si los recuentos microbiológicos y los valores fisicoquímicos están dentro del límite permitido y establecido en la normatividad, los productos pueden ser liberados en área de producción.

El almacenamiento se lleva a cabo en cuarto frio con una temperatura establecida entre los 5 - 7°C y antes de ser llevada a área de producción se mantiene a temperatura ambiente en el área de prefabricados. El almacenamiento del producto se encuentra dentro de los factores que influencian la vida útil de los alimentos, pues el lugar donde se almacenen, así como el tiempo en que se distribuyan puede acortar la vida útil del producto, sino se realiza en las condiciones apropiadas (Posada, 2011).

La naturaleza de las materias primas que se utilizan para elaborar el producto, en este caso leche y gelatina en polvo, es uno de los factores que más influencia tiene en la vida útil de un alimento. Si las materias primas tienen un alto contenido de proteínas, grasas o carbohidratos, dependiendo del macronutriente que predomine, o de la combinación en el alimento, se llevarán a cabo diferentes tipos de reacciones. Las materias primas como la leche y la gelatina son ricas en proteínas por lo cual es muy probable que puedan desarrollarse bacterias, además la leche condensada presenta un alto contenido de carbohidratos, lo que la hace susceptible al deterioro por mohos y levaduras. La presencia de microorganismos en un alimento ha sido importante para obtener información acerca del estado que guarda un producto, como las condiciones en las que se elaboró. Conocer la presencia de algunos microorganismos en los alimentos, y más aún su número, ayuda a predecir el tiempo de su vida útil (Carrillo y Reyes, 2013).

Ya que la leche condensada y la gelatina son alimentos que pueden deteriorarse por la actividad microbiana y no tienen estudios previos de vida útil, con el presente estudio se busca utilizar un diseño básico y el análisis predictivo para determinar la vida útil en tiempo real de estos dos productos, utilizando la temperatura como variable de análisis. El diseño del estudio consiste en almacenar dos muestras de un mismo lote en diferentes condiciones de temperatura y hacer un seguimiento todos los días, realizando en cada muestreo todos los análisis correspondientes (microbiológico y fisicoquímico). Los análisis predictivos están soportados por ecuaciones matemáticas que usan información de bases de datos que permiten predecir el crecimiento de bacterias bajo condiciones definidas, en este estudio el software DMFit de Combase permitirá obtener la velocidad de crecimiento bacteriano para establecer la población, evaluando la cinética de crecimiento en función de la temperatura y los modelos predictivos permitirán estimar la vida útil de los subproductos.

1. OBJETIVOS

1.1. GENERAL

Determinar la vida útil de los productos prefabricados (leche condensada y gelatina) en una planta de confiterías aplicando un estudio en tiempo real.

1.2. ESPECÍFICOS

- ➤ Evaluar los cambios microbiológicos y fisicoquímicos de los productos prefabricados (leche condensada y gelatina) en diferentes condiciones de almacenamiento.
- Comprobar la influencia de los factores ambientales y fisicoquímicos sobre el crecimiento microbiano en la leche condensada y la gelatina.
- ➤ Identificar las condiciones adecuadas de almacenamiento para mantener la calidad de la leche condensada y la gelatina.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La leche condensada y la gelatina son dos productos prefabricados que se elaboran en la planta de confiterías para ser utilizados en la producción de los dulces. Estos dos productos son considerados alimentos perecederos debido a la naturaleza de sus materias primas pues son ricas en proteínas que contribuyen al desarrollo de bacterias y en carbohidratos, en el caso de la leche condensada, que la hace susceptible al deterioro por mohos y levaduras.

La leche condensada no es sometida a un proceso de pasteurización, sino a calentamiento a 90°C por 30 minutos en el tacho, un equipo para el cocimiento del azúcar, contiene una alta concentración de azúcar, que actúa como agente de conservación al aumentar la presión osmótica del medio destruyendo la mayor parte de los microorganismos, pero es envasada en recipientes de plástico al igual que la gelatina y almacenadas en cuarto frio hasta que son llevadas a las áreas de producción para su uso, sin embargo antes de ser utilizadas en los procesos de manufactura son dejadas aproximadamente 12 horas a temperatura ambiente, lo que puede contribuir a la activación y el aumento de la carga bacteriana sobreviviente a los procesos térmicos.

Además, estos dos productos prefabricados están sometidos a una manipulación directa por parte del operario que influyen en las condiciones sanitarias que se siguen durante el proceso de elaboración del producto lo que puede afectar el tiempo de vida útil del mismo, sino se mantiene un adecuado manejo higiénico en el proceso de elaboración.

A pesar de que tanto la gelatina como la leche condensada son productos críticos, propensos a sufrir deterioro por decaimiento microbiológico o fisicoquímico, no poseen un tiempo de vida útil estimado, pues al ser prefabricados son sometidos a otras condiciones de procesamiento como componentes del producto terminado, es decir de los dulces y demás confiterías. Sin embargo, la estimación de la vida útil de estos dos productos prefabricados puede contribuir a su adecuado almacenamiento y a asegurar la calidad del producto final.

3. JUSTIFICACIÓN

La vida útil de un alimento se establece como el tiempo en el cual este permanece inocuo y conserva su calidad, además asevera que el alimento mantiene características químicas sensoriales, físicas y microbiológicas. El deterioro del alimento está condicionado por una serie de cambios que se producen durante su almacenamiento, cuando el producto pierda alguno de sus parámetros de calidad definidos a priori, abra finalizado su vida útil (Posada, 2011).

Los productos prefabricados en la planta de confiterías, no tienen establecido un tiempo de vida útil ya que son usados en los procesos de producción regularmente. La leche condensada y la gelatina son productos prefabricados considerados perecederos ya que tienden a perder sus características microbiológicas y fisicoquímicas por ser elaborados con materias primas de origen animal, por ello su tiempo en almacenamiento a bajas temperaturas (5-7°C) es de mínimo 24 horas y máximo de 96 horas. A nivel microbiológico se verifican microrganismos indicadores como Aerobios Mesófilos, Coliformes totales, E. coli, mohos y levaduras. Las variables fisicoquímicas controladas para la leche condensada son el pH y los sólidos solubles totales mientras que para la gelatina solo se registra el pH. El almacenamiento en cuarto frio ha sido establecido por situaciones de ensayo y error que han ocasionado pérdidas monetarias a la planta, por lo tanto la determinación de la vida útil de la leche condensada y la gelatina permitiría tener un mayor control sobre estos dos productos prefabricados de tal manera que se puedan almacenar sin tener riesgo de pérdida hasta que sean utilizados para la producción de las confiterías.

El estudio de vida útil es necesario pues permite definir la duración de los productos prefabricados para no sub o sobre dimensionar el tiempo que realmente perduran, además es de vital importancia para prevenir enfermedades alimentarias (Valencia *et al*, 2008). Un estudio de vida útil puede llevarse a cabo usando modelos predictivos que permiten predecir el comportamiento microbiano en una matriz alimentaria, es una manera rápida y eficaz de evaluar la tasa de crecimiento de los microorganismos y su desarrollo bajo condiciones específicas, como el almacenamiento en diferentes temperaturas (Asturias, 2005).

Por lo anterior, se hace necesaria la determinación de la vida útil de los productos prefabricados, leche condensada y gelatina, elaborados en el área de suministros de la planta de confiterías aplicando un modelo predictivo de tal manera que se pueda asegurar la calidad de estos productos y garantizar que permanezcan inocuos al estar en las condiciones de almacenamiento adecuadas.

4. MARCO REFERENCIAL

Un alimento es un sistema activo, biológico complejo y fisicoquímico, y su calidad es un estado dinámico que decrece con el tiempo (Núñez, 2013). Los alimentos pueden ser clasificados según su estabilidad en perecederos, los cuales almacenado en condiciones apropiadas tiene una vida útil media de 14 días siendo limitado en la mayoría de los casos por el decaimiento bioquímico (enzimático/senescencia) o el decaimiento microbiano y deben mantenerse a temperaturas de refrigeración o congelación (Restrepo y Montoya, 2010); semiperecederos, que tienen una vida útil de 30 a 90 días, contienen inhibidores naturales o han recibido tratamiento mínimo de preservación que les proporcionan tolerancia a las condiciones ambientales y al abuso durante la distribución; y en poco perecederos; que son estables a temperatura ambiente o de larga duración, su vida útil es de varios meses hasta años (Núñez, 2013). La leche condensada y la gelatina son alimentos perecederos debido a que son elaborados con materias primas de origen animal.

4.1. LECHE CONDENSADA

La leche condensada azucarada es el alimento obtenido por la evaporación de una parte del contenido acuoso de la leche entera o descremada de vaca y/o rehidratación de parte de la misma cuando esta sea en polvo y adicionada de sacarosa. Su consistencia y aspecto es uniforme de color blanco o crema claro. La leche condensada azucarada no se puede esterilizar y su cristalización se controla por la refrigeración (Gómez y Alava, 2013). Su valor nutricional diluido en agua al 50% es similar al de la leche entera, su contenido en peso es de al menos un 8% de materia grasa y un 28% de extracto seco total procedente de la leche. Ya que la leche condensada es sometida a una menor intensidad de calentamiento, las pérdidas de nutrientes es menor, aunque esto también dependerá de la calidad de la leche con la que se fabricó (Gil, 2010). La pérdida del valor nutricional se produce en cuanto al contenido de vitaminas debido al proceso térmico que destruyen algunas vitaminas o a las pérdidas durante el almacenamiento. Su composición media es de 9% de proteína, 9% de grasa, 12% de lactosa, 2% minerales y 26% de agua (Rodríguez y Magro, 2008).

La cantidad de sacarosa para garantizar la conservación del producto final está regulada y depende del peso seco lácteo de la leche condensada: el porcentaje de sacarosa mínimo es de 62,5 y el máximo es de 64,5%. La leche condensada requiere un tratamiento de precalentamiento intenso para asegurar su estabilidad en el almacenamiento, se puede añadir un estabilizador y el producto final generalmente se esteriliza en una lata. Si la leche condensada azucarada no se elabora o maneja de manera adecuada, puede presentar diversos defectos, como pueden ser una viscosidad excesiva, decoloración, cambios químicos y

microbiológicos, arenosidad, sedimentación del azúcar y crecimiento de mohos (Rodríguez y Vélez, 2012).

4.1.1. Principales defectos que afectan la leche condensada

- Textura arenosa: Este defecto es causante de la formación de cristales de lactosa con un tamaño y cantidad inadecuada a causa de la poca cantidad de agua que queda después de la evaporación. Se puede evitar mediante un control estricto durante el proceso de cristalización en el enfriamiento o agregando leche en polvo o lactosa finamente cristalizada como estabilizadores para forzar que el proceso de cristalización se lleve a cabo de manera adecuada.
- Precipitación del azúcar: se manifiesta como un depósito de cristales en el fondo del recipiente contenedor y ocurre cuando el producto ha sido refrigerado en condiciones inadecuadas, posee una viscosidad muy baja o se ha almacenado a altas temperaturas.
- Espesamiento: Este defecto puede deberse a dos factores, el primero; debido a la contaminación bacteriana con micrococos y por el tiempo prolongado de almacenamiento, lo que se controla con la concentración del azúcar a un 65,5% en fase acuosa para aumentar la concentración de la presión osmótica. El segundo; se debe a los cambios fisicoquímicos que ocurren con el tiempo porque se desestabiliza el producto y se coagula, su control se realiza mediante condiciones de precalentamiento y almacenamiento adecuadas sobre todo en cuanto a las condiciones de temperatura.
- Botones: Aparecen partículas coaguladas en la superficie del producto de color marrón-rojizo, debido a la contaminación por mohos del género Aspergillus spp. Este defecto se evita con un control adecuado de temperatura y tiempo en el precalentamiento.
- Sabor rancio: Este sabor ocurre por acción de la lipasa sobre la materia grasa cuando las condiciones de precalentamiento no han sido adecuadas y al adicionar leche no tratada al evaporador (Gómez y Alava, 2013).

4.1.2. Principales alteraciones microbiológicas

Debido al alto contenido de azúcar y a la baja actividad de agua, la leche condensada es relativamente menos propensa a la descomposición microbiana (Rodríguez y Vélez, 2012). Las levaduras y mohos osmófilos fermentadores de

sacarosa son los principales responsables del deterioro de la leche condensada. Sin embargo, como resultado de un tratamiento térmico inadecuado o fugas en el envase leche condensada puede sufrir deterioro. Geobacillus stearothermophilus, un termófilo obligado, es el organismo principal responsable del mecanismo de deterioro de estos productos, especialmente cuando se almacenan a temperaturas anormalmente altas. Las bacterias termodúricas pueden sobrevivir a la pasteurización y al tratamiento térmico durante la evaporación; Por lo tanto, se debe utilizar leche de alta calidad en la fabricación de la leche condensada y se debe tener cuidado en evitar su contaminación durante el procesamiento por el ambiente y los equipos utilizados (Özer y Yaman, 2014).

4.1.3. Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades de los productos lácteos son variadas y abundantes y deben ser controladas y determinadas para conocer su calidad. Algunas propiedades físicas de la leche y productos lácteos como la densidad, viscosidad y tensión superficial dependen de sus constituyentes, mientras que otros como el índice de refracción y el punto crioscópico, dependen de las sustancias en solución. El pH y la conductividad, dependen únicamente de los iones o de los electrones, al igual que el potencial de óxido-reducción. La actividad de agua de las leches concentradas se puede medir porque es igual a la humedad relativa del aire en equilibrio con la leche. La actividad de agua de la leche condensada azucarada es de 0,830 y esta no depende del contenido de grasa. El pH de la leche condensada es cercano a la neutralidad e influencia significativamente las propiedades reológicas, cuando el contenido de sólidos en la leche es de 45%, el pH disminuye y la fuerza iónica aumenta conforme se va eliminando el contenido de agua. Al reducir el porcentaje de agua en el producto lácteo por medio de la evaporación, los sólidos totales se concentran, obteniéndose así la misma cantidad de sólidos totales pero en menor contenido de agua (Rodríguez y Vélez, 2012).

4.1.4. Proceso de elaboración de la leche condensada en el área de prefabricados

Primero se deben limpiar y desinfectar todos los elementos y utensilios que hacen parte del proceso de fabricación, luego se deposita en el tanque hidratador el agua (76kg). Se enciende la hidratadora y se empieza por adicionar el bicarbonato (200g), la leche en polvo (35kg) y el suero de leche (15kg) previamente pesados agitando constantemente por 15 minutos aproximadamente, pasado este tiempo se adiciona el azúcar cruda (100kg) sin apagar la agitación constante y dejándola otros 15 minutos más. Se apaga la hidratadora y se abre la válvula para dar paso de salida a la leche hidratada que es depositada en los recipientes establecidos para su transporte hacia el tacho. Se toman los °Brix y el pH de la leche hidratada,

los cuales deben cumplir con los siguientes parámetros; pH 6,1-6,4 y °Brix 64,5° - 65,5°.

La leche hidratada se vacía en la cocinadora (tacho) y se procede a suministrar el vapor, cocinando la leche a una temperatura entre 91°C – 93°C por un tiempo de 15 a 17 minutos hasta que la leche comience a hervir. Pasado este tiempo se toma una muestra de leche a fin de realizar los correspondientes análisis °Brix, pH y azucares reductores, teniendo en cuenta que para llevar a cabo los análisis la leche debe estar a una temperatura entre 30°C y 40°C. Si el parámetro en °Brix no se cumple se debe ajustar; si el valor se encuentra por encima del parámetro establecido se adiciona agua y si se encuentra por debajo se debe aumentar el tiempo de cocción hasta llegar al parámetro establecido.

Cuando la leche cumpla con las especificaciones de calidad se procede a apagar el tacho y a descargar la leche condensada depositándola en los recipientes destinados para su almacenamiento (canecas), garantizando el cumplimiento de las condiciones de preservación.

4.2. LA GELATINA

Es una proteína derivada de la hidrólisis parcial del colágeno, que es el principal elemento constituyente del tejido conectivo de los animales. Contiene un 84 – 90% de proteína y es utilizada en la industria alimenticia por sus propiedades como agente gelificante, lo cual le proporciona a determinados productos, como las gomitas, la consistencia característica (GME, 2016). La primera patente inglesa para la producción de la gelatina fue concedida en Inglaterra en 1754. El proceso de producción de la gelatina incluye un pre-tratamiento ácido-alcalino, lavado, extracción, purificación, secado, y molienda hasta formar el polvo, estas se clasifican por su tipo (A o B) y la resistencia del gel (PB Gelatins, 2016).

La gelatina es una proteína alimenticia fácilmente digerible que no contiene ni grasas ni carbohidratos y está libre de conservantes. La gelatina común contiene aproximadamente 85% de proteínas y menos de 2% de sales minerales, y el resto es agua. Contiene 18 aminoácidos diferentes incluyendo 8 aminoácidos esenciales requeridos para la nutrición humana, exceptuando el triptófano. La gelatina tiene un valor energético relativamente bajo con un valor calórico teórico de 3,5 Calorías/gramo (Guzmán y Molina, 2013).

La gelatina por su carácter altamente nutritivo, hace de las preparaciones en solución un medio favorable para el desarrollo de microorganismos. La contaminación por microorganismos es signo de una mala manipulación, la gelatina se puede ver contaminada por Aerobios mesófilos, Enterobacterias, Salmonella spp., Shigella spp., Staphylococus aureus, mohos y levaduras (Enríquez, 2010).

4.2.1. Propiedades fisicoquímicas.

La rigidez de los geles de gelatina aumenta con el tiempo a medida que el gel madura, alcanzando un equilibrio después de aproximadamente 18 horas de maduración. Al comienzo de la formación del gel, hay un aumento en la viscosidad hasta que el gel se ha formado completamente. A diferencia de la mayoría de los agentes gelificantes polisacáridos, la formación del gel de gelatina no requiere la presencia de otros reactivos tales como sacarosa, sales y cationes y no depende del pH. Al ser un polímero, la naturaleza macromolecular de la gelatina produce una viscosidad en solución que en la mayoría de las temperaturas y concentraciones muestra propiedades reológicas de índole newtoniana. La viscosidad de una solución de gelatina aumenta a medida que se incrementa su concentración y disminuye la temperatura. La gelatina es relativamente insoluble en agua fría, pero se hidrata rápidamente en agua caliente. Cuando se le agrega agua fría, los gránulos de gelatina se dilatan porque absorben 5-10 veces su peso en agua. Al elevar la temperatura por encima de los 40°C, se disuelven las partículas de gelatina dilatadas formando una solución que se gelifica al enfriarse hasta el punto de solidificación (PB Gelatins, 2016).

4.2.2. Proceso de elaboración de la gelatina en el área de suministros

Se deben verificar las condiciones de limpieza de los equipos y utensilios, luego se pesan los ingredientes; agua (50 kg) y gelatina (25 kg). Se prende la marmita iniciando el calentamiento del agua a 70° C, esta se carga automáticamente a la marmita en dos ciclos de 10 kg cada uno, se enciende el agitador por 15 minutos y se adiciona lentamente la gelatina sin sabor en polvo la cual se mezcla por los 15 minutos que se ha programado la agitación. Cuando termine el ciclo de agitación se toma una muestra de la gelatina líquida para análisis de pH que debe cumplir con el parámetro establecido 5,0-6,5. Finalmente, se deposita la gelatina en los recipientes destinados para su almacenamiento en cuarto frio y se rotulan con el nombre del producto (gelatina) y la fecha de fabricación.

4.3. VIDA ÚTIL

La vida útil es el periodo de tiempo durante el cual un alimento se conserva apto para el consumo desde el punto de vista sanitario y mantiene características sensoriales, fisicoquímicas, nutricionales y funcionales por encima de un grado límite de calidad, previamente establecido como aceptable (Núñez, 2013).

La vida útil se determina al someter a estrés el producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de vida útil mediante utilización de modelos matemáticos (útil para evaluación de crecimiento y muerte microbiana), pruebas en tiempo real (para

alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) en donde el deterioro es acelerado y posteriormente estos valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas (Restrepo, 2010). En general, las evaluaciones realizadas en la determinación de vida útil se hacen en tiempo real, este tipo de pruebas evalúa el efecto de la temperatura "normal" de conservación sobre las propiedades microbiológicas, físico-químicas y sensoriales de un alimento durante un periodo de tiempo, entendiéndose como temperatura normal aquella que será empleada durante la conservación del producto (Gutiérrez, 2011).

4.3.1. Factores que afectan la vida útil de un producto

Los factores que pueden afectan la vida útil de un producto se pueden dividir en:

- a) Factores intrínsecos: materia prima (composición, estructura, naturaleza), actividad de agua, pH, acidez, disponibilidad de oxígeno y potencial Redox (Eh);
- b) Factores extrínsecos: procesamiento, higiene y manipulación, materiales y sistemas de empaque, almacenamiento (temperatura), distribución (Valencia et al, 2008).

La naturaleza de las materias primas es uno de los factores que más influencia tiene en la vida útil de un alimento, debido al contenido de proteínas, grasas o carbohidratos. Dependiendo del macronutriente que prevalezca, o de la combinación de estos en el alimento, será el tipo de reacciones que se lleven a cabo. La composición de las materias primas influye en las reacciones de deterioro de un producto, pues si estas son ricas en proteínas, probablemente en el producto puedan desarrollarse bacterias; si presenta un alto contenido de grasas puede que sufra de enranciamiento o si contiene carbohidratos, el producto final puede sufrir deterioro por mohos y levaduras. Dependiendo de la relación de los nutrientes de la materia prima predominarán el tipo de reacciones que se presenten en el producto final. Los aditivos e ingredientes que contiene un producto afectan directamente la caducidad de un alimento, en la formulación de muchos productos como los de confitería, se usan un alto contenido de azúcar, lo cual disminuye la actividad de agua y limita el número de reacciones indeseables en el alimento. Los procesos que se aplican al producto como la pasteurización o esterilización también influencian la vida útil de un producto (Carrillo y Reyes, 2013).

Las condiciones sanitarias que se sigan durante el proceso de elaboración del producto también influyen en la vida útil, ya que al no mantener un adecuado manejo higiénico es posible que el producto final contenga una carga microbiana que, de tener condiciones favorables, pueda desarrollarse y descomponer el

alimento o incluso causar infecciones o intoxicaciones a los consumidores. Otro factor que afecta la vida útil es el envasado, un producto envasado asépticamente tiene una vida útil mayor que aquel que se envasa sin previo tratamiento térmico, por ello los alimentos enlatados tienen una mayor vida útil que los envasados en recipientes de plástico. Un adecuado almacenamiento del producto puede alargar o acortar su vida útil, dependiendo del lugar y el tiempo de almacenamiento y de las condiciones a las que es sometido (Rodríguez, 2010).

4.3.2. Diseño de un ensayo de vida útil.

Un estudio de vida útil consiste en realizar una serie de controles preestablecidos en el tiempo, de acuerdo con una frecuencia establecida, hasta alcanzar el deterioro elegido como limitante o hasta alcanzar los limites prefijados (Restrepo y Montoya, 2010).

Los puntos clave para diseñar un ensayo de vida útil son el tiempo durante el cual se va a realizar el estudio siguiendo una determinada frecuencia de muestreo y los controles que se van a llevar a cabo sobre el producto hasta que presente un deterioro importante. Generalmente se cuenta con poca información previa, por lo que se debe programar controles simultáneos de calidad microbiológica, fisicoquímica y sensorial. Cuando las empresas necesitan determinar la fecha de vencimiento de un alimento pueden utilizar los valores publicados en libros, copiar la fecha de un producto similar en el mercado o pueden llevar a cabo un estudio completo para evaluar las características microbiológicas y fisicoquímicas del alimento a lo largo de su vida. El copiar fechas de caducidad de un producto no suele ser viable ya que para una misma categoría de alimentos que son afines en composición, la vida útil no siempre es la misma, pues factores como la calidad de las materias primas o el proceso de elaboración utilizado (tratamiento térmico) y la manipulación, pueden variar el tiempo de deterioro (Posada, 2011).

En el diseño de un estudio de vida útil se debe seleccionar la temperatura y humedad que se van a emplear, determinando si se usan condiciones normales o aceleradas en el almacenamiento. El tiempo de almacenamiento se define en condiciones normales por pruebas preliminares bajo condiciones establecidas y a partir del tiempo máximo de almacenamiento se realizan los muestreos, seis como mínimo para garantizar la confianza en los datos. Existen dos tipos de diseño para la determinación de la vida útil; básico y escalonado. En el diseño básico se almacena un lote bajo las condiciones seleccionadas y se realiza el muestreo en los tiempos fijados, realizando los análisis necesarios; en el diseño escalonado se almacenan diferentes lotes en las condiciones seleccionadas a diferentes tiempos, donde el mismo día se analizan las muestras con diferentes grados de deterioro (Rodríguez, 2010).

4.3.3. Estimación de la vida útil

Dentro de los métodos para estimar la vida útil de un producto se encuentran las pruebas de vida útil a tiempo real, las cuales evalúan el efecto de la temperatura "normal" de conservación sobre las propiedades microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales de un alimento durante un periodo de tiempo (Restrepo y Montoya, 2010). La vida útil microbiológica de productos alimenticios puede estimarse apoyándose en modelos matemáticos como el de Baranyi y Robert, uno de los modelos estáticos más utilizados en el modelamiento bacteriano a fin de obtener los parámetros cinéticos que finalmente son empleados en ecuaciones como la de Arrhenius aplicada en la predicción de vida útil fisicoquímica o la ecuación de Monod-Hinshelwood usada para estudiar el crecimiento bacteriano (González et al, 2016). Los anteriores modelos matemáticos son usados en la microbiología predictiva, la cual se basa en la descripción de la respuesta de los microrganismos a condiciones particulares como la temperatura, pH y actividad de agua y su reproducibilidad. Además caracteriza los ambientes en función de los factores que afectan al crecimiento microbiano y su supervivencia, de tal manera que sea posible predecir las respuestas a partir de observaciones anteriores de los microorganismos en ambientes similares (Gutiérrez, 2011).

4.4. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

Los microorganismos compiten por los alimentos, los cuales son la fuente de energía para sustentar los procesos metabólicos y la vida en sí. Estos pueden deteriorar los alimentos de dos formas fundamentales, la primera en forma saprófita, simplemente deteriorándolos al crecer en ellos, alterando sus propiedades organolépticas como color, olor, textura, sabor y apariencia. La segunda es contaminándolos o produciendo toxinas de forma que puedan originar problemas a la salud pública mediante enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA). De todos los microorganismos, las bacterias son las que se desarrollan con mayor frecuencia en los alimentos. El segundo lugar, lo ocupan los mohos. Es por ello que la mayor parte de las precauciones de la manipulación y el procesamiento de los alimentos, se dirigen hacia la reducción, eliminación y control de las bacterias (Gutiérrez, 2011).

Las pruebas que se realizan de rutina en Microbiología de alimentos, va a depender del alimento analizado, se puede encontrar el recuento de microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias totales, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Clostridium* sulfito reductores, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, mohos y levaduras, entre otros. Con el objetivo de conseguir la prevención de enfermedades de origen alimentario, además de impedir el acceso a los alimentos de los microorganismos patógenos, especialmente las bacterias, se debe controlar su crecimiento y multiplicación (Gutiérrez, 2011).

Tanto la gelatina como la leche condensada según normatividad presentan los siguientes indicadores microbiológicos.

Aerobios mesófilos: Los microorganismos aerobios mesófilos son la biota total compuesta por bacterias, mohos filamentosos y levaduras, aerobios estrictos o facultativos que presentan unas características térmicas intermedias. Crecen en un rango de temperatura entre 15 – 45°C, con un óptimo de 35°C (excepto mohos filamentosos y levaduras), siendo la mínima de 15°C a 20°C y la máxima de 45°C (Restrepo y Montoya, 2010). En productos terminados son empleados como indicadores de vida útil, el número de microorganismos aerobios mesófilos encontrados en un alimento es uno de los indicadores microbiológicos de calidad más comúnmente utilizado (Alonso y Poveda, 2008).

Coliformes: este grupo de microrganismos comprende varios géneros de la familia *Enterobacteriaceae*, capaces de fermentar la lactosa a 35°C con producción de gas, están ampliamente difundidos en la naturaleza y agua. Dentro de los coliformes totales se distinguen dos tipos, por un lado los colifomes fecales que provienen del tracto intestinal de animales de sangre caliente y por el otro lado los coliformes que residen de forma natural en el suelo y agua (Restrepo y Montoya, 2010).

La principal bacteria coliforme es *Escherichia coli* que normalmente se encuentra en el tracto gastrointestinal del hombre y los animales, su presencia en alimentos representa mala calidad higiénica en el proceso. Aunque no son generalmente patógenas, son indicadores de presencia de microorganismos potencialmente patógenos y por lo tanto son un índice de deficiencias sanitarias (Alonso y Poveda, 2008).

Mohos y levaduras: Son microorganismos eucariotes, distribuidos ampliamente en el ambiente y que se pueden encontrar como biota normal de un alimento, o como contaminantes en equipos mal sanitizados (Chavarría, 2010). Los mohos toleran y se desarrollan en concentraciones de acidez relativamente elevadas, pero el pH óptimo para casi todas las especies es de 5,6. Su rango de temperatura óptima de crecimiento es de 22 – 30°C (Andino y Castillo, 2010). La contaminación fúngica de un alimento no sólo tiene una acción deteriorante, que pudre y daña las materias primas y productos manufacturados, sino también por la capacidad de algunos mohos para sintetizar micotoxinas, provocar infecciones e incluso reacciones alérgicas en personal hipersensibles a los antígenos fúngicos (Restrepo y Montoya, 2010).

Staphylococcus aureus: es un anaerobio facultativo con una temperatura óptima de crecimiento de 37°C pero logra desarrollarse hasta los 10°C. Este microorganismo produce una variedad de productos extracelulares, como enterotoxinas estafilocicales, factores virulentos implicados en enfermedades de

humanos y animales. La principal fuente de contaminación de los alimentos por *S.aureus* se debe a la manipulación de estos por parte de personas contaminadas, ya que los humanos son el principal reservorio de este microorganismo, su presencia en el alimento indica entonces el grado de contacto humano, o con los alimentos naturales no tratados de origen natural dentro de la fábrica de alimentos (Alonso y Poveda, 2008).

4.5. NORMATIVIDAD

La norma estipulada para la calidad de la leche condensada es la NTC 879 (Norma Técnica Colombiana) que tiene por objeto establecer los requisitos que debe cumplir la leche condensada azucarada (concentrada). Según la norma la leche condensada debe cumplir las siguientes características microbiológicas:

Tabla 1. Requisitos microbiológicos de la leche condensada azucarada.

	Parámetro	
Requisito microbiológico	m	М
Aerobios mesófilos/g	5000	20000
Mohos y Levaduras/g	10	200
Staphylococcus aureus/g	100	200

(NTC 879, 2001)

La norma estipulada para la calidad de la gelatina es la NTC 1529 que establece los requisitos y los métodos de ensayo que debe cumplir la gelatina utilizada en la industria de alimentos. Esta dicta las siguientes características microbiológicas:

Tabla 2. Requisitos microbiológicos de la gelatina.

Requisito microbiológico	Parámetro	
Aerobios mesófilos/g	5000	
Mohos y Levaduras/g	100	
<i>E.coli</i> /g	Negativo	
Salmonella spp./50g	Negativo	
Staphylococcus aureus/g	Negativo	
Bacterias licuefactoras/g	Negativo	
Anaerobios/g	Negativo	

(NTC 1629, 1981)

Los parámetros fisicoquímicos se establecen a partir de las especificaciones internas del Área de Investigación y Desarrollo de la planta de confiterías, para la gelatina se establecen las especificaciones del documento P-04-26 y para la leche condensada las del documento P-04-15

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos internos establecidos por la planta de comestibles.

Subproducto	Especificación	Parámetro
Gelatina	рН	5,0 - 6,5
Leche	°Brix	69 – 72
condensada	рН	6,0-7,0

4.6. ANTECEDENTES

En el estudio realizado por Santos y Col. (2013) la determinación de la vida útil de un producto de cuarta gama, como lo es la ensalada de vegetales en atmósfera modificada, se estableció aplicando un estudio en paralelo del aspecto microbiológico y organoléptico del producto. A nivel microbiológico se realizó la cuantificación de mesófilos totales, *Listeria monocytogenes*, mohos y levaduras cuyos resultados fueron comparados con los valores límites para cada microorganismo según la normatividad y para el aspecto organoléptico se efectuó un test sensorial discriminatorio. Durante el estudio realizado no se identificaron bacterias patogénicas; sin embargo, se observaron variaciones en el recuento de mesófilos totales y en la percepción sensorial a partir del sexto día de la expedición del producto.

En el estudio realizado por Chavarria (2010) se propuso determinar el tiempo de vida útil de la leche de soya, realizando un estudio de tiempo real a muestras elaboradas bajo las mismas condiciones y almacenadas durante 10 días a una temperatura de 5°C manteniendo la cadena de frio; a las muestras se les realizaron análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales. Durante los diez días de estudio la leche de soya no presentó alteraciones microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales, llegando a la conclusión de que el tiempo de vida útil del producto fue de aproximadamente entre diez a doce días, siendo el empaque en envases PET, el tratamiento térmico (pasteurización) y la temperatura de almacenamiento, los factores que contribuyeron a la conservación de las características de calidad del producto.

Restrepo y Montoya (2010) diseñaron un procedimiento para la determinación de la vida útil de quesos frescos, chorizos frescos y aguas en bolsa implementando una metodología basada en realizar diferentes pruebas rutinarias y complementarias, tanto microbiológicas como fisicoquímicas durante un tiempo indeterminado hasta ver que las características, propiedades y condiciones cambiaran hasta el punto que estos parámetros se salieran de los límites permitidos por la norma que rige cada alimento, tomando como parámetros principales y críticos los análisis microbiológicos para la estimación de la vida útil basada en el método a tiempo real. Según el procedimiento diseñado, los

parámetros microbiológicos fueron los que determinaron principalmente la vida útil de los alimentos, siendo las características fisicoquímicas del producto las que contribuyeron a la proliferación o limitación del crecimiento microbiano, por ejemplo un alto porcentaje de humedad en el queso favoreció el crecimiento bacteriano disminuyendo su vida útil, o los bajos valores de pH y las altas concentraciones de ácido láctico en los chorizos inhibieron el crecimiento de coliformes, además de ocasionar la muerte de las colonias.

En cuanto a la utilización de la Microbiología Predictiva para la determinación de la vida útil, Santiesteban y López (2008) realizaron una revisión de la descripción e importancia de algunos modelos predictivos como herramienta para la conservación de alimentos. Ya que la aplicación de los modelos matemáticos al crecimiento de los microorganismos permite predecir su comportamiento en las condiciones de almacenamiento determinadas, su aplicación supone una mayor precisión en la estimación de la vida útil del producto. Aunque se han convertido en una herramienta normal de investigación y son de gran ayuda para evaluar y diseñar procesos de conservación de alimentos, no es posible depender solamente de los modelos para determinar la seguridad de los alimentos y su procesamiento, pues las pruebas de laboratorio siguen siendo necesarias para determinar el crecimiento, supervivencia o muerte de los microorganismos inicialmente presentes en un alimento, convirtiéndose en una herramienta de soporte.

González et al. (2016) en su estudio sobre la Obtención de Biopeliculas con Extracto Acuosos de *Eucalyptus camaldulensis* y su Incidencia en la Vida Útil Microbiológica de Rodajas de *Carica papaya L*. al actuar como agente antimicrobiano, estimaron la vida útil a partir del estudio de la cinética de crecimiento de los microorganismos indicadores, modelada mediante la ecuación de Baranyi y Robert utilizando el programa DMFit con el fin de obtener los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano. Aplicaron la ecuación de Monod-Hinshelwood para estimar la vida útil microbiana, indicando que es posible utilizar las biopeliculas para la conservación de las rodajas de papaya, al haber aumentado cerca de 43 días la vida útil a nivel microbiológico de la papaya.

.

5. METODOLOGÍA

5.1. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO DE VIDA ÚTIL DE LOS PRODUCTOS PREFABRICADOS

Se realizó el estudio aplicando un diseño básico y tomando la temperatura de almacenamiento como variable de control, efectuando análisis microbiológicos y fisicoquímicos a la leche condensada y la gelatina por un tiempo de 10 días de tal manera que se establezca el tiempo en el que el recuento microbiano supera los parámetros microbiológicos definidos por la NTC 1629 para gelatinas y 879 para leches condensadas azucaradas.

5.1.1. Diseño básico del estudio de vida útil.

Leche condensada: Se tomaron dos cuñetes de leche condensada del mismo lote, uno se almacenó en cuarto frio a una temperatura de 5°C – 7°C y la otra en el área de prefabricados a una temperatura de 31°C -35°C por un tiempo de 10 días. Los muestreos se llevaron a cabo por día, realizando los análisis microbiológicos (Mesófilos, Coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus*, Mohos y levaduras) y fisicoquímicos (pH y °Brix) y a las dos muestras hasta completar el tiempo de estudio.

Gelatina: Se tomaron dos cuñetes de gelatina del mismo lote, uno se almaceno en cuarto frio a una temperatura de 5°C - 6°C y el otro en el área de cocimiento blandos a una temperatura entre 38°C a 40°C por un tiempo de 10 días. La toma de muestras se realizó por día realizando los análisis microbiológicos (Mesófilos, Coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus*, Mohos y levaduras) y fisicoquímicos (pH) correspondientes hasta completar el tiempo de estudio.

Debido al rápido deterioro de la gelatina en el área de cocimiento blandos se efectuó un seguimiento por 12 horas a una muestra de gelatina perteneciente a otro lote, realizando muestreos cada noventa minutos para análisis microbiológico y fisicoquímico con el fin de establecer el tiempo aproximado en el que el recuento microbiológico superó el límite establecido por la NTC 1629 para gelatinas en la industria alimentaria.

En la tabla 4 se presenta el planteamiento del estudio de vida útil realizado para la leche condensada almacenada tanto en cuarto frio como en el área de prefabricados, especificando los análisis a efectuar y su frecuencia según el tiempo de estudio.

Tabla 4. Planteamiento del estudio de vida útil para la leche condensada almacenada en cuarto frio y área de prefabricados.

Tipo de análisis	Análisis a efectuar	Frecuencia de análisis	Tiempo de estudio	
Microbiológico	Aerobios mesófilos, Coliformes totales, <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , Mohos y levaduras	Cada día 10 días		
fisicoquímico	pH - °Brix			

En la tabla 5 se muestra el planteamiento del estudio de vida útil realizado para la gelatina almacenada en cuarto frio y en el área de cocimiento blandos, especificando los análisis a efectuar y su frecuencia según el tiempo de estudio.

Tabla 5. Planteamiento del estudio de vida útil para la gelatina almacenada en cuarto frio y área de cocimiento blandos.

Tipo de análisis	Área	Análisis a efectuar	Frecuencia de análisis	Tiempo de estudio
	Cocimiento	Aerobios mesófilos,	90 minutos	12 horas
	blandos	Coliformes totales,		
Microbiológico	obiológico Cuarto frio	E. coli, S. aureus, Mohos y levaduras	Cada día	10 días
	Cocimiento		90 minutos	12 horas
Fisicoquímico	blandos	рН		
	Cuarto frio		Cada día	10 días

5.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Se tomaron como parámetros de calidad y del grado de inocuidad de los productos prefabricados, teniendo como referencia la NTC 879 para la leche condensada y 1629 para la gelatina. Se realizó la determinación de aerobios mesófilos, mohos y levaduras y la ausencia o presencia de microorganismos patógenos como los Coliformes, *E. coli* y *S. aureus*.

Preparación y dilución de las muestras: las muestras de leche condensada y gelatina se tomaron en bolsas estériles de muestreo de cada uno de los cuñetes almacenado en diferentes ambientes. Durante los muestreos se tomó temperatura

del subproducto, inicialmente se realizó el análisis microbiológico y luego el fisicoquímico. En el tiempo cero de almacenamiento se realizó solo una dilución (10⁻¹) para las muestras de gelatina y leche condensada, a partir de la cual se realizó la siembra. Pero, debido al elevado crecimiento microbiano en la gelatina almacenada en cocimiento blandos se realizaron dos diluciones más (10⁻² y 10⁻³) sembrando la última dilución, a partir del cuarto día de almacenamiento. En el ensayo efectuado a la leche condensada almacenada en prefabricados se realizaron dos diluciones seriadas (10⁻¹ y 10⁻²), y se sembró a partir de la última dilución (10⁻²), desde el quinto día de seguimiento. Para la gelatina y la leche condensada almacenadas en cuarto frio solo se realizó una dilución (10⁻¹) durante los diez días de almacenamiento.

5.2.1. Determinación de aerobios Mesófilos

Se usaron dos métodos para el recuento de Aerobios mesófilos, las placas Petrifilm (Aerobic Count AC) y las placas Compact dry (TC).

Recuento usando el Método de Petrifilm: es un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría, y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias (3M, 2014). Se pesaron 10 g de cada una de las muestras y se diluyeron en 90 ml de agua peptona al 0,1% estéril (dilución 1:10), mezclando por agitación para homogenizar y diluir completamente la muestra. Luego se tomó 1 ml de la dilución 10⁻¹ y sembró en la placa petrifilm AC, levantando la película superior e inoculando en el centro de la placa inferior, la película superior se dejó caer lentamente sobre la muestra. Se colocó el dispersor sobre la película superior haciendo presión suavemente para distribuir la muestra. Finalmente, se dejó solidificar el gel por un minuto y luego se incubó a 37°C por 48 horas. Consecutivamente, se realizó el recuento de las colonias rojas pertenecientes a mesófilos (AOAC Official Method 990.12, 2005)

Recuento usando el Método Compact dry: es un medio que contiene agar de cultivo estándar y que sirve para comprobar el recuento total. Debido a la sal de tetrazolio, indicador redox, las colonias de bacterias presentan una coloración roja, pudiéndose con ello distinguir muy fácilmente de posibles restos de alimentos (Nissui, 2009). Para la determinación de mesófilos se tomaron 10 g de la muestra y se diluyeron en 90 ml de agua peptona al 0.1%, mezclando manualmente hasta homogenización. Se tomó 1 ml de la dilución 10⁻¹ y se inoculó en la placa de TC, la cual se incubó a 35°±2°C durante 48 horas. Posteriormente, se realizó el recuento de las colonias rojas correspondientes al crecimiento de Mesófilos (AOAC Performance tested 010404, 2016).

5.2.2. Determinación de Coliformes totales y E. coli

Se realizó el recuento mediante siembra en superficie y en placas Compact dry EC.

Recuento mediante metodología de siembra en superficie: El recuento de Coliformes totales y *E. coli* se realizó por siembra en superficie siguiendo la metodología planteada por Rattanabumrung *et al.* (2012) y Sangadkit *et al.* (2012). Se utilizó el medio de cultivo Chromocult, un medio selectivo para la detección simultánea de coliformes totales y *E. coli* en agua potable y alimentos procesados. El sustrato salmón GAL es empleado para la detección de coliformes totales por la producción de β-galactosidasa, las colonias se observan de color rojo salmón. El sustrato X-glucoronido es usado para la identificación de β-glucoronidasa, enzima característica de *E. coli* quien es capaz de transportar ambos sustratos, a fin de que sus colonias tomen un color de azul oscuro a violeta (Alonso y Poveda, 2008). Se tomaron 10 g de cada una de las muestras y se diluyeron en 90 ml de agua peptona al 1% estéril, mezclando hasta homogenización. Se tomó 0.1 ml de la dilución 10-1 y se transfirió a cajas de Petri con medio Chromocult, extendiendo el inóculo con una asa de Hockey, luego se invirtieron las placas y se incubaron a 35°±2°C durante 48 horas.

Recuento mediante el método de Petrifilm EC: Las placas Petrifilm para el recuento de E. coli / coliformes contienen nutrientes de Bilis rojo violeta, un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucoronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las E. coli cerca del 97% produce beta-glucoronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por E. coli y coliformes fermentadores de lactosa. Las colonias de E. coli entonces son de color azul oscuro y con gas atrapado en la placa Petrifilm EC, mientras que las colonias de coliformes que crecen en la placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia (3M, 2014). Se pesaron 10 g de la muestra y se diluyeron en 90 ml de agua peptona al 0,1% estéril, mezclando por agitación para homogenizar y diluir completamente la muestra. Luego se tomó 1 ml de la dilución 10⁻¹ y se sembró en placa Petrifilm EC, levantando la película superior e inoculando en el centro de la placa inferior, la película superior se dejó caer lentamente sobre la muestra. Se colocó el dispersor sobre la película superior haciendo presión suavemente para distribuir la muestra. Finalmente, se dejó solidificar el gel por un minuto y luego se incubó a 35°±2°C por 48 días (AOAC Official Method 991.14, 2005)

5.2.3. Determinación de Mohos y levaduras

Se realizó el recuento usando el método de siembra en superficie y las placas Petrifilm para el recuento de Mohos y levaduras (YM).

Recuento mediante el Método de siembra en superficie: Se efectuó siguiendo el método ISO 21527-2:2008 sustituyendo el medio de cultivo DG18 recomendado en el método, por el agar Sabouraud. Esta modificación se realizó debido a la falta de disponibilidad del medio en el laboratorio. Tournas *et al.* (2006) también emplearon este método en su trabajo pero sustituyendo el medio DG18 por agar PDA (AGAR papa dextrosa). El medio de cultivo Sabouraud, al presentar un bajo pH resulta favorable para el crecimiento de los hongos y ligeramente inhibitorio para las bacterias (Alonso y Poveda, 2008). Se tomaron 10 g de cada una de las muestras y se diluyeron en 90 ml de agua peptona al 1% estéril, mezclando hasta homogenización. Se tomó 0.1 ml de la dilución 10⁻¹ y se transfirió a cajas de Petri con medio Sabouraud, extendiendo el inóculo con una asa de hockey, luego se invirtieron las placas y se incubaron a 25°±2°C durante 3 - 5 días.

Recuento mediante el método de Petrifilm YM: son un sistema de medio de cultivo listo para usarse, que contiene nutrientes de Saboraud, dos antibióticos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de fosfatos que promueve el contraste y facilita el recuento de las colonias (3M, 2014). Se pesaron 10 g de la muestra y se diluyeron en 90 ml de agua peptona al 0,1% estéril, mezclando por agitación para homogenizar y diluir completamente la muestra. Luego se tomó 1 ml de la dilución 10⁻¹ y se sembró en placa Petrifilm YM, levantando la película superior e inoculando en el centro de la placa inferior, la película superior se dejó caer lentamente sobre la muestra. Se colocó el dispersor sobre la película superior haciendo presión suavemente para distribuir la muestra. Finalmente, se dejó solidificar el gel por un minuto y luego se incubó a 25°±2°C por 3-5 días. Posteriormente, se realizó el recuento de mohos los cuales se observaron como colonias grandes, difusas y de color variable, mientras que las levaduras formaron colonias pequeñas con borde definido y de color azul-verdoso (AOAC Official Method 997.02, 2005).

5.2.4. Determinación de S.aureus

Se usó el método de Compact Dry para el recuento de *S. aureus* (XSA), este es un sistema que consiste en un disco de tela no tejida con peptona, sales minerales, manitol, EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético), sustratos cromogénicos, antibióticos y un agente gelificante. *S. aureus* crece como colonias azules en la placa debido al manitol y los dos tipos de sustratos cromogénicos para la ácido fosfatasa y la ß-glucosidasa que diferencian a *S. aureus* de otras bacterias que puedan crecer en la placa de XSA (Nissui, 2009). Para determinar la presencia de *S. aureus* en las muestras se tomaron 10 q de cada una de ellas y se

diluyeron en 90 ml de agua peptona al 0.1%, mezclando manualmente hasta homogenización. Se tomó 1 ml de la dilución 10⁻¹ y se inoculó en la placa de XSA, la cual se incubó a 35°±2°C durante 48 horas. Posteriormente, se realizó el recuento de las colonias azules correspondientes al crecimiento de *S. aureus* (AOAC Performance tested 081001, 2016).

5.3. ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS

Determinación de pH para la leche condensada: Se calibró el potenciómetro con los buffer reguladores de pH 4, pH 7 y pH10. Se tomó una porción de la muestra y se sumergió el electrodo del potenciómetro cubriéndolo completamente para realizar la medición del pH. Después se sacó el electrodo y se lavó con agua destilada (Chavarría, 2010).

Determinación de sólidos solubles totales para la leche condensada: Se tomó una gota de la muestra y se realizó la medición usando el refractómetro (Restrepo y Montoya, 2010).

Determinación de pH para gelatina: Se calibró el potenciómetro con los buffer reguladores de pH 4, pH 7 y pH10. Se trituraron 10 g de gelatina en un mortero y se pasaron a un vaso de precipitados, luego se sumergió completamente el electrodo en la muestra de gelatina y se realizó la medición del pH (Chavarría, 2010)

5.4. ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE ALMACENAMIENTO DE LOS SUBPRODUCTOS

Para la estimación de la vida útil de los diversos productos almacenados en diferentes áreas y temperaturas, se usaron dos modelos de crecimiento cinético: el modelo de Monod-Hinshelwood (ecuación 1) descrito por McMeekin y Ross (2002) y el modelo para SSO (ecuación 2) descrito por Zhang *et al.* (2011).

Modelo de Monod-Hinshelwood

$$T_S = \frac{\log N_S - \log N_0}{0.301} \times \gamma$$
 (Ecuación 1)

Donde T_S = tiempo para que se desarrolle el deterioro bajo un conjunto dado de condiciones extrínsecas e intrínsecas (unidades de tiempo); Υ = tiempo de generación bajo esas circunstancias y es igual a 0,693/ μ max (máxima velocidad de crecimiento específico); N_0 = número inicial de SSO presente (ufc/g); N_S = número límite de SSO responsable de alteración (ufc/g). Una vez que N_S y Υ se han

determinado para las condiciones de almacenamiento dadas, es muy fácil derivar a partir del ajuste logarítmico, el tiempo de deterioro, manteniendo así la calidad, bajo las condiciones de N_0 . Así, todo lo que se requiere para calcular la vida probable de almacenamiento es una estimación de la población inicial (N_0).

Modelo de SSO (organismo de deterioro específico)

La vida útil de un producto se puede predecir utilizando el modelo cinético de crecimiento establecido para SSO, calculando el tiempo de proliferación necesario para aumentar desde el número inicial del SSO (N_0) hasta el número límite de deterioro (N_S) .

$$SL = \lambda - \left[\frac{(N_{max} - N_0)}{\mu_{max} \times 2,718}\right] \times \left[ln\left[-ln\left[\frac{(N_s - N_0)}{(N_{max} - N_0)}\right]\right] - 1\right]$$
 (Ecuación 2)

En la ecuación anterior (2), SL = tiempo de vida útil; λ es el tiempo de latencia para el crecimiento microbiano (h o min), μ_{max} es la velocidad máxima de crecimiento específico; N_0 = número inicial de SSO (Log ufc/g); N_S = número límite de alteración (Log ufc/g); N_{max} = número máximo observado de SSO (Log ufc/g); μ_{max} = máxima velocidad de crecimiento específico (Log ufc/g*h o min).

5.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el estudio se empleó un diseño básico no probabilístico ya que el número de muestras tanto de gelatina como de leche condensada no fue significativo con respecto a la totalidad del lote del cual fue extraída cada muestra. Los datos obtenidos en el ensayo fueron relacionados aplicando un análisis de correlaciones utilizando el software de análisis estadístico SPSS Statistics Base, para determinar el grado de relación o dependencia entre las variables extrínsecas e intrínsecas sobre el crecimiento microbiano obtenido en las muestras de gelatina y leche condensada en las diferentes áreas de almacenamiento. A partir de los datos obtenidos en el análisis de correlaciones se plantearon modelos por cada subproducto con las variables que presentaron correlaciones significativas de 0,01. Los modelos sirvieron de base para aplicar un análisis de regresión múltiple utilizando el SPSS Statistics Base, para comprobar si las variables extrínsecas e intrínsecas explicaron el crecimiento microbiano en los subproductos analizados.

5.6. ACTIVIDADES COMPLEMENTARIAS

Análisis microbiológico a materias primas: La mayoría de las materias primas se analizaron cada lote, algunas dos veces cada tres meses o dos veces cada seis meses. El análisis microbiológico se aplicó dependiendo de los parámetros microbiológicos establecidos en la NTC correspondiente a la materia prima o

según especificaciones del proveedor. Al llegar las muestras de materias primas al laboratorio se registraron y rotularon, para ser procesadas. Se tomaron 10 g de muestra y se diluyeron en 90 ml de agua peptona estéril al 1%, luego se sembró 1ml en placas de Compact Dry previamente rotúradas con nombre de la muestra, número de identificación en formato de registro y día de análisis/lectura de placas. Las placas Compact Dry se llevaron a incubación; para bacterias a 35°C por 48 horas y para mohos y levaduras a 25°C por 3-5 días. Los indicadores microbiológicos que se manejaron fueron mesófilos, coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus*, mohos y levaduras. Las materias primas de colores y aspecto oscuro se diluyeron y se sembraron en placa de Petrifilm, para facilitar el conteo microbiológico.

Análisis microbiológico a producto en proceso: El muestreo del producto en proceso se realizó de forma mensual, a excepción del almidón, la gelatina y la leche condensada que se muestrearon cada quince días. Los análisis que se llevaron a cabo a cada producto en proceso dependieron de las especificaciones según NTC establecida para el producto. En total se muestrearon 20 productos en proceso y el procesamiento de estos se realizó de la mismo forma que las materias primas.

Análisis microbiológico a producto terminado: Se efectuó mensualmente escogiendo tres referencias de cada uno de los productos manufacturados, bombones relleno chicle y relleno blando, depositado, caramelos blandos, caramelos mentolados, gomas, etc. El procedimiento de análisis se realizó de igual forma que el efectuado para producto en proceso y materias primas.

Análisis microbiológico a insumos: Se realizó cada dos meses escogiendo tres referencias de palillos, envoltura y envases, las cuales se registraron en el formato de control interno de Microbiología. El procesamiento de las muestras se hizo de la misma forma que para producto terminado, materias primas y producto en proceso, exceptuando la muestra de envoltura, la cual también se analizó utilizando placas Petrifilm, colocándolas sobre la superficie interior del empaque que está en contacto con el producto.

Análisis microbiológico a superficies: Se realizaron mensualmente, a excepción de las "superficies en contacto", las cuales se muestrearon cada quince días. El muestreo microbiológico se realizó utilizando el método de Petrifilm, las placas se colocaron sobre la superficie a muestrear, se identificaron con número según el formato de muestreo previamente establecido y se incubaron según el microorganismo indicador; los Coliformes y Mesófilos se incuban a 35°C por 48 horas y los mohos y levaduras a 25°C por 3-5 días.

Análisis microbiológico a manipuladores: Se llevó a cabo mensualmente, utilizando el método de Petrifilm para Coliformes (EC) y Mohos y levaduras (YM). Se analizaron las manos de 50 operarios distribuidos en las diferentes áreas de producción de la planta dividiéndolos en manipuladores directos e indirectos. La muestra se tomó poniendo la placa Petrifilm sobre la palma del operario y

presionándola suavemente para luego retirarla evitando la formación de burbujas en la placa, luego se llevaron a incubación. Para los casos donde el recuento del crecimiento microbiano en la placa supero el parámetro establecido, se realizó la sensibilización del operario sobre las buenas prácticas higiénicas y su responsabilidad como manipulador de alimentos, por lo cual se levantó un acta de compromiso para el cumplimiento de las políticas de BPM reglamentadas en la empresa, de tal manera que el operario no vuelva a reincidir y cumpla con el compromiso establecido.

Análisis microbiológico a PTAP: la PTAP es la planta de tratamiento de agua potable que suministra toda el agua a la planta de confiterías, utilizada en la manufacturación del producto, en la higienización de los equipos y superficies y en general en todas las actividades de la planta. El muestreo se realizó de forma mensual luego del proceso de sanitización de la PTAP, los puntos de muestreo principales fueron el tanque de almacenamiento de agua y los vasos de ósmosis inversa, los demás puntos muestreados fueron la zona del casino y las diferentes exclusas y bebederos ubicados dentro de la planta. En análisis se realizó por el método de filtración por membrana, utilizando 100 ml de la muestra a la cual se le adicionó 1 ml de tiosulfato para evitar el enmascaramiento de las bacterias por el cloro presente en el agua. Los análisis microbiológicos que se realizaron fueron Mesófilos y mohos y levaduras sembrando en medio Tripticasa de soya y Sabouraud, respectivamente.

Análisis microbiológico ambiente: Se realizó por el método de sedimentación, abriendo la caja de Petri en el área de muestreo durante 15-20 minutos. Se muestrearon 27 diferentes áreas dentro de la planta analizando la carga de bacterias y mohos y levaduras presentes en el ambiente, para ello se usan el medio de cultivo Tripticasa de soya para bacterias y Sabouraud para mohos y levaduras.

Análisis microbiológico externo: Se realizó el plan de muestreo completo pero en menor proporción, es decir manipuladores, producto terminado, ambientes, agua y superficies a la planta que le provee material de empaque a la compañía de confiterías.

Capacitaciones de B.P.M: Se llevaron a cabo un día por semana, los operarios se programaron con anterioridad publicando el listado del personal asistente a la capacitación de Buenas Prácticas de Manufactura, la cual consistió en enseñar y explicar al personal manipulador las practicas higiénicas que deben realizar dentro de la planta, por medio de un video informativo y didáctico y con diapositivas sobre del Decreto 3075/2007 del Ministerio de Salud. Finalmente, se evaluó al personal para determinar si recibió y entendió lo enseñado en la capacitación, que se efectuó en dos horas y media.

6. CRONOGRAMA

							TI	EMF	90	DE	DL	JRA	CIĆ	N				
	/	١GC	OSTO)	SEI	PTIE						- 1			ME	BRE	DICIEN	ИBRE
ACTIVIDADES	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2
inducción y capacitación																		
elección del tema																		
revisión bibliográfica																		
planteamiento de objetivos																		
metodología																		
obtención de las muestras																		
análisis fisicoquímico																		
análisis microbiológico																		
recolección de datos																		
registro fotográfico																		
diseño de curvas de crecimiento																		
establecimiento de la vida útil																		
ACTIVIDADES COMPLEMENTARIAS																		
análisis microbiológico de materias primas																		
análisis microbiológico a producto en proceso																		
análisis microbiológico insumos																		
análisis microbiológico de producto terminado																		
análisis microbiológico a la PTAP																		
análisis microbiológico de manipuladores																		
análisis microbiológico de superficies																		
análisis microbiológico de ambientes																		
análisis microbiológico externo																		
Capacitaciones de B.P.M																		

7. RESULTADOS

Para determinar el tiempo de vida útil de la leche condensada y la gelatina se analizaron dos muestras de un mismo lote para cada subproducto en dos diferentes condiciones de almacenamiento, realizando análisis microbiológicos y fisicoquímicos.

7.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

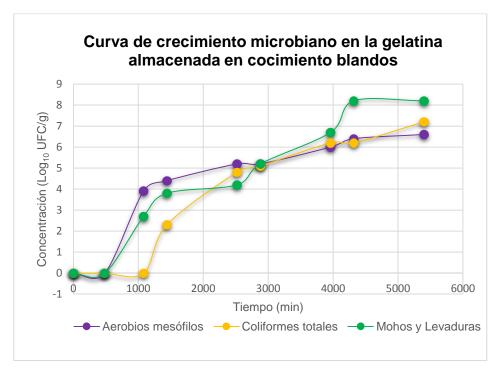
A continuación se presentan los resultados del seguimiento microbiológico realizado a la gelatina y leche condensada en las áreas de cocimiento blandos, prefabricados y cuarto frío a temperaturas de 38°C - 40°C; 31°C - 35°C y 4 - 5°C, respectivamente.

En las figuras se muestran los resultados de los análisis microbiológicos de las muestras de gelatina en el área de cocimiento blandos y en cuarto frio, y de la leche condensada en el área de prefabricados y cuarto frio. En las figuras se muestra la curva de crecimiento para los indicadores microbiológicos que presentaron aumento de la población en el tiempo evaluado. En aquellos casos donde las concentraciones microbianas fueron menores al umbral de detección del método (<10 ufc/g o <1 ufc/g), se asignó un valor de -0,01 como código numérico para sustituir al "no detectado", tal y como se sugiere por los autores del software DMFit. Aunque este valor se muestra en el gráfico, estos datos no se usan para el ajuste y obtención de los parámetros cinéticos.

7.1.1. Gelatina

En la figura 1 se observa el crecimiento microbiano que se presentó en la gelatina almacenada en cocimiento blandos, con una tendencia de crecimiento relativamente similar para los tres microorganismos indicadores; aerobios mesófilos, Coliformes, Mohos y Levaduras. Los resultados de aerobios mesófilos se obtuvieron por el método de Compact Dry, mientras que los resultados de coliformes totales y hongos se obtuvieron por el método de recuento en placa.

Figura 1. Curva de crecimiento microbiano (Aerobios mesófilos, Coliformes, Mohos y Levaduras) en la gelatina almacenada en cocimiento blandos (38°C – 40°C).

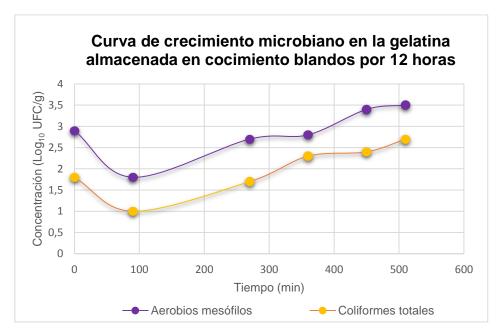


Durante los 480 minutos (8 horas) de almacenamiento se evidenció la fase de latencia donde no se presentó crecimiento en medio de cultivo para mesófilos y mohos y levaduras. Los coliformes presentaron una fase de latencia más larga, de 1080 minutos (18 horas). También se observó la fase exponencial que alcanzó un crecimiento para mesófilos, coliformes y mohos y levaduras de 10⁶, 10⁷ y 10⁸ UFC/g, respectivamente luego de diez días de almacenamiento. La concentración bacteriana superó el límite establecido por la NTC 1629 para mesófilos (5x10³ UFC/g) aproximadamente antes de las 18 horas de almacenamiento, pues en este tiempo presentó el crecimiento de 8x10³ UFC/g de mesófilos.

Los mohos y las levaduras también superaron el límite establecido por la norma antes de las 18 horas de almacenamiento en el área de cocimientos blandos. Los coliformes no tienen un parámetro establecido por la NTC 1629 pero si un parámetro de control interno establecido por la compañía, que dicta que el recuento de coliformes debe ser de <10 UFC/g en la gelatina, (en este caso de <100 UFC/g, debido a la siembra en superficie), valor que superó a las 24 horas (1440 minutos) de almacenamiento. Debido al rápido y elevado crecimiento microbiano que presentó la gelatina almacenada en cocimientos blandos se realizó un seguimiento de 12 horas a la gelatina realizando el muestreo aproximadamente cada 90 minutos.

En la figura 2 se observa la curva de crecimiento de mesófilos y coliformes totales en la gelatina almacenada en cocimiento blandos durante 12 horas, tiempo en el cual no presentó crecimiento de mohos y levaduras. Los resultados de los microorganismos indicadores se obtuvieron por método de Petrifilm.

Figura 2. Curva de crecimiento microbiano (Aerobios mesófilos y Coliformes totales) en la gelatina almacenada en cocimiento blandos (38°C – 40°C) durante 12 horas.



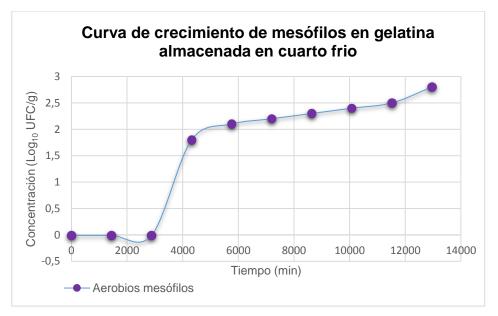
En los primeros 90 minutos de almacenamiento la concentración de aerobios mesófilos (2,4x10² UFC/g) disminuyó 1 unidad logarítmica al igual que los coliformes, cuya concentración inicial de 7,0x10¹ UFC/g ya superaba el parámetro interno permitido. A partir de los 270 minutos el crecimiento bacteriano de mesófilos fue exponencial, aumentando conforme el tiempo de almacenamiento fue incrementando. La concentración de mesófilos no superó el parámetro establecido por la NTC 1629 durante las 12 horas de almacenamiento.

No se presentó crecimiento de mohos y levaduras en la gelatina durante el almacenamiento por 12 horas, pero teniendo en cuenta el ensayo 1 y los resultados observados en la figura 1, donde la concentración fúngica en la gelatina es de 4,9x10² UFC/g a las 18 horas de almacenamiento, se podría estimar que el crecimiento fúngico se presenta entre las 12 y 18 horas de almacenamiento en el área de cocimientos blandos, al igual que la concentración de mesófilos podría alcanzar el parámetro establecido por la norma durante ese rango de tiempo.

En la figura 3 se observa la curva de crecimiento de mesófilos en la gelatina almacenada en cuarto frio, la cual no presentó crecimiento de coliformes y mohos

y levaduras. Los resultados de aerobios mesófilos se obtuvieron por el método de Compact Dry.

Figura 3. Curva de crecimiento de Aerobios mesófilos en la gelatina almacenada en cuarto frio $(5^{\circ}C - 7^{\circ}C)$ durante 10 días.



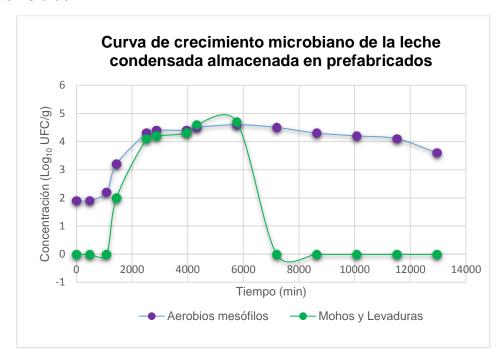
La curva de crecimiento presenta una fase de latencia durante las primeras 18 horas (1440 minutos) de almacenamiento, luego se presenta la fase exponencial con un crecimiento de mesófilos relativamente lento. Este comportamiento se mantiene hasta alcanzar los diez días de almacenamiento en cuarto frio, si superar el límite establecido por la NTC 1629.

En la gelatina almacenada en cuarto frio y en el área de cocimientos blandos no se presentó crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*.

7.1.2. Leche condensada

La leche condensada fue almacenada en el área de prefabricados y en cuarto frio. En la figura 4 se observa la curva de crecimiento de los microorganismos indicadores que se presentaron en la leche condensada almacenada en el área de prefabricados. No se observó el crecimiento de coliformes totales, cuyo análisis se realizó por el método de recuento en placa. Los resultados del análisis de aerobios mesófilos se obtuvieron por el método de Petrifilm, mientras que el análisis de mohos y levaduras se realizó por el método de siembra en placa durante los primeros cuatro días de seguimiento, luego se efectuó usando el método de Petrifilm hasta cumplir el tiempo de almacenamiento.

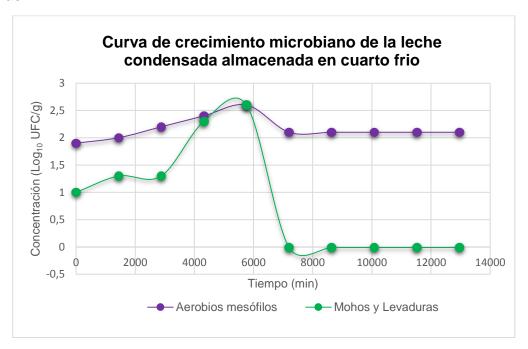
Figura 4. Curva de crecimiento microbiano (Aerobios mesófilos y Mohos y Levaduras) en la leche condensada almacenada en el área de Prefabricados durante 10 días.



En la curva de crecimiento correspondiente a mohos y levaduras se observó una fase de latencia que terminó a las 18 horas de almacenamiento en el área de prefabricados, luego comenzó la fase exponencial que terminó abruptamente a las 96 horas (4 días) de almacenamiento, superando el límite máximo establecido por la NTC 879 aproximadamente antes de cumplir 42 horas de almacenamiento, luego el crecimiento fúngico permaneció constante. La curva de crecimiento de los mesófilos en la leche condensada presentó una fase de latencia de 18 horas aproximadamente, luego se observó la fase exponencial que comenzó el declive a los cinco días de almacenamiento en prefabricados. La concentración de mesófilos en la leche condensada superó el rango permitido por la NTC 879 a las 42 horas de almacenamiento.

En la figura 5 se representa la curva de crecimiento de los microorganismos indicadores, aerobios mesófilos y mohos y levaduras que se presentaron en la leche condensada almacenada en cuarto frio. No se evidenció el crecimiento de coliformes totales. Los resultados del análisis de aerobios mesófilos se obtuvieron por el método de Petrifilm, mientras que el análisis de mohos y levaduras se realizó por el método de siembra en placa durante los primeros cuatro días de seguimiento, luego se realizó mediante el método de Petrifilm hasta cumplir el tiempo de almacenamiento.

Figura 5. Curva de crecimiento microbiano (Aerobios mesófilos y Mohos y Levaduras) en la leche condensada almacenada en cuarto frio $(5^{\circ}C - 7^{\circ}C)$ durante 10 días.



En la anterior figura se observó la fase de latencia de los mesófilos en la leche condensada almacenada en cuarto frio, que finalizó antes de los 1440 minutos de almacenamiento, la concentración bacteriana se mantuvo constante y el crecimiento fue muy lento. Ya que el crecimiento fue limitado no se pudo observar a qué tiempo de almacenamiento la concentración microbiana superó el límite máximo permisible establecido en la NTC 879. Los mohos y las levaduras también presentaron un crecimiento lento hasta alcanzar las 96 horas de almacenamiento donde la concentración fúngica disminuyó drásticamente. Los mohos y las levaduras superaron el límite máximo establecido (2,0x10²) por la NTC 879 a las 72 horas (4320 minutos) de almacenamiento.

En la leche condensada almacenada en cuarto frio y en el área de prefabricados no se presentó crecimiento de Coliformes totales, *E. coli* y *S. aureus* durante los 10 días de estudio.

7.2. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO

En la tabla 6 se presenta la identificación (lote y Job) de cada una de las muestras utilizadas en el estudio, junto con las especificaciones fisicoquímicas.

Tabla 6. Identificación de las muestras objeto de estudio.

Subproducto	Lote	Job	рН	°Brix
Gelatina	6473	F017151	5,0 -6,5	N/A
Leche condensada	6507	F017367	6,0-7,0	69-72

7.2.1. Gelatina

Las muestras de gelatina fueron almacenadas a dos temperaturas diferentes, en cuarto frio con temperaturas entre 5°C a 7°C y en el área de cocimiento blandos cuya temperatura oscila entre 38°C a 40°C. El análisis fisicoquímico de la muestra de gelatina almacenada en cocimientos blandos arrojó los resultados que se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados fisicoquímicos de la gelatina almacenada en cocimientos blandos durante 10 días.

Tiempo (minutos)	рН	Temperatura (°C) gelatina	Temperatura (°C) Ambiente	Humedad relativa RH (%)
0	6,2	17	40,4	37,2
480	6,2	26	38,5	35,4
1080	5,8	29	38,3	42,8
1440	5,8	30	40,8	33,0
2520	5,6	30	40,1	35,2
2880	5,4	29	38,3	33,8
3960	5,4	31	40,5	35,9
4320	5,2	31	40,8	35,4
5400	5,0	31	40,5	41,3

En la tabla 7 se observa la disminución del pH de la gelatina durante el tiempo de almacenamiento (10 días) y el aumento de la temperatura del producto hasta que permanece constante luego de 66 horas de almacenamiento. El pH de la gelatina superó el rango establecido aproximadamente a las 42 horas de almacenamiento. La temperatura ambiente de cocimientos blandos varió entre los 38°C y 40°C mientras que la humedad relativa osciló entre el 33 y 42% durante el tiempo de almacenamiento.

En la tabla 8 se presentan los resultados fisicoquímicos de la gelatina almacenada en cuarto frio, observándose la disminución de su pH y la variación en su temperatura.

Tabla 8. Resultados fisicoquímicos de la gelatina almacenada en cuarto frio durante 10 días.

Tiempo (minutos)	рН	Temperatura (°C) gelatina	Temperatura (°C) Ambiente	Humedad relativa RH (%)
0	6,2	6,0	5,7	82,3
1440	6,2	6,0	5,6	71,0
2880	6,2	5,8	5,6	75,4
4320	6,1	6,2	5,1	75,3
5760	6,1	5,9	5,4	81,4
7200	6,0	6,5	5,5	64,8
8640	6,0	6,7	6,0	67,3
10080	5,9	6,3	6,7	65,0
11520	5,8	6,5	6,3	66,7
12960	5,8	6,0	6,4	69,5

Aunque el pH disminuyó, se mantuvo dentro del rango establecido (5,0-6,5) luego de los 10 días de almacenamiento. La temperatura ambiente y la humedad relativa en cuarto frio variaron entre 5.1° C y 6.7° C y entre 64 y 82%, respectivamente. La variación de la temperatura de la gelatina corresponde a la variación de la temperatura ambiente.

En la tabla 9 se presentan los resultados fisicoquímicos de la gelatina almacenada en el área de cocimiento blandos, la cual muestra el rápido aumento de la temperatura de la gelatina durante las 12 horas de almacenamiento

Tabla 9. Resultados fisicoquímicos de la gelatina en el área de cocimiento blandos durante 12 horas de almacenamiento.

Tiempo (minutos)	рН	Temperatura (°C) gelatina	Temperatura (°C) Ambiente	Humedad relativa RH (%)
0	6,1	12,9	38,3	43,4
90	6,1	19,0	39,5	42,0
180	6,1	21,4	40,3	39,3
270	6,1	24,6	40,8	35,9
360	6,0	30,0	41,5	34,3
450	6,0	31,7	39,8	35,6
510	6,0	32,2	38,6	40,0

La temperatura de la gelatina aumentó aproximadamente 19°C con respecto a su temperatura inicial, durante las 12 horas de almacenamiento en cocimientos blandos. Esta situación se vio favorecida por la alta temperatura (41,5°C) que alcanzó el ambiente en cocimiento blandos, debido a que en esa área se encuentran 3 equipos cocinadores. El pH se mantuvo relativamente constante entre 6,1 y 6,0 dentro del rango establecido.

7.2.2. Leche condensada

Las muestras de leche condensada fueron almacenadas a dos temperaturas diferentes, en cuarto frio con temperaturas entre 5°C a 7°C y en el área de prefabricados cuya temperatura oscila entre 31°C a 35°C. En el análisis fisicoquímico de la muestra de leche condensada almacenada en prefabricados se obtuvieron los resultados que se presentan en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados fisicoquímicos de la leche condensada almacenada en el área de prefabricados por un tiempo de 10 días.

Tiempo (minutos)	рН	°Brix	Temperatura (°C) leche	Temperatura (°C) Ambiente	Humedad relativa RH (%)
0	6,3	73,3	57,0	35,5	37,4
480	6,2	73,3	40,3	31,6	44,7
1080	6,2	68,4	32,8	34,2	41,4
1440	6,2	68,2	31,7	33,8	44,9
2520	6,2	67,4	30,8	34,0	41,4
2880	6,1	68,6	33,6	34,7	42,4
3960	6,1	68,0	34,6	33,5	41,2
4320	6,1	67,8	32,3	31,8	48,1
5760	6,1	67,5	32,8	32,1	48,1
7200	6,1	67,4	32,2	33,8	38,7
8640	6,1	67,0	33,5	34,4	42,1
10080	6,1	67,0	31,4	34,8	43,5
11520	6,0	67,0	31,2	34,9	45,5
12960	5,9	67,0	32,0	31,2	52,0

Se observó la disminución del pH y los sólidos solubles totales de la de leche condensada luego de 10 días de almacenamiento. El pH superó el rango mínimo establecido a los diez días de almacenamiento y los sólidos solubles totales a las 18 horas de almacenamiento en el área de prefabricados, cuya temperatura ambiente varía entre 31°C y 35°C y la humedad relativa entre 37 y 52%.

En la tabla 11 se presentan los resultados fisicoquímicos de la leche condensada, obtenidos durante los diez días de almacenamiento en cuarto frio.

Tabla 11. Resultados fisicoquímicos de la leche condensada almacenada en cuarto frio por 10 días.

Tiempo (minutos)	рН	°Brix	Temperatura (°C) leche	Temperatura (°C) Ambiente	Humedad relativa RH (%)
0	6,2	73,3	28,0	5,7	82,3
1440	6,1	69,2	7,4	5,6	71,0
2880	6,1	68,8	8,6	5,6	75,4
4320	6,1	68,3	6,4	5,1	75,3
5760	6,1	68,0	7,0	5,4	81,4
7200	6,1	67,8	6,1	5,5	64,8
8640	6,1	67,0	6,5	6,0	67,3
10080	6,0	66,2	6,8	6,7	65,0
11520	6,0	65,4	7,2	6,3	66,7
12960	6,0	65,8	7,8	6,4	69,5

Se observó la disminución del pH y los sólidos solubles totales de la leche condensada almacenada en cuarto frio durante 10 días. El pH supera el rango mínimo permitido (6,0) a los 7 días (10080 minutos) de almacenamiento y los sólidos solubles totales alcanzaron el rango mínimo a los 2 días (2880 minutos) de almacenamiento en cuarto frio. La temperatura de la leche disminuyó pero no de forma constante durante el tiempo de almacenamiento. La temperatura ambiente y humedad relativa en cuarto frio variaron entre 5,1°C y 6,7°C y entre 64 y 82%, respectivamente.

7.3. ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE ALMACENAMIENTO DE LOS SUBPRODUCTOS

Para la estimación de la vida útil de la gelatina y la leche condensada se determinaron los parámetros cinéticos tales como la velocidad máxima de crecimiento, tiempo de generación y duración de la fase de latencia para cada uno de los indicadores microbiológicos (aerobios mesófilos - AM, coliformes totales – CT y mohos y levaduras – MyL) en las diferentes áreas de almacenamiento. Estos parámetros se obtuvieron mediante el ajuste de las curvas de crecimiento de cada microorganismo indicador mostradas en la sección 7.1 con el modelo primario de Baranyi empleando el software on-line DMFit web edition.

7.3.1. Gelatina

En la tabla 12 se muestran los parámetros cinéticos para cada uno de los microrganismos que presentaron crecimiento en la gelatina almacenada en el área de cocimiento blandos.

Tabla 12. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos en gelatina almacenada en cocimiento blandos durante 10 días.

Indicador Microbiológico	Velocidad máxima – µ _{max} (Log₁₀ ufc/g*min)	Tiempo generacional – TG (min)	Fase de latencia – λ (min)
Mesófilos	0,00777 ± 0,00539	89,19 min	568,5 ± 393,2
Coliformes totales	0,00270 ± 0,00049	256,60 min	807,5 ± 369,7
Mohos y Levaduras	0,00465 ± 0,00344	149,03	536,1 ± 630,0

En la figura 1 se apreció la fase de latencia para mesófilos en la gelatina almacenada en cocimientos blandos, la cual fue de 480 minutos (8 horas), mientras la obtenida ajustando las curvas de crecimiento con el modelo de Baranyi fue de 568,5 minutos (9 horas). Para los coliformes el tiempo de latencia fue de 1080 minutos (18 horas), ajustando la curva al modelo el tiempo se reduce a 807 minutos (13 horas). En cuanto a los mohos y las levaduras el tiempo de fase de latencia sin ajustar la curva usando DMFit fue de 480 minutos (8 horas), al ajustar la curva al modelo de Baranyi el tiempo de fase de latencia fue de 536 minutos (8,9 horas).

En la tabla 13 se presenta la vida útil estimada en minutos para la gelatina almacenada en cocimiento blandos según el indicador microbiológico (aerobios mesófilos - AM, coliformes totales — CT y mohos y levaduras — MyL), mediante los modelos de crecimiento cinético de Monod-Hinshelwood (Ts) y SSO (organismo de deterioro específico — SL).

Tabla 13. Vida útil estimada para la gelatina almacenada en cocimiento blandos durante 10 días e indicadores usados para el cálculo de la vida útil.

Indicador	Log ₁₀ N _s	0 Ns Log ₁₀ No Log ₁₀ N _{max}			l estimada nin)
	U ii	U N C	0 70	Ts	SL
AM	3,69	-0,01	6,6	799,74	917,15
СТ	1,00	-0,01	7,2	861,02	1126,06
MyL	2,00	-0,01	8,2	995,18	963,78

Teniendo en cuenta los resultados de la curva de crecimiento sin ajuste al modelo de Baranyi, donde debido a que los mesófilos presentaron un crecimiento de 8x10³ UFC/g a las 18 horas (1080 minutos) de almacenamiento, el cual superó el límite establecido por la NTC 1629 de 5x10³ UFC/g, la vida útil se estimó en un tiempo dado antes de las 18 horas de almacenamiento. Estos modelos apoyaron

esta estimación e indicaron que la concentración de mesófilos en la gelatina superó el parámetro establecido a los 799,74 minutos (13,3 horas) de almacenamiento usando el modelo de Monod y a los 917,15 minutos (15 horas) según el modelo de SSO. Lo mismo ocurre con los mohos y las levaduras cuya concentración a las 18 horas de almacenamiento fue de 4,9x10² UFC/g, concentración que superó la estimada por la NTC 1629 de 1,0x10². Por ello se estimó que el límite establecido para mohos y levaduras se superó en un tiempo determinado antes de las 18 horas de almacenamiento. El modelo de Monod estimó que el tiempo en el cual la concentración de mohos y levaduras se salió del parámetro fue a los 995 minutos (16,5 horas), mientras que el modelo de SSO estimó el tiempo a los 963,78 minutos (16 horas). En cuanto a los coliformes totales estos superaron el límite establecido antes de las 24 horas de almacenamiento, el modelo de Monod indicó que el parámetro establecido internamente para coliformes se superó a los 861,02 minutos (14 horas) de almacenamiento y el modelo SSO lo estimó en 1126,06 minutos (18,7 horas).

En la tabla 14 se presentan los parámetros cinéticos de cada uno de los microorganismos indicadores que mostraron crecimiento en la gelatina almacenada durante 12 horas en el área de cocimiento blandos.

Tabla 14. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos; mesófilos y coliformes en la gelatina almacenada en cocimiento blandos durante 12 horas.

Indicador Microbiológico	Velocidad máxima – µ _{max} (Log₁₀ ufc/g*min)	Tiempo generacional – TG (min)	Fase de latencia – λ (min)
Mesófilos	0,00428 ± 0,00315	161,92 min	234,4 ± 184,5
Coliformes totales	0,00422 ± 0,00216	164,22 min	195,5 ± 144,4

En la figura 2 se estimó la fase exponencial de los mesófilos a partir de los 270 minutos, luego del declive en la curva de crecimiento en los primeros 90 minutos. Por tanto, la fase de crecimiento se estimó entre los 90 y 270 minutos. Ajustando la curva al modelo de Barangy, la fase de latencia fue de 234,4 minutos (3,9 horas) para los mesófilos, mientras que para los coliformes totales la fase de latencia fue de 195,5 minutos (3,2 horas). Lo anterior corresponde a la similitud de las curvas del crecimiento de los mesófilos y coliformes que se observó en la figura 2.

En la tabla 15 se muestra la vida útil estimada mediante el modelo cinético de Monod-Hinshelwood (*Ts*) y el modelo SSO (*SL*) para la gelatina almacenada en el área de cocimiento blandos por 12 horas, según el crecimiento de aerobios mesófilos.

Tabla 15. Vida útil estimada para la gelatina almacenada durante 12 horas en el área de cocimiento blandos e indicadores usados para el cálculo de la vida útil.

Indicador	Log ₁₀ N _s	Log ₁₀ N _o	Log ₁₀ N _{max}		estimada nin)
	3,0	3,00	20g 10 14max	Ts	SL
AM	3,69	2,9	3,5	429,8	760,8
СТ	1,00	1,8	2,7	0,00	0,00

La concentración de mesófilos obtenida en la gelatina almacenada en cocimientos blandos por 12 horas no superó el límite establecido por la NTC al cumplirse el tiempo de almacenamiento estipulado y los coliformes la superaron en el tiempo cero. El modelo de Monod estimó la vida útil según el crecimiento de mesófilos en 429,8 minutos (7 horas) y el modelo de SSO la estimó en 760,8 minutos (12,7 horas). Los dos modelos tienen en cuenta la concentración inicial de microorganismos (N_0), teniendo en cuenta que esta sufre un declive luego de 90 minutos de almacenamiento y que la fase de latencia se calculó en 3 horas, se pudo estimar que la vida útil de la gelatina en el área de cocimiento blandos no superó las 7 horas según el modelo de Monod o las 12,7 horas según el modelo de SSO. No se pudo estimar la vida útil para coliformes totales, ya que la concentración inicial de microorganismos (N_0) superó el límite máximo permitido (N_0).

En la tabla 16 se muestran los parámetros cinéticos de la curva de crecimiento de aerobios mesófilos ajustada según el modelo de Baranyi, en la gelatina almacenada en cuarto frio durante 10 días.

Tabla 16. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos en la gelatina almacenada en cuarto frío.

Indicador Microbiológic	Velocidad máxima – µ _{max} (Log ₁₀ ufc/g*min)	Tiempo generacional – TG (min)	Fase de latencia – λ (min)
Mesófilos	0,00037 ± 0,00011	1872,97 min	939,1 ± 237,5

En la gelatina almacenada en cuarto frio solo se presentó el crecimiento de mesófilos. La curva de crecimiento observada en la figura 3 mostró la fase de latencia durante los primeros 1140 minutos (18 horas) de almacenamiento. Al ajustar la curva al modelo de Barangy, la fase de latencia fue de 939,1 minutos (15,7 horas).

En la tabla 17 se presenta la vida útil estimada mediante los modelos cinéticos establecidos (Monod-Hinshelwood y SSO) para la gelatina almacenada en cuarto frio según el indicador microbiológico (mesófilos).

Tabla 17. Vida útil estimada para la gelatina almacenada en el cuarto frío, e indicadores usados para el cálculo de la vida útil.

Indicador	Log ₁₀ N _s	Log ₁₀ N _o	og ₁₀ N _o Log ₁₀ N _{max} Vida útil estimada (min)		
	3,00	0 .0 0	0 .0	Ts	SL
AM	3,69	-0,01	2,8	23023,2	26448,8

El crecimiento de los mesófilos en la gelatina almacenada en cuarto frio fue muy lento, por lo cual al cumplirse los diez días estipulados de almacenamiento, la concentración bacteriana no superó el límite máximo (5,0x10³ UFC/g) especificado por la NTC. El modelo de Monod estipuló la vida útil en 23020, 2 minutos (15,9 días), mientras que el modelo de SSO la estimó en 26448,8 minutos (18,3 días), por esto durante el tiempo de almacenamiento establecido (10 días) no se logró estimar el tiempo en el que los mesófilos superaron el parámetro establecido por la NTC.

7.3.2. Leche condensada

En la tabla 18 se presentan los parámetros cinéticos de cada uno de los microorganismos indicadores que mostraron crecimiento en la leche condensada almacenada durante 10 días en el área de prefabricados.

Tabla 18. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos en leche condesada almacenada en área de prefabricados durante 10 días.

Indicador Microbiológico	Velocidad máxima – µ _{max} (Log₁₀ ufc/g*min)	Tiempo generacional – TG (min)	Fase de latencia – λ (min)	
Mesófilos	0,00278 ± 0,00106	248,98 min	972,0 ± 150,0	
Mohos y Levaduras	0,00223 ± 0,00045	310,29 min	774,0 ± 408,0	

En la figura 4 se observaron las curvas de crecimiento de los mesófilos y mohos y levaduras con una fase de latencia que terminó aproximadamente a las 18 horas de almacenamiento en el área de prefabricados, al ajustar las curvas de crecimiento según el modelo de Baranyi la fase de latencia fue de 972 minutos

(16,2 horas) para los mesófilos y de 774,0 minutos (12,9 horas) para los mohos y levaduras.

En la tabla 19 se presenta la vida útil estimada en minutos para la leche condensada almacenada en prefabricados según el indicador microbiológico (aerobios mesófilos - AM y mohos y levaduras — MyL), mediante los modelos de crecimiento cinético de Monod-Hinshelwood (Ts) y SSO (organismo de deterioro específico — SL).

Tabla 19. Vida útil estimada para la leche condesada almacenada en el área de prefabricados, e indicadores usados para el cálculo de la vida útil.

Indicador	Log ₁₀ N _s	Log ₁₀ N _o	Log ₁₀ N _{max}		estimada nin)
	3,00	U ii	0 70	Ts	SL
AM	4,30	1,9	4,6	1985,22	2093,63
MyL	2,30	-0,01	4,7	2381,29	1814,55

La leche condensada almacenada en el área de prefabricados presentó un tiempo de vida útil limitado de 1985,22 minutos (33 horas) por el crecimiento de mesófilos, según el modelo de Monod y de 2093,63 minutos (34,8 horas) según el modelo de SSO. En la curva de crecimiento de la figura 4 se estimó que la concentración de mesófilos en la leche condensada superó el rango permitido por la NTC 879 a los 2529 minutos (42 horas) de almacenamiento sin ajuste de curva, siendo el tiempo estimado por los dos modelos menor al estimado en tiempo real. Los mohos y las levaduras en la leche condensada superaron el límite máximo establecido por la norma aproximadamente antes de cumplir 42 horas de almacenamiento, luego el crecimiento fúngico permaneció constante. Según el modelo de Monod la vida útil limitada por el crecimiento fúngico fue de 2381,29 minutos (39,68 horas) y según el modelo SSO la vida útil fue de 1814,55 minutos (30,2 horas). Las dos estimaciones de tiempo de vida útil estuvieron dentro de la estimada en tiempo real e indicaron de manera más precisa el tiempo en el que la concentración fúngica en la leche condensada superó el límite máximo permitido (2,0x0² UFC/g) va que la estimación de tiempo de vida útil menor a 42 horas se concibió porque en ese tiempo la carga fúngica había alcanzado los 1,33x10⁴ UFC/g en la leche condensada.

En la tabla 20 se muestran los parámetros cinéticos de la curva de crecimiento de aerobios mesófilos y mohos y levaduras ajustada según el modelo de Baranyi, en la leche condensada almacenada en cuarto frio durante 10 días.

Tabla 20. Parámetros cinéticos de los indicadores microbiológicos en leche condesada almacenada en cuarto frío durante 10 días

Indicador Microbiológico	Velocidad máxima – µ _{max} (Log₁₀ ufc/g*min)	Tiempo generacional – TG (min)	Fase de latencia – λ (min)
Mesófilos	0,00014 ± 0,0002	4950,0 min	720,0 ± 274,1
Mohos y Levaduras	0,00092 ± 0,0008	753,26 min	nd

nd = no detectado.

La concentración de mesófilos de la leche condensada almacenada en cuarto frio permaneció constante durante los 10 días de almacenamiento ya que el crecimiento fue muy lento. Observando la figura 5 se estimó que la fase de latencia terminó antes de los 1440 minutos (24 horas), al ajustar la curva al modelo de Baranyi el tiempo de fase de latencia fue de 720 minutos (12 horas). La fase de latencia de la curva de crecimiento de los mohos y las levaduras no se pudo detectar ajustando la curva con DMFit.

En la tabla 21 se aprecia la vida útil estimada mediante los modelos cinéticos establecidos (Monod-Hinshelwood y SSO) para la leche condensada almacenada en cuarto frio según el indicador microbiológico (mesófilos).

Tabla 21. Vida útil estimada para la leche condesada almacenada en cuarto frío, e indicadores usados para el cálculo de la vida útil.

Indicador	Log ₁₀ N _s	Log ₁₀ N _o Log ₁₀ N _{max}		Vida útil estimada (min)	
		3,0	J 10	Ts	SL
AM	4,3	1,9	2,6	39468,43	28304,18
MyL	2,3	1,0	2,6	3253,28	1645,68

Ya que la concentración bacteriana fue limitada para los mesófilos, los cuales crecieron muy lentamente, no se pudo observar en qué tiempo durante el almacenamiento, la concentración microbiana superó el límite máximo permisible establecido en la NTC. Según el modelo de Monod, el límite se superó a los 39468,43 minutos (27,4 días) de almacenamiento en cuarto frio y la estimación del modelo de SSO fue de 28304,18 minutos (19,6 días). Teniendo en cuenta las estimaciones de los modelos predictivos, no se logró observar el tiempo aproximado de la pérdida de vida útil mediada por el crecimiento de mesófilos debido a que el almacenamiento fue sólo de 10 días.

La vida útil mediada por el crecimiento fúngico según el modelo de Monod fue de 3253,28 minutos (54,2 horas) y según el modelo de SSO de 1645,68 minutos

(27,4 horas). Al observar la figura 5, los mohos y las levaduras superaron el límite máximo establecido (2,0x10² UFC/g) por la NTC a los 4320 minutos (72 horas) de almacenamiento, aunque presentaron un crecimiento lento alcanzaron las 96 horas de almacenamiento donde hubo una disminución drástica de la concentración. Las estimaciones en las predicciones de vida útil de los modelos estuvieron dentro del límite estimado en tiempo real.

7.3.3. Resumen de los cálculos

En la tabla 22 se presenta la estimación de la vida útil de almacenamiento para la gelatina, mediante los dos modelos cinéticos establecidos y según el parámetro microbiológico.

Tabla 22. Estimación de la vida útil para la gelatina

Temperatura de almacenamiento	Parámetro microbiológico	Vida útil (h)¹	Vida útil (h)²
	Aerobios mesófilos (12h)	7,16	12,68
2000 4000	Mohos y levaduras	nd	nd
38°C – 40°C Cocimientos blandos	Aerobios mesófilos	13,33	15,29
Diaridos	Coliformes totales	14,35	18,77
	Mohos y levaduras	16,59	16,06
5°C – 7°C Cuarto frio	Aerobios mesófilos (10d)	383,72	440,81

¹ Modelo de Monod-Hinshelwood

La estimación de la vida útil de almacenamiento para la leche condensada, mediante los dos modelos cinéticos establecidos y según el parámetro microbiológico, se presenta en la tabla 23.

² Modelo SSO

Tabla 23. Estimación de la vida útil para la leche condensada.

Temperatura de almacenamiento	Parámetro microbiológico	Vida útil (h)¹	Vida útil (h)²
32°C – 35°C	Aerobios mesófilos	33,09	34,89
Prefabricados	Mohos y levaduras	39,69	30,24
5°C – 7°C	Aerobios mesófilos	657,81	471,74
Cuarto frio	Mohos y levaduras	54,22	27,43

¹ Modelo de Monod-Hinshelwood

7.4. ANÁLISIS DE CORRELACIONES

Se estableció un análisis de correlaciones para determinar los factores extrínsecos e intrínsecos que favorecieron el crecimiento microbiano presentado en los subproductos en las diferentes condiciones de almacenamiento (cocimientos blandos, prefabricados y cuarto frio). También se aplicó un análisis de regresión múltiple para corroborar y verificar el grado de las correlaciones establecidas.

7.4.1. Gelatina

En la tabla 24 se presenta el análisis de correlaciones de la gelatina almacenada tanto en el área de cocimiento blandos como en cuarto frio, las variables extrínsecas (temperatura, tiempo de almacenamiento y humedad relativa) y las variables intrínsecas (pH) se correlacionaron con el crecimiento microbiano (mesófilos, coliformes totales y mohos y levaduras)

² Modelo SSO

Tabla 24. Análisis de correlaciones entre las variables extrínsecas e intrínsecas sobre el crecimiento microbiano (Aerobios mesófilos en la gelatina bajo las dos condiciones de almacenamiento.

	Correlaciones - ge	elatina cocimien	to blandos	
		Aerobios	Coliformes	Mohos y
		mesófilos	totales	Levaduras
		(Log10 UFC/g)	(Log10 UFC/g)	(Log10 UFC/g)
pH gelatina	Correlación de Pearson	-,938**	-,937**	-,980**
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,000
Temperatura del	Correlación de Pearson	,845**	,665	,759*
producto (°C)	Sig. (bilateral)	,004	,051	,018
Tiempo de	Correlación de Pearson	,885**	,960**	,969**
almacenamiento (min)	Sig. (bilateral)	,002	,000	,000
Temperatura de almacenamiento	Correlación de Pearson	,339	,448	,435
(°C)	Sig. (bilateral)	,372	,227	,241
Humedad relativa (%)	Correlación de Pearson	,047	-,120	,049
(70)	Sig. (bilateral)	,905	,759	,900
		s - gelatina cuar	to frio	
pH gelatina	Correlación de Pearson	-,866**		
	Sig. (bilateral)	,001		
Temperatura del	Correlación de Pearson	,576		
producto (°C)	Sig. (bilateral)	,082		
Tiempo de	Correlación de Pearson	,905**		
almacenamiento (min)	Sig. (bilateral)	,000		
Temperatura de	Correlación de Pearson	,446		
almacenamiento (°C)	Sig. (bilateral)	,197		
Humedad relativa	Correlación de Pearson	-,542		
(%)	Sig. (bilateral)	,106		
	Correlaciones - gelatin	a cocimiento bl	andos 12 horas	
pH gelatina	Correlación de Pearson	-,763	-,718	
	Sig. (bilateral)	,078	,108	
Temperatura del	Correlación de Pearson	,624	,739	
producto (°C)	Sig. (bilateral)	,186	,093	
Tiempo de	Correlación de Pearson	,693	,813*	
almacenamiento (min)	Sig. (bilateral)	,127	,049	
Temperatura de almacenamiento	Correlación de Pearson	,311	,429	
(°C)	Sig. (bilateral)	,549	,396	
Humedad relativa	Correlación de Pearson	-,670	-,808	
(%)	Sig. (bilateral)	,146	,052	

- *. La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).
- **. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Interpretación de datos

En cocimiento blandos, el pH de la gelatina se correlacionó de forma negativa con el crecimiento de los mesófilos (-0,938), coliformes (-0,937) y mohos y levaduras (-0,980) a un nivel de significancia del 1%, es decir que a medida que el pH disminuyó favoreció el crecimiento microbiano. La temperatura del producto en las condiciones que aporta el área de cocimientos blandos, favoreció el crecimiento en mayor medida de mesófilos (0,845) con un nivel de significancia de 0,01. El tiempo de almacenamiento también fue una variable que favoreció el crecimiento microbiano, presentando una correlación fuertemente positiva, a medida que se aumentó el tiempo de almacenamiento en el área de cocimientos blandos mayor fue la carga microbiana. La temperatura de almacenamiento y la humedad relativa presentaron un coeficiente de correlacionan débil con respecto al crecimiento microbiano.

El pH de la gelatina en cuarto frio influyó en el crecimiento de mesófilos a un nivel de significancia de 0,01, presentando una correlación negativa fuerte, mientras que el tiempo de almacenamiento presentó una correlación fuerte positiva con el crecimiento de mesófilos. La temperatura de almacenamiento presentó una correlación muy baja (0,0446) con respecto a la influencia sobre el crecimiento de los mesófilos. En el ensayo de 12 horas de la gelatina en cocimientos blandos solo se presentó significancia de 0,05 en la relación del tiempo de almacenamiento y el crecimiento de coliformes. Se presentaron coeficientes de correlación moderados entre el pH de la gelatina, la temperatura del producto y la humedad relativa.

7.4.2. Leche condensada

En la tabla 25 se presenta el análisis de correlaciones de la leche condensada almacenada tanto en el área de prefabricados como en cuarto frio, las variables extrínsecas (temperatura, tiempo de almacenamiento y humedad relativa) y las variables intrínsecas (pH, sólidos solubles totales) se correlacionaron con el crecimiento microbiano (mesófilos y mohos y levaduras)

Tabla 25. Análisis de correlaciones entre las variables extrínsecas e intrínsecas sobre el crecimiento microbiano en la leche condensada bajo las dos condiciones de almacenamiento.

Correla	Correlaciones - leche condensada prefabricados					
		Aerobios mesófilos (Log10 UFC/g)	Mohos y Levaduras (Log10 UFC/g)			
pH leche condensada	Correlación de Pearson Sig. (bilateral)	-,553* ,040	,036 ,902			
Sólidos solubles totales	Correlación de Pearson	-,799**	-,217			
(°Brix) Temperatura del producto	Sig. (bilateral) Correlación de Pearson	,001 -,651*	,456 -,252			
(°C) Tiempo de almacenamiento	Sig. (bilateral) Correlación de Pearson	,012 ,529	,385 -,297			
(min)	Sig. (bilateral)	,052	,303			
Temperatura de almacenamiento (°C)	Correlación de Pearson Sig. (bilateral)	-,037 ,900	-,234 ,420			
Humedad relativa (%)	Correlación de Pearson	,208	,169			
Corro	Sig. (bilateral)	,475	,564			
pH leche condensada	Correlación de Pearson Sig. (bilateral)	-,070 ,848	,470 ,170			
Sólidos solubles totales (°Brix)	Correlación de Pearson Sig. (bilateral)	-,244 ,498	,427 ,219			
Temperatura del producto (°C)	Correlación de Pearson Sig. (bilateral)	-,462 ,178	,063 ,864			
Tiempo de almacenamiento	Correlación de Pearson	,055	-,620			
(min) Temperatura de	Sig. (bilateral) Correlación de Pearson	,881 -,448	,056, -,770**			
almacenamiento (°C)	Sig. (bilateral)	,194	,009			
Humedad relativa (%)	Correlación de Pearson Sig. (bilateral)	,355 ,314	,793** ,006			

^{*.} La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

Interpretación de datos

En la leche condensada almacenada en el área de prefabricados el pH y los mesófilos presentaron una correlación moderada negativa a un nivel de significancia del 0,05, mientras que la correlación del pH con el crecimiento de mohos y levaduras fue nula. En cuanto a los sólidos solubles totales, estos se correlacionaron de manera fuerte y negativa con los mesófilos a un nivel de significancia del 1%, mientras que con los mohos y las levaduras la correlación fue baja y no significativa. La temperatura de la leche condensada y el crecimiento de

^{**.} La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

mesófilos presentaron una correlación moderada negativa (-0,651) con un nivel de significancia del 5%.

Las variables analizadas presentaron una correlación débil en su mayoría de dirección negativa con el crecimiento de mohos y levaduras sin significancia. La correlación del crecimiento de mesófilos con la temperatura de almacenamiento fue nula (-0,037), siendo no significativa.

La temperatura de almacenamiento y la humedad relativa se correlacionaron con el crecimiento de mohos y levaduras en la leche condensada presentando un coeficiente de correlación de -0,770 y 0,793 respectivamente. Las correlaciones fueron fuertes y tuvieron un nivel de significancia de 1%.

7.5. ANÁLISIS DE REGRESIÓN MÚLTIPLE

El análisis de correlaciones bivariantes permitió formar modelos que sólo integraron las variables que presentaron significancia, para aplicar el análisis de regresión múltiple y determinar si estas variables influyeron en el crecimiento microbiano tanto en la gelatina como en la leche condesada.

En la tabla 26 se muestran los cuatro modelos planteados para el análisis de regresión de la gelatina correspondientes a las dos áreas de almacenamiento, cocimiento blandos y cuarto frio y las variables dependientes e independientes establecidas por el análisis de correlaciones.

Tabla 26. Modelos de regresión para el análisis de la gelatina.

Área	Modelo	Variable dependiente	Variable independiente
Cocimiento blandos	1	Aerobios mesófilos	pH – Temperatura gelatina
	2	Coliformes totales	pH – Tiempo de almacenamiento
	3	Mohos y levaduras	pH – Temperatura gelatina –
			tiempo de almacenamiento
Cuarto frio	4	Aerobios mesófilos	pH – Tiempo de almacenamiento

En la tabla 27 se presenta el resumen de los datos estadísticos que se obtuvieron de cada uno de los modelos de la gelatina mediante el análisis de regresión.

Tabla 27. Resumen de los datos estadísticos obtenidos de cada uno de los modelos planteados para la gelatina.

	Resumen de los modelos							
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación				
1	,966	,933	,911	,75688				
2	,960	,922	,895	,96264				
3	,984	,968	,949	,69851				
4 ^a	,907	,823	,773	,54575				

a. Modelo establecido para la gelatina en cuarto frio

La correlación (R) de los 4 modelos planteados para la gelatina fue cercana a 1, lo que indicó la alta relación entre las variables planteadas como independientes sobre la variable dependiente, en este caso el crecimiento microbiano. El valor R cuadrado indicó el porcentaje de la variación de una variable debida a la variación de la otra y viceversa (Barón y Téllez, 2004), el valor R cuadrado para el modelo 1, demostró que las variables independientes explicaron el 93% de las variaciones en la variable dependiente, en este caso, el crecimiento de mesófilos en la gelatina almacenada en cocimientos blandos se vio altamente favorecido por el pH y la temperatura de la gelatina. El modelo 2 presentó un R² de 92,2%, es decir que el rápido crecimiento de coliformes en la gelatina se debió a su pH y al tiempo de almacenamiento en el área de cocimientos blandos. El modelo 3 tiene como variable dependiente a los mohos y las levaduras, presentando un R cuadrado que explicó el 96% del crecimiento fúngico en la gelatina beneficiado por el pH y la temperatura interna del producto además de su tiempo de almacenamiento en cocimientos blandos. Las variables independientes planteadas en el modelo 4 para la gelatina en cuarto frio explicaron el 82,3% del crecimiento de los mesófilos en el producto.

En la tabla 28 se muestra el análisis de varianza (ANOVA) que permitió establecer la validez de los modelos planteados para la gelatina, según el nivel de significancia.

Tabla 28. Análisis de varianza (ANOVA) obtenido de cada uno de los modelos establecidos para la gelatina

	•	ANO	VA			
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	47,979	2	23,990	41,876	,000
	Residual	3,437	6	,573		
	Total	51,417	8			
2	Regresión	65,352	2	32,676	35,262	,000
	Residual	5,560	6	,927		
	Total	70,912	8			
3	Regresión	74,514	3	24,838	50,906	,000
	Residual	2,440	5	,488		
	Total	76,953	8			
4	Regresión	9,721	2	4,860	16,319	,002
	Residual	2,085	7	,298		
	Total	11,806	9			

Como se ve en la tabla los modelos se mostraron claramente válidos para representar los datos. El valor de significancia obtenido (p=,000) indicó que la probabilidad de que el conjuntos de variables predictoras establecidas no fuera suficiente para aportar explicación de los valores predichos de Y es nula (Barón y Téllez, 2004). Es decir que el crecimiento bacteriano se explicó significativamente por el conjunto de variables seleccionadas como independientes al presentar un p=,000.

En la tabla 29 se presentan los coeficientes de los modelos establecidos para la gelatina que explica el grado de relación entre cada uno de las variables dependientes e independientes estipuladas.

Tabla 29. Coeficientes de cada uno de los modelos establecidos para la gelatina.

Coeficientes							
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados			
		В	Error típ.	Beta	t	Sig.	
1	(Constante)	22,340	7,341		3,043	,023	
	pH gelatina	-4,186	,946	-,690	-4,427	,004	
	Temperatura del producto (°C)	,191	,088	,338	2,170	,073	
2	(Constante)	,520	22,610		,023	,982	
	pH gelatina	-,126	3,668	-,018	-,034	,974	
	Tiempo de almacenamiento (min)	,002	,001	,943	1,832	,117	
3	(Constante)	27,562	17,855		1,544	,183	
	pH gelatina	-4,659	2,787	-,627	-1,672	,155	
	Tiempo de almacenamiento (min)	,000	,001	,294	,817	,451	
	Temperatura del producto (°C)	,062	,081	,090	,767	,478	
4	(Constante)	-11,796	30,861		-,382	,714	
	pH gelatina	1,896	4,932	,259	,384	,712	
	tiempo de almacenamiento (min)	,000	,000	1,157	1,715	,130	

El coeficiente beta permitió determinar cuál fue la variable explicativa que tuvo mayor peso para la variable dependiente. En este caso la que mayor peso tuvo en el modelo 1 fue el pH de la gelatina seguido de la temperatura del producto, siendo esta variable la que más influyó en el crecimiento de los mesófilos en la gelatina con un nivel de significancia de 0,04. La relación entre el pH y el crecimiento bacteriano fue negativo, es decir que cuando el pH disminuyó, la concentración de mesófilos tendió a aumentar y viceversa, mientras que la relación con la temperatura fue proporcional, cuando aumentó la temperatura aumentó la carga bacteriana en la gelatina.

En el modelo 2 el tiempo de almacenamiento influyó sobre el crecimiento de los coliformes en la gelatina que fue en aumento a medida que se extendió el tiempo de almacenamiento. Mientras que el pH tuvo poco peso en relación al crecimiento microbiano y su dirección fue negativa, cuanto más disminuyó el pH mayor fue la carga bacteriana. En el modelo 3 el pH fue la variable que más influyó en la aparición de mohos y levaduras en la gelatina, seguido del tiempo de almacenamiento y la temperatura del producto. En el modelo 4 el tiempo de almacenamiento fue la variable que más influyó en el crecimiento de mesófilos en la gelatina que se almacenó en cuarto frio. En las correlaciones las significancias de cada uno de las variables de los modelos no fueron significativas al ser mayores a 0,05, exceptuando el pH en el modelo 1.

En la tabla 30 se muestran los dos modelos planteados para el análisis de regresión de la leche condensada correspondientes a las dos áreas de almacenamiento, prefabricados y cuarto frio y las variables dependientes e independientes establecidas por el análisis de correlaciones.

Tabla 30. Modelos para el análisis de regresión de la leche condensada.

Área	Modelo	Variable dependiente	Variable independiente		
Prefabricados	1	Aerobios mesófilos	pH – Sólidos solubles totales		
Cuarto frio	2	Mohos y levaduras	Temperatura de almacenamiento Humedad relativa		

En la tabla 31 se presenta el resumen de los datos estadísticos que se obtuvieron de cada uno de los modelos de la leche condensada mediante el análisis de regresión.

Tabla 31. Resumen de los datos estadísticos obtenidos de cada uno de los modelos planteados para la leche condensada.

Resumen del modelo						
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación		
1	,800	,640	,575	,65647		
2	,881	,777	,713	,54442		

La correlación de los 2 modelos planteados para la leche condensada fue cercano a 1, pero el R cuadrado indicó que la variación de la variable dependiente (mesófilos y mohos y levaduras) solo fue explicada en un 64% para el modelo 1 y en un 77,7% para el modelo 2. Es decir que las variables independientes planteadas se relacionaron con el crecimiento microbiano pero no pudieron explicar su comportamiento completamente.

En la tabla 32 se muestra el análisis de varianza (ANOVA) que permitió establecer la validez de los modelos planteados para la leche condensada, según el nivel de significancia.

Tabla 32. Análisis de varianza (ANOVA) obtenido de cada uno de los modelos establecidos para la leche condensada.

ANOVA							
Modelo)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
1	Regresión	8,443	2	4,222	9,796	,004	
	Residual	4,740	11	,431			
	Total	13,184	13				
2	Regresión	7,216	2	3,608	12,172	,005	
	Residual	2,075	7	,296			
	Total	9,290	9				

Como se ve en la tabla los modelos se mostraron válidos para representar los datos, ya que el valor de significancia para cada modelo fue menor e igual a 0,05.

Es decir que una parte del crecimiento bacteriano se explicó por el conjunto de variables seleccionadas.

En la tabla 33 se presentan los coeficientes de los modelos establecidos para la leche condensada (tabla 30) que explica el grado de relación entre cada uno de las variables dependientes e independientes estipuladas.

Tabla 33. Coeficientes de cada uno de los modelos establecidos para la leche condensada.

Coeficientes						
		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados		
Modelo		В	Error típ.	Beta	t	Sig.
1	(Constante)	31,908	11,630		2,744	,019
	Solidos solubles (°Brix)	-,359	,112	-,762	-3,197	,009
	pH leche condensada	-,587	2,462	-,057	-,238	,816
2	(Constante)	,431	4,466		,097	,926
	Temperatura de almacenamiento (°C)	-,946	,440	-,469	-2,151	,069
	Humedad relativa (%)	,083	,034	,524	2,405	,047

El coeficiente beta indicó para el modelo 1 que los sólidos solubles totales tuvieron mayor influencia en el crecimiento de los mesófilos en la leche condensada almacenada en el área de prefabricados, mientras que la influencia del pH sobre el crecimiento de los mesófilos fue muy débil, aun así las dos variables presentaron una relación negativa con el crecimiento bacteriano, es decir que cuando la variable disminuyó, la carga de mesófilos tendió a aumentar. En el modelo 2 la variable que mayor importancia tuvo sobre la variable dependiente fue la humedad relativa, presentando una relación positiva, es decir que cuando la humedad relativa aumento, los mohos y las levaduras presentaron un mayor crecimiento, la temperatura de almacenamiento también ejerció influencia pero en menor proporción sobre el crecimiento de mohos y levaduras en la leche condensada almacenada en cuarto frio, cuando esta aumentó el crecimiento fúngico disminuyó. Ninguno de las relaciones fueron significativas, algo que se esperó teniendo en cuenta que los modelos no responden completamente a determinar las variables que influenciaron el crecimiento microbiano.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La determinación de la vida útil a tiempo real evaluó el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre las propiedades microbiológicas y fisicoquímicas de la leche condensada y la gelatina durante diez días. Se evaluaron las tres temperaturas de almacenamiento a las que se ven sometidos los dos subproductos; la vida útil de la gelatina se estimó en el área de cocimientos blandos donde es mantenida por cortos periodos de tiempo, pero expuesta a las condiciones ambientales propias del área y a manipulación frecuente, también se estimó su vida útil en cuarto frio, donde es almacenada por periodos más largos de tiempo. La leche condensada también se evaluó durante su almacenamiento en cuarto frio, porque es la medida de control que se maneja para su conservación y en el área de prefabricados donde es almacenada por cortos periodos de tiempo.

La vida útil a tiempo real se estimó según el microorganismo indicador que superó el límite establecido por la NTC que reglamenta cada subproducto. Para la gelatina la NTC que establece los requisitos microbiológicos es la NTC 1529 y para la leche condensada la NTC 879, las dos aún vigentes. Los parámetros fisicoquímicos utilizados fueron los establecidos internamente por el área de investigación y desarrollo de la compañía.

En los análisis fisicoquímicos de la gelatina en el área de cocimiento blandos se observó la disminución de su pH (6,2; pH inicial) durante el tiempo de almacenamiento, alcanzando el rango inferior (5,0) a los 5400 minutos (90 horas) de almacenamiento. La temperatura de la gelatina (17°C; T° inicial) alcanzó los 31°C durante el periodo de almacenamiento. La temperatura de la gelatina presentó un aumento gradual a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento debido a la temperatura ambiente que presentó el área, la cual varío entre un rango de 38°C – 40°C. La humedad relativa y la temperatura tienen una relación inversamente proporcional, por ello cuando la temperatura aumentó el % de humedad relativa disminuyó (Restrepo y Montoya, 2010). En la tabla 7 se pudo observar la disminución y el aumento del pH y la temperatura, respectivamente.

El pH es un factor intrínseco del alimento que influye en el crecimiento microbiano. La mayoría de las bacterias presenta un pH óptimo entre 6,5 a 7,5, mientras que los mohos y las levaduras son capaces de crecer a pH más bajos (4,5 – 6,8) (Carrillo y Reyes, 2013). El rango de pH que presentó la gelatina almacenada en cocimientos blandos la hace susceptible al deterioro por bacterias. Además, la temperatura interna que alcanzó el producto (31°C) es propicio para el crecimiento de microorganismo mesófilos que son capaces de crecer en un rango de temperatura entre 15 – 45°C, con un óptimo de 35°C, siendo la mínima de 15 a 20° y la máxima de 45°C (Alonso y Poveda, 2008). La temperatura ambiente que

presentó el área de cocimientos blandos también favoreció el crecimiento microbiano, al ser el rango de temperatura tan alto, la gelatina comenzó a perder su propiedad gelificante, lo que contribuyó al aumento de su A_w (GME, 2016).La humedad relativa influye directamente en la actividad de agua del alimento. La humedad relativa óptima para las bacterias es de 92%, mientras que las levaduras prefieren valores de 90% y los mohos prosperan a una humedad relativa entre 85% y 90% (Prats, 2008). Aunque en el área de cocimientos blandos no se alcanzan estos valores, la humedad relativa del ambiente puede provocar la condensación de la humedad de la gelatina, haciéndola más susceptible al deterioro microbiano (Rodríguez, 2010).

Las condiciones favorables que presentó el área de cocimientos blandos, permitió el rápido crecimiento de mesófilos, coliformes y mohos y levaduras en la gelatina almacenada durante los diez días de estudio. El crecimiento de mesófilos y mohos y levaduras se evidenció a las 8 horas de almacenamiento (480 minutos), mientras que los coliformes proliferaron en la gelatina a las 18 horas de almacenamiento con una concentración de 2,0x10² UFC/g. La concentración de mesófilos superó el parámetro establecido por la NTC 1629 de 5,0x10³ UFC/g antes de las 18 horas de almacenamiento, pues en este tiempo la concentración ya había alcanzado 2,3x10⁴ UFC/g. Los mohos y las levaduras también superaron el límite permitido por la NTC antes de las 18 horas de almacenamiento, tiempo en el cual alcanzaron los 4,9x10² UFC/g.

La gelatina presentó enmohecimiento en la superficie, luego de los diez días de almacenamiento en el área de cocimientos blandos, lo que indicó el aumento de la humedad en el producto mediada por la temperatura y la humedad relativa en el ambiente del área.

El pH de la gelatina almacenada por 12 horas en cocimientos blandos, no presentó mayores variaciones, y se mantuvo constante mientras que la temperatura del producto alcanzó rápidamente los 32°C. La temperatura ambiente se mantuvo en el mismo rango de temperatura presentado en el ensayo de la gelatina almacenada en cocimientos por 10 días, igualmente ocurre con la humedad relativa. En este ensayo la gelatina se mantuvo en las condiciones en las que es mantenida habitualmente, es decir se sacó del recipiente que la contenía y se dejó expuesta al ambiente, por ello, el aumento de la temperatura alcanzó los 31°C luego de 12 horas de almacenamiento, temperatura que alcanzó la gelatina en el primer ensayo a las 66 horas de almacenamiento, debido a que esta se mantuvo dentro del recipiente abierto quedando sólo la superficie expuesta al ambiente (ver anexos). También se permitió que el operario del área fuese el que sacara la gelatina como lo haría cotidianamente.

En la gelatina almacenada por 12 horas se evidenció el crecimiento de mesófilos y coliformes totales pero no de mohos y levaduras, aunque en el ensayo de 10 días la gelatina almacenada en cocimientos blandos si presentó crecimiento fúngico. Lo

anterior se debe al tiempo de almacenamiento establecido (12 horas), ya que el crecimiento fúngico se logró observar a las 18 horas de almacenamiento al igual que el crecimiento de mesófilos durante el ensayo de 10 días, pero los hongos tienen un crecimiento más lento que la mayoría de las bacterias (Prats, 2008), por ello la ausencia de su crecimiento.

En la figura 2 se observó la curva de crecimiento de los aerobios mesófilos y los coliformes totales. La concentración de mesófilos no superó el límite establecido por la NTC 1629 durante las 12 horas de almacenamiento, lo que sugiere que el tiempo estimado en el que su concentración en la gelatina superó el parámetro establecido por la NTC se produjo entre las 12 y 18 horas de almacenamiento. Los coliformes superaron el límite control en el tiempo 0 con una concentración de 7,0x10¹ UFC/g, resultado que contrasto con el obtenido en la gelatina almacenada por 10 días en cocimiento blandos donde el crecimiento de coliformes se evidenció a las 18 horas de almacenamiento con una concentración de 2,0x10² UFC/g. Lo anterior, pudo deberse a la manipulación de la gelatina por parte del operario al sacarla del recipiente que la contenía ya que su presencia en los alimentos, al ser residentes naturales en el suelo y el agua, son un índice de deficiencias sanitarias por falta de higiene de los manipuladores o mala calidad higiénica en los procesos (Perdomo *et al.*, 2001).

Aunque la NTC no establece un parámetro para los coliformes se usó el parámetro interno planteado por el área de control de calidad de la compañía de <10 UFC/g, para la gelatina y la leche condensada.

El pH de la gelatina almacenada en cuarto frio también tendió a disminuir pero no de forma significativa manteniéndose dentro del rango establecido 5,0 -6,5 durante los diez días de almacenamiento, alcanzando un valor de 5,8. La temperatura de la gelatina varío entre 5°C y 7°C, comportamiento que se pudo observar en la tabla 8. La temperatura ambiente del cuarto frio también varío entre 5°C – 7°C y debido a que las temperaturas fueron bajas en el cuarto frio, el porcentaje de humedad relativa fue elevado (64 – 82%), lo que favoreció el crecimiento de los microorganismos. En la gelatina en cuarto frio solo se evidenció el crecimiento de mesófilos, cuya curva de crecimiento se representó en la figura 3. El cual se mantuvo en una unidad logarítmica durante la mayor parte de tiempo de almacenamiento sin superar el límite establecido en la NTC, alcanzando a los 10 días de almacenamiento 6,0x10² UFC/g.

La leche condensada almacenada en el área de prefabricados presentó una disminución del pH y de los sólidos solubles totales. El pH en la leche condensada superó el rango establecido a los 8 días (11520 minutos), y el rango establecido para los sólidos solubles totales a las 18 horas (1080 minutos) de almacenamiento, alcanzando los 67 °Brix al finalizar el periodo de almacenamiento. La temperatura de la leche condensada disminuyó las primeras 8 horas de almacenamiento hasta que alcanzó los 32°C, a partir de este tiempo la temperatura varío entre los 31°C a 32°C, valores que estuvieron dentro del rango

de variación de la temperatura ambiente (31°C – 35°C). El valor más alto de humedad relativa que se registró en el área de prefabricados fue de 52%. En la tabla 10 se puede evidenciar la disminución del pH y los sólidos solubles totales.

En la tabla 11 se observó la disminución del pH y los sólidos solubles totales de la leche condensada almacenada en cuarto frio. El pH aunque disminuyó se mantuvo dentro del rango establecido, alcanzándolo a los 10 días (12960 minutos) de almacenamiento, mientras que los sólidos solubles totales si superaron el rango establecido entre las 24 y 48 horas (1440 – 2880 minutos) de almacenamiento. La temperatura de la leche varío en un rango de 6,1°C – 7,8°C.

La leche condensada puede presentar un cambio en su viscosidad por un fenómeno conocido como espesamiento por almacenamiento prolongado, se presenta durante el almacenamiento y como consecuencia, el pH sufre una disminución, sin embargo, puede ser interrumpido por agitación (Rodríguez y Vélez, 2012). En la leche condensada también se presenta la precipitación del azúcar que se manifiesta como un depósito de cristales en el fondo del recipiente que contiene la leche condesada y que se evidenció en este estudio y ocurre cuando el producto ha sido refrigerado en condiciones inadecuadas, posee una viscosidad muy baja o se ha almacenado a altas temperaturas (Gómez y Alava, 2013), como en el caso de la leche condensada almacenada en prefabricados.

Tanto en la leche condensada almacenada en cuarto frio como en la que se almacenó en el área de prefabricados solo se presentó el crecimiento de mesófilos y mohos y levaduras. En la figura 4 se observó la curva de crecimiento de los mesófilos y mohos y levaduras que proliferaron en la leche condensada almacenada en el área de prefabricados, en la cual se evidenció que la concentración de mesófilos superó el límite establecido por la NTC, con una concentración de 2,0x10⁴ UFC/g, a las 42 horas (2520 minutos) de almacenamiento, mientras que los mohos y levaduras superaron el parámetro establecido por la NTC 879 antes de las 42 horas, pues en este tiempo su concentración fue de 1.33x10⁴.

La figura 5 muestra la curva de crecimiento de los mesófilos y mohos y levaduras que proliferaron en la leche almacenada en cuarto frio. Los mesófilos en las condiciones del cuarto frio crecieron muy lentamente, ya que su crecimiento permaneció en 1 unidad logarítmica, por lo cual durante el tiempo de almacenamiento no superó el límite establecido por la NTC 879 para la leche condensada (2,0x10⁴ UFC/g). Este comportamiento fue similar al de los mesófilos de la gelatina almacenada en cuarto frio.

El almacenamiento a temperaturas entre 0 y 7°C favorece el crecimiento de las bacterias psicrotróficas, estas se relacionan con el deterioro en alimentos refrigerados porque aunque sus velocidades de crecimiento son lentas, los periodos de almacenamiento son muy prolongados. A bajas temperatura las rutas

metabólicas de los microorganismos se ven alteradas, como consecuencia de su adaptación al frío. Estos cambios metabólicos pueden dar lugar a que se produzcan deterioros en el producto (Andino y Castillo, 2010). No se puede aseverar que el crecimiento bacteriano corresponde a este tipo de bacterias. Los mesófilos son un indicador importante en alimentos frescos, refrigerados y congelados, en lácteos y en alimentos listos para consumir. Su determinación indica el grado de contaminación de una muestra y las condiciones que han favorecido o reducido la carga microbiana (Restrepo y Montoya, 2010). Aunque su temperatura óptima de crecimiento es de 35°C pueden crecer a temperaturas inferiores a esta, solo que la velocidad de crecimiento disminuye y los periodos de latencia son más largos, por ello no muestran un crecimiento apreciable, cuando las temperaturas de refrigeración son correctas, pues si la temperatura no es controlada rigurosamente puede producirse su desarrollo rápidamente (Andino y Castillo, 2010).

La concentración de mohos y levaduras superó el límite máximo permitido por la NTC 879 de 2,0x10², a las 72 horas (4320 minutos) de almacenamiento. Pero su concentración sufrió una disminución drástica a las 96 horas de almacenamiento, situación similar ocurrió con la concentración de los mohos y las levaduras de la leche condensada almacenada en prefabricados, pues cuando alcanzó las 96 horas de almacenamiento, su crecimiento disminuyó drásticamente a una concentración de <100 UFC/g. La disminución del pH de la leche condensada no pudo ser la causa de esto, pues los mohos y levaduras crecen a pH bajos. Los mohos y las levaduras fermentan azúcares y la leche condensada es rica en ellos, por lo cual su crecimiento es factible en este producto (Restrepo y Montoya, 2010).

Las condiciones necesarias para que los mohos y levaduras crezcan son la existencia de esporas, una base nutriente, humedad y temperatura entre 4° C y 38° C, condiciones que reúnen el área de prefabricados y el cuarto frio donde la temperatura osciló entre los $32-35^{\circ}$ C y $5-6^{\circ}$ C, respectivamente, la humedad relativa alcanzó 52% en prefabricados y 82% en cuarto frio (Alonso y Poveda, 2008). Además, en la leche condensada el crecimiento de levaduras fue más predominante que el de los mohos y estas poseen determinadas características particulares que les permiten crecer y contaminar alimentos de origen lácteo, entre ellas están la fermentación/asimilación de la lactosa, producción de enzimas proteolíticas extracelulares, asimilación de ácido láctico y cítrico, crecimiento a bajas temperaturas y halotolerancia (Restrepo y Montoya, 2010). Además, los mohos se desarrollan en sustratos, como la leche condensada, con concentraciones de azúcares que las bacterias no pueden tolerar, ya que no son tan sensibles a la presión osmótica elevada (Andino y Castillo, 2010).

Durante el ensayo la técnica de recuento en placa por superficie en medio Sabouraud utilizada en el conteo de mohos y levaduras se cambió por el método de conteo en placa Petrifilm YM empleada para mohos y levaduras, en las cuales no se evidenció crecimiento fúngico. Ya que los medios de cultivo empleados son

utilizados comúnmente para el cultivo y recuento de mohos y levaduras no se consideran como una causa del declive en el crecimiento fúngico. Por lo anterior, se deben repetir los ensayos de la leche condensada almacenada en cuatro frio y prefabricados para tener una mayor confiabilidad en los resultados.

No se evidenció crecimiento de coliformes totales en la gelatina y en la leche condensada almacenada en cuarto frio, ya que su temperatura óptima de crecimiento es de 35 – 37°C, las bajas temperaturas limitaron su crecimiento (Restrepo y Montoya, 2010). Tampoco se presentó el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*, lo que indicó que la manipulación durante la elaboración del producto se llevó a cabo bajo adecuadas medidas higiénicas (Alonso y Poveda, 2008).

Según el modelo de regresión múltiple aplicado a los datos, los modelos planteados a partir del análisis de correlaciones son válidos para representar los datos tanto para la gelatina (tabla 24) como para la leche condensada (tabla 25), pero no son significativos ya que no responden por completo en determinar las variables que influenciaron el crecimiento microbiano.

En el modelo 1, el pH es la variable que más influyó en el crecimiento de los mesófilos en la gelatina con un nivel de significancia de 0,04. La relación entre el pH y el crecimiento bacteriano fue inversamente proporcional, es decir que cuando el pH disminuyó, la concentración de mesófilos tendió a aumentar y viceversa. Esta correlación fue la única significativa en los cuatro modelos. En el modelo 2 el tiempo de almacenamiento fue la variable que más influye sobre el crecimiento de los coliformes en la gelatina, que fue aumentando a medida que se extendió el tiempo de almacenamiento. En el modelo 3 el pH fue la variable que más influyó en la aparición de mohos y levaduras en la gelatina. En el modelo 4 el tiempo de almacenamiento fue la variable que más influyó en el crecimiento de mesófilos en la gelatina que se almaceno en cuarto frio.

Los modelos establecidos para la leche condensada no presentaron significancia en cuanto a las correlaciones de cada una de las variables. El modelo 1 indicó que los sólidos solubles totales tuvieron mayor influencia en el crecimiento de los mesófilos en la leche condensada almacenada en el área de prefabricados, siendo esta una relación negativa (inversamente proporcional). En el modelo 2 la humedad relativa del cuarto frio presentó una relación positiva (directamente proporcional) con el crecimiento fúngico, es decir, que cuando la humedad relativa aumentó, el crecimiento fúngico tendió a aumentar. En cuarto frio, el rango de humedad relativa fue de 64-82%.

Teniendo en cuenta el análisis de regresión, el pH y el tiempo de almacenamiento son las variables que más influyeron en el crecimiento microbiano que se presentó en la gelatina. Mientras que los sólidos solubles totales y la humedad relativa contribuyeron a la proliferación microbiana en la leche condensada. El pH de un alimento es uno de los principales factores que determinan la supervivencia y el

crecimiento de los microorganismos durante el procesado, el almacenaje y la distribución (Andino y Castillo, 2010). Los microrganismos son capaces de crecer en ambientes con diferente pH, razón por la que pueden encontrar en un alimento condiciones favorables para su desarrollo y descomponerlo o usarlo como vehículo para causar enfermedad en el consumidor (Carrillo y Reyes, 2013).

La vida útil de la gelatina y la leche condensada se estimó utilizando dos modelos predictivos; el modelo de Monod-Hinshelwood y el modelo SSO. El primero es un modelo que permite determinar la vida útil microbiológica final de un producto alimenticio por medio de los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano. El modelo de Monod-Hinshelwood predice el tiempo que tardará la población inicial de microorganismos en alcanzar los niveles tolerables de microorganismos en el alimento (González et al., 2016). El segundo modelo se basa en la estimación de la vida útil por medio del agente de deterioro específico (SSO), es decir el microorganismo que presente mayor predominio en una matriz alimentaria por periodos prolongados y que además este altamente correlacionado con el deterioro del alimento (Zhang et al., 2011).

En la tabla 22 se estimó el tiempo de vida útil para la gelatina según los dos modelos utilizados. El tiempo estimado para la gelatina almacenada en cocimientos blandos durante 12 horas según el modelo de Monod-Hinshelwood fue de 7, 16 horas, mientras que la vida útil para la gelatina según el modelo SSO fue de 12, 68 horas. La vida útil en tiempo real de la gelatina no se pudo establecer ya que luego de las 12 horas de almacenamiento el crecimiento de mesófilos no superó el límite establecido por la NTC.

Por medio del ensayo realizado con la gelatina almacenada en cocimiento blandos durante 12 horas y el ensayo realizado durante 10 días, (cuya estimación de vida útil en tiempo real se estableció entre las 8 y 18 horas de almacenamiento), se pudo determinar que la gelatina en cocimientos blandos realmente alcanzó su vida útil entre las 12 y 18 horas de almacenamiento. En la estimación obtenida con el modelo de Monod-Hinshelwood la vida útil fue de 13,33 horas y según el modelo SSO de 15,29 horas, por tanto la vida útil de la gelatina en cocimientos blandos se estimó en 13, 33 horas según modelo de Monod, al ser el tiempo más cercano al rango estimado (12 -18 horas) de la vida útil en tiempo real.

Para los coliformes totales, mediante el modelo de Monod-Hinshelwood se estimó la vida útil de la gelatina en 14,35 horas mientras que por el modelo SSO se estimó en 18, 77 horas, ya que la vida útil en tiempo real se estimó a las 18 horas, se aceptó la vida útil estimada por el modelo SSO. Para los mohos y las levaduras, los dos modelos estiman la vida útil a las 16 horas de almacenamiento. El rango de la vida útil en tiempo real fue estimado entre las 8 y 18 horas de almacenamiento por lo cual se aceptan los dos modelos para la gelatina.

La vida útil estimada para la gelatina en cuarto frio fue de más de 10 días, por lo cual ninguno de los modelos es válido pues considerá la vida útil en horas.

En cuanto a la leche condesada (tabla 23) la vida útil en tiempo real para mesófilos se planteó a las 42 horas de almacenamiento en prefabricados, por lo cual el tiempo de vida útil fue estimado en 33,09 horas según el modelo de Monod-Hinshelwood. Para mohos y levaduras la vida útil en tiempo real se estimó entre las 24 y 48 horas. Teniendo en cuenta que la concentración fúngica a las 24 horas fue de 1,0x10² UFC/ml y la norma establece una concentración límite de 2,0x10² UFC/ml, se aceptó el tiempo de vida útil estimado por el modelo SSO, de 30,2 horas. La vida útil en tiempo real de la leche condensada en cuarto frio se estimó para mesófilos en más de 10 días de almacenamiento y para mohos y levaduras en 72 horas. Para los mesófilos se estableció un tiempo de vida útil de 19,6 días según el modelo SSO y para mohos y levaduras se aceptó la vida útil estimada por Monod-Hinshelwood de 54,2 horas.

Ya que el indicador microbiológico que se presentó tanto en la leche condensada como en la gelatina almacenada durante diez días fueron aerobios mesófilos se estimó que la vida útil de los subproductos fue la que se estableció para estos microrganismos, ya que se consideró que fueron los que presentaron mayor predominio en los subproductos. Es decir, que la vida útil de la gelatina en cocimientos blandos se estimó en 13, 33 horas de almacenamiento y en cuarto frio la vida útil no se pudo estimar por los dos modelos. Mientras que para la leche condensada la vida útil fue de 33,09 horas almacenada en prefabricados y de 19,6 días en cuarto frio.

9. CONCLUSIONES

Se logró estimar la vida útil de la gelatina en cocimientos blandos pero no en cuarto frio por medio de los modelos predictivos de Monod-Hinshelwood y SSO. Debido a que el crecimiento microbiano en cuarto frio fue limitado, lo que indica que esta área presenta las condiciones adecuadas para mantener la estabilidad microbiana del producto durante su almacenamiento.

El área de cocimientos blandos no es adecuada para almacenar la gelatina por prolongados periodos de tiempo ya que presenta condiciones favorables para el crecimiento microbiano en el producto, como un elevado rango de temperatura. La gelatina almacenada en esta área fue la que presentó el crecimiento de los tres microorganismos indicadores estudiados.

La vida útil de la leche condensada almacenada en cuarto frio se estimó en 19 días siendo el producto que mayor tiempo de vida útil presentó y aunque puede verse afectada por ciertos fenómenos a causa del almacenamiento prolongado, como la precipitación de azucares estos pueden ser corregidos. Mientras que para la leche condensada en prefabricados se estima un tiempo de vida útil de 33 horas ya que el área no es adecuada para su almacenamiento.

El almacenamiento en cuarto frio fue el más adecuado para mantener la calidad de la leche condensada y la gelatina, pues en estas condiciones los coliformes totales no presentaron crecimiento y los mesófilos crecieron lentamente, ya que las bajas temperaturas disminuyen la velocidad de crecimiento de estos microorganismos.

A través del estudio en tiempo real se lograron realizar aproximaciones de periodos de tiempo dentro de los cuales los productos pudieran perder la vida útil, solo para la leche almacenada en prefabricados y en cuarto frio se estimó la vida útil a tiempo real, siendo de 42 horas para la leche almacenada en prefabricados mediada por el crecimiento de mesófilos y de 72 horas para la leche en cuarto frio mediada por el crecimiento fúngico.

El pH y el tiempo de almacenamiento fueron los factores que influyeron en el crecimiento microbiano en la gelatina, mientras que los sólidos solubles totales y la humedad relativa contribuyen a la proliferación microbiana en la leche condensada según el análisis estadístico establecido, aunque estos factores no explican por completo la relación con el crecimiento microbiano.

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar mínimo dos ensayos adicionales de estimación de la vida útil de la gelatina y la leche condensada en las mismas condiciones de almacenamiento planteadas en este estudio, utilizando como tiempo límite de almacenamiento las estimaciones de vida útil obtenidas mediante el modelo de Monod-Hinshelwood y SSO, lo anterior aumenta la confiabilidad de los resultados y disminuye tanto la variación como el error experimental.

En la realización de nuevos ensayos es necesario el uso de una sola técnica o método de recuento microbiano para evitar variaciones en los datos, se recomienda el uso de Placas Petrifilm que eliminan posibles errores en la preparación de medios de cultivo tradicionales, lo cual reduce la variación en los resultados y genera una mayor exactitud y consistencia en los resultados, minimizando el error aleatorio.

Se recomiendo el uso de métodos normalizados para el recuento bacteriano y fúngico que permitan el uso de medios de cultivo disponibles en el laboratorio, en caso de realizar los ensayos usando medios de cultivo.

Se recomienda el uso de los modelos predictivos para la estimación de la vida útil de los productos, ya que permiten predecir cómo será el crecimiento de un determinado microorganismo patógeno o deteriorante, bajo condiciones definidas, siendo una herramienta económica y rápida que predice la vida útil dentro de cierto rango de confiabilidad.

11.GLOSARIO

Almacenamiento: Acción de almacenar. En la industria alimentaria el almacenamiento adecuado mantiene seguro los alimentos, las dos formas en que se almacenan los alimentos más comúnmente son la refrigeración (alimentos perecederos) y el almacenamiento en seco (alimentos no perecederos).

Crecimiento microbiano: Se entiende por el aumento del número de microorganismos a lo largo del tiempo. Por tanto, no se refiere al crecimiento de un único microorganismo que se denomina ciclo celular, sino al demográfico de una población

Estudio en tiempo real: Estudio de la evolución del alimento en el tiempo, en condiciones reales de almacenamiento.

Factores extrínsecos: Son aquellos que se refieren a las condiciones de almacenaje de los alimentos y a las condiciones ambientales

Factores intrínsecos: Todos los que se refieren a las características físicoquímicas de los alimentos.

Humedad relativa: Es la relación entre la masa de agua o vapor de agua que existe en un determinado volumen y la cantidad de agua o vapor de agua necesaria para que se sature dicho volumen a la misma temperatura. Se expresa en porcentaje.

Microbiología predictiva: Aplicación de modelos matemáticos que permiten predecir la vida de anaquel de un producto, al conocer su composición y condiciones bajo las cuales se maneja

Modelo de Monod-Hinshelwood: Modelo matemático predictivo que permite determinar la vida útil microbiológica final de un producto alimenticio por medio de los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano.

Proliferación: Reproducción o multiplicación de algún organismo vivo, especialmente de las células.

Sólidos solubles totales: Cociente total de la sacarosa disuelta en 100 mililitros de una solución. Se determinan con el índice de refracción, el cual se expresa con los grados Brix.

SSO: Agente de deterioro específico, microorganismo que presente mayor predominio en una matriz alimentaria por periodos prolongados y que además este altamente correlacionado con el deterioro del alimento.

Vida útil: Periodo de tiempo, después de la elaboración y/o envasado y bajo determinadas condiciones de almacenamiento, en el que el alimento sigue siendo seguro y apropiado para su consumo.

12. BIBLIOGRAFÍA

ALONSO, L., POVEDA, J. Estudio Comparativo en Técnicas de Recuento Rápido en el Mercado y Placas Petrifilm 3M para el Análisis de Alimentos. Bogotá D.C. Trabajo de Grado (Microbiólogo Industrial). Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 2008. Disponible en: http://www.javeriana.edu.co

ANDINO, F., CASTILLO, Y. Microbiología de los alimentos; un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. Universidad Nacional de Ingeniera. Estelí, 2010. p.21-23. Disponible en: https://avdiaz.files.wordpress.com.

AOAC Official Method 990.12. Aerobic Plate Count in Foods. Dry Rehydratable Film (Petrifilm Aerobic Count Plate) Method. Association of Official Analytical Chemist (AOAC International). 2005. Disponible en: http://www.eoma.aoac.org

AOAC Official Method 991.14. Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods. Dry Rehydratable Film. (Petrifilm *E. coli*/Coliform Count Plate and Petrifilm Coliform Count Plate) Methods. Association of Official Analytical Chemist (AOAC International). 2005. Disponible en: http://www.eoma.aoac.org

AOAC Official Method 997.02. Yeast and Mold Counts in Foods. Dry Rehydratable Film Method (Petrifilm Method). Association of Official Analytical Chemist (AOAC International). 2005. Disponible en: http://www.eoma.aoac.org

AOAC Performance tested. Certificate No.010404. Nissui Compact Dry Total Count (NISSUI Pharmaceutical Co., Ltd). Performance Tested Methods. Association of Official Analytical Chemist (AOAC International). 2016. Disponible en: http://www.hyserve.com.

AOAC Performance tested. Certificate No.081001. Compact Dry X-SA (NISSUI Pharmaceutical Co., Ltd). Performance Tested Methods. Association of Official Analytical Chemist (AOAC International). 2016. Disponible en: http://www.hyserve.com.

ASTURIAS, C.R. Microbiología de predicción: una base de conocimiento para asegurar la calidad de los alimentos. Revista de la Universidad del Valle de Guatemala. Num.14. Guatemala, 2005. Disponible en: http://uvg.edu.gt.

BARÓN, F.J., TÉLLEZ, F. Apuntes de bioestadística. Departamento de Matemática aplicada. Universidad de Málaga, 2004. p. 42. Disponible en: https://www.bioestadistica.uma.es.

CARRILLO, M.L., REYES, A. Vida útil de los Alimentos. Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Vol.2, Núm. 3. México, 2013. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es.

CHAVARRIA M., M.L. Determinación del tiempo de vida útil de la leche de soya mediante un estudio de tiempo real. Seminario de Graduación (Tecnólogo en Alimentos). Programa de Especialización de Tecnología en Alimentos. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil- Ecuador, 2010. Disponible en: https://www.dspace.espol.edu.ec.

ENRÍQUEZ, M.G. Incidencia de la manipulación del proceso en la contaminación por mohos y levaduras en la gelatina postre con trozos de manzana (*Malus pumila*) en la ciudad de Ambato. Trabajo de Investigación (Ingeniería de Alimentos). Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador, 2010. p. 3. Disponible en: http://repo.uta.edu.ec.

3M FOOD SAFETY. Petrifilm *E.coli/coliform count plate*; interpretation guide. Canadá, 2014. Disponible en: http://multimedia.3m.com

3M FOOD SAFETY. Petrifilm *Aerobic count plate*; interpretation guide. Canadá, 2014. Disponible en: http://multimedia.3m.com

3M FOOD SAFETY. Petrifilm *Yeast and Mold count plate*; interpretation guide. Canadá, 2014. Disponible en: http://multimedia.3m.com

Gelatine Manufacturers of Europe - GME. (7 de Octubre de 2016). Gelatine Manufacturs of Europe. Obtenido de http://gelatine.org/en.html.

GIL H., A. Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los alimentos. Tomo II. 2a edición. Editorial Médica Panamericana. España, 2010. p.16.

GÓMEZ, M., ALAVA, C. Tecnología de Alimentos. Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogotá, 2013. p. 101-102. Disponible en: http://datateca.unad.edu.co.

GONZÁLEZ, R., ALTAMAR, Y., CASTRO, I. Obtención de Biopelículas conteniendo Extracto Acuoso de *Eucalyptus camaldulensis* y su Incidencia en la Vida Útil Microbiológica de Rodajas de *Carica papaya L.* Información Tecnológica. Vol.27 (2). Colombia, 2016. p. 61-66. Disponible en: http://www.scielo.cl.

GUTIÉRREZ B, M.E. Modelos sugeridos como herramientas para la microbiología predictiva. Trabajo de Grado (Maestría en gestión de la calidad con especialidad en inocuidad de alimentos). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, 2011. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt.

GUZMÁN, R., MOLINA, Y. Formulación de una mezcla en polvo para preparar postre de gelatina a base de almidón de maíz. Escuela de Ingeniería Química. ITCA. Salvador, 2013.p.11. Disponible en: http://www.redicces.org.sv.

ISO 21527-2 (INTERNATIONAL STANDARD). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs — Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95. First edition (2008-07-01). 2008. Disponible en: https://members.wto.org

McMEEKIN, T.A., ROSS, T. Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management. *Int. J Food Microbiol.* 78, 2002. p. 133–153. Disponible en: www.sciencedirect.com.

Nissui Pharmaceutical CO., LTD. Compact Dry TC; Para el recuento viable total. Japon, 2009. Disponible en: http://www.hyserve.com.

Nissui Pharmaceutical CO., LTD. Compact Dry X-SA; For *Staphylococcus aureus*. Japón, 2009. Disponible en: http://www.hyserve.com.

NTC 879 (Norma Técnica Colombiana). INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Productos Lácteos. Leche Condensada Azucarada (Concentrada). Segunda actualización. Bogotá (ICONTEC). 2001. Disponible en: http://www.icontec.org.

NTC 1629 (Norma Técnica Colombiana). INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Industrias Alimentarias; Gelatina. Segunda actualización. Bogotá (ICONTEC). 1981. Disponible en: http://www.icontec.org.

NTC 4092 (Norma Técnica Colombiana). INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Microbiología de Alimentos y Productos para Alimentación Animal. Requisitos Generales y Directrices para Análisis Microbiológicos. Primera actualización. Bogotá (ICONTEC). 2009. Disponible en: http://www.icontec.org.

NUÑEZ DE VILLAVICENCIO, M. Métodos de estimación de la vida útil de los alimentos. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. La Habana, Cuba. 2013. Disponible en: https://www.researchgate.net.

ÖZER, B. YAMAN, H. Microbiology of Liquid Milk. Elsevier. Ankara University, Turkey, 2014. p. 721-727. Disponible en: https://www.mysciencework.com.

PB Gelatins. Sobre la Gelatina. Tessenderlo Group [Actualización, 2016]. Disponible en http://www.pbgelatins.com/.

PERDOMO, H. CASANOVA, O.N. CIGANDA, V.S. Contaminación de agua subterránea con nitrato y coliformes en el litoral sudeste de Uruguay. Agrociencia. Vol 5. N°1. 2001. p.10. Disponible en: http://www.ainfo.inia.uy.

POSADA C, C.C. Recopilación de estudios de tiempos de vida útil de productos nuevos y ya existentes de la compañía de galletas Noel S.A.S. Informe de Práctica Empresarial (Ingeniería de Alimentos). Corporación Universitaria LaSallista. Facultad de Ingeniería. Caldas, 2011, 115p. Disponible en: http://repository.lasallista.edu.co.

PRATS, G. Microbiología Clínica. 1a. edición. Editorial Panamericana. Madrid, 2008.

RATTANABUMRUNG, O. SANGADKIT, V. SUPANIVATIN, P. THIPAYARAT, A. Kinetics of *E.coli* colony area expansion and color development in Chromocult Coliform Agar (CCA) under different incubation conditions. Procedia Engineering (32), 2012. p. 134 – 140. Disponible en: www.sciencedirect.com.

RESTREPO A, A.F., MONTOYA G, C.A. Implementación y diseño de procedimiento para determinación de vida útil de quesos frescos, chorizos frescos y aguas en bolsa. Trabajo de grado (Tecnólogo Químico). Facultad de Tecnologías, Escuela de Química. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira, 2010. Disponible en: http://repositorio.utp.edu.co.

RODRÍGUEZ, S.M. Pruebas de Vida útil y Diseño de Etiqueta para Néctares de Curuba (*Passiflora tripartita* var. *Mollissima*) y Gulupa (*Passiflora edulis* var. *edulis*). Trabajo final (Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos). Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C, 2010. Disponible en: http://www.bdigital.unal.edu.co.

RODRÍGUEZ, V., MAGRO, E. Bases de la alimentación humana. 1a edición. Editorial Netbiblo, S.L. España, 2008. p.49.

RODRÍGUEZ, M., VÉLEZ-RUIZ, J.F. Proceso de elaboración y propiedades fisicoquímicas de las leches condensada azucarada y evaporada. Departamento de Ingeniería Química; Alimentos y Ambiental, Fundación Universidad de las Américas Puebla. México, 2012. Disponible en: http://www.udlap.mx.

SANTIESTEBAN, N.A. LÓPEZ, A. Descripción e importancia de algunos modelos predictivos utilizados como herramienta para la conservación de alimentos. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos.No.2 – Vol.2. México, 2008. p.14-26. Disponible en: http://www.udlap.mx.

SANTOS, E., CASTRILLÓN, A., COSTA, A.M., RODRÍGUEZ, R. Determinación de la vida útil de un producto de cuarta grama: ensalada de vegetales envasada en atmósfera modificada. Instituto de Tecnologías Programa de Especialización en

Alimentos. Escuela Superior Politécnica del Litoral Ecuador, 2013. Disponible en: http://www.dspace.espol.edu.ec.

SANGADKIT, W. RATTANABUMRUNG, O. SUPANIVATIN, P. THIPAYARAT, A. Practical coliforms and Escherichia coli detection and enumeration for industrial food samples using low-cost digital microscopy. Procedia Engineering (32), 2012. p. 126 – 133. Disponible en: www.sciencedirect.com.

TOURNAS, V.H. KATSOUDAS, E. MIRACCO, E.J. Moulds, yeasts and aerobic plate counts in ginseng supplements. International Journal of Food Microbiology (108), 2006. p. 178–181. Disponible en: www.sciencedirect.com.

VALENCIA GARCÍA, F.E., MILLAN CARDONA, L.J., JARAMILLO GARCES, Y. Estimación de la Vida Útil Fisicoquímica, Sensorial e Instrumental de queso crema bajo en Calorías. Revista Lasallista de Investigación, vol. 5, núm. 1. Corporación Universitaria Lasallista. Antioquia, Colombia, 2008 pp. 28-33. Disponible en: http://www.scielo.org.co.

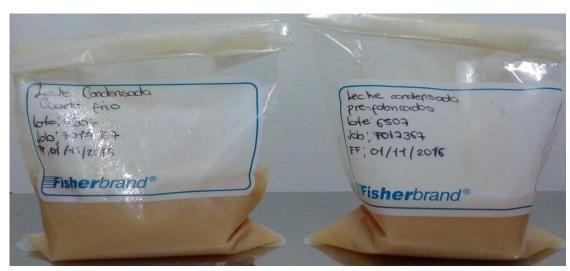
ZHANG, Y., MAO, Y., LI, K., DONG, P., LIANG, R., LUO, X. Models of *Pseudomonas* growth kinetics and shelf life in chilled *Longissimus dorsi* muscles of beef. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 24(5), 2011. p. 713 – 722. Disponible en: http://www.koreascience.or.kr.

13. ANEXOS

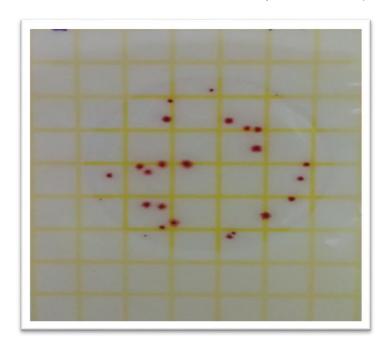
Anexo 1. Imagen de la gelatina almacenada en cuarto frio.



Anexo 2. Imagen de las muestras de leche condensada del área de prefabricados y cuarto frio



Anexo 3. Imagen del crecimiento de aerobios mesófilos en placa Petrifilm (mesófilos de la leche condensada almacenada en prefabricados)



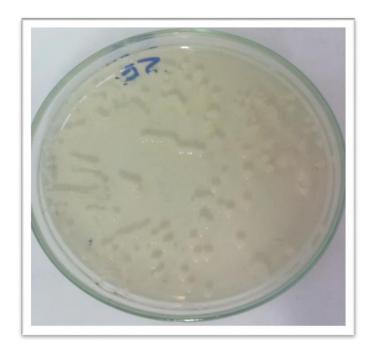
Anexo 4. Imagen del crecimiento de aerobios mesófilos en placas Compact Dry



Anexo 5. Imagen del crecimiento de mohos y levaduras en placa Petrifilm.



Anexo 6. Imagen del crecimiento de mohos y levaduras en medio Sabouraud.



Anexo 7. Imagen del crecimiento de coliformes en medio Chromocult



Anexo 8. Imagen del enmohecimiento en la superficie de la gelatina almacenada en cocimientos blandos por 10 días.

