



# **UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN SISTEMAS DE GESTIÓN DE LA CALIDAD E  
INOCUIDAD DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

**MEDIDAS PREVENTIVAS PARA CONTROLAR EL DESARROLLO  
DE LAS BACTERIAS PSICRÓTROFAS EN LECHE REFRIGERADA  
DE P&D ANDINA ALIMENTOS S.A.**

## **TESIS**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA EN  
SISTEMAS DE GESTIÓN DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DE LA  
INDUSTRIA ALIMENTARIA**

## **AUTOR**

**ROMERO BRICEÑO, JENY**

**(ORCID: 0000-0001-7940-9105)**

## **ASESOR**

**PORRAS LÓPEZ, GRACIELA MARBETTY**

**(ORCID: 0000-0003-2720-0750)**

**Lima, Perú**

**2023**

## **Metadatos Complementarios**

### **Datos de autor**

Romero Briceño, Jeny

Tipo de documento de identidad del AUTOR: DNI

Número de documento de identidad del AUTOR: 40210757

### **Datos de asesor**

Porras López, Graciela Marbetty

Tipo de documento de identidad del ASESOR: DNI

Número de documento de identidad del ASESOR: 43354966

### **Datos del jurado**

JURADO 1: Foy Valencia, Enzo Carol, DNI N°07006149, ORCID 0000-0001-7591-813X

JURADO 2: Tabacchi Bolívar Dalinda Patricia, DNI N°25508227, ORCID 0000-0002-2394-0156

JURADO 3: Agurto Saénz, Tomás, DNI N°07207844, ORCID 0000-0001-5186-9265

### **Datos de la investigación**

Campo del conocimiento OCDE: 721037

Código del Programa: 2.11.01

## Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi familia por su apoyo constante en cada etapa de mi vida y mis estudios.

## Agradecimiento

A mi asesor por el apoyo brindado , a mi profesor Yuri Torres por la orientación para la realización de este trabajo, por el tiempo dedicado y los conocimientos brindados.

A mis amigos y compañeros de trabajo que me apoyaron e hicieron posible que este trabajo se realice con éxito.

A mi familia por acompañarme en cada etapa de mi vida.

## Índice de contenido

Página del jurado .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Dedicatoria.....	iii
Agradecimiento.....	iv
Índice de tablas y figura.....	viii
RESUMEN .....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1. Descripción del problema .....	2
1.2. Formulación del Problema: .....	7
1.2.1 Problema general .....	7
1.2.2 Problemas específicos.....	7
1.3 Importancia y Justificación del estudio:.....	7
1.4 Delimitación del estudio.....	8
1.5 Objetivos de la investigación .....	8
1.5.1 Objetivo General.....	8
1.5.2 Objetivo Especifico.....	9
CAPITULO II: MARCO TEORICO .....	10
2.1. Marco histórico .....	10
2.2 Investigaciones relacionadas con el tema.....	11
2.3 Estructura teórica y científica que sustenta el estudio (teorías, modelos).....	14
2.4 Definición de términos básicos .....	19
2.5 Fundamentos teóricos que sustenta a las hipótesis (figuras, o mapas conceptuales) .....	20
2.6 Hipótesis:.....	23
2.6.1 Hipótesis general.....	23
2.6.2 Hipótesis específicas.....	23
2.7 Variables (definición y operacionalización de variables: Dimensiones e indicadores) .....	24
CAPITULO III: MARCO METODOLOGICO.....	25

3.1 Tipo, método y diseño de la investigación .....	25
3.2 Población y muestra (escenario de estudio) .....	25
3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos (validez y confiabilidad) .....	27
3.4 Descripción de procedimientos de análisis .....	28
4.1 Resultados .....	35
4.1.1 Diagnostico situacional .....	35
a. Reclamos presentados en Leche UHT .....	35
b. Tendencia de los reclamos de Leche UHT .....	36
c. Análisis de causa de la presencia de grumos (coagulación dulce) en leche UHT	38
d. Elaboración de Leche UHT .....	40
e. Recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda: .....	41
f. Recuento de bacterias aerobios mesofilos en leche cruda: .....	42
g. Temperatura de recepción de leche cruda .....	44
h. Temperatura de almacenamiento de leche pasteurizada .....	46
i. Recuento de bacterias psicrotrofas en leche pasteurizada .....	47
j. Recuento de aerobios mesofilos en leche pasteurizada .....	48
k. Recuento microbiológico de agua de enjuague en tanques de almacenamiento	48
1. Limpieza CIP del tanque de almacenamiento .....	49
4.1.2 Acciones tomadas .....	52
a. Aplicación de cultivos protectores en leche cruda .....	52
b. Limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento .....	53
4.2 Análisis de resultados .....	60
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	68
Conclusiones .....	68
Recomendaciones .....	70
REFERENCIAS .....	72
ANEXOS .....	75
1. Declaración de Autenticidad .....	75
2. Autorización de consentimiento para realizar la investigación .....	77

3. Matriz de consistencia .....	78
4. Ficha técnica del Cultivo protector .....	83
5. Certificado de Calidad: Cultivo protector LYOFAST.....	85
6. Ficha técnica de NEOSEP .....	86
7. Ficha técnica de NEOACID .....	88
8. Ficha técnica de Acido peracetico .....	89
9. Asistencia de capacitación del personal .....	91
10.Registros de limpieza y desinfección de tanques de almacenamiento.....	92

## Índice de tablas y figura

Tabla 01 :Control de aplicación de cultivos protectores .....	28
Tabla 02: Recuento de Bacterias psicrotrofas en leche cruda (muestra inicial).....	28
Tabla 03: Recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda sin cultivo protector.....	29
Tabla 04 Recuento de bacteria psicrotrofas en leche cruda con cultivo protector .....	29
Tabla 05 Número de reclamos de Leche UHT (2015-2020).....	35
Tabla 06 : Parámetros de limpieza CIP .....	49
Tabla 07: Control de aplicación de cultivo protector .....	52
Tabla 08: Recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda.....	53
Tabla 09: Parámetros de limpieza CIP rutinario: .....	54
Tabla 10 Parámetros de limpieza CIP detergentes + tensioactivos.....	55
Tabla 11 Plan de capacitación de limpieza y desinfección del tanque de almacenamiento.....	57
Tabla 12 Resultados de parámetros de LYD.....	57
Tabla 13 Recuento de Bacterias Psicrotrofas en agua de enjuague .....	60
Tabla 14 Recuento de Aerobios mesofilos de agua de enjuague .....	60
Tabla 15: Resultados de Bacterias psicrotrofas con aplicación de cultivos protectores .....	60
Tabla 16 Crecimiento de bacterias psicrotrofas en leche cruda después de 24 horas .....	61
Tabla 17 Recuento de bacterias psicrotrofas en agua de enjuague: .....	63
Tabla 18: Recuento de bacterias psicrotrofas en leche pasteurizada- LYD .....	64
Tabla 19 Cumplimiento de plan de capacitación de LYD .....	66
Tabla 20 Frecuencia de bacterias psicrotrofas .....	67
<i>Figura 01</i> Tipos de flujo .....	18
<i>Figura 02:</i> Círculo de Sinner: Los 4 pilares de limpieza.....	22
<i>Figura 03:</i> Esquema experimental.....	26
<i>Figura 04:</i> Cultivo Protector Lyofast LRB.....	27
<i>Figura 05 :</i> Bacterias psicrotrofas en leche cruda sin cultivo protector .....	29
<i>Figura 06:</i> Bacterias psicrotrofas en leche cruda sin cultivo protector .....	30
<i>Figura 07:</i> Pareto de Reclamos de Leche UHT (2015 - 2020).....	36
<i>Figura 08:</i> Tendencia de Reclamos Leche UHT .....	37
<i>Figura 09</i> Tendencia de unidades vendidas vs Reclamos Leche UHT .....	37

Figura 10: Gráfico de Causa y Efecto Presencia de grumos (Coagulación dulce).....	39
Figura 11: Diagrama de flujo -. Elaboración de leche UHT .....	40
Figura 12 : Recuento de Bacterias Psicrotrofas en leche cruda .....	41
<i>Figura 13:</i> Histograma de recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda .....	42
Figura 14: Recuento de aerobios mesófilos en leche cruda .....	43
Figura 15: Recuento de Aerobios mesofilos y límite máximo en leche cruda : 5.7 log (ufc/ml)	43
Figura 16: Histograma de recuento de aerobios mesofilos en leche cruda .....	44
Figura 17: Control de temperatura de recepción de leche cruda.....	45
Figura 18: Histograma de temperatura de recepción de leche cruda .....	45
Figura 19: Control de temperatura de almacenamiento de leche pasteurizada .....	46
Figura 20: Histograma de temperatura de almacenamiento de leche pasteurizada.....	47
Figura 21 Recuento de bacterias psicrotrofos en leche pasteurizada .....	47
Figura 22: Recuento de Aerobios Mesofilos en leche pasteurizada.....	48
Figura 23 Recuento microbiológico del agua de enjuague de L&D del tanque de almacenamiento .....	49
<i>Figura 24:</i> Diseño inicial de limpieza CIP del tanque de almacenamiento de leche .....	50
Figura 25 Identificación de Puntos muertos en tanque de almacenamiento .....	51
Figura 26 Identificación de puntos muertos en tanque de almacenamiento.....	51
Figura 27: Recuento de bacterias psicrotrofas – pruebas de cultivos protectores.....	53
<i>Figura 28:</i> Diseño de Limpieza CIP mejorado del tanque de almacenamiento .....	54
Figura 29: Recuento microbiológico de agua de enjuague del tanque de almacenamiento.....	56
Figura 30 Recuento microbiológico en leche pasteurizada después LYD.....	57
Figura 31 Concentraciones de las soluciones químicas de limpieza.....	59
Figura 32 Temperaturas de las soluciones químicas de limpieza .....	59
Figura 33 Crecimiento de bacterias psicrotrofas en leche cruda después de 24 horas.....	61

## RESUMEN

El objetivo principal de la investigación es establecer medidas preventivas que controlen el desarrollo de bacterias psicrotrofas en leche refrigerada empleada en P&D Andina Alimento, ya que las enzimas termoestables producidas por dichas bacterias pueden afectar la calidad sensorial de Leche UHT.

En esta investigación evaluamos la influencia de cultivos protectores (*Lactobacillus rhamnosus*) sobre el desarrollo de bacterias psicrotrofas en leche cruda refrigerada, aplicando dichos cultivos en un tanque con 6,000 litros de leche en el establo Producciones Ganaderas en Jequetepeque La Libertad . Realizamos el análisis de recuento de bacterias psicrotrofas de la leche antes y después de 24 horas de aplicación, siendo el promedio de bacterias psicrotrofas en leche al inicio de 4.83 log ufc/ml, a las 24 horas en la leche con cultivos protectores fue de 4.7 log (ufc/ml) y en leche sin cultivo protector fue de 5.49 log (ufc/ml).

La revisión de los procedimientos de limpieza y desinfección del tanque de almacenamiento de leche refrigerada disminuyeron los niveles de recuento de bacterias psicrotrofas en la leche en 2.2 órdenes logarítmicos en ufc comparado con los procedimientos anteriores usados en la planta de leche UHT de P&D Andina Alimentos sobre el desarrollo de bacterias psicrotrofas.

Los resultados obtenidos en esta investigación evidenciarían que las medidas preventivas aplicadas a la leche refrigerada empleada en P&D Andina Alimentos S.A. controlan el desarrollo de bacterias psicrotrofas, dando un efecto positivo sobre la calidad de la leche y su tiempo de anaquel

Palabras claves: bacterias psicrotrofas, cultivos protectores, limpieza y desinfección

## ABSTRACT

The main objective of the research is to establish preventive measures that control the development of psychrotrophic bacteria in refrigerated milk used in P&D Andina Alimentos, because the thermostable enzymes produced by these bacteria can affect the sensory quality of UHT Milk.

In this research we evaluate the influence of protective cultures (*Lactobacillus rhamnosus*) on the development of psychrotrophic bacteria in chilled raw milk, applying these cultures in a tank with 6,000 liter milk in the Producciones Ganaderas stable in Jequetepeque La Libertad. We performed the analysis of the count of psychrotrophic bacteria in milk before and after 24 hours of application, being the average of psychrotrophic bacteria in milk at the beginning of 4.83 log cfu / ml, at 24 hours in milk with protective cultures it was 4.7 log (cfu / ml) and in milk without protective culture it was 5.49 log (cfu / ml).

The revision of the cleaning and disinfection procedures of the refrigerated milk storage tank decreased the count levels of psychrotrophic bacteria in the milk by 2.2 logarithmic orders in cfu compared to the previous procedures used in the UHT milk plant of P&D Andina Alimentos on the development of psychrotrophic bacteria.

The results obtained in this research would show that the preventive measures applied to the refrigerated milk used in P&D Andina Alimentos S.A. control the development of psychrotrophic bacteria, giving a positive effect on the quality of the milk and its shelf life

Keywords: psychrotrophic bacteria, protective cultures, cleaning and disinfection

## INTRODUCCIÓN

La leche líquida es el producto lácteo más consumido, elaborado y comercializado. El proceso de tratamiento térmico UHT permite alargar el tiempo de vida útil de la leche y almacenarlo a temperatura ambiente, facilitando su distribución y comercialización. Sin embargo, este producto puede presentar alteraciones sensoriales durante el tiempo de vida útil por actividades enzimáticas procedentes de bacterias psicrotrofas en la leche. El presente trabajo de investigación tiene como finalidad establecer medidas preventivas que permitan controlar el desarrollo de bacterias psicrotrofas en leche refrigerada. Esta investigación se compone de cuatro capítulos: planteamiento del problema, marco teórico, metodología del estudio y resultados y análisis de resultados.

En el capítulo I: Planteamiento del problema se expone la problemática, la importancia de la investigación acerca de controlar el desarrollo de las bacterias psicrotrofas.

En el capítulo II: Marco teórico, se describen las investigaciones relacionadas con el tema de estudio a nivel nacional e internacional. Así mismo se establecieron la definición de los términos básicos relacionados con el tema de investigación, se formuló las hipótesis y la definición de las variables dependientes e independientes.

En el capítulo III: Marco metodológico, se establece que la investigación realizada es de tipo cuantitativa – experimental debido a que se evalúa la influencia de las acciones para controlar los niveles de bacterias psicrotrofas en leche refrigerada. Se ha establecido la población, la muestra, las técnicas, la metodología de análisis y el análisis de datos.

En el capítulo IV: Resultados y análisis se detalla los resultados de la investigación, se mencionan como las medidas preventivas influyen en el desarrollo de las bacterias psicrotrofas, se indica las conclusiones y recomendaciones.

# CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## 1.1. Descripción del problema

La leche es un alimento esencial para el ser humano, ya que los nutrientes que contiene favorecen a un adecuado crecimiento y desarrollo. El contenido de proteínas en la leche es de alto valor biológico, además contiene diversas vitaminas y minerales imprescindibles para la nutrición y salud.

La leche es un alimento nutritivo de inestimable valor que tiene un reducido tiempo de conservación que exige una cuidadosa manipulación. Se trata de un alimento altamente perecedero porque es un medio excelente para el crecimiento de microorganismos, especialmente de patógenos bacterianos, que pueden provocar el deterioro del producto y enfermedades en los consumidores. El procesamiento de la leche permite conservarla durante días, semanas o meses y contribuye a reducir las enfermedades transmitidas por los alimentos.

El tiempo de vida útil de la leche se puede extender por algunos días mediante el enfriamiento (que es el factor que probablemente más influya en la calidad de la leche cruda). La pasteurización es un procedimiento por el que a través del tratamiento térmico se prolonga la vida útil de la leche y reduce el número de posibles microorganismos patógenos hasta niveles que no representan un peligro para la salud. La leche puede seguir elaborándose y transformarse en productos lácteos fácilmente transportables, concentrados y de alto valor, con un prolongado tiempo de conservación, como la mantequilla, el queso, yogurt, etc.

De acuerdo al Fideicomiso Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA) Panorama Agroalimentario (2019) Leche y Lácteos:

En los años 2008 y 2018 la producción mundial de leche de bovino creció a una tasa promedio anual de 1.4 por ciento, y se ubicó en un máximo histórico de 505.2 millones de toneladas. La Unión Europea es la región más importante en la producción de leche de bovino, con una participación de 30.5 por ciento del total mundial, así como en la producción de derivados lácteos, con una participación de 37.1 por cierto.

La producción de derivados lácteos como el queso, la mantequilla y la leche en polvo continúa creciendo. En los últimos diez años, la producción conjunta de estos productos creció a una tasa promedio anual de 2.4 por ciento, para ubicarse en 2018 en 40.6 millones de toneladas. 50.6 por ciento de este volumen correspondió a queso, 25.9

por ciento a mantequilla y 23.5 por ciento a leche en polvo. La Unión Europea es la región más importante en la producción de leche de bovino, con una participación de 30.5 por ciento del total mundial, así como en la producción de derivados lácteos, con una participación de 37.1 por ciento.

De acuerdo al Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI, 2018), en el Perú el consumo per cápita de leche es de 87 kg/persona/año; no obstante, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2018) recomienda un consumo de 120 kg/persona, existiendo una brecha de 33 kg por cubrir.

La elaboración de productos lácteos se está incrementando por la demanda de los consumidores. Una de las tecnológicas más empleadas para alargar el tiempo de vida útil de la leche es el tratamiento térmico UHT, sometiendo el producto a altas temperaturas por períodos de tiempo cortos, para asegurar la inocuidad del alimento.

El objetivo del proceso UHT es obtener un producto que, en términos comerciales, puede considerarse estéril comercialmente, almacenándose el producto a temperatura ambiente. Este tipo de tratamiento mantiene las características deseables de la leche fresca, como también su valor nutritivo, sin embargo, durante el almacenamiento de la leche UHT se pueden presentar cambios sensoriales, observándose además modificaciones de la viscosidad que conducen, a veces, a gelificaciones. Las desviaciones sensoriales presentadas son causadas por actividad enzimáticas.

Según Mottar (1989), la vida útil de la leche UHT está limitada por la acción de proteinasas termorresistentes durante el almacenamiento. Muchos investigadores creen que algunas de las alteraciones se deben a actividades enzimáticas residuales. Existen enzimas exocelulares, lipasas y proteasas, producidos por bacterias psicrótrofas que habitualmente se encuentran en la leche y son extremadamente resistentes a la desnaturalización por el tratamiento térmico.

En algunos casos, estas enzimas pueden mantener más del 50% de su actividad después del tratamiento UHT, a pesar de que los microorganismos que las elaboraron hayan sido destruidos. Por ello, aunque el tratamiento UHT rinda un producto estéril a partir de una leche cruda con una gran carga bacteriana, la vida útil del producto puede estar condicionada a la calidad higiénica del producto original.

En un ensayo realizado por Collins, Bester y McGill (1993) lotes de leche desnatada UHT fueron guardados a 20, 30 y 40°C durante aproximadamente cuatro meses a los efectos de evaluar la calidad sensorial teniéndose como referencia muestras guardadas a 3°C a los efectos de preservar su calidad. Durante el período de almacenamiento a 20°C las muestras presentaron una calidad aceptable, pero a 30°C y 40°C las muestras se alteraron. Asimismo, notaron que las muestras guardadas a 40°C eran menos aceptables que las guardadas a 30°C. La vida media de la leche UHT mantenida a 30°C se limitó a tres meses. A 40°C las muestras de leche tuvieron una vida media de un mes. Además, se determinó que la razón principal para la no aceptabilidad de las muestras fue el amargor excesivo. A su vez el amargor pareció estar relacionado con la proteólisis existente a los 30°C.

Los niveles de bacterias de psicrótrofos en lotes diferentes de leche no tenían un efecto significativo en el amargor. En ensayos realizados por McKellar, 1981 citado por Mottar, (1989), también se encontró un alto grado de proteolisis y sabor amargo en leches UHT debido a las proteinasas de microorganismos psicrótrofos. También Driessen, (1983) (citado por Mottar, 1989) determinó que hubo un cambio en el gusto de la leche y en la consistencia, tornándose amarga y gelificándose luego de siete semanas a 20°C cuando fueron incubadas con enzimas proteolíticas de *P.fluorescens*.

Mottar, (1989) investigó la influencia del tiempo de almacenamiento de la leche cruda en la vida de la leche UHT, encontrando que para que la vida útil de la leche UHT fuese por lo menos 3 meses a 20°C, el máximo tiempo de almacenamiento de la leche cruda con conteos menores a  $10^5$  ufc/ml y a 4-6°C era de 72 horas. En cambio si la leche tenía una carga bacteriana mayor, el máximo almacenamiento que admitía para llegar a tener 3 meses de vida útil eran 48 horas, pues períodos más prolongados serían propicios para una mayor producción de proteinasas que limitarían la vida útil de la leche UHT.

Collins (1991) detectaron un incremento en la magnitud de la proteólisis a medida que avanzaba el tiempo de almacenamiento de las muestras de leche UHT descremadas. A su vez, la magnitud de proteólisis a los 30° C era significativamente superior que a los 40°C, y a los 40°C la proteólisis era significativamente superior que a 20°C. Los altos niveles de proteólisis encontrados en las muestras almacenadas a 30°C confirman los resultados obtenidos por Adams, Kocak y Sadow (citados por

Collins, (1991) quienes también encontraron máxima proteólisis a 30°C, contraponiéndose dichos resultados con los encontrados por Suhren (citado por Collins,1991) según quien, la actividad óptima de la mayoría de las proteinasas termorresistentes se encuentra en un rango entre 37 y 45°C y cerca de pH neutro.

En un estudio realizado por Martinez (1993); en el cual se tomaron 32 muestras de leche UHT que fueron analizadas cada 15 días hasta el final de su vida comercial, detectándose un incremento significativo de los niveles de glicomacropéptidos a lo largo del almacenamiento. Al final de la vida comercial (tres meses) el contenido teórico medio en suero sería de 13,4% con un mínimo de 4,1 % y un máximo de 27,9%. En todos los casos estudiados por estos autores el incremento de los niveles de glicomacropéptidos en función del tiempo de almacenamiento es lineal, con coeficientes de correlación oscilando entre 0,910 y 0,999. A su vez encontraron actividades proteásicas muy diferentes entre las distintas muestras. Las leches UHT analizadas sufrieron proteólisis importantes a lo largo de su vida comercial, medida en términos de crecimiento continuo de glicomacropéptidos.

La calidad de la leche UHT se ve influenciado directamente por la calidad de leche cruda, la cual se mantiene refrigerado para disminuir la actividad de microorganismos mesofilos alterantes, sin embargo, favorece el crecimiento de otro tipo de bacterias como son los psicrótrofos. Este grupo de bacterias son mesofilos pero tienen la capacidad de reproducirse a temperaturas de refrigeración.

El gran cambio sufrido en los últimos años por los sistemas de ordeño, conservación y recolección de leche, de aquellos tradicionales de ordeño a mano y recogida de la leche sin refrigerar, a los modernos sistemas de ordeño mecánico, refrigeración y almacenamiento de la leche refrigerada, con la posterior recolección en cisternas, ha provocado un marcado cambio, no sólo en las características físico-químicas de la leche, sino también en su microbiología. Estos cambios se refieren a aquellos provocados por microorganismos que conservan su actividad a bajas temperaturas, causando daños considerables a la leche y, en consecuencia, a los productos lácteos.

La leche refrigerada almacenada por tiempos prolongados puede presentar un recuento elevado de bacterias psicrotomas, las cuales tienen la capacidad de sintetizar enzimas termoestables, que no son eliminadas por el tratamiento térmico de UHT. Los microorganismos psicrótrofos más prevalentes en leches crudas pertenecen

principalmente al género *Pseudomonas* y dentro de éste, la especie más comúnmente encontrada es *Ps. fluorescens*.

Las enzimas termoestables lipolíticas y proteolíticas que producen este grupo de bacterias causan deterioro durante el almacenamiento de la leche y los productos lácteos (Jay,2005). Gebrte-Egziabher (1980).

Sorghaung y Stepaniak (1997), citado por Longhi (2012), señalan que la calidad microbiológica de la leche cruda es de primordial importancia, debido a que las bacterias psicrotróficas producen enzimas termorresistentes que son el principal factor que causa deterioro en leche UHT durante el almacenamiento prolongado. Las proteasas hidrolizan la proteína como resultado de la desestabilización de micelas de caseína, liberan péptidos que producen sabores amargos, gelificación . En el caso de las lipasas, los ácidos grasos causados por la hidrólisis de triacigliceroles, generan cambios organolépticos como malos olores y sabores jabonosos (Andrewes,2007)

Los microorganismos psicrotrofos provocan defectos en la leche por desdoblamiento de la grasa y proteínas, en el tiempo que transcurre entre el ordeño y el tratamiento de la leche se incrementa el recuento de las bacterias psicrotrofas.

Dentro de la flora psicrotrófica, se encuentran representados grupos de microorganismos tales como *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, etc. Su desarrollo es muy rápido, teniendo un tiempo de generación a 4 °C de 6 a 8 horas, pudiendo de esta manera multiplicar su población 10 veces, en término de 24 horas.

La importancia de esta flora radica en la facultad que tienen de segregar, cuando se multiplican en la leche, lipasas y proteasas termorresistentes, las cuales pueden actuar con posterioridad a los tratamientos térmicos. Esto provoca grandes problemas a la industria láctea, especialmente aquellas dedicadas a la “esterilización comercial” de leche y productos lácteos mediante proceso UHT (“Ultra High Temperature” - pasteurización a temperaturas extremadamente altas), ya que las enzimas resistentes al tratamiento disponen de largos períodos para actuar.

Es de suma importancia asegurar la calidad higiénica y refrigeración de la leche cruda, problemas tales como separación de la grasa, la desnaturalización de proteínas junto a la gelificación, pérdida de nutrientes y aparición de sabores desagradables son los principales defectos de la leche UHT causados por el tratamiento térmico severo y almacenamiento por un tiempo prolongado (Michalski 2002, citados por Lu; 2013).

## **1.2. Formulación del Problema:**

### **1.2.1 Problema general**

¿Cómo influye las medidas preventivas aplicadas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas?

### **1.2.2 Problemas específicos**

1. ¿Cuáles son los niveles de bacterias psicrotrofas en la leche refrigerada de P&D Andina Alimentos antes de la aplicación de las medidas preventivas?
2. ¿Cuál es la influencia de la aplicación de los cultivos protectores sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas en la leche cruda de P&D Andina Alimentos?
3. ¿Cuál es la influencia del cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada de P&D Andina Alimentos S.A. sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas?
4. ¿Cuál es la influencia del cumplimiento del plan de capacitación en procedimientos de limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento de leche pasteurizada sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas en la leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A.?
5. ¿Cuáles son los niveles de bacterias psicrotrofas en la leche refrigerada de P&D Andina Alimentos después de la aplicación de las medidas preventivas establecidas?

## **1.3 Importancia y Justificación del estudio:**

La siguiente investigación permitirá implementar acciones o medidas en leche refrigerada, las cuales contralarán el desarrollo de las bacterias psicrotrofas, evitando así la formación de enzimas proteolíticas termoestables; de esta manera aseguraremos la calidad sensorial de leche UHT durante todo el tiempo de vida útil establecido.

Debido a que en los últimos 5 años se han duplicado los reclamos por sabor amargo, coagulación dulce en leche UHT en la empresa, es prioritario establecer un conjunto de acciones que prevengan el crecimiento de las bacterias psicrotrofas en leche refrigerada, asegurando así la calidad del producto final. De esta manera los reclamos por los motivos anteriormente descritos disminuirían, recuperaremos la confianza de nuestros clientes insatisfechos, afianzaremos la credibilidad de la marca en el mercado y evitaremos pérdidas económicas por rechazos de producto.

Con esta investigación afianzaremos el conocimiento de los principios fundamentales de limpieza y desinfección CIP, modificando prácticas empleadas en el saneamiento de los tanques de almacenamiento de leche refrigerada en la empresa. Es prioritario que las actividades de limpieza y desinfección se realicen correctamente ya que afectan directamente la calidad de leche refrigerada y a su vez a la calidad de la leche UHT

Demostraremos que la aplicación correcta de todos los parámetros que influyen en la efectividad de la limpieza y desinfección como son: fuerza mecánica, tiempo, temperatura, concentración de los agentes químicos permiten controlar el crecimiento de las bacterias psicrotrofas. Así mismo determinaremos si la aplicación de los cultivos protectores en leche cruda refrigerada permite controlar el crecimiento de las bacterias psicrotrofas.

El conjunto de las acciones preventivas implementadas permitirá mejorar la calidad sanitaria de la leche refrigerada empleada en la empresa para la elaboración de leche UHT, garantizando así la calidad sensorial del producto final durante todo el tiempo de vida útil establecido.

#### **1.4 Delimitación del estudio**

La investigación se realizó en la leche refrigerada empleada en la empresa P&D Andina Alimentos.

La leche cruda refrigerada donde se realizó la investigación fue del Establo Producciones Ganaderas y la leche pasteurizada refrigerada donde se realizó el estudio se encontraba en los tanques de almacenamiento de la planta de lácteos UHT de P&D Andina Alimentos.

El análisis microbiológico se realizó en el laboratorio de microbiología de la empresa P&D Andina Alimentos

#### **1.5 Objetivos de la investigación**

##### **1.5.1 Objetivo General**

Determinar la influencia de la aplicación de las medidas preventivas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A. sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas.

### **1.5.2 Objetivo Especifico**

1. Determinar los niveles de bacterias psicrotrofas en la leche refrigerada de P&D Andina Alimentos antes de la aplicación de las medidas preventivas.
2. Determinar la influencia de la aplicación de los cultivos protectores en leche cruda de P&D Andina Alimentos sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas.
3. Determinar la influencia del cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada de P&D Andina Alimentos S.A. sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas.
4. Determinar la influencia del cumplimiento del plan de capacitación en procedimientos de limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento de leche pasteurizada sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A.
5. Determinar el recuento de bacterias psicrotrofas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos después de la aplicación de medidas preventivas

## CAPITULO II: MARCO TEORICO

### 2.1. Marco histórico

La producción de leche en el mundo proviene básicamente del ganado vacuno. Los animales lecheros se crían en una infinidad de sistemas de producción, que se pueden clasificar en cuatro tipos. Sistemas especializados sin tierra, cuyo objetivo principal es la producción de leche. Sistemas integrados de cosecha y producción lechera, orientados al mercado y a la subsistencia, que se enfocan en la producción conjunta de varios productos, como, por ejemplo: la leche, la carne y la cosecha. Sistemas de pastoreo que dependen de la movilidad para la producción de leche, y en menor medida, de otros productos y servicios ganaderos

De acuerdo a la FAO, se prevé que la producción de leche aumentará 177 millones de toneladas para 2025, con una tasa de crecimiento promedio del 1,8% por año, en los próximos 10 años. Durante el mismo periodo, se prevé que el consumo per cápita de productos lácteos aumentará un 0,8% y 1,7% por año en los países en desarrollo, y entre 0,5% y 1,1% en los países desarrollados. Debido al gran tamaño de la industria lechera, estas tasas de crecimiento pueden producir importantes beneficios de desarrollo para el sustento de las personas, así como también para el ambiente y la salud pública.

De acuerdo con la FAO/OMS (2001), en todos los países compete al sector alimenticio cumplir con los requisitos reglamentarios en materia de calidad e inocuidad de los alimentos desde los establecimientos rurales, el transporte, el almacenamiento, el procesamiento y la venta al consumidor final. La calidad de la leche abarca conceptos como seguridad, composición, higiene y estado de salud de la vaca (Katz, 2016), lo que en su conjunto determinarán la aptitud de la leche para el uso asignado.

Las bacterias en leche cruda pueden afectar la calidad, seguridad y aceptación del consumidor de productos lácteos. En salud pública, su presencia puede dar lugar a enfermedades zoonóticas a través de infecciones por *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni* y *Mycobacterium tuberculosis* como lo expresaron Jayarao (2006).

Los altos recuentos de bacterias en leche cruda además son responsables por defectos en la calidad de la leche pasteurizada, UHT, leche en polvo, mantequilla y quesos (Barbano2006)

Entre los microorganismos causantes de grandes defectos tecnológicos en la industria lechera se destacan las bacterias psicrotróficas, las que son preformadoras de enzimas extremadamente termoestables y que pueden resistir tratamientos UHT (Ultra High Temperature) y HTST (High Temperature Short Time).

Dentro de estas enzimas están las proteasas, que son capaces de hidrolizar las proteínas, afectando la calidad sensorial de la leche y productos lácteos.

## **2.2 Investigaciones relacionadas con el tema**

### **Nacionales:**

Mizquero (2017) realizó un estudio para evaluar el cumplimiento de las buenas prácticas ganaderas de acuerdo a la guía FAO – FIL, (2012), en dos establos ubicados uno en Alto cañete y otro establo de la Unidad Experimental de Zootecnia (UEZ) en la Molina, dicho estudio concluyó que las evaluaciones de las buenas prácticas en los establos deben realizarse periódicamente, ya que en la segunda evaluación se evidenció una mejoría, ambos establos cumplen con el 100% de las buenas prácticas de limpieza e higiene en el ordeño.

Valera (2019) realizó una investigación para determinar el efecto de la inoculación del cultivo protector (*Lactobacillus rhamnosus*) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* en leche fresca en el fundo La Victoria de la Universidad Nacional de Cajamarca, dicha investigación concluyó que *Lactobacillus rhamnosus* tiene un efecto bactericida sobre *Escherichia coli* en leche fresca.

Canches (2017) realizó una investigación con la finalidad de relacionar la carga microbiológica con la calidad higiénica sanitaria de leche cruda de vaca en el distrito de Baños de Huánuco, concluyendo que la falta de conocimiento de las buenas prácticas durante el proceso de ordeño es el principal factor desfavorable que permite la proliferación de bacterias patógenas.

Brousett, et.al., (2015) realizaron una investigación con el objetivo de evaluar la calidad de la leche cruda respecto a las características fisicoquímicas, microbiológicas y toxicológicas en siete cuencas ganaderas de la región Puno. La presencia de mesófilos en su mayoría fueron encontrados dentro de los parámetros establecidos a excepción de dos cuencas lecheras (Vilque y Ayaviri) que tuvieron recuento mayor a  $10^7$  ufc/ml y en cuanto a *E.coli* los recuentos fueron mayor a  $10^3$  ufc/ml ninguna cuenca cumplió con las normas establecidas encontrándose una leche de baja calidad higiénica, de acuerdo a la Norma Técnica Peruana para leche y productos lácteos NTP 200.001-2003.

Acaro, (2019) realizó una investigación para determinar la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda que se expende en la ciudad de Chulucanas mediante la acidez, el pH, la resistencia a la prueba de alcohol, la densidad, recuento de aerobios mesofilos y coliformes totales, los cuales fueron comparados con los parámetros establecidos en la Norma Técnica Peruana [NTP] (202.001-2016). Los resultados de aerobios mesofilos se encontraban dentro de especificación (límite máximo 1 000 000 ufc/ml), a excepción de un punto cuyo recuento fue de 2 100 000 ufc/ml, y en el caso del recuento de coliformes los seis puntos de expendio reportaron rangos que van desde los 1 100 ufc/ml hasta 7 200 ufc/ml, muy por encima de los parámetros establecido por la NTP (202.001:2016) y la R.M. 591-2008-MINSA, que establecen rangos de 100 y 1000 ufc/ml.

Guevara, (2016) realizó un estudio, para evaluar la calidad físico-química higiénico de leche fresca de los establos ubicados en el distrito de Súcota, Cutervo, Cajamarca en el año 2015. Los resultados obtenidos presentaron negativo al ensayo de la reductasa, con cero casos positivos. Esto es debido a la adecuada conservación de la leche y está apta para el consumo humano.

### **Internacionales**

Grille (2016), realizó un estudio sobre la caracterización estacional de la calidad de la leche de tanque en predios de la región litoral Norte del Uruguay, se evaluó el efecto del tiempo de almacenamiento en frío y del tamaño del rodeo (número de vacas) sobre la calidad higiénico sanitaria, concluyó que la calidad de la leche se afectó negativamente en la estación de verano, considerándose una estación “crítica” en la producción de leche de calidad, a pesar de que el recuento bacteriano total se mantuvo por debajo de los límites reglamentarios. Así mismo el mayor tiempo de almacenamiento en el tanque de frío afectaron negativamente la calidad higiénica de la leche en los establecimientos estudiados, el recuento de los psicrotrofos se incrementó con el tiempo de almacenamiento de 24 a 48 horas.

Calvo, (2018) realizó una investigación para caracterizar y cuantificar los microorganismos termodúricos presentes en la leche cruda obtenida proveniente de establecimientos queseros artesanales localizados en el departamento de Colonia, de la cuenca lechera del sur de Uruguay. Dicha investigación indicó que el 45% de los microorganismos termoduricos tienen la capacidad de producir enzimas proteolíticas y en el caso de los microorganismos psicrotrofos el 60% producen dichas enzimas.

Aldana, (2017), realizó una investigación con el objetivo de prolongar la vida de anaquel de la variedad de productos lácteos ultra pasteurizados a través de la identificación de puntos críticos de control en la empresa de lácteos Foremost Dairies S.A. En este estudio se establecieron los procedimientos preventivos y/o correctivos en la producción para mejorar la calidad de los productos ultra pasteurizados y así lograr el prolongamiento de la vida de anaquel de los mismos. Identificaron fallas en la limpieza de equipos, lo cual afecta la calidad de la leche UHT, se determinó el control continuo sobre las acciones de limpieza y desinfección para evitar contaminación de la materia prima, por medio de pruebas de bioluminiscencia la cual reporta la cantidad de unidades formadoras de colonias.

Sheihing, (2017) evaluó el contenido de bacterias psicotróficas en la leche estanco de predios lecheros de la X y XIV Región de los Lagos y Región de Los Ríos ubicados entre la comuna de Máfil y la comuna de Osorno al sur de Chile, relacionando estos recuentos con los sistemas de obtención de la leche. Dicha evaluación demostró que, al existir adecuadas condiciones de extracción y manejo de leche en un predio, los recuentos de bacterias psicotróficas son bajos, y por lo tanto la leche debiera ser apta para la elaboración de productos lácteos.

Anrango, (2018) diseñó un sistema de lavado automático del tanque enfriador de leche para el centro de acopio lechero en la Asociación San Francisco de Abra, Ecuador. Determinó que el correcto diseño de los procesos de limpieza evita contaminación de la leche en los tanques de enfriamiento y para eso se tiene que establecer parámetros primordiales como son: tiempo, temperatura, velocidad de agua y la concentración de líquidos.

Navia, (2018) realizó un estudio para evaluar los parámetros del sistema de operación de limpieza CIP, de tanques de preparación y tuberías en una planta de lácteos de empresa Soalpro SRL, evaluándose los cuatro parámetros fundamentales como son : acción mecánica, acción química, temperatura de soluciones de limpieza y tiempo de contacto de los agentes de limpieza, los estudios concluyeron que existe un desfase entre los caudales de envío y retorno de las soluciones químicas pudiendo generar una deficiente limpieza , así mismo se observó problemas de cobertura en algunas líneas de producción , generándose focos de contaminación.

Vasquez, (2015) realizó una investigación para evaluar actividad proteásica, grado de proteólisis y recuento de bacterias psicotróficas en leche cruda – leche almacenada- leche pasteurizada la cual va ser empleada en la elaboración de leche UHT,

las muestras se obtuvieron de una planta lechera ubicada en la Región de los Ríos al sur de Chile. Los resultados demostraron que los tres tipos de análisis se encuentran en un rango aceptable. Por lo que la leche recolectada presenta una calidad óptima para ser destinada a elaboración de leche UHT.

D'Amico Bruzaroski y Lima , (2019) evaluaron el efecto inhibitorio de *Lactobacillus rhamnosus* contra diferentes poblaciones de *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida*, aisladas de la leche cruda refrigerada dicha evaluación concluyo que *L. rhamnosus* tiene actividad antibacteriana contra *P. fluorescens* y *P. putida*. Se demostró que *L. rhamnosus* puede contribuir con mejorar la calidad de la leche.

Nereida , et.al., (2018) evaluaron la calidad microbiológica de leche bovina provenientes de dos formas de almacenamiento: tanque de frio y silo industrial del departamento de San José Ecuador, durante los meses de otoño-invierno dicha investigación concluyo que el empleo de la temperatura de 4°C, permite preservar la calidad de la leche.

### **2.3 Estructura teórica y científica que sustenta el estudio (teorías, modelos)**

Reinheimer (1990), citado por Muñoz (2004), en Santa Fe, Argentina, encontraron que en la leche recolectada de estanques, tenía una alta contaminación microbiana, cuyos valores promedios superaron las  $1 \times 10^7$  ufc/mL en bacterias psicotróficas, siendo un 51,1% del total *Pseudomonas sp*, de las cuales un 37,2% eran *Pseudomonas fluorescens*.

Según Cousin (1982), citado por Muñoz (2004), los recuentos de bacterias psicrótrofas que varían entre  $1 \times 10^4$  ufc/ml a  $1 \times 10^6$  ufc/ml en leche cruda ocasionan problemas de defecto en quesos.

Según Mc Phee y Griffiths (2002), el uso generalizado de estanques de frío en predios ha mejorado la calidad higiénica de la leche y de productos lácteos, mediante el control de microorganismos deteriorantes, pero se ha producido un incremento de las bacterias psicotróficas. Díaz (2000), citado por Román (2003), señalan que ésta ha resuelto desde hace muchos años los problemas de proliferación microbiana y sus consecuencias en el deterioro de la leche, pero han surgido otros problemas originados por los microorganismos psicrótrofos, sobre todo cuando la refrigeración se prolonga por varios días antes de su procesamiento.

La proteólisis en la leche tiene dos orígenes: el primero mediante los microorganismos que pueden secretar proteasas exógenas resistentes al calor y muchas

de ellas se desarrollan durante el almacenamiento en frío de la leche; el segundo está relacionado con el deterioro de la ubre enferma lo que incrementa la cantidad de proteasas endógenas, especialmente aquellas del sistema plasmina-plasminógeno

Gebre-Egziabher et.al.,(1980), citado por Guerrero et.al., (2003), señalan que las proteasas de la leche cruda (enzimas exógenas) son producidas por bacterias psicrótrofas, en especial del género *Pseudomonas*. Estos microorganismos pueden crecer con facilidad a temperatura de refrigeración y son eliminados con temperatura de pasteurización, pero muchas especies producen enzimas extracelulares termoresistentes hacia el final del crecimiento exponencial o en fase de crecimiento estacionaria. Martín-Hernández señala que la influencia que tienen estas enzimas sobre las características organolépticas de la leche y productos lácteos, es muy superior en muchos casos a la que pueden ejercer las enzimas nativas de la leche. Las caseínas de la leche están sometidas a la acción de estas enzimas proteolíticas, las cuales causan desestabilización de las micelas de caseínas, hidrolizando más rápidamente a la k-caseína (k-CN) en una acción similar a la quimosina del cuajo de ternera. La b-caseína (b-CN) es degradada en menor proporción que la k-CN y las as1-caseína (as1-CN) y las as2-caseína (as2-CN) prácticamente no sufren alteración, según lo refieren algunos autores.

Las bacterias lácticas son muy empleadas en los procesos fermentativos en la industria láctea debido a sus características fisiológicas. Las bacterias ácido lácticas son consideradas generalmente reconocidas como seguras (GRAS). Este grupo de bacterias pueden producir compuestos antimicrobianos.

Siedler Balti, y Rute , (2019) mencionan que los principales compuestos antimicrobianos que generan las bacterias lácticas son :

- Ácido láctico y otros ácidos volátiles: disrupción del metabolismo celular
- Peróxido de hidrógeno: inactivación de biomoléculas esenciales por reacción en cadena de aniones superóxido y activación del sistema lactoperoxidasa.
- Dióxido de carbono: entorno anaerobio y/o inhibición de la decarboxilación enzimática y/o disrupción de la membrana celular.

Fernández, et. al (2017) señalaron que las cepas de *Propionibacterium* y *Lactobacillus* previenen el crecimiento de *Penicillium chrysogenum*, esto se debe a que estos microorganismos elaboran metabolitos secundarios y/o compiten por los nutrientes con los mohos. En dicha investigación demostraron que la cepa de

*Lactobacillus rhamnosus* A238 solo o en combinación con *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* A026 inhibió el crecimiento de moho durante al menos 21 días a 6 °C. Este tipo de bacterias tienen gran utilidad para usarse como bioconservantes en queso fresco.

Leyva et.al (2018) señalaron que el uso de los cultivos bioprotectores: bacterias ácido lácticas y bacterias propionicas son una opción para disminuir el uso de aditivos químicos preservantes, ya que ayudarían a retrasar el deterioro de los productos lácteos causado por hongos. Evaluaron la actividad anti fúngica de combinaciones de cepas de *Lactobacillus* sobre cuatro hongos de descomposición (*Penicillium commune*, *Mucor racemosus*, *Galactomyces geotrichum* y *Yarrowia lipolytica*) en yogurt y queso. Se evidenció un retraso en el crecimiento de *P. commune*, *M. racemosus* y *R. mucilaginosus* por lo tanto, las combinaciones de cepas de *Lactobacillus* compuesto por *Lactobacillus plantarum* L244 y *Lactobacillus harbinensis* L172 o *Lactobacillus rhamnosus* son buenos candidatos para el biopreservación antifúngica de productos lácteos.

Olivares y Klotz (2020) evaluaron la actividad antifungica de bacterias lácticas: 3 cepas de *Lactobacillus casei*, tres de *L. rhamnosus* y bacterias propionicas: *Propionibacterium freudenreichii* sobre *Mucor circinelloides* y *Geotrichum candidum*, también evaluaron el efecto de la pasteurización (74°C, 3 min). Los resultados concluyeron que cepas bacterianas de una misma especie de BAL o BAP tienen funcionalidad anti fúngica diferente. *G. candidum* presentaron una mayor resistencia a las soluciones bioprotectoras. Los productos celulares bioprotectores pasteurizados en términos generales no presentaron o tuvieron baja funcionalidad inhibitoria sobre los mohos comparado con los cultivos bioprotectores vivos.

*Lactobacillus rhamnosus* posee acción sobre microorganismos deteriorantes y patógenos, la actividad antimicrobiana se debe a la producción de ácidos orgánicos, peróxido de hidrogeno, bacteriocinas, Las bacteriocinas elaboradas por *L. rhamnosus* inhibe el crecimiento de *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Todorov y Dicks,2005)

La empresa Clericci- Sacco (2016) señala que las cepas de *L. rhamnosus* afectan el desarrollo de levaduras y mohos. Al agregarlo a la leche cruda, puede ayudar a controlar el crecimiento de hongos, *Pseudomonas*, *Bacillus Clostridium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Alcaligenes*, *Listeria*, *Yersinia*, *Aeromonas* y *Alteromonas*, debido a que consumen los nutrientes que estos necesitan para su crecimiento. Esta capacidad

depende de la cepa de la bacteria y del grado de contaminación de la leche o formulación del producto final.

Dentro de las propiedades que se les atribuyen a las cepas del cultivo protector se tiene:

- El cultivo desarrolla una débil acidez y aroma de la fermentación de citrato lenta
- Son capaces de sobrevivir durante la vida de anaquel del producto, sin importar condiciones de almacenamiento.
- No interfieren con el desarrollo normal de los cultivos que son utilizados en los procesos de elaboración de productos lácteos, por lo que no afectan las propiedades organolépticas.
- Otorgan mejoras en el producto final y pueden sobrevivir a altas concentraciones en los quesos, sin interferir en el proceso de maduración.
- Se multiplican produciendo ácido láctico en menor cantidad a comparación de otros cultivos.

Memisi (2015) señala que para obtener una limpieza CIP efectiva en la industria láctea los equipos y las tuberías no deben presentar puntos muertos, ya que los productos químicos de limpieza y desinfección no ingresan por esas zonas, por lo tanto la limpieza no es efectiva, generándose un grave riesgo para la contaminación del producto. Así mismo no debe existir zonas en los que quede agua residual al finalizar el lavado ya que se convertiría en un foco de contaminación permitiendo el crecimiento bacteriano. Los equipos deben ser materiales resistentes a los agentes químicos empleados en la limpieza y desinfección; el acero inoxidable es el material universal empleado en la industria láctea.

En la industria láctea, se utiliza comúnmente detergentes alcalinos, los cuales tienen un pH superior a 7. Estos detergentes son formulados a base de hidróxido sódico aditivados con tensioactivos, humectantes, secuestrantes, etc., lo cual genera una mejor limpieza a la disolución pudiendo disminuir la concentración de uso, además de una mayor facilidad para el enjuague posterior. Los detergentes alcalinos con agentes humectantes eliminan las piedras de leche que se forma en las tuberías ya que descomponen la proteína en unidades solubles en agua. La concentración normalmente utilizada es del 0,5-2,0% a temperaturas hasta 85°C (Thomas y Sathian, 2014).

El uso de detergentes ácidos más tensioactivos y humectantes mejoran la limpieza y facilita la eliminación de trazas del detergente alcalino. Los detergentes ácido más empleado en la industria láctea son los ácidos inorgánicos como ácido

nítrico, ácido fosfórico. La concentración normalmente utilizada de los detergentes ácidos es del 0,5-1,0%, tanto a temperatura ambiente como a temperaturas de 55-80°C. El tiempo de contacto es de 5-20 minutos. (Thomas y Sathian, 2014).

Los desinfectantes más empleados en la limpieza CIP de la industria láctea están basados en ácido peracético en combinación con peróxido de hidrógeno, los cuales tienen la capacidad de eliminar esporas bacterianas. Ambos se deben utilizar a bajas concentraciones y temperaturas para evitar efectos corrosivos en el circuito (Thomas y Sathian 2014). Para desinfectar las piezas desmontables de los equipos se recomienda su inmersión utilizando desinfectantes no oxidantes, y tiempos de actuación más largos.

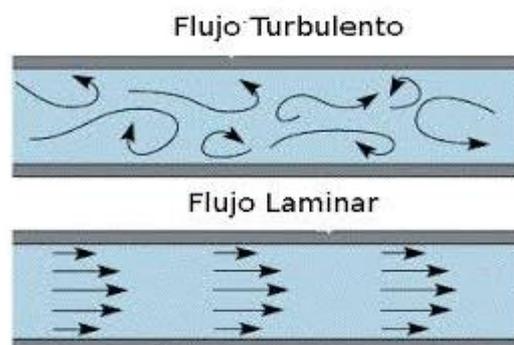
Adicional a los tipos de detergentes, otros factores a tener en cuenta en las limpiezas CIP es el tiempo de contacto del detergente sobre la superficie, la temperatura y la fuerza mecánica. La acción mecánica se relaciona al caudal y a la velocidad de flujo de una conducción, que se relacionan entre sí con la sección del conducto.

La velocidad de flujo se define como la distancia recorrida de un fluido por unidad de tiempo (m/s) que interviene junto con el diámetro de la conducción y las densidad y viscosidad del fluido en lo que se conoce como Número de Reynolds (Re), que relaciona los términos convectivos y los términos viscosos de las ecuaciones de Navier-Stokes que describen el movimiento de los fluidos. Cuando Re es elevado, las fuerzas convectivas son muy superiores a las fuerzas viscosas. El Re clasifica el régimen de un fluido en tres tipos:

Régimen laminar ( $<2.000 \text{ Re}$ )

Régimen de transición (2.000-4.000 Re)

Régimen turbulento ( $>4.000 \text{ Re}$ ), que es el régimen deseado en las limpiezas CIP.



La tubería de arriba representa un flujo turbulento y la de abajo un flujo laminar

Figura 01 Tipos de flujo

Fan (2018) realizó una investigación donde se pudo observar que existe un aumento en el porcentaje de eliminación de residuos conforme se aumenta el número de Reynolds. A partir de un Re de aproximadamente 60.000, la mejora en la eliminación de residuos se incrementa muy poco al incrementar Re. Dicho valor, establece velocidades de flujo muy diferentes en función del diámetro interno de la tubería y de la temperatura. Así, por ejemplo, en una tubería de 1" la velocidad del agua necesaria para alcanzar un valor de Re de 60.000 es de 0,95 m/s cuando la temperatura es de 65°C, mientras que, si la temperatura es de 20°C, será necesaria una velocidad de 2,16 m/s para alcanzar el valor de 60.00

## **2.4 Definición de términos básicos**

**Agua de enjuague:** Es la muestra de agua resultante después de la limpieza CIP de los tanques de almacenamiento.

**Bacterias psicrotrofas:** Son aquellas bacterias cuya temperatura óptima de crecimiento se encuentra en el rango mesófilo, pero pueden crecer a temperaturas de refrigeración inferiores a 7°C. Estos microorganismos están relacionados con el deterioro de los alimentos. Las bacterias psicrotrofas pueden multiplicarse, pudiendo alcanzar unos niveles tales que llegan a producir, enzimas extracelulares, es así que en la leche provocan efectos desagradables (sabor amargo).

**Bacterias proteolíticas:** Grupo de bacterias psicrotrofas presentes en leche refrigerada, quienes pueden sintetizar enzimas extracelulares fuertemente proteolíticas termoestables, dichas enzimas tienen la capacidad de hidrolizar la caseína de la leche.

**Cultivos protectores:** Cultivo Lyofast LRB consiste en cepas seleccionadas de *Lactobacillus rhamnosus*

**Leche:** El Codex STAN 206-1999 define leche como la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior.

**Leche UHT :** La R.M. 591-2008 MINSA define a la leche UHT como el producto obtenido mediante proceso térmico en flujo continuo a una temperatura entre 135 °C a 150 °C y tiempos entre 2 a 4 segundos, aplicado a la leche cruda o termizada, de tal forma que se compruebe la destrucción eficaz de las esporas bacterianas resistentes al calor, seguido inmediatamente de enfriamiento a temperatura ambiente y

envasado aséptico en recipientes estériles con barreras a la luz y al oxígeno, cerrados herméticamente, para su posterior almacenamiento, con el fin de que se asegure la esterilidad comercial sin alterar de manera.

Medidas preventivas en leche refrigerada: Conjunto de actividades que permiten controlar el crecimiento de bacterias psicrotrofas y bacterias proteolíticas en leche refrigerada.

Microrganismos Indicadores de higiene: son aquellos microorganismos cuya presencia evidencian deficiencias en la limpieza de un equipo. Por ejemplo: aerobios mesofilos, coliformes.

Proteólisis en leche: Es la degradación de proteínas de la leche mediante enzimas específicas, llamadas proteasas.

Sistema de limpieza CIP : Es un sistema de lavado automático in situ, es decir, sin desmontaje del equipo de producción, que consiste en recircular la solución de limpieza a través de los componentes de la línea de proceso, como tuberías, intercambiadores de calor, bombas, válvulas, etc.

## **2.5 Fundamentos teóricos que sustenta a las hipótesis (figuras, o mapas conceptuales)**

Las bacterias psicrotrofas son inactivadas durante los tratamientos de la leche, tales como la pasteurización o la ultra pasteurización (UHT), sin embargo, las enzimas termoestables de acción proteolítica son capaces de persistir en la leche (Marchand et al., 2009). Como las enzimas son difíciles de inactivar por medios tecnológicos, es necesario reducir el riesgo de producción enzimática en la propia materia prima.

La empresa Clericci- Sacco (2016) publicó una investigación donde menciona que las cepas de *L. rhamnosus* afectan el crecimiento de levaduras y mohos. Al añadirlo a la leche cruda, puede ayudar a controlar el crecimiento de hongos, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Alcaligenes*, *Listeria*, *Yersinia*, *Aeromonas* y *Alteromonas*, debido a que consumen los nutrientes que estos necesitan para su crecimiento. Esta capacidad depende de la cepa de la bacteria y del grado de contaminación de la leche o formulación del producto final.

Champagne (1994), detectó que las bacterias ácido lácticas inhibe a los psicrotrofos en un 35% cuando se encuentran en  $10^3 - 10^5$  ufc/ml.

Las bacterias ácido lácticas pueden fermentar la lactosa y otros azúcares a ácido láctico, lo que provoca el descenso del pH y esto explica la inhibición sobre la flora psicrotrófa (Chen 2003).

La limpieza es una parte importante de la producción de alimentos y la efectividad del proceso de limpieza tiene considerables implicaciones sobre la calidad del producto alimenticio final. La higiene de los equipos de procesamiento de alimentos es esencial para evitar la proliferación de microorganismos nocivos que puedan contaminar el producto. El propósito de la limpieza es retirar las impurezas y reducir la cantidad de bacterias presentes en una superficie. Una superficie mal limpiada puede afectar la calidad sanitaria del producto.

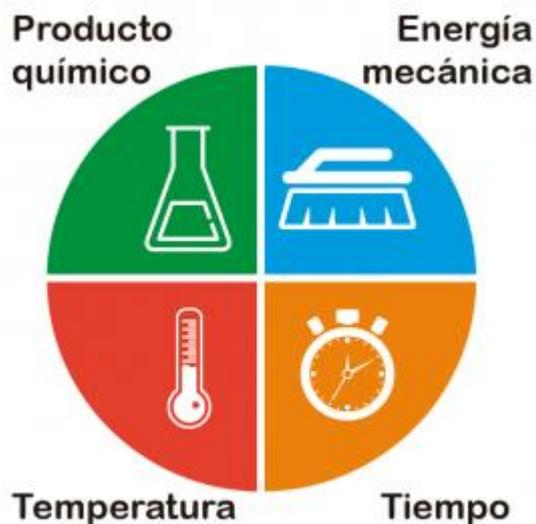
El sistema CIP del acrónimo *Cleaning in Place* (Limpieza in situ), se define como la limpieza realizada en el interior de los circuitos de las plantas de producción, sin desmontar o cambiar el estado de funcionamiento para asegurar la consistencia y sostenibilidad.

Desde hace décadas los sistemas CIP han mejorado la efectividad y eficiencia en la limpieza de los sistemas de producción, y complementan a los procesos de limpieza COP (*cleaning out of place*) como parte de un buen programa de higienización de los equipos.

Los sistemas CIP permiten enjuagar, lavar y desinfectar los componentes internos del equipo sin necesidad de desmontarlo. Se utilizan normalmente para la limpieza de depósitos, tuberías, equipos y líneas de procesamiento haciendo circular por su interior agua y soluciones químicas, en un proceso que permite utilizar temperaturas más altas y detergentes más fuertes que en la limpieza manual.

Toda buena actividad de limpieza CIP implica cuatro factores fundamentales: tiempo, acción mecánica, acción química y temperatura.

Estos cuatro factores son variables que pueden ir combinando de varias maneras de acuerdo al tipo de suciedad, la superficie que se tenga que limpiar y los medios disponibles para mantener la máxima calidad de limpieza. Este enfoque, conocido como Círculo de Sinner, lo ideó el Dr. Herbert Sinner a finales de los años 50 estando empleado en la empresa alemana de productos de limpieza Henkel. En la actualidad el Círculo de Sinner se utiliza en la limpieza de la industria alimentaria. La elaboración de un Círculo de Sinner correcto es básico para poder lograr un proceso de lavado eficiente y optimizado.



*Figura 02:* Círculo de Sinner: Los 4 pilares de limpieza

Los 4 pilares de la limpieza:

- a. **Tiempo:** Para disolver la suciedad es importante el factor tiempo. La suciedad se elimina capa a capa, por lo que aunque tengamos una alta concentración de detergente, será necesario un determinado tiempo de contacto antes de eliminar la última capa. El tiempo del proceso estará influenciado por el tipo de superficie que se quiera limpiar, la suciedad que haya acumulada, la eficiencia química y concentración del producto que se emplee y si se trata de una limpieza manual o con algún tipo de máquina.
- b. **Acción mecánica:** Es la operación de eliminar la suciedad como tal. En los procesos CIP, en la acción mecánica intervienen los factores: caudal, velocidad y presión de flujo.

En la limpieza de tuberías, se deben considerar el caudal y la velocidad de flujo, que además debe ser turbulento para ser más eficiente.

La velocidad de flujo es la distancia recorrida por el fluido, dividida entre el tiempo (m/s). La velocidad mínima requerida es 1,5 m/s, mientras que para eliminar la capa sub-laminar (capa de líquido de la superficie de la tubería cuya velocidad es cero) se recomienda que la velocidad de flujo durante el ciclo de limpieza sea de, al menos, 1,8 m/s.

En el caso de depósitos y tanques, los factores a tener en cuenta son el caudal y la presión. Es habitual el uso de bolas fijas o cabezales rotativos para la limpieza

interna de estos recipientes. En el primer caso se aplican grandes volúmenes de líquido a baja presión para el líquido de limpieza fluya a través de toda la superficie interna del depósito o tanque y se deslice por gravedad por las paredes. Dado que este caso la energía mecánica es muy baja, al efecto de limpieza deberán contribuir en mayor grado el tiempo, la temperatura y el producto químico.

En el caso de los cabezales rotatorios, se aplica un volumen menor de fluido de limpieza, pero a mayor presión hacia la superficie interna de los depósitos. El chorro lanzado por los cabezales produce una acción de fregado mecánico en forma de barrido secuencial. En ambos casos, es importante la elección de la ubicación, el tipo y el número cabezales de limpieza para conseguir una cobertura total, ya que hay que tener en cuenta posibles formaciones de “sombras” debidas a agitadores, deflectores, bocas de inspección, tuberías, etc.

- c. La acción química: Se refiere a la concentración de la disolución de limpieza. Es un factor fundamental, ya que siempre hay que elegir el producto que se adapte perfectamente a cada tipo de limpieza y emplearlo en las dosis recomendadas por los fabricantes, con el fin de obtener los mejores resultados sin dañar las superficies
- d. Temperatura: La temperatura afecta tanto a la viscosidad de las materias como a la velocidad de reacción y debe elegirse dependiendo de factores como el tipo de suciedad y la dificultad para eliminarla, la tolerancia de las disoluciones al calor o la fórmula del detergente, que puede tener un punto óptimo de rendimiento a una determinada temperatura.

## **2.6 Hipótesis:**

### **2.6.1 Hipótesis general**

La aplicación de las medidas preventivas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos influyen significativamente sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas

### **2.6.2 Hipótesis específicas**

1.La aplicación de los cultivos protectores en leche cruda de P&D Andina Alimentos influyen significativamente sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas

2.El cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada de P&D Andina Alimentos S.A. influyen significativamente sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas.

3.El cumplimiento de un plan de capacitación en procedimientos de limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento de leche pasteurizada influye significativamente sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A.

## **2.7 Variables (definición y operacionalización de variables: Dimensiones e indicadores)**

### **2.7.1 Variable independiente (Y):**

Medidas preventivas en leche refrigerada: es el conjunto de actividades que me permiten controlar el crecimiento de bacterias psicrotrofas en leche refrigerada.

1. **Dimensiones:** Aplicación de cultivos protectores en leche cruda  
Indicador: Dosis del cultivo protector
2. **Dimensiones:** Cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección de tanques de almacenamiento de leche pasteurizada  
Indicadores: Concentración del insumo químico (%)  
Tiempo de lavado (minutos) y temperatura de lavado (°C)  
Tiempo de desinfección (minutos)  
Caudal (m<sup>3</sup>/h)
3. **Dimensiones:** Cumplimiento del Plan de capacitación  
Indicadores: % Cumplimiento del plan de capacitación

### **2.7.2 Variable Dependiente (X):**

Bacterias psicrotrofas: Bacterias cuya temperatura óptima de crecimiento se encuentra en el rango mesofilo, pero pueden crecer a temperaturas de refrigeración inferiores a 7°C

**Dimensiones:** Población de bacterias psicrotrofas

**Indicadores:** Recuento de bacterias psicrotrofas (ufc/ml)

## CAPITULO III: MARCO METODOLOGICO

### 3.1 Tipo, método y diseño de la investigación

Tipo de investigación: Cuantitativa -

Método de investigación: Experimental

Diseño de investigación:

Nivel de estudio: Explicativo

Diseño: Experimental

La investigación es cuantitativa experimental debido a que se aplicó medidas preventivas como la aplicación de cultivos protectores en leche cruda refrigerada y se cumple con los procedimientos de limpieza y desinfección en los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada refrigerada para controlar los niveles de bacterias psicrotrofas

### 3.2 Población y muestra (escenario de estudio)

#### Escenario del estudio:

La investigación, se realizó en la empresa P&D Andina Alimentos ubicada en Av. Industrial 741 Lima

La investigación se realizó en la leche cruda refrigerada proveniente del Establo Producciones Ganaderas y en la leche pasteurizada refrigerada, la cual es empleada para la elaboración de leche UHT.

Los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de microbiología de la empresa.

Población: Leche cruda 30,000 litros

Muestra: Leche cruda 6,000 litros

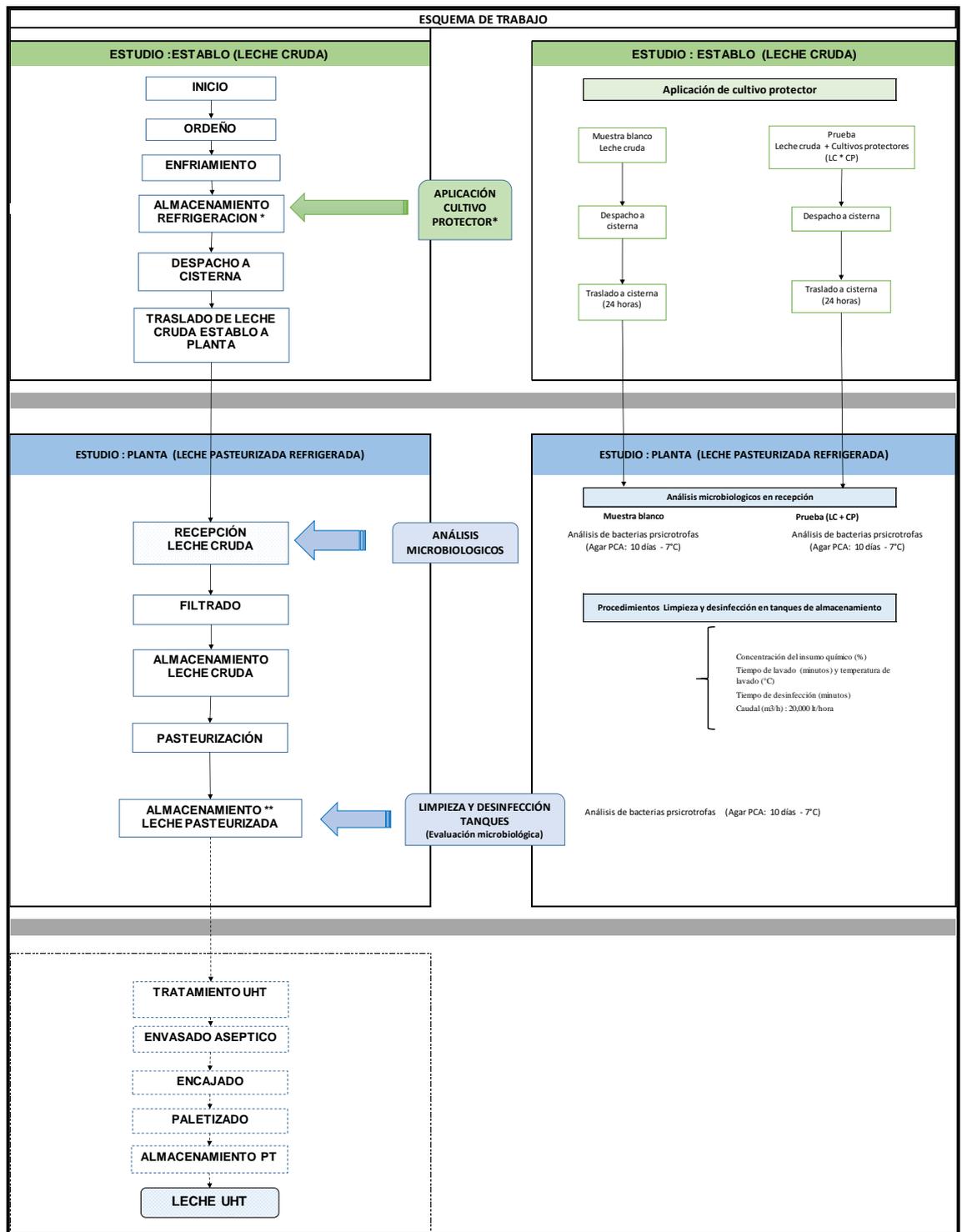


Figura 03: Esquema experimental

### 3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos (validez y confiabilidad)

#### 3.3.1 Aplicación de cultivos protectores

Se aplicó el cultivo protector: Cultivo LRB (*Lactobacillus rhamnosus*) en la leche cruda almacenada en el Establo Producciones Ganaderas

1 dosis de cultivo (DCU: Direct Culture Unit) LRB equivale a  $10^{11}$  ufc

Se aplicó 2 sobres de Lyofast LRB : 4 dosis ( 4 DCU ) en 6,000 litros de leche



Figura 04: Cultivo Protector Lyofast LRB

#### 3.3.2 Estudio en planta:

##### a. Evaluación microbiológica de la leche cruda

Se realizó el recuento de bacterias psicotrofas en la leche cruda antes de la aplicación del cultivo protector (en el establo) durante la recepción.

##### b. Evaluación de Procedimientos de limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento de leche pasteurizada (Limpieza CIP)

Se controló los parámetros: tiempo – temperatura y concentración de insumos químicos establecidos del procedimiento de limpieza y desinfección del tanque de almacenamiento de leche pasteurizada.

Se realizó análisis microbiológicos Aerobios mesófilos y Bacterias psicotrofas del agua de enjuague obtenido de la limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada.

Se realizó análisis microbiológicos de leche pasteurizada: Recuento de aerobios mesófilos y los recuentos de bacterias psicotrofas.

##### c. Plan de capacitación.

Se realizó un plan de capacitación donde se abordó los temas relacionados al procedimiento de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento.

### 3.4 Descripción de procedimientos de análisis

#### 3.4.1 Estudio en el Establo

##### a. Aplicación de cultivos protectores

En el tanque de almacenamiento de 6,000 litros de leche cruda se aplicó 4 DCU del cultivo LRB.

Tabla 01 :

*Control de aplicación de cultivos protectores*

Fecha de aplicación	N° tanque	Dosis del cultivo LRB (DCU)	Cantidad de leche (litros)
03-11-20	4	4 DCU	6,000
24-11-20	4	4 DCU	6,000
15-12-20	4	4 DCU	6,000
17-12-20	4	4 DCU	6,000

Fuente: Elaboración propia

##### ❖ Leche cruda (muestra inicial):

Se tomó 1 litro de leche cruda del tanque de almacenamiento antes de aplicar el cultivo protector. Se realizó el análisis microbiológico de recuento de bacterias psicrotrofas.

Tabla 02:

*Recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda (muestra inicial)*

Fecha de análisis	N° Aplicación	Leche cruda inicial Log (ufc/ml)
03/11/2020	1°	4.85
24/11/2020	2°	4.65
15/12/2020	3°	4.93
17/12/2020	4°	4.89

Fuente: Elaboración propia

##### ❖ Leche cruda (sin cultivo):

Se tomó 1 litro de leche cruda del tanque de almacenamiento antes de aplicar el cultivo protector. Se almaceno en refrigeración por 24 horas aproximadamente. Se realizó el recuento de bacterias psicrotrofas.

Tabla 03:

*Recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda sin cultivo protector*

Fecha de análisis	N° aplicación	Leche cruda sin cultivo Log (ufc/ml)
04/11/2020	1°	5.4
25/11/2020	2°	6.29
16/12/2020	3°	5.18
18/12/2020	4°	5.11

Fuente: Elaboración propia

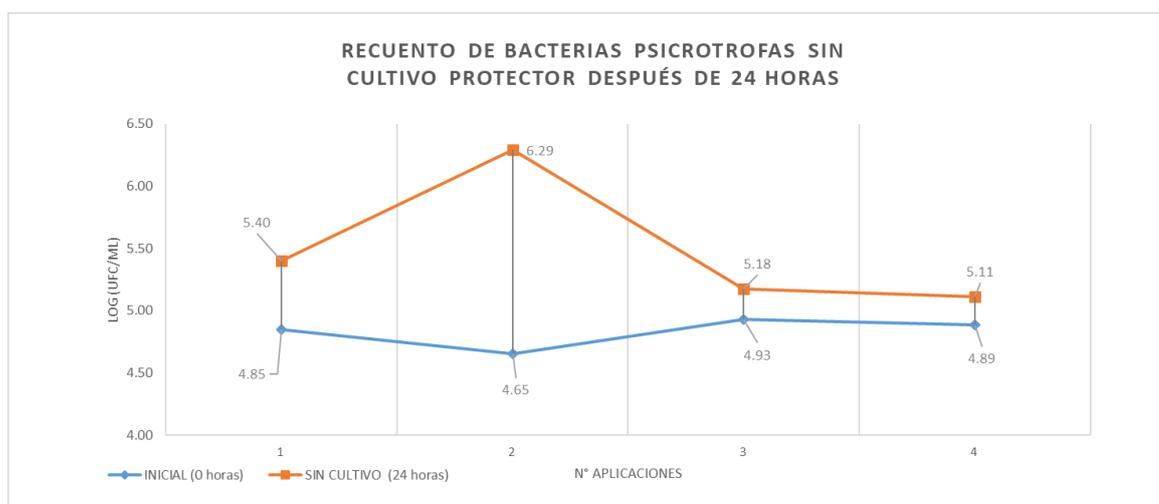


Figura 05 : Bacterias psicrotrofas en leche cruda sin cultivo protector

### 3.4.2 Estudio en planta

#### a. Evaluación microbiológica de la leche cruda en recepción

En la planta de Lima en la etapa de recepción de leche cruda (después de 24 horas de traslado) se realizó la toma de muestra para analizar el recuento de bacterias psicrotrofas.

Tabla 04

### Recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda con cultivo protector

Fecha de aplicación	Nº aplicación	Leche cruda con cultivo Log (ufc/ml)
04/11/2020	1º	4.70
25/11/2020	2º	4.36
16/12/2020	3º	4.90
18/12/2020	4º	4.90

Fuente: Elaboración propia

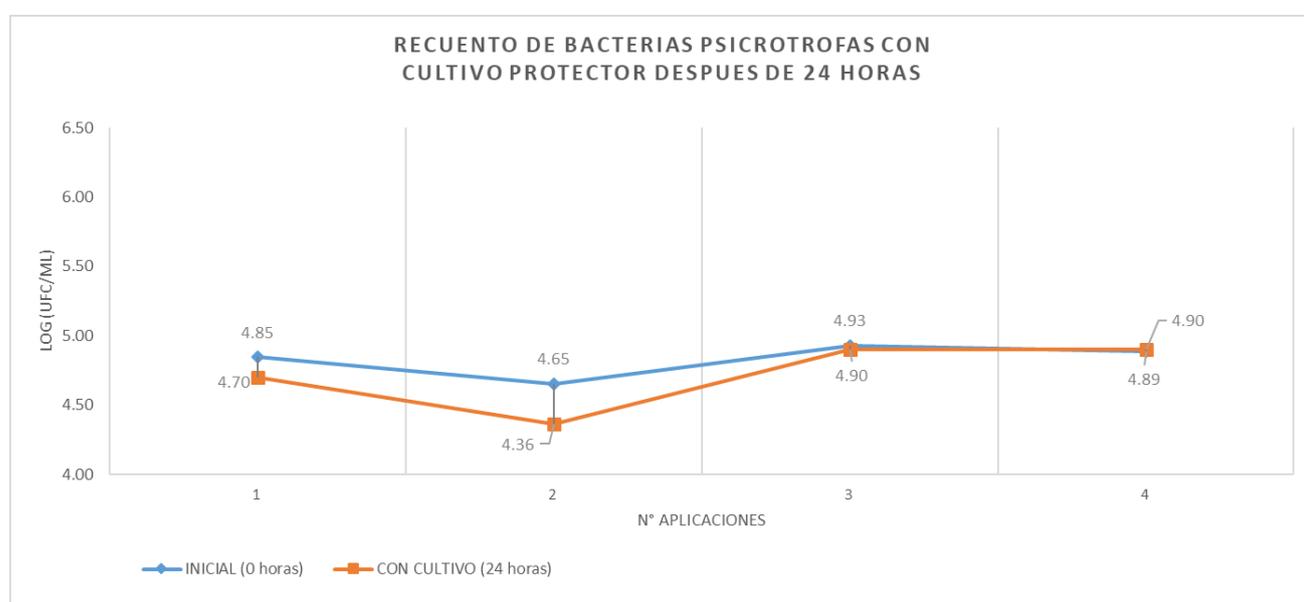


Figura 06: Bacterias psicrotrofas en leche cruda sin cultivo protector

#### b. Evaluación de POES en tanques de almacenamiento de leche pasteurizada

Se realizó el control de los parámetros la limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento.

Se realizó la evaluación microbiológica de la limpieza y desinfección del agua de enjuague obtenida de la limpieza CIP del tanque de almacenamiento.

Se realizó análisis microbiológicos de leche pasteurizada: Recuento de aerobios mesófilos y los recuentos de bacterias psicrotrofas.

#### c. Plan de capacitación

Se realizó la capacitación al personal sobre el procedimiento de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada.

### 3.4.3 Análisis microbiológicos

#### a. Toma de muestra:

##### ❖ Leche cruda en recepción

- Contar con frascos x 1 litro estériles
- Colocarse los guantes para la toma de muestra
- Desinfectar con alcohol las superficies de la válvula de la cisterna y abrir para luego purgar por 2-3 min aproximadamente.
- Tomar 1 litro de leche cruda aproximadamente
- Rotular el frasco indicando fecha
- Enviar el frasco al laboratorio de microbiología para realizar los análisis respectivos.
- Los análisis a realizar son: Recuento de bacterias psicrotrofas

##### ❖ Leche pasteurizada en tanques de almacenamiento

- Contar con frascos x 500 ml estériles
- Colocarse los guantes para la toma de muestra.
- Desinfectar con alcohol las superficies de la válvula del tanque de almacenamiento y abrir para luego purgar por 1 - 2 min
- Tomar 500 ml de leche pasteurizada aproximadamente
- Rotular el frasco indicando fecha, N° de tanque, condiciones de almacenamiento (temperatura – días de almacenamiento)
- Enviar el frasco al laboratorio de microbiología para realizar los análisis respectivos.
- Los análisis a realizar son: Recuento de bacterias psicrotrofas

##### ❖ Agua de enjuague de limpieza CIP

- Contar con frascos x 500 ml estériles
- Colocarse los guantes para la toma de muestra.
- Desinfectar con alcohol las superficies de la válvula del tanque de almacenamiento y abrir para luego purgar por 1-2 min

- Tomar 500 ml de agua de enjuague aproximadamente
- Rotular el frasco indicando fecha, N° de tanque
- Enviar el frasco al laboratorio de microbiología para realizar los análisis respectivos: bacterias psicrotrofas

**b. Métodos de ensayo**

❖ **Recuento de Bacterias Psicrotrofas:**

(Referencia: APHA Capítulo 13 Microorganismos psicrotrofos)

**Preparación de la muestra**

- Limpiar el exterior de los envases utilizando alcohol de 70%.
- Agitar bien el contenido del frasco (leche cruda – leche pasteurizada – agua de enjuague) para realizar una buena homogenización.
- Realizar diluciones decimales, para la dilución  $10^{-1}$ , se toma 10 ml de la muestra y se coloca en 90 ml de agua peptonada realizar una buena homogenización, tomar 1 ml de la dilución anterior y agregar en 9 ml de agua peptonada, homogenizar la muestra y así sucesivamente.

**Análisis de la muestra**

- Pipetear 1 ml de la muestra y de cada dilución, colocándolas en placas petri esterilizada, las cuales están debidamente rotuladas.
- Agregar aproximadamente 15 ml de agar PCA fundido en cada placa petri, la temperatura del agar debe estar entre  $45^{\circ} - 50^{\circ} \text{C}$
- Mezclar inmediatamente el inóculo con el agar, con movimientos de vaivén, en sentido horario, anti horario, vertical y horizontal, 5 veces cada sentido hasta homogenizar el inóculo completamente con el agar.
- Dejar solidificar las placas sobre la mesa.

**Incubación**

- Incubar las placas a una temperatura  $7^{\circ}\text{C}$  por 10 días.
- Las placas deben ser colocadas con el cover hacia abajo, botton hacia arriba.

**Lectura y resultados**

- Seleccionar la placa correspondiente a la dilución que contenga un recuento de 20 – 200 colonias
- Contar las colonias presentes en el agar.

- El número de colonias se multiplica por el factor de dilución, que es el inverso y se redondea el número a 2 cifras significativas (o dígitos) y potencias de 10.

❖ **Recuento de Bacterias Aerobios mesófilos:**

(ICMSF 2da. Ed. Vol.1 parte II Pág. 120-124 Traducción de la versión 1988)  
reimpresa en el 2000 Editorial ACRIBIA)

**Preparación de la muestra**

- Limpiar el exterior de los envases utilizando alcohol de 70%.
- Agitar bien el contenido del frasco (leche cruda – leche pasteurizada – agua de enjuague) para realizar una buena homogenización.
- Realizar diluciones decimales, para la dilución  $10^{-1}$ , se toma 10 ml de la muestra y se coloca en 90 ml de agua peptonada realizar una buena homogenización, tomar 1 ml de la dilución anterior y agregar en 9 ml de agua peptonada, homogenizar la muestra y así sucesivamente.

**Análisis de la muestra**

- Pipetear 1 ml de la muestra y de cada dilución, colocándolas en placas petri esterilizada, las cuales están debidamente rotuladas.
- Agregar aproximadamente 15 ml de agar PCA fundido en cada placa petri, la temperatura del agar debe estar entre  $45^{\circ} - 50^{\circ} \text{C}$
- Mezclar inmediatamente el inóculo con el agar, con movimientos de vaivén, en sentido horario, anti horario, vertical y horizontal, 5 veces cada sentido hasta homogenizar el inóculo completamente con el agar.
- Dejar solidificar las placas sobre la mesa.

**Incubación**

- Incubar las placas a una temperatura  $35 - 37^{\circ} \text{C}$  por 48 horas.
- Las placas deben ser colocadas con el cover hacia abajo, botton hacia arriba.

**Lectura y resultados**

- Seleccionar la placa correspondiente a la dilución que contenga un recuento de 20 – 200 colonias
- Contar las colonias presentes en el agar.

- El número de colonias se multiplica por el factor de dilución, que es el inverso y se redondea el número a 2 cifras significativas (o dígitos) y potencias de 10.

#### **3.4.4 Análisis de datos**

Los datos obtenidos son tratados mediante análisis estadístico empleando el software MINITAB.

## CAPITULO IV: RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

### 4.1 Resultados

#### 4.1.1 Diagnostico situacional

##### a. Reclamos presentados en Leche UHT

Durante los últimos 5 años en la empresa P&D Andina Alimentos S.A. se han reportado 391 reclamos de leche UHT por motivos de mal sellado, presencia de grumos (coagulación dulce), sabor amargo, fermentado.

De acuerdo al Diagrama de Pareto realizado a los reclamos presentados en Leche UHT hemos identificado que el 43 % de dichos reclamos es por mal sellado, el 32% es por presencia de grumos (coagulación dulce) y el 14% es por sabor amargo.

Tabla 05  
Número de reclamos de Leche UHT (2015 – 2020)

<b>Motivos de Reclamos Leche UHT</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>	<b>Acumulado</b>	<b>%Acumulado</b>
Mal sellado	169	43%	169	43%
Presencia de grumos	127	32%	296	76%
Sabor amargo	53	14%	349	89%
Fermentado	42	11%	391	100%
Total	391	100%		

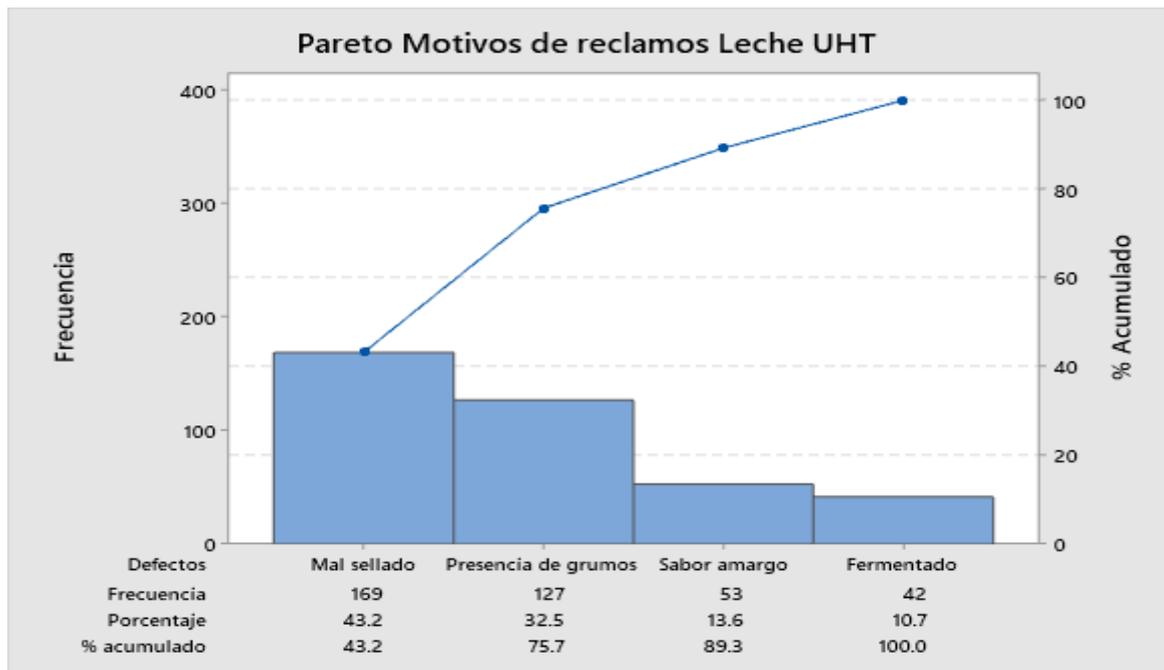


Figura 07: Pareto de Reclamos de Leche UHT (2015 - 2020)

#### b. Tendencia de los reclamos de Leche UHT

Después de determinar que el 43% de los reclamos de leche UHT es por mal sellado, el 32% es por presencia de grumos (coagulación dulce), realizamos la tendencia de dichos reclamos durante los últimos 5 años.

De los reclamos de Leche UHT por mal sellado en el 2020 han disminuido en un 35% aproximadamente con respecto al 2019. Así mismo para el año 2021 existe un proyecto de adquisición de una nueva máquina envasadora lo cual permitirá minimizar los reclamos por este motivo.

De los reclamos de Leche UHT por presencia de grumos (coagulación dulce) en el 2020 se ha quintuplicado con respecto al año anterior, por lo que es necesario tomar acciones para minimizar este problema en la Leche UHT que afecta la calidad del producto.

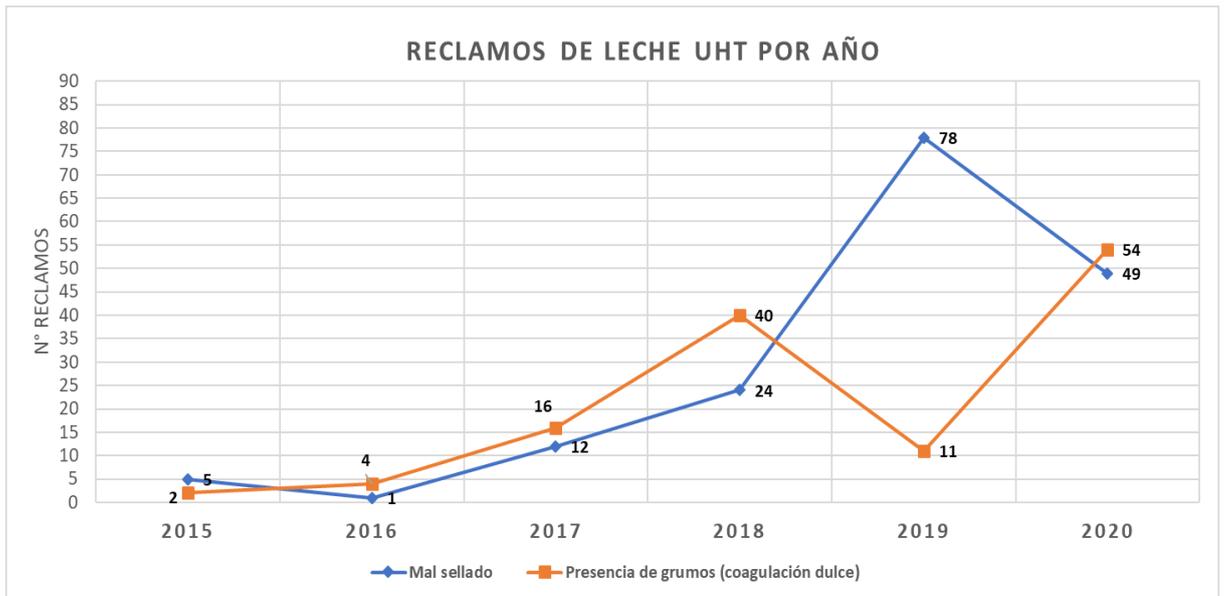


Figura 08: Tendencia de Reclamos Leche UHT

En los últimos años ha existido una disminución de las unidades vendidas de leche UHT, en el 2019 las unidades vendidas han disminuido en un 29% con respecto al 2018, en el 2020 las unidades vendidas han disminuido en un 40% con respecto al 2019. Los reclamos en el 2020 se incrementaron en un 390% con respecto al 2019.

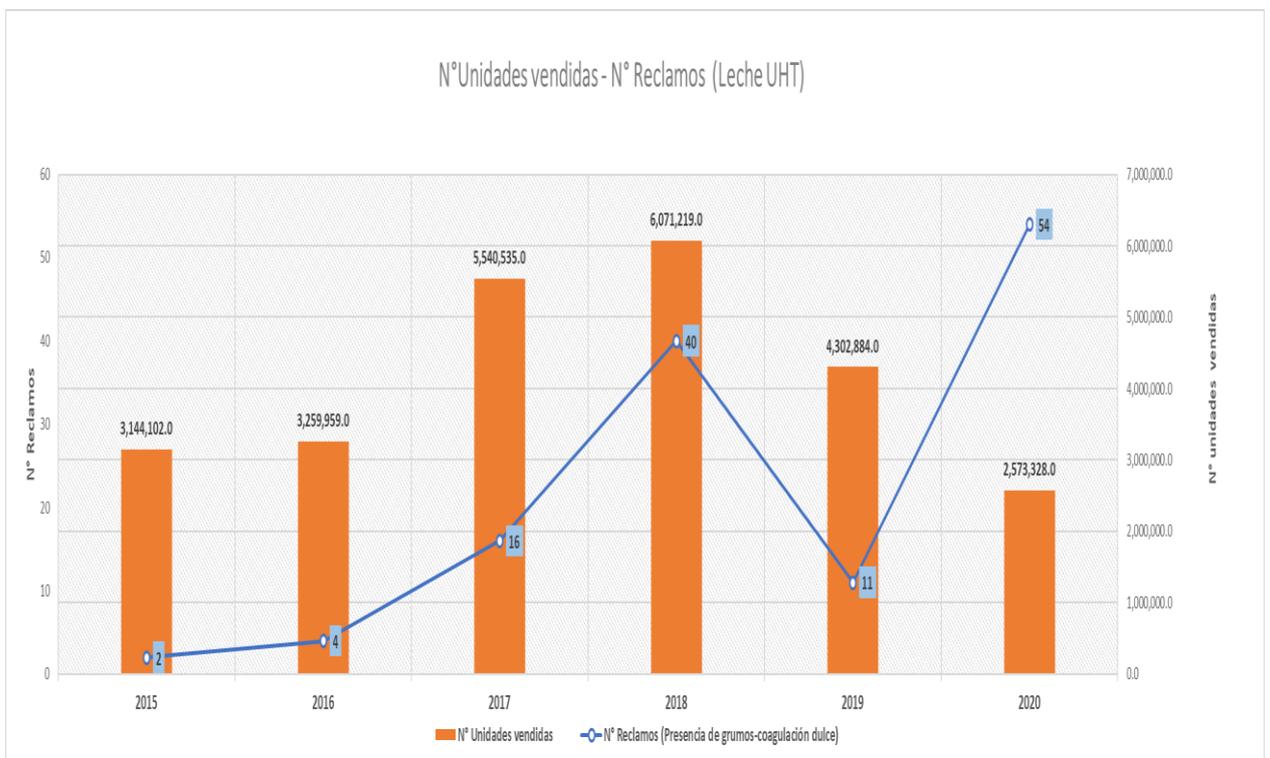


Figura 09 Tendencia de unidades vendidas vs Reclamos Leche UHT

### **c. Análisis de causa de la presencia de grumos (coagulación dulce) en leche UHT**

Según Mottar (1989), la vida útil de la leche UHT está limitada por la acción de proteinasas termorresistentes durante el almacenamiento. Las alteraciones se deben a las actividades enzimáticas residuales. Estas enzimas exocelulares, lipasas y proteasas son producidos por bacterias psicrotomas que habitualmente se encuentran en la leche y son extremadamente resistentes a la desnaturalización por el tratamiento térmico.

Las bacterias psicrotomas son inactivadas durante los tratamientos de la leche como es UHT, sin embargo, las enzimas termoestables de acción proteolítica son capaces de persistir en la leche (Marchand, 2009). Las proteasas son capaces de hidrolizar las proteínas de la leche durante el almacenamiento, lo cual favorece la presencia de grumos (coagulación dulce) sabores amargos en la leche.

En el análisis de causa realizado a la presencia de grumos (coagulación dulce) en leche UHT, hemos identificado diversas causas como el recuento elevado de bacterias psicrotomas en leche cruda, en leche pasteurizada, temperaturas de almacenamiento de leche pasteurizada, tanques de almacenamiento de leche sucios, limpieza CIP inadecuados.

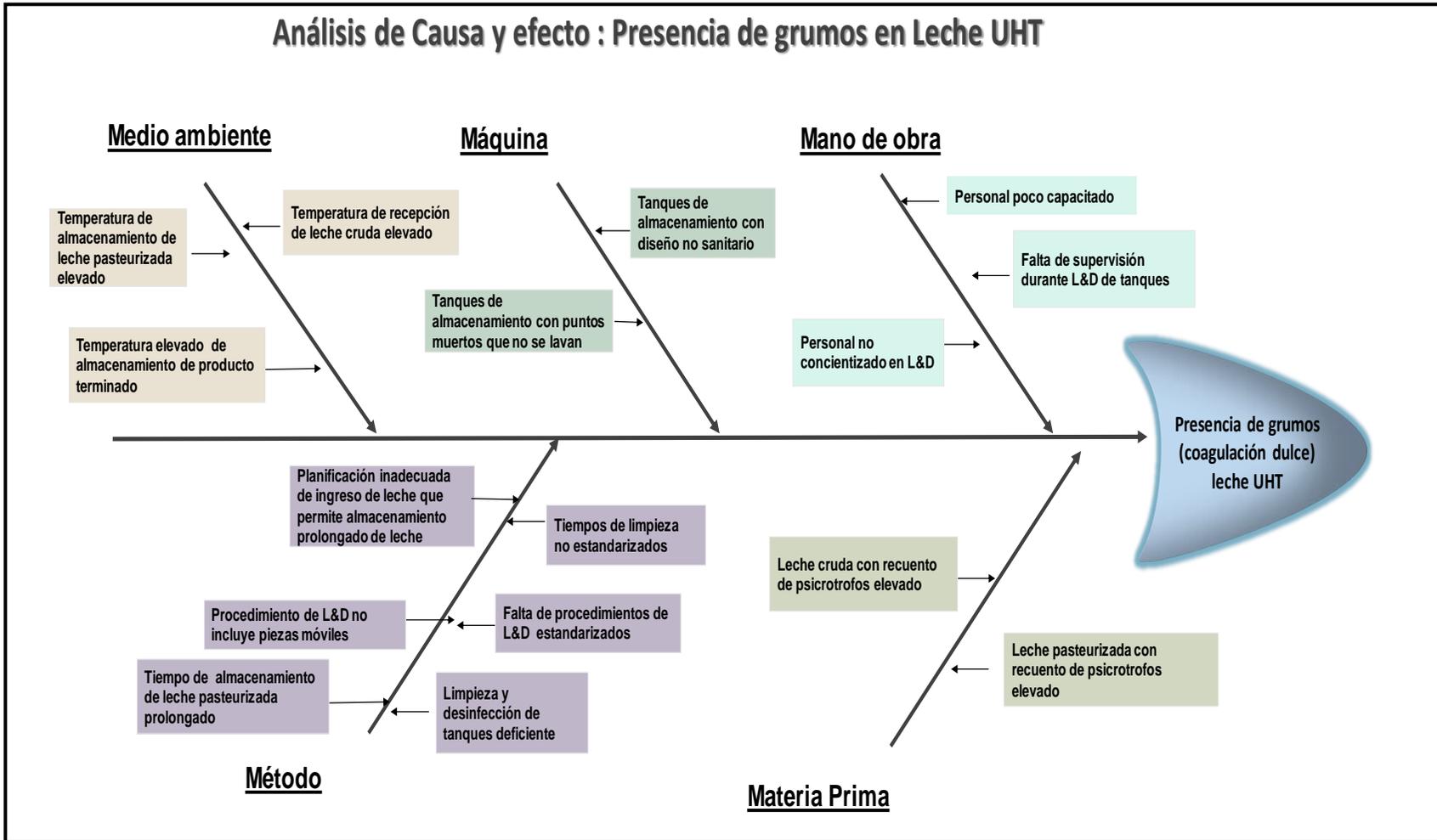


Figura 10: Gráfico de Causa y Efecto Presencia de grumos (Coagulación dulce)

### d. Elaboración de Leche UHT

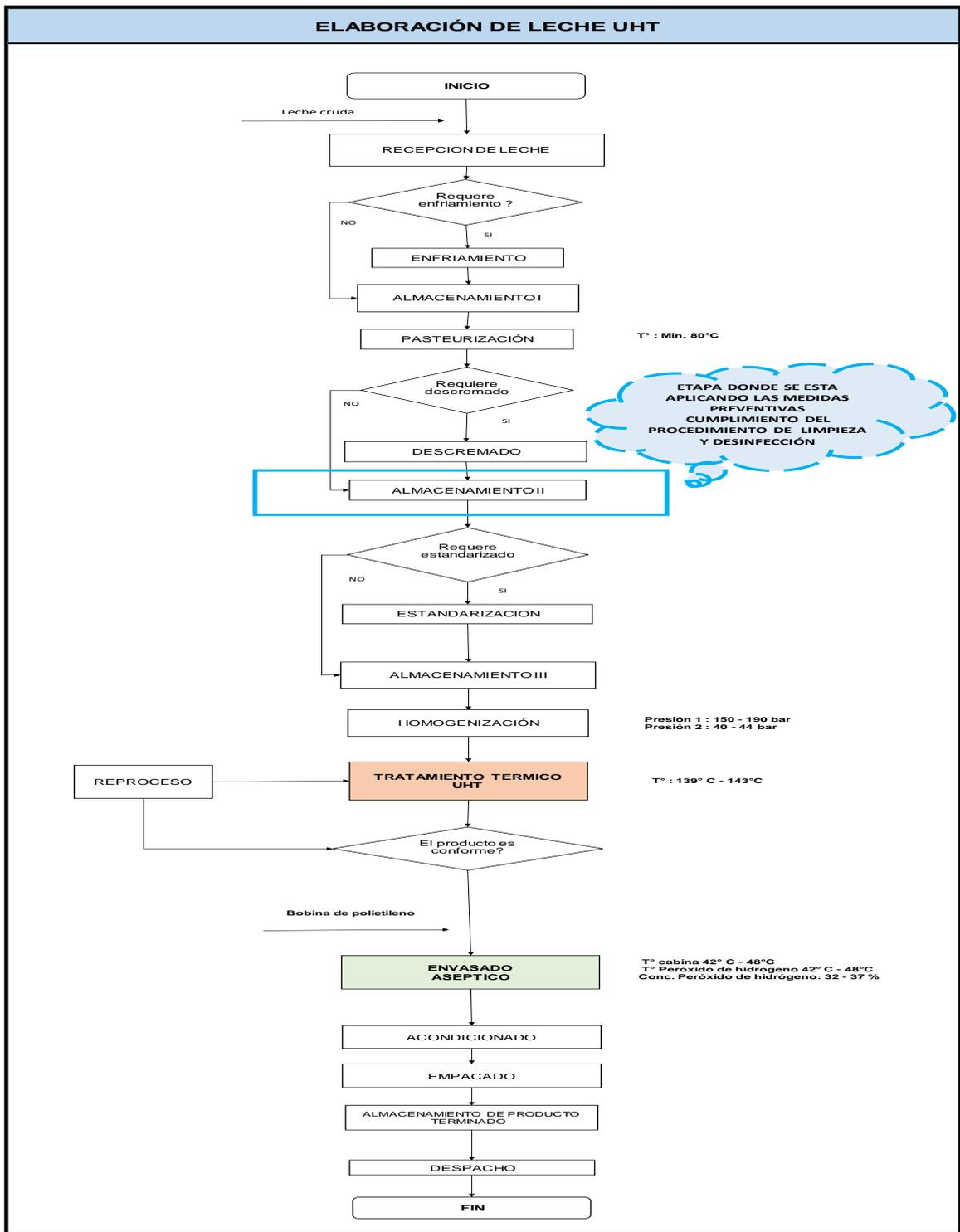
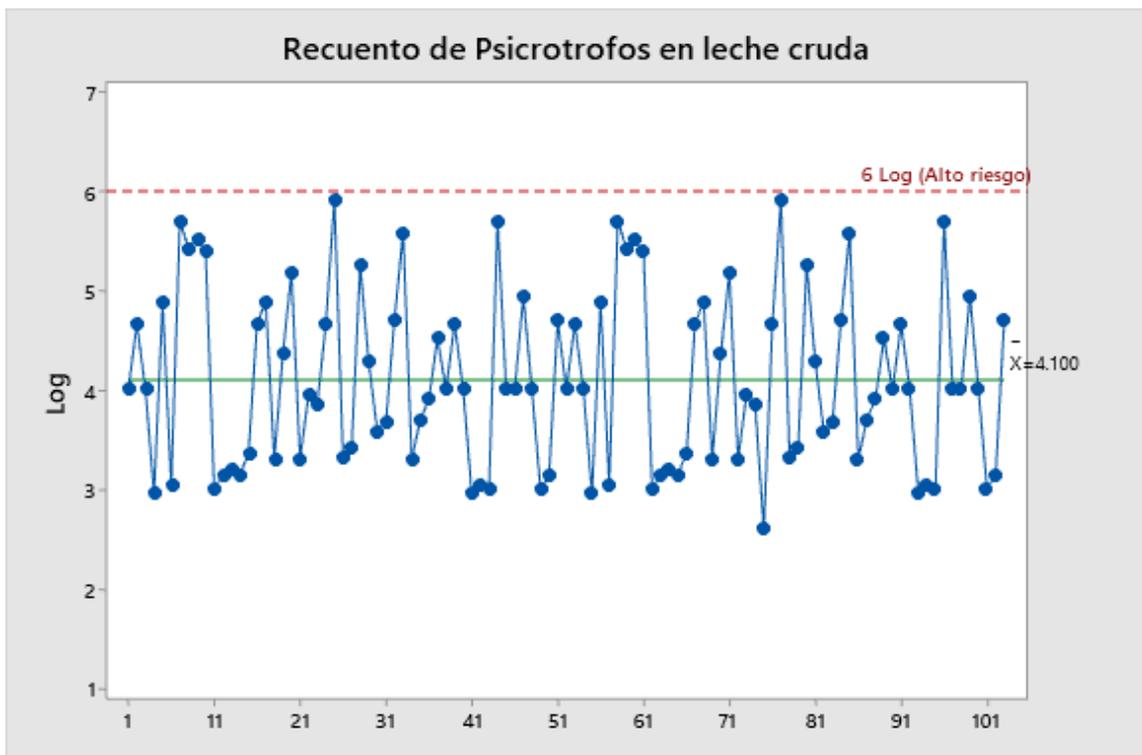


Figura 11: Diagrama de flujo -. Elaboración de leche UHT

**e. Recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda:**

Se realizó los análisis de recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda durante la recepción encontrándose un promedio de recuento de bacterias psicrotrofas de 4.1 Log ufc/ml , teniendo recuentos máximos de 5.9 log ufc/ml y recuento mínimo de 3 log ufc/ml. De acuerdo a lo señalado por Revelli et.al, (2004) para que se produzca proteólisis en un producto las bacterias psicrotrofas deben estar mayor a  $10^6$  ufc/ml



*Figura 12 : Recuento de Bacterias Psicrotrofas en leche cruda*

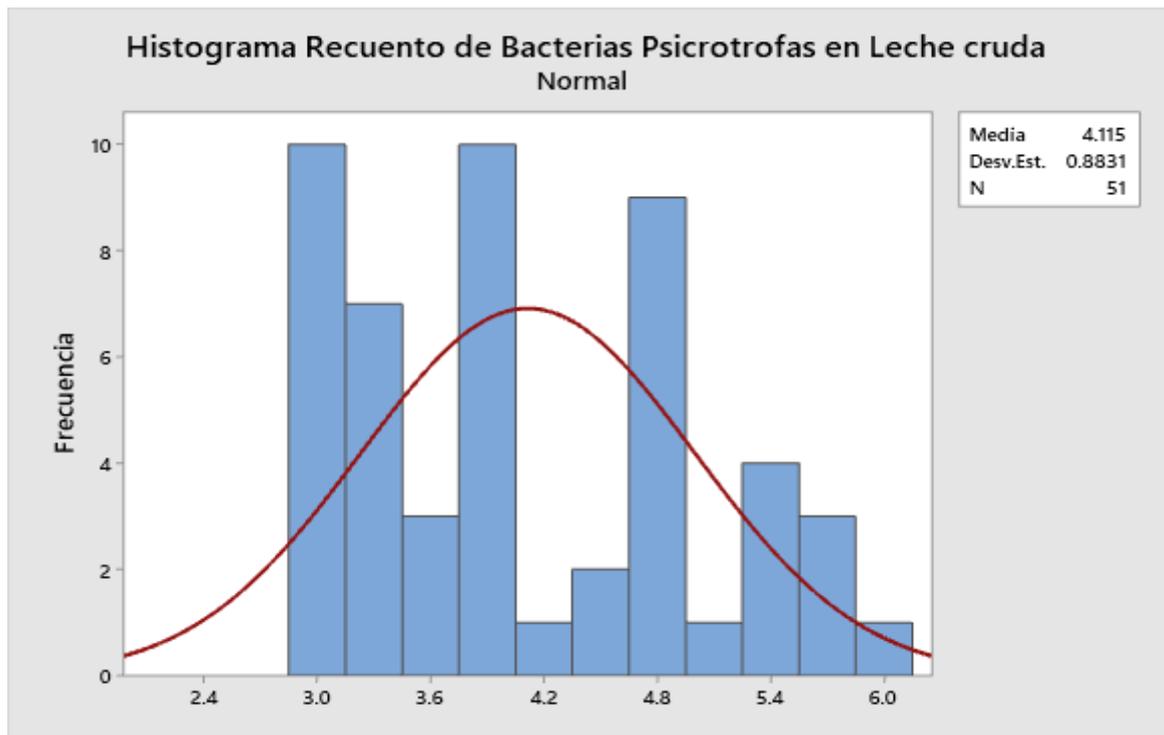


Figura 13: Histograma de recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda

**f. Recuento de bacterias aerobios mesofilos en leche cruda:**

Se realizó los análisis de recuento de bacterias aerobios mesófilos en leche cruda durante la recepción encontrándose un promedio de recuento de aerobios mesofilos de 4.0 Log ufc/ml , teniendo recuentos máximos de 5.6 log ufc/ml y recuento mínimo de 3 log ufc/ml.

De acuerdo al Decreto Supremo N° 007-2017 Reglamento de leche y productos lácteos la especificación máxima para Recuento de Aerobios mesofilos es de  $5 \times 10^5$  ufc/ml (5,7 log (ufc/ml))

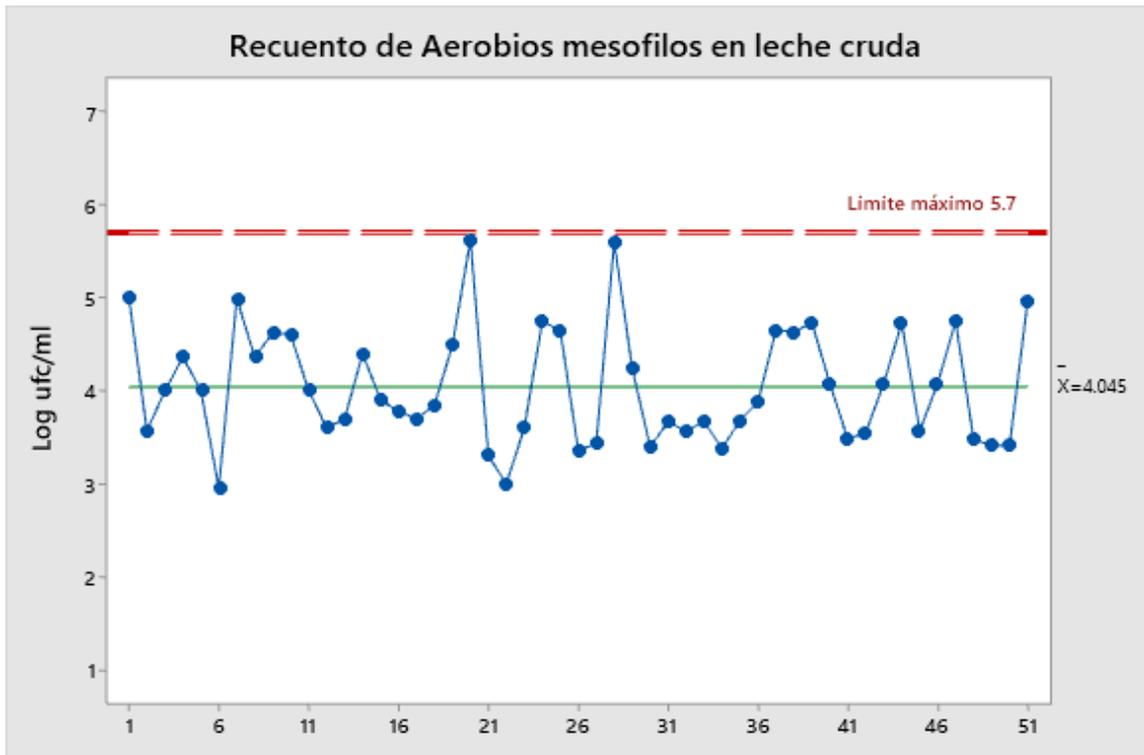


Figura 14: Recuento de aerobios mesófilos en leche cruda

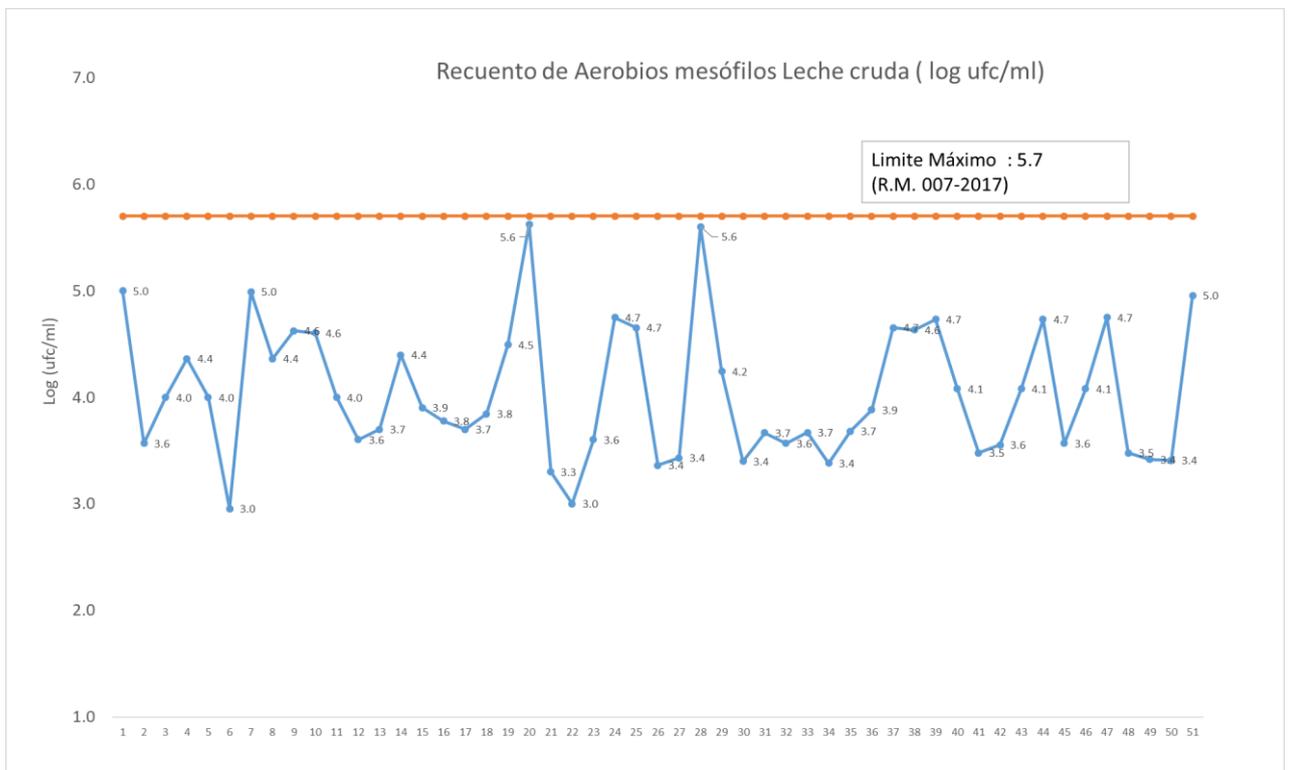
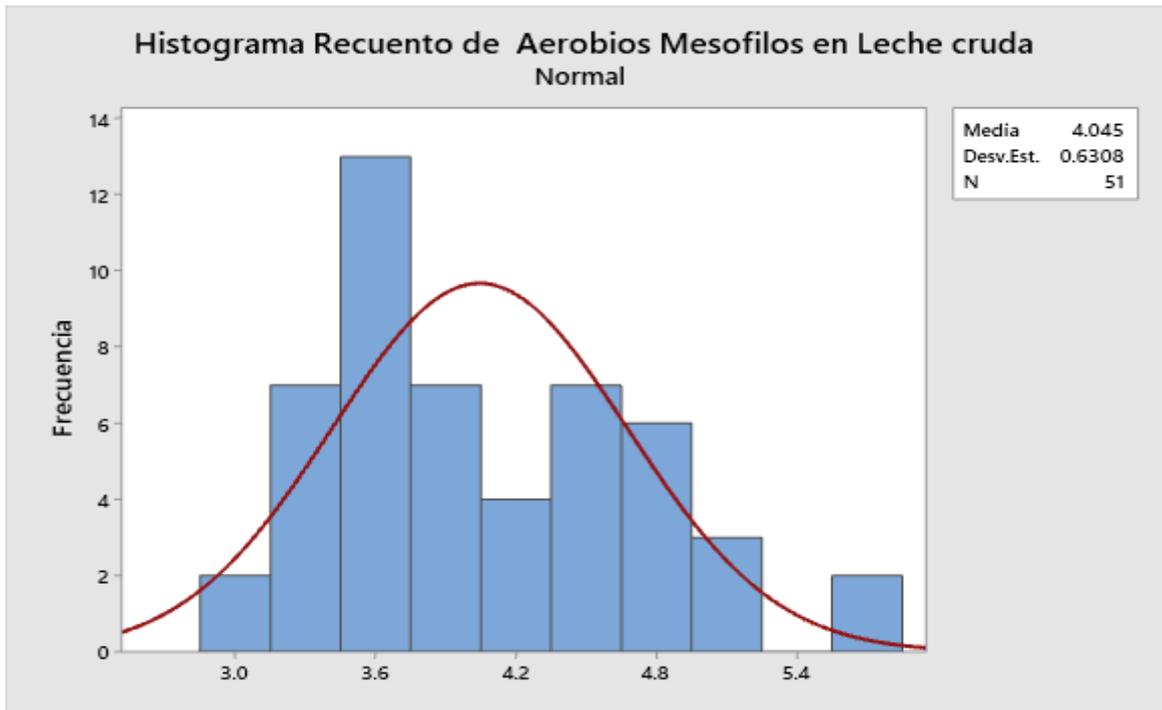


Figura 15: Recuento de Aerobios mesofilos y límite máximo en leche cruda : 5.7 log (ufc/ml)



*Figura 16:* Histograma de recuento de aerobios mesofilos en leche cruda

**g. Temperatura de recepción de leche cruda**

La leche cruda es recepcionada en la planta con una temperatura promedio de 4.9 °C, se ha recepcionado leche con un mínimo de 2.1°C y con un máximo de 7.3 °C.

La temperatura de almacenamiento y traslado de leche cruda recomendado por el Código de Prácticas de Higiene para la leche y los productos lácteos es de 4(Codex CAC/RCP 57-2004, 2004)°C

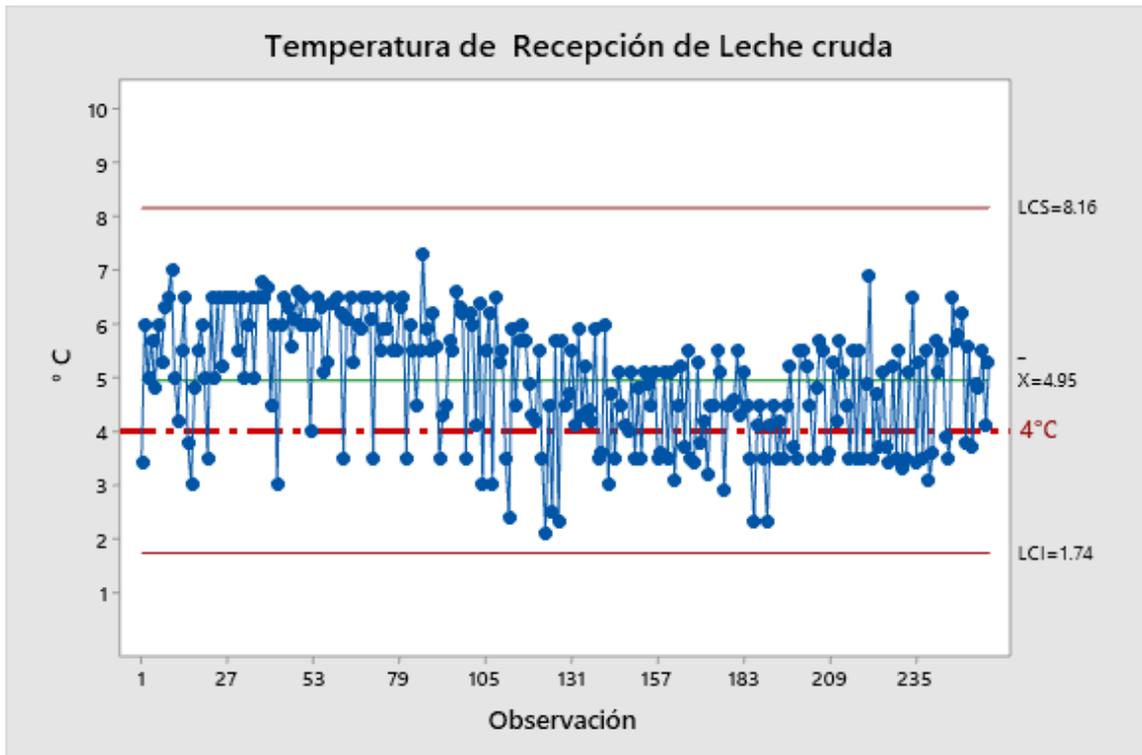


Figura 17: Control de temperatura de recepción de leche cruda

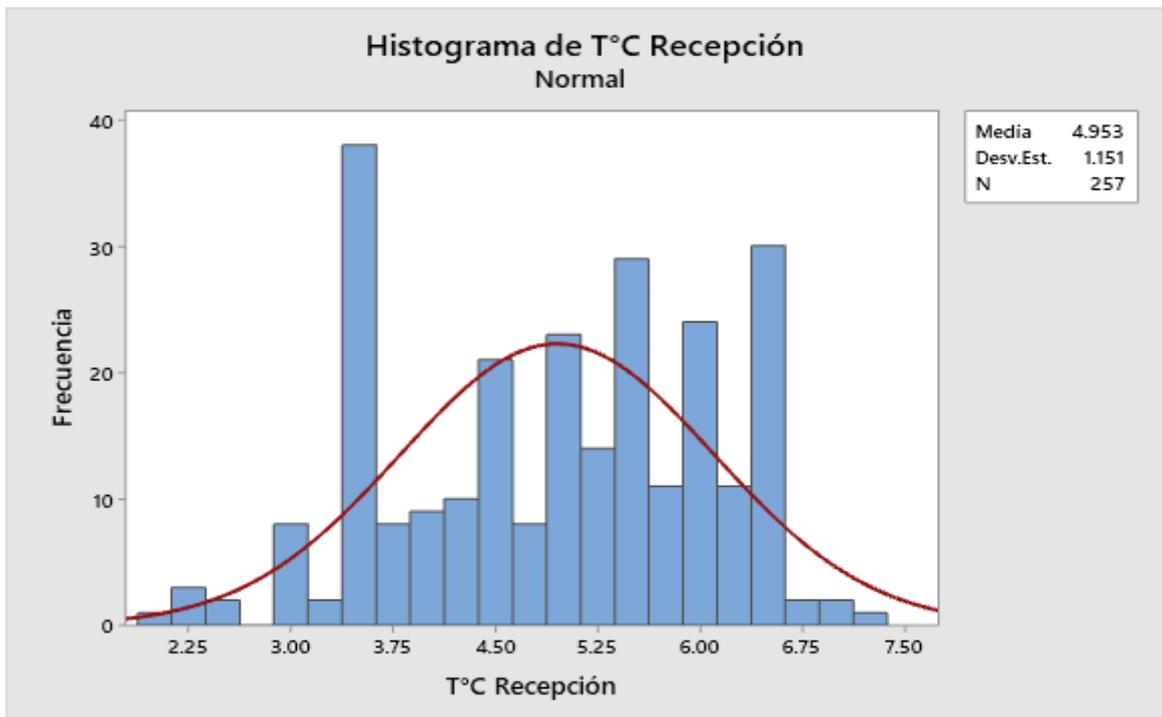


Figura 18: Histograma de temperatura de recepción de leche cruda

#### h. Temperatura de almacenamiento de leche pasteurizada

La leche pasteurizada es almacenada en tanques conservándose en refrigeración, la temperatura promedio de almacenamiento es de  $6.7^{\circ}\text{C}$ , y la temperatura mínima es de  $4.1^{\circ}\text{C}$  con un máximo de  $8.7^{\circ}\text{C}$

La temperatura de almacenamiento para producto lácteo terminado de acuerdo al Decreto Supremo N° 007-2017 Reglamento de leche y productos lácteos es de  $6^{\circ}\text{C}$ .

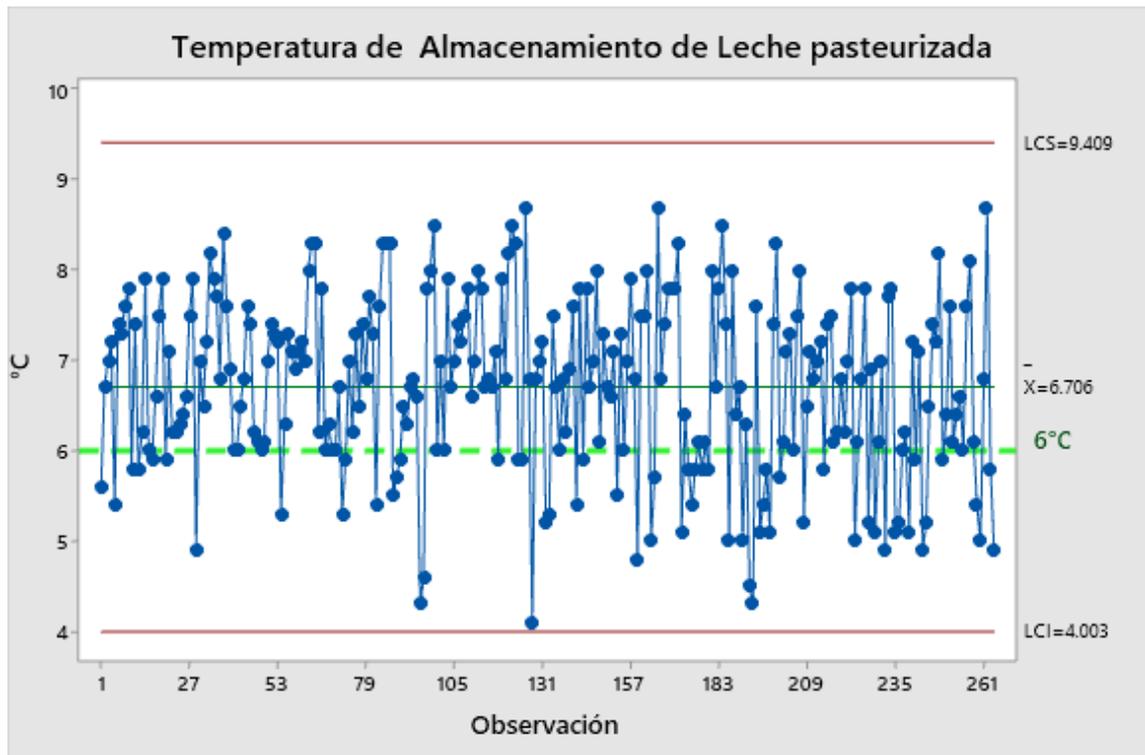


Figura 19: Control de temperatura de almacenamiento de leche pasteurizada

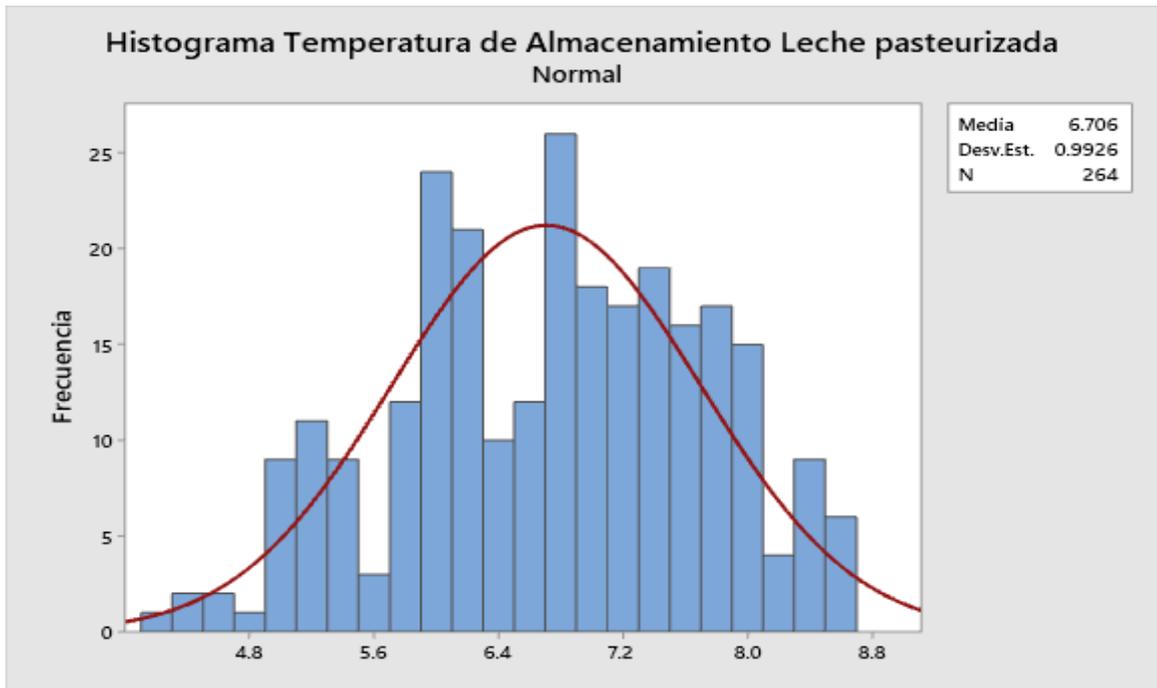


Figura 20: Histograma de temperatura de almacenamiento de leche pasteurizada

#### i. Recuento de bacterias psicrotrofas en leche pasteurizada

Se ha realizado los recuentos de bacterias psicrotrofas en leche pasteurizada obteniéndose un promedio de 2.6 Log ufc/ml. El valor máximo reportado es de 4.9 log (ufc/ml), y el mínimo es de 1.9 log (ufc/ml). El recuento de bacterias ha ido disminuyendo debido a que gradualmente se fueron tomando acciones como eliminación de puntos muertos.

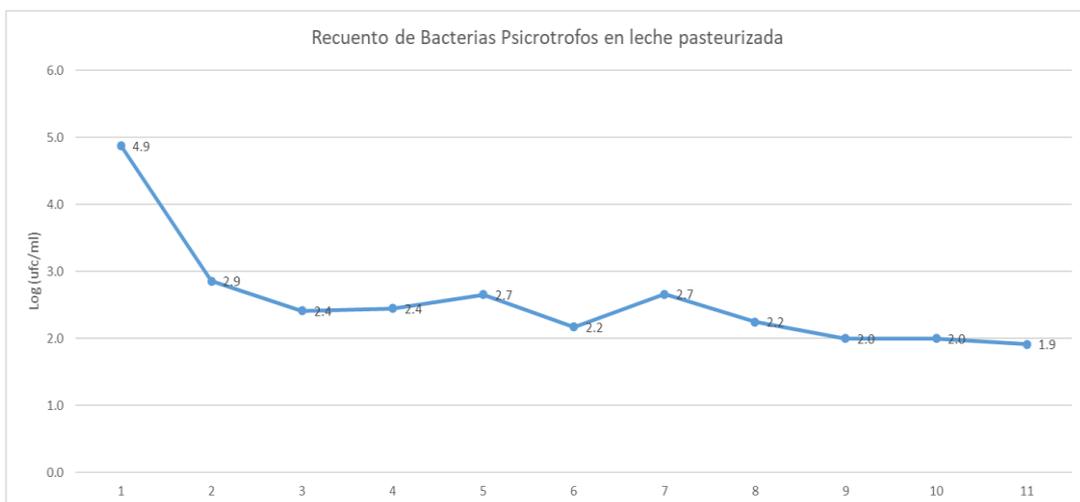
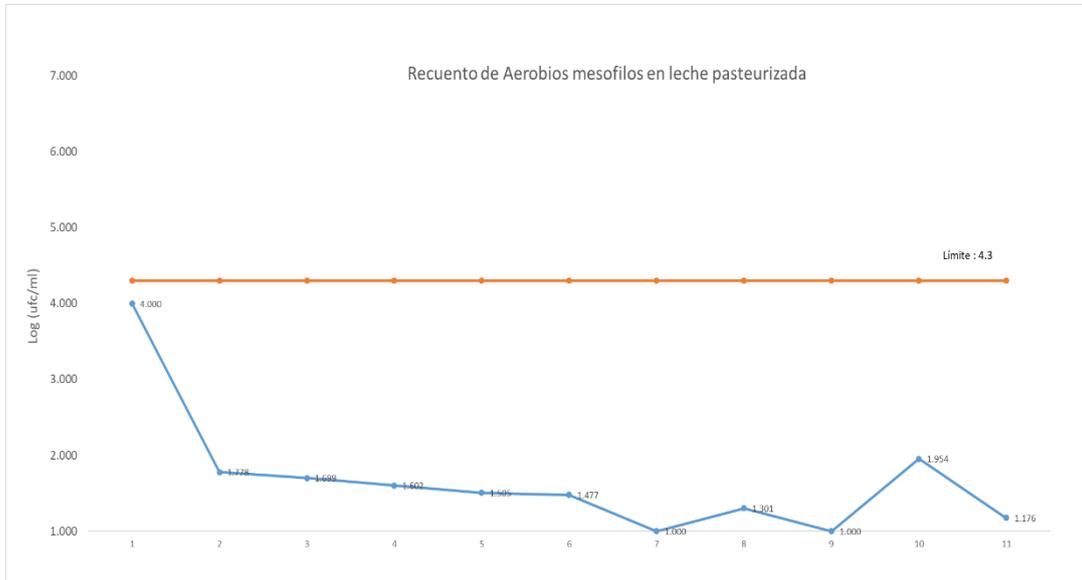


Figura 21 Recuento de bacterias psicrotrofos en leche pasteurizada

**j. Recuento de aerobios mesofilos en leche pasteurizada**

Se ha realizado los recuentos de aerobias mesofilos en leche pasteurizada obteniéndose un promedio de 1.6 Log ufc/ml.



*Figura 22:* Recuento de Aerobios Mesofilos en leche pasteurizada

**k. Recuento microbiológico de agua de enjuague en tanques de almacenamiento**

Se ha realizado los análisis microbiológicos: Recuentos de Aerobios mesofilos y Bacterias Psicrotrofas del agua de enjuague de la limpieza CIP de los tanques de almacenamiento.

Los resultados obtenidos muestran que el recuento de aerobios mesofilos teniendo como promedio es de 3.5 log (ufc/ml) y para el recuento de bacterias psicrotrofas promedio es de 3.2 log (ufc/ml) en agua de enjuague de la limpieza de tanques de almacenamiento.

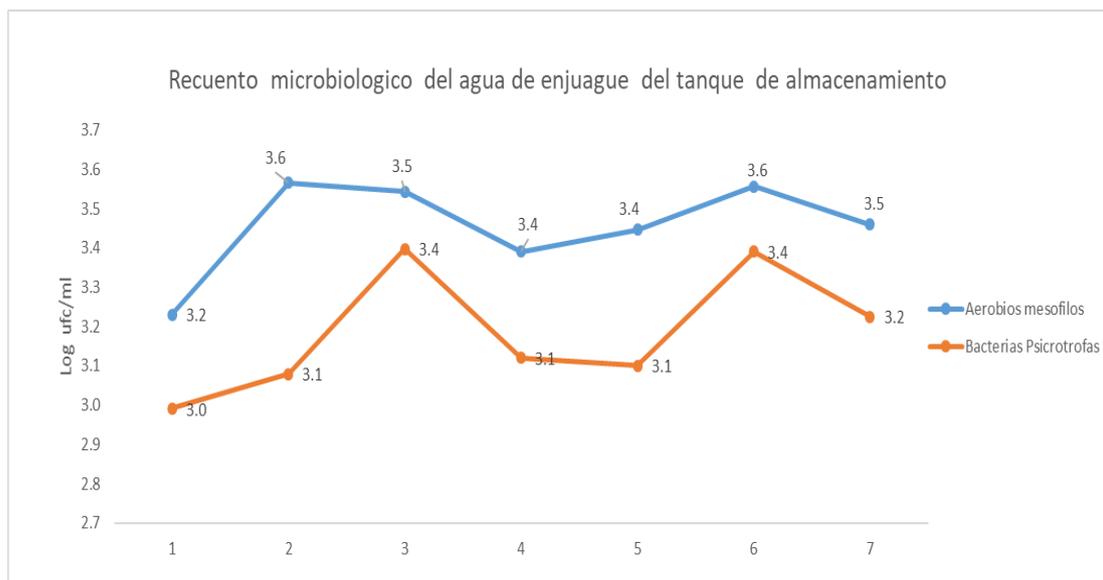


Figura 23 Recuento microbiológico del agua de enjuague de L&D del tanque de almacenamiento

### I. Limpieza CIP del tanque de almacenamiento

- ❖ Parámetros de Limpieza CIP: Los parámetros empleados en la limpieza CIP del tanque de almacenamiento de leche son :

Tabla 06 :  
Parámetros de limpieza CIP

Agente químico	Concentración	Temperatura	Tiempo	PH Enjuague	Caudal
Soda Cáustica 50%	1.2% - 1.6%	Min. 70°C	15-20 min	7.0 - 8.0	8,000 l/h
Ácido Nítrico 53%	0.6 % - 1.0%	Min. 70°C	15-20 min	7.0 - 8.0	

Fuente: Elaboración propia

La desinfección de los tanques de almacenamiento se realiza después de la limpieza con agua caliente 80°C.

❖ Diseño de Limpieza CIP del tanque de almacenamiento

Se realizó la inspección del diseño de la línea de limpieza y línea de producto del tanque de almacenamiento de leche.

Se encontró que en la línea de producto no se realizaba la limpieza química con la acción mecánica suficiente, no generándose la turbulencia necesaria para remover la suciedad.

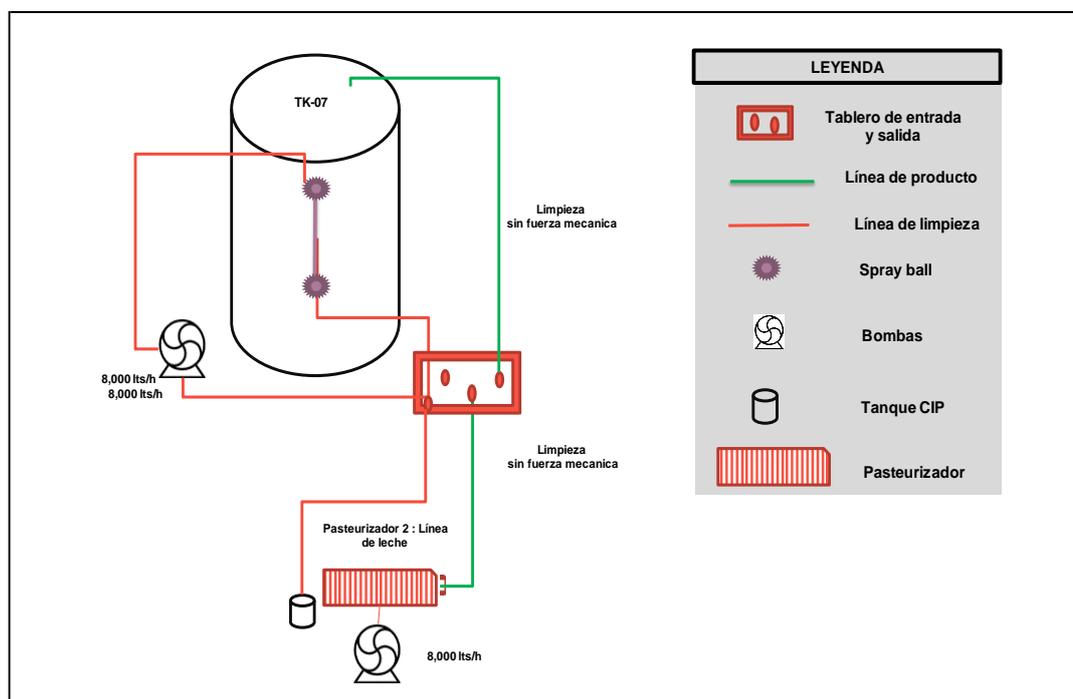
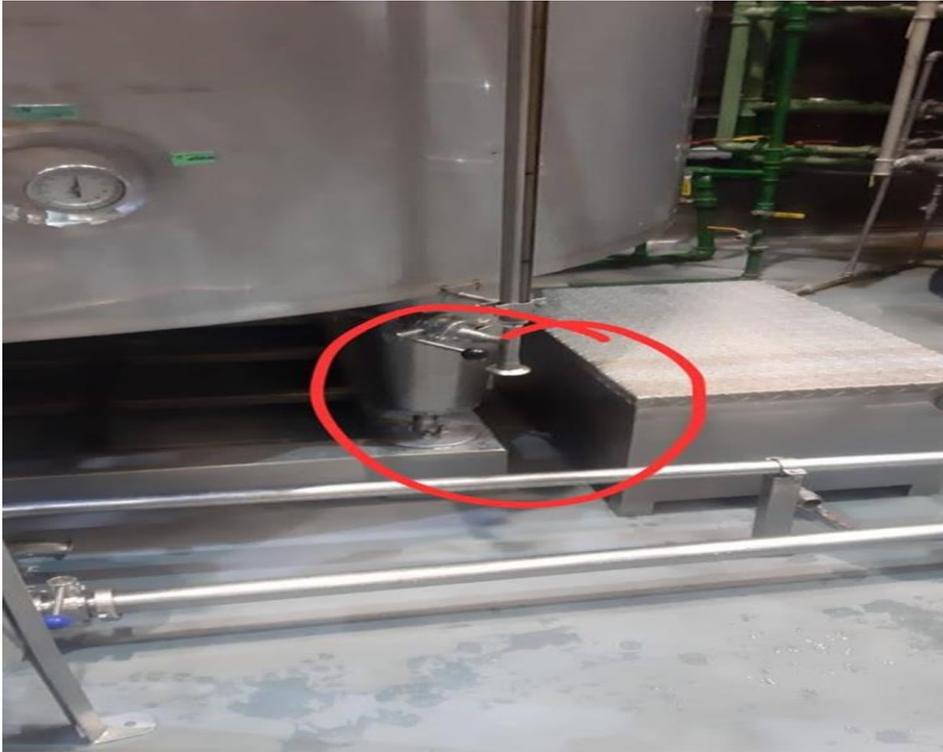


Figura 24: Diseño inicial de limpieza CIP del tanque de almacenamiento de leche

Se encontró puntos muertos en el tanque de almacenamiento donde no se realizaba la limpieza química.



*Figura 25* Identificación de Puntos muertos en tanque de almacenamiento



*Figura 26* Identificación de puntos muertos en tanque de almacenamiento

#### 4.1.2 Acciones tomadas

De acuerdo al esquema de trabajo se ha implementado acciones para controlar el crecimiento de las bacterias psicrotrofas mediante la aplicación de cultivos protectores en leche cruda durante la etapa de almacenamiento desde el establo , el cumplimiento del procedimiento de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada, y las capacitaciones realizadas al personal sobre limpieza y desinfección

##### a. Aplicación de cultivos protectores en leche cruda

Se realizó la aplicación de cultivos protectores Lyofast LRB (*Lactobacillus rhamnosus*) en leche cruda.

Se realizaron análisis microbiológicos, recuento de Bacterias Psicrotrofos en leche cruda inicial (antes de la aplicación del cultivo protector).

Antes de la aplicación del cultivo protector se retiró una muestra (muestra blanco) y se almacenó en refrigeración por un determinado tiempo, después de eso se realizó los análisis de recuento de bacterias psicrotrofos.

Se aplicó 2 sobres de cultivos protectores (4 DCU) en un tanque de 6,000 litros de leche cruda y después de un tiempo de contacto (24 horas aproximadamente) se retiró una muestra para realizar el recuento de bacterias psicrotrofos.

Tabla 07:

*Control de aplicación de cultivo protector*

<b>Fecha de aplicación</b>	<b>N° tanque</b>	<b>Dosis del cultivo LRB (DCU)</b>	<b>Cantidad de leche (litros)</b>
03-11-20	4	4 DCU	6,000
21-11-20	4	4 DCU	6,000
01-12-20	4	4 DCU	6,000
14-12-20	4	4 DCU	6,000

Fuente: Elaboración propia

Tabla 08:  
*Recuento de bacterias psicrotrofas en leche cruda*

Fecha de aplicación	N° Aplicación	Leche cruda inicial 0 hs Log (ufc/ml)	Leche cruda sin cultivo a 24hs Log (ufc/ml)	Leche cruda con cultivo a 24hs Log (ufc/ml)
03/11/2020	1°	4.85	5.4	4.70
24/11/2020	2°	4.65	6.29	4.36
15/12/2020	3°	4.93	5.18	4.90
17/12/2020	4°	4.89	5.11	4.90

Fuente: Elaboración propia

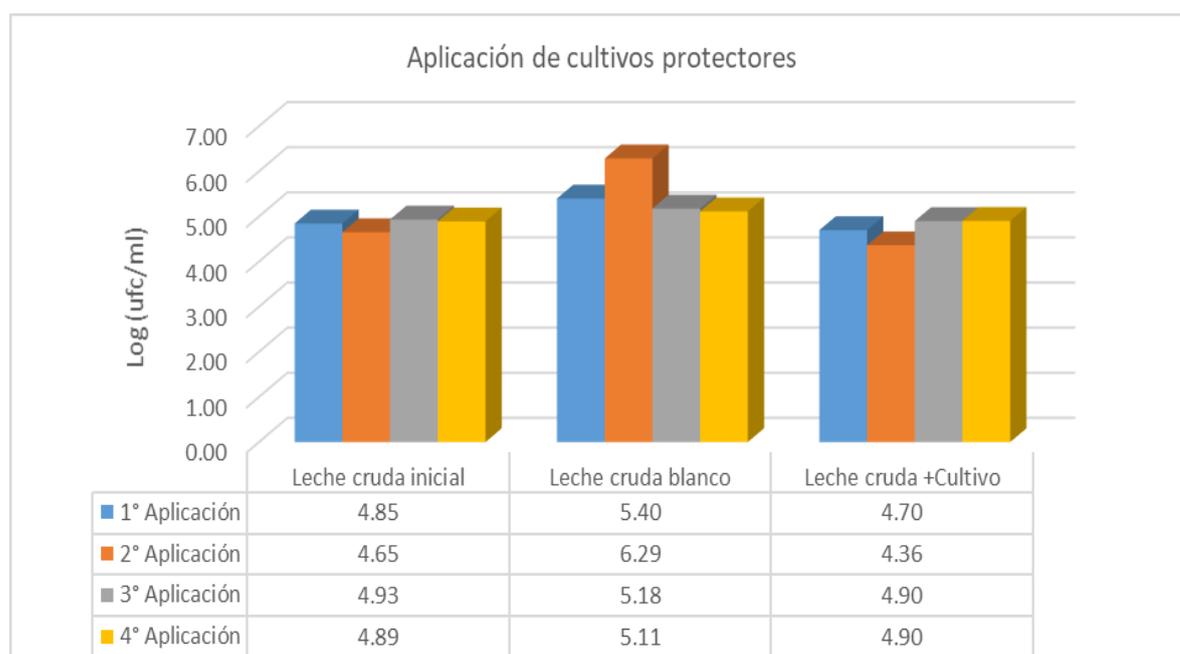


Figura 27: Recuento de bacterias psicrotrofas – pruebas de cultivos protectores

### b. Limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento

#### ❖ Diseño de limpieza CIP:

Se realizó el mejoramiento de la línea de limpieza colocándose una bomba de mayor capacidad a 24,000 lts/h, así mismo se colocó válvulas para direccionar los insumos

de limpieza hacia la línea de producto y realizar la circulación de los insumos químicos para hacer limpieza CIP con la bomba instalada.

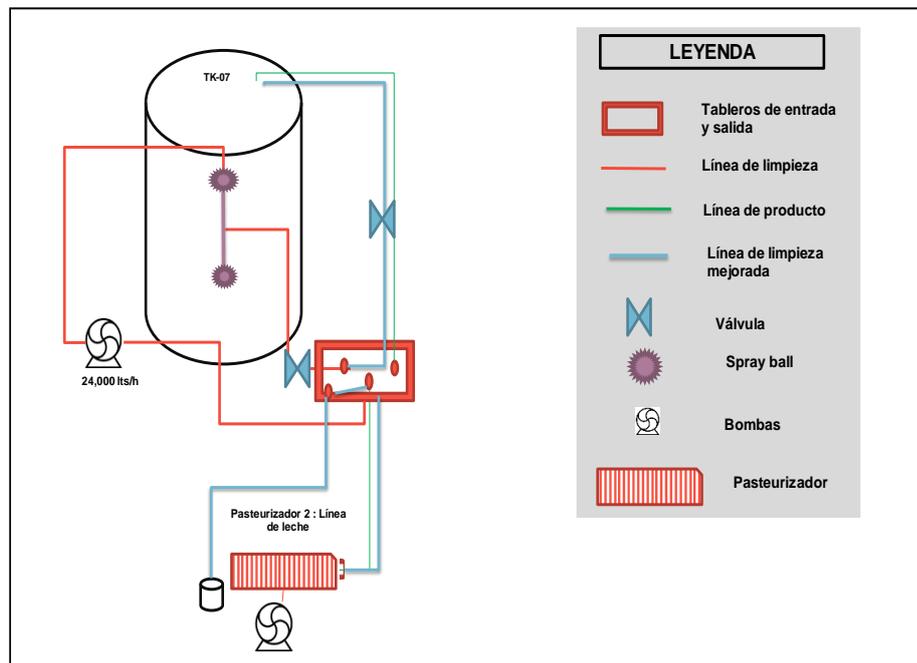


Figura 28: Diseño de Limpieza CIP mejorado del tanque de almacenamiento

#### ❖ **Parámetros de limpieza CIP**

Se estableció dos tipos de limpieza CIP:

- Limpieza CIP: Rutinaria

Se realiza con los insumos químicos: Soda caustica 50% – Ácido Nítrico 53%

Frecuencia: Al finalizar la producción

Se realizó cambios en los rangos de temperaturas y tiempos de las soluciones químicas, se incrementó el caudal empleado a 24,000 litros por hora.

Se realizó el cambio del tipo de desinfección empleando ácido peracético 200 ppm x 20 – 30 minutos.

Tabla 09:

*Parámetros de limpieza CIP rutinario*

Fuente: Elaboración propia

<b>Etapa</b>	<b>Agente químico</b>	<b>Concentración</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Caudal</b>
Limpieza	Soda Cáustica 50%	1.2% - 1.6%	70- 80°C	20 - 25 min	24,000 lts/hora
	Ácido Nítrico 53%	0.6 % - 1.0%	60- 70°C	20 - 25 min	
Desinfección	Ácido peracetico	200 ppm	Ambiente	20 – 30 min	

- Limpieza CIP +tensioactivos

Se realiza con detergentes + tensioactivos: NEOSEP + NEOASID

Frecuencia: quincenal

Tabla 10

*Parámetros de limpieza CIP detergentes + tensioactivos*

<b>Etapa</b>	<b>Agente químico</b>	<b>Concentración</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Caudal</b>
Limpieza	Neosep Clo	2%	80°C	20 -25 min	24,000 lts/hora
	Neoacid P84	1.5%	50°C	20 -25min	
Desinfección	Ácido peracetico	200 ppm	Ambiente	20 – 30 min	

Fuente: Elaboración propia

❖ Limpieza manual:

Preparar una solución de detergente al 2% (400 gr. para 20 Lts. de agua)

Desarmar las válvulas, uniones, juntas y tuberías de medición y lavarlos con detergente utilizando esponjas e hisopos de nylon de la medida adecuada.

Enjuagar con abundante agua hasta eliminar todo residuo de detergente.

Sumergir en solución desinfectante ácido peracetico 200 ppm por 20 minutos

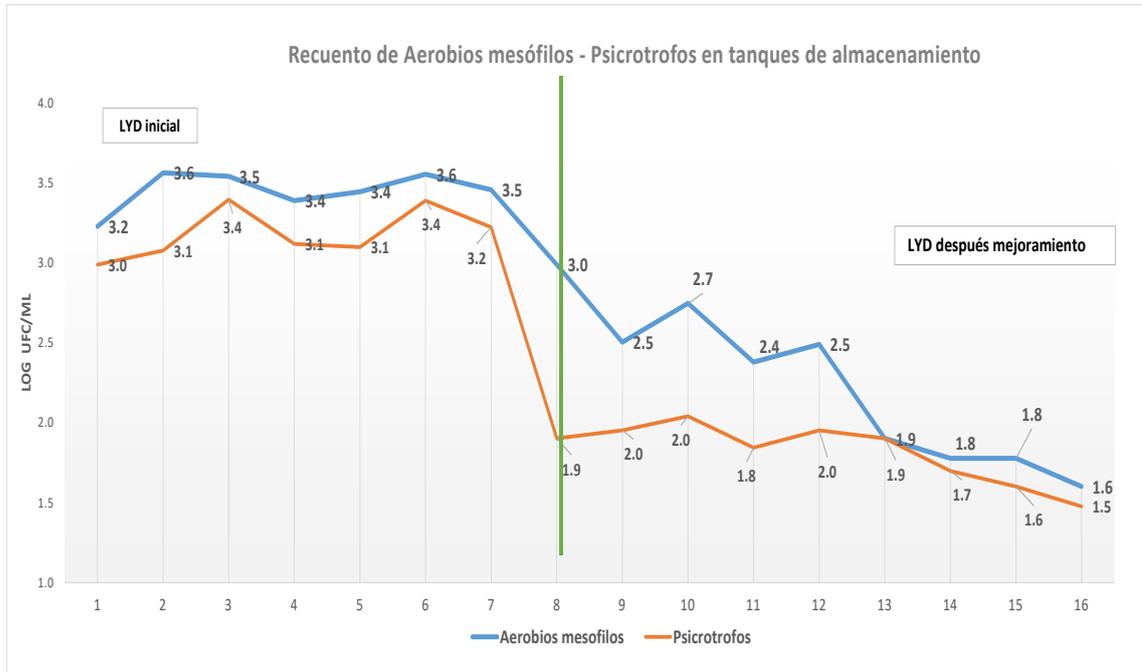
Armar las válvulas, uniones y juntas revisando su estado y de ser el caso reemplazar.

Frecuencia: Al finalizar la producción.

❖ Análisis microbiológicos:

- Agua de enjuague del tanque de almacenamiento

- ✓ El recuento promedio de aerobios mesófilos del agua de enjuague después del mejoramiento de la limpieza y desinfección de los tanques es de 2.2 log (ufc/ml)
- ✓ El recuento promedio de bacterias psicrotrofos del agua de enjuague después del mejoramiento de limpieza y desinfección de los tanques es de 1.8 log (ufc/ml)



*Figura 29:* Recuento microbiológico de agua de enjuague del tanque de almacenamiento

- Leche pasteurizada
- ✓ El recuento promedio de aerobios mesófilos de leche pasteurizada después del mejoramiento de la limpieza y desinfección de los tanques es de 1.3 log (ufc/ml)
- ✓ El recuento promedio de bacterias psicrotrofos de leche pasteurizada después del mejoramiento de limpieza y desinfección de los tanques es de 0.4 log (ufc/ml)

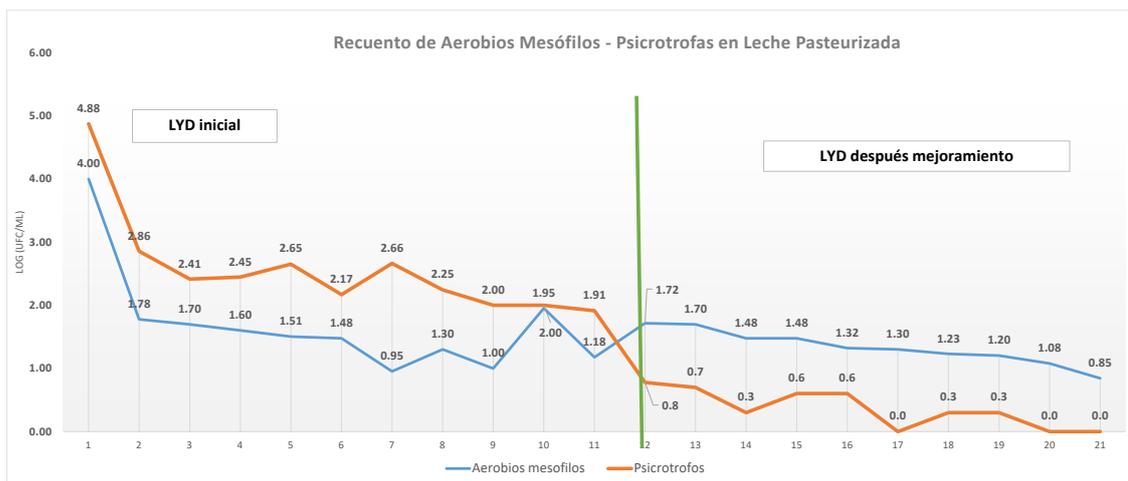


Figura 30 Recuento microbiológico en leche pasteurizada después LYD

### c. Capacitación de procedimientos de limpieza y desinfección

Se realizó la capacitación al personal operativo sobre el procedimiento de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento.

Tabla 11

Plan de capacitación: Limpieza y desinfección de tanques de almacenamiento

Tema	Programa	Participantes
<b>Limpieza y desinfección</b>	Diciembre 2020	Operarios de producción (Responsables de LYD de tanques de almacenamiento)
	Febrero 2021	
	Abril 2021	

Fuente: Elaboración propia

#### ❖ Resultados de los parámetros de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento:

Los valores obtenidos durante la limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento después de las diferentes capacitaciones son registrados en el formato de LYD de tanques, los cuales se encuentran dentro de los rangos establecidos.

Tabla 12

Resultados de parámetros de LYD

Lavado Alcalino			Lavado Acido			Desinfección	
Conc.Soda %	T°C	Tiempo (min)	Conc. Acido %	T°C	Tiempo (min)	Conc. Acido Peracetico ( ppm)	Tiempo (min)
1.4	80	20	1	70	20	200	20

1.6	80	20	0.9	70	20	200	20
1.6	80	20	1	70	20	200	20
1.6	80	20	0.9	70	20	200	20
1.6	80	20	0.9	70	20	200	20
1.5	80	20	1	70	20	200	20
1.6	80	20	1	70	20	200	20
1.6	70	20	0.7	70	20	200	20
1.6	70	20	1	60	20	200	20
1.6	75	20	1	70	20	200	20
1.6	70	20	0.9	70	20	200	20
1.5	75	20	1	70	20	200	20
1.6	75	20	1	70	20	200	20
1.5	80	20	1	70	20	200	20
1.6	75	20	1	70	20	200	20

Fuente: Elaboración propia

- El lavado alcalino del tanque de almacenamiento con soda caustica se realizó con una concentración promedio de 1.6%, con una temperatura promedio de 76.7°C con un tiempo de 20 minutos.
- El lavado acido con ácido nítrico del tanque de almacenamiento se realizó con una concentración promedio de 1.0%, con una temperatura promedio de 69.3°C con un tiempo de 20 minutos.
- La desinfección del tanque de almacenamiento se realizó con una concentración promedio de 200 ppm de ácido peracético.

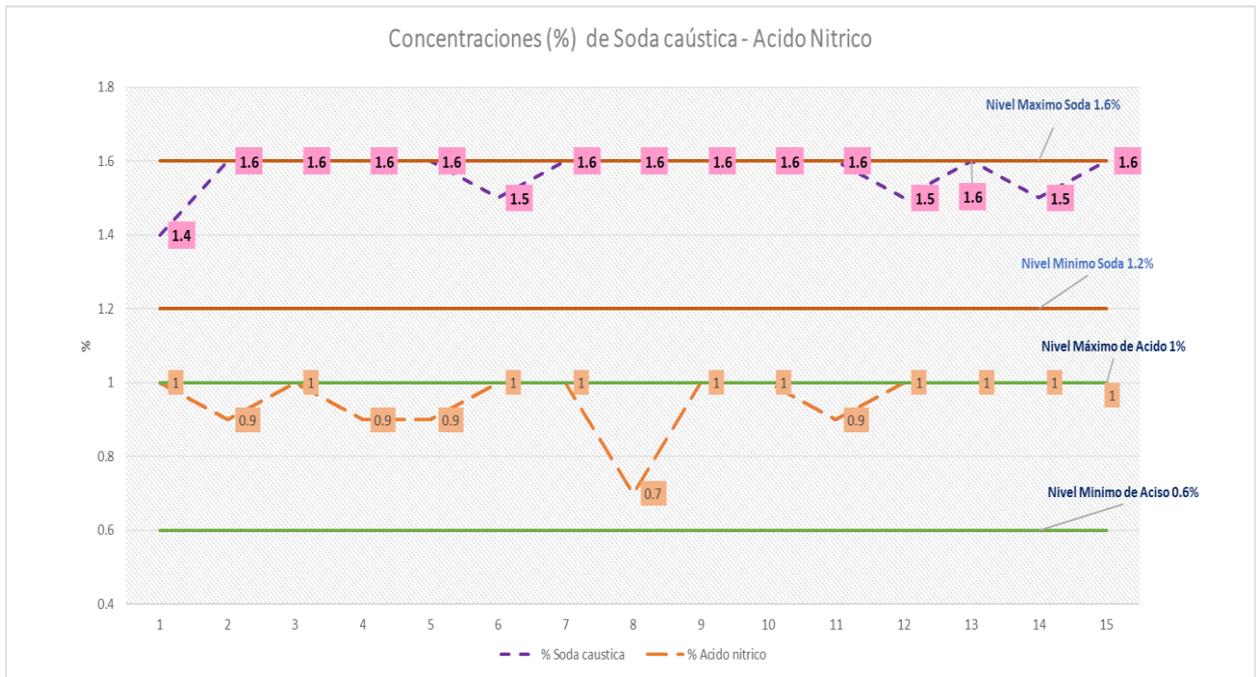


Figura 31 Concentraciones de las soluciones químicas de limpieza

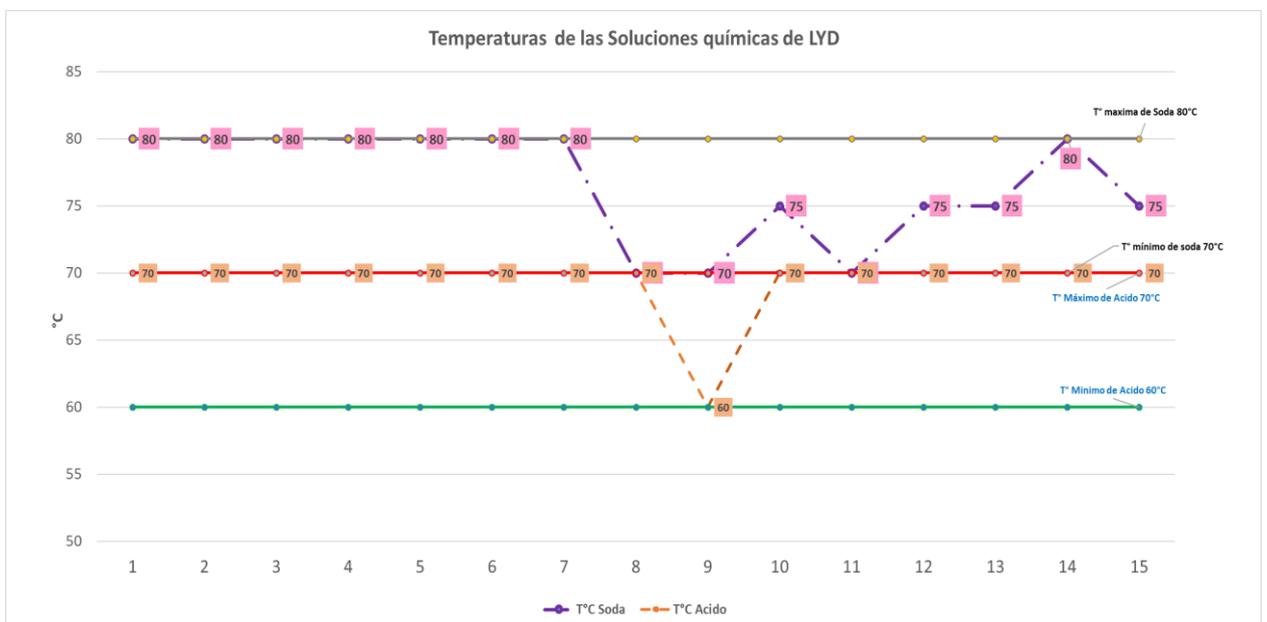


Figura 32 Temperaturas de las soluciones químicas de limpieza

❖ **Resultados de bacterias psicrotrofas**

Se realizaron análisis de recuento de bacterias psicrotrofas y aerobios mesófilos del agua de enjuague de los tanques de almacenamiento después de las diferentes capacitaciones, obteniéndose los siguientes resultados.

Tabla 13

*Recuento de Bacterias Psicrotrofas en agua de enjuague*

<b>Recuento de Bacterias Psicrotrofas</b>															
<b>N° muestras</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>Log (ufc/ml)</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia

Tabla 14

*Recuento de Aerobios mesofilos de agua de enjuague*

<b>Recuento de bacterias aerobias mesofilas (Log (ufc/ml))</b>															
<b>N° muestras</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>Log (ufc/ml)</b>	0	0	0	0	0	0	0	0.6	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia

## 4.2 Análisis de resultados

### 4.2.1 Verificación de las hipótesis planteadas

#### a. Hipótesis Especifica 1

La aplicación de los cultivos protectores en leche cruda de P&D Andina Alimentos influyen sobre el control de las bacterias psicrotrofas

Tabla 15:

*Resultados de Recuento de bacterias psicrotrofas con aplicación de cultivos protectores*

<b>Fecha de aplicación</b>	<b>N° Aplicación</b>	<b>Leche cruda inicial (0 hs) Log (ufc/ml)</b>	<b>Leche cruda sin cultivo a 24hs Log (ufc/ml)</b>	<b>Leche cruda con cultivo a 24hs Log (ufc/ml)</b>
03/11/2020	1°	4.85	5.4	4.70
24/11/2020	2°	4.65	6.29	4.36

15/12/2020	3°	4.93	5.18	4.90
17/12/2020	4°	4.89	5.11	4.90
	Promedio	4.83	5.49	4.72

Fuente: Elaboración propia

Tabla 16

*Crecimiento de bacterias psicrotrofas en leche cruda después de 24 horas*

Fecha de aplicación	N° Aplicación	Diferencia Log (ufc/ml)	
		Leche cruda blanco sin cultivo – Leche inicial	Leche cruda con cultivo– Leche cruda inicial
03/11/2020	1°	0.6	-0.1
24/11/2020	2°	1.6	-0.3
15/12/2020	3°	0.3	0.0
17/12/2020	4°	0.2	0.0
	Promedio	0.7	-0.1

Fuente: Elaboración propia

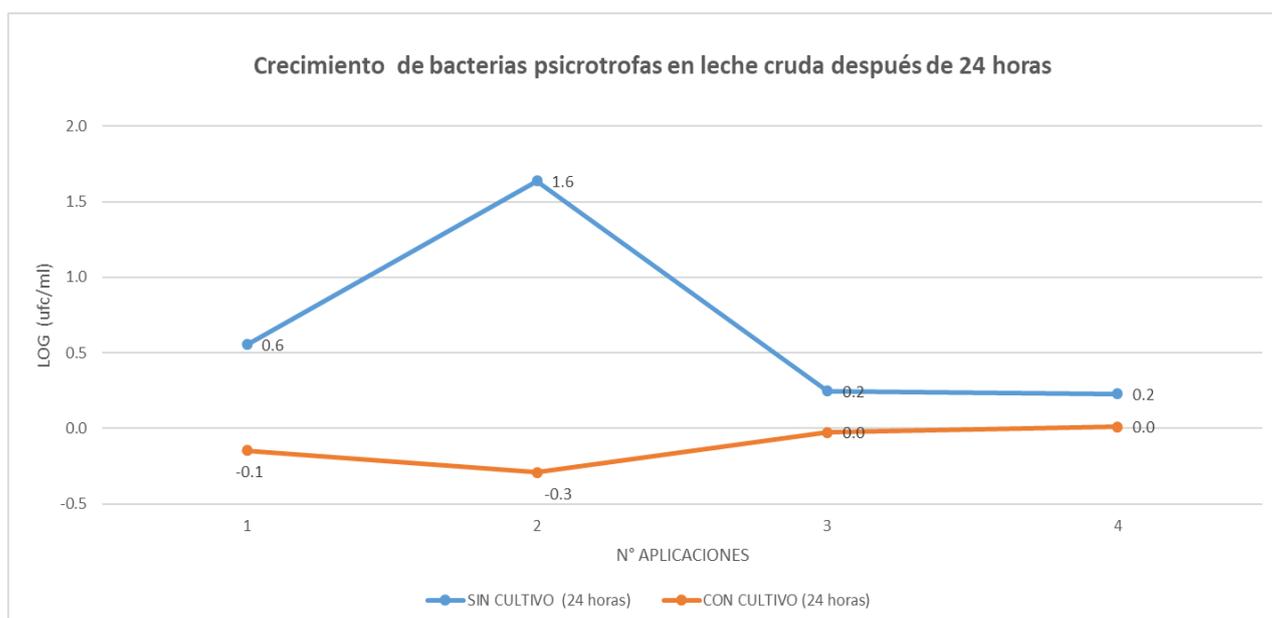


Figura 33 Crecimiento de bacterias psicrotrofas en leche cruda después de 24 horas

En la muestra de leche cruda que no se le aplicó el cultivo protector después de 24 horas se observa un crecimiento promedio de 0.7 log ufc/ml.

En la muestra de leche cruda en el cual se le aplicó el cultivo protector después de 24 horas se observa un crecimiento promedio de -0.1 log ufc/ml

### Planteamiento de la Prueba T-student

De acuerdo a la prueba de T student se plantea las siguientes hipótesis:

#### Hipótesis nula:

H<sub>0</sub>: Diferencias de las medias de las dos muestras de leche cruda con cultivos protectores y leche cruda sin cultivos protectores son iguales

#### Hipótesis alternativa: (Hipótesis del investigador)

H<sub>a</sub>: Diferencias de las medias de las dos muestras de leche cruda con cultivos protectores y leche cruda sin cultivos protectores son diferentes, por lo tanto, hay diferencia significativa entre las medias de las dos muestras de agua de enjuague.

### **Prueba**

Hipótesis nula H<sub>0</sub>:  $\mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna H<sub>1</sub>:  $\mu_1 - \mu_2 \neq 0$

<b>Valor T</b>	<b>GL</b>	<b>Valor p</b>
1.62	6	0.157

$p < \alpha$  (Rechazo H<sub>0</sub>) (Acepto H<sub>a</sub>)

0.157 > 0.005

Por lo tanto: se acepta la hipótesis nula

H<sub>0</sub> : Diferencias de las medias de las dos muestras (Leche cruda blanco sin cultivos y Leche cruda con cultivos ) son iguales

Conclusión:

La aplicación de los cultivos protectores en leche cruda no influye significativamente en el recuento de bacterias psicrotrofas.

## b. Hipótesis Específica 2

El cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada de P&D Andina Alimentos S.A. influyen significativamente sobre el control de las bacterias psicrotrofas en leche pasteurizada y en el agua de enjuague.

Tabla 17

*Recuento de bacterias psicrotrofas en agua de enjuague: antes – después de LYD*

Recuento de bacterias psicrotrofas (Agua de enjuague) Log ufc/ml	
Antes LYD	Después LYD
2.99	1.90
3.08	1.95
3.40	2.04
3.12	1.85
3.10	1.95
3.39	1.90
3.23	1.70

Fuente: Elaboración propia

### Planteamiento de la Prueba T-student

De acuerdo a la prueba de T student se plantea las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula:

Ho: Diferencias de las medias de las dos muestras de agua de enjuague Antes de LYD y Después de LYD son iguales

Hipótesis alternativa: (Hipótesis del investigador)

Ha: Diferencias de las medias de las dos muestras de agua de enjuague Antes de LYD y Después de LYD, son diferentes, por lo tanto, hay diferencia significativa entre las medias de las dos muestras de agua de enjuague.

### Método

$\mu_1$ : media de ANTES

$\mu_2$ : media de DESPUES

Diferencia:  $\mu_1 - \mu_2$

*No se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.*

### Estimación de la diferencia

IC de 95%  
para la

## Estadísticas descriptivas

Muestra	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
ANTES	7	3.187	0.158	0.060
DESPUES	7	1.671	0.462	0.17

## Prueba

Hipótesis nula  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T	GL	Valor p
8.21	7	0.000

$p > \alpha$  ( Acepto  $H_0$ ) (Rechazo  $H_a$ )

$p < \alpha$  (Rechazo  $H_0$ ) (Acepto  $H_a$ )

### Conclusión

$p < \alpha$  (Rechazo  $H_0$ ) (Acepto  $H_a$ )

$0.000 < 0.005$

Por lo tanto: se acepta la hipótesis alternativa

$H_a$ : Diferencias de las medias son diferentes, por lo tanto, hay diferencia significativa entre las medias de las dos muestras

### Conclusión:

El cumplimiento de LYD de tanques de almacenamiento influye significativamente en el recuento de bacterias psicrotrofas.

Tabla 18:

*Recuento de bacterias psicrotrofas en leche pasteurizada LYD*

Recuento de bacterias psicrotrofas (Leche pasteurizada)	
Log ufc/ml	
Antes LYD	Después LYD
4.9	0.8
2.9	0.7
2.4	0.3
2.4	0.6
2.7	0.6
2.2	0.0

2.7	0.3
2.2	0.3
2.0	0.0
2.0	0.0

Fuente: Elaboración propia

### Planteamiento de la Prueba T-student

De acuerdo a la prueba de T student se plantea las siguientes hipótesis:

#### Hipótesis nula:

Ho: Diferencias de las medias de las dos muestras de leche pasteurizada Antes de LYD y Después de LYD son iguales

#### Hipótesis alternativa: (Hipótesis del investigador)

Ha: Diferencias de las medias de las dos muestras de leche pasteurizada Antes de LYD y Después de LYD, son diferentes, por lo tanto, hay diferencia significativa entre las medias de las dos muestras de leche pasteurizada.

## Método

$\mu_1$ : media de Antes LYD LP

$\mu_2$ : media de Despues LYD LP

Diferencia:  $\mu_1 - \mu_2$

*Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.*

## Estadísticas descriptivas

Muestra	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	Prueba de la diferencia	
					Desv.Est. ncia agrupada	IC de 95% para la diferencia
Antes LYD LP	10	2.633	0.838	0.27	0.274	0.629 (1.683; 2.866)
Despues LYD LP	10	0.358	0.299	0.095		

## Prueba

Hipótesis nula  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T GL Valor p

8.08 18 0.000

$p > \alpha$  ( Acepto  $H_0$ ) (Rechazo  $H_a$ )

$p < \alpha$  (Rechazo  $H_0$ ) (Acepto  $H_a$ )

Conclusión :

$p < \alpha$  (Rechazo  $H_0$ ) (Acepto  $H_a$ )

$0.000 < 0.005$

Por lo tanto: se acepta la hipótesis alternativa

$H_a$ : Diferencias de las medias son diferentes, por lo tanto, hay diferencia significativa entre las medias de las dos muestras de leche pasteurizada.

### c. Hipótesis Especifica 3

El cumplimiento de un plan de capacitación de procedimientos de limpieza y desinfección (LYD) en tanques de almacenamiento de leche pasteurizada influye significativamente sobre el control del desarrollo de las bacterias psicotrofas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A, evidenciándose la efectividad de las capacitaciones mediante el cumplimiento de parámetros establecidos y con la ausencia de bacterias psicotrofas en las muestras de agua de enjuague.

Los registros de capacitación de limpieza y desinfección de los tanques de limpieza evidencian el cumplimiento del plan de capacitación

Tabla 19  
*Cumplimiento de plan de capacitación de LYD*

	Total de Participantes	Total de Asistentes	% Cumplimiento
1° Capacitación Diciembre 2020	4	4	100%
2° Capacitación Febrero 2021	4	4	100%

3° Capacitación Abril 2021	4	4	100%
-------------------------------	---	---	------

La efectividad del plan de capacitación se evidencia en los resultados de bacterias psicrotrofas. Antes de la capacitación se obtuvieron 15 resultados con recuento de bacterias psicrotrofas mayor a 0 log , mientras que después de la capacitación se obtuvieron 15 resultados con recuento igual a 0 log

*Tabla 20*  
Frecuencia de bacterias psicrotrofas

	<b>Antes de la capacitación</b>	<b>Después de la capacitación</b>
Bacterias Psicrotrofas (> 0 log )	15	0
Bacterias Psicrotrofas (= 0log )	0	15

Fuente: Elaboración propia

#### Planteamiento de la Prueba Chi-cuadrado

De acuerdo a la prueba de Chi cuadrado se plantea las siguientes hipótesis:

#### Hipótesis nula:

Ho: El recuento de bacterias psicrotrofas es igual antes de la capacitación y después de la capacitación.

#### Hipótesis alternativa: (Hipótesis del investigador)

Ha: El recuento de bacterias psicrotrofas es diferente antes de la capacitación y después de la capacitación.

	<b>Antes capacitación</b>	<b>Después capacitación</b>	<b>Todo</b>
--	---------------------------	-----------------------------	-------------

Bact. Psicrotrofas (> 0 log)	15	0	15
	7.500	7.500	
Bact. Psicrotrofas (= 0 log)	0	15	15
	7.500	7.500	
Todo	15	15	30
<i>Contenido de la celda</i>			
<i>Conteo</i>			
<i>Conteo esperado</i>			

### Prueba de chi-cuadrada

	Chi-cuadrada	GL	Valor p
Pearson	30.000	1	0.000
Relación de verosimilitud	41.589	1	0.000

**$p > \alpha$  ( Acepto  $H_0$ ) (Rechazo  $H_a$ )**

**$p < \alpha$  (Rechazo  $H_0$ ) (Acepto  $H_a$ )**

Conclusión :

$p < \alpha$  (Rechazo  $H_0$ ) (Acepto  $H_a$ )

$0.000 < 0.005$

Por lo tanto: se acepta la hipótesis alternativa

$H_a$ : El recuento de bacterias psicrotrofas es diferente antes de la capacitación y después de la capacitación., es decir el plan de capacitación controla el desarrollo de las bacterias psicrotrofas

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

#### Cultivos protectores:

1. La leche cruda refrigerada con cultivos protectores después de 24 horas presentó en promedio un recuento de bacterias psicrotrofas de 4.7 log (ufc/ml), mientras que la muestra inicial de leche presentó un promedio de bacterias psicrotrofas de 4.83 log, evidenciándose un control en el desarrollo de dichas bacterias.

2. La leche cruda refrigerada sin aplicación de cultivos protectores después de 24 horas presentó en promedio un recuento de bacterias psicrotrofas de 5.49 log (ufc/ml), incrementándose en un 0.7 log o en un 14% con respecto a la muestra de leche inicial cuyo promedio fue de 4.83 log
3. La aplicación del cultivo protector en la leche cruda refrigerada después de 24 horas tiene un efecto sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas obteniéndose como promedio un crecimiento de - 0.1 log
4. El almacenamiento de refrigeración de la leche cruda después de 24 horas tiene un efecto sobre el crecimiento de bacterias psicrotrofas incrementándose en un 0.7 log.

#### **Procedimientos de L&D:**

5. El recuento promedio de bacterias psicrotrofas en leche pasteurizada almacenada en el tanque de almacenamiento después de la mejora de LYD es de 0.4log(ufc/ml) disminuyendo, en un 99.9% con respecto a las condiciones iniciales cuyo promedio de bacterias psicrotrofas es de 2.6 log(ufc/ml).
6. El recuento promedio de bacterias psicrotrofas en el agua de enjuague del tanque de almacenamiento después de la mejora de LYD es de 1.8 log(ufc/ml), disminuyendo, en un 95.6% con respecto a las condiciones iniciales cuyo promedio de bacterias psicrotrofas es de 3.2 log(ufc/ml).
7. El cumplimiento de LYD (diseño sanitario+ parámetros de limpieza) del tanque de almacenamiento influye significativamente en el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas presentes en la leche pasteurizada refrigerada y en el agua de enjuague.

#### **Plan de capacitación:**

8. El cumplimiento del plan de capacitación de LYD influye sobre el control del desarrollo de bacterias psicrotrofos en leche pasteurizada, evidenciándose en el cumplimiento de los parámetros de limpieza y desinfección establecidos, así mismo se obtuvo un recuento de bacterias psicrotrofas de 0 log después de las capacitaciones realizadas.

## **Recomendaciones**

### **Cultivos protectores:**

1. Realizar mayor número de pruebas de aplicación de cultivos protectores en leche cruda para demostrar estadísticamente que dichos cultivos influyen significativamente sobre el control del desarrollo de bacterias psicrotrofas.
2. Realizar mayor número de pruebas aplicando cultivos protectores a diferentes concentraciones en leche cruda con un mayor tiempo de almacenamiento de leche cruda para evaluar el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas en caso el tiempo de almacenamiento sea mayor.
3. Realizar pruebas para determinar si reduce la producción de proteínas termoestables que afecten las características organolépticas de la leche o productos derivados de la leche, como quesos.

### **Procedimientos de L&D:**

4. Establecer una frecuencia de limpieza con detergentes más tensioactivos, debido a que este tipo de agentes químicos elimina con mayor facilidad las incrustaciones (depósitos de sales minerales en presencia de grasa o proteína de la leche) que se pueden formar en las tuberías, evitando así la formación de biofilm sobre las superficies.
5. Establecer una frecuencia de limpieza manual (desarme y limpieza de piezas móviles: codos, empaquetaduras, válvulas, etc) debido a que en estos puntos puede formarse biofilm y ser una fuente de contaminación microbiana.
6. Tener un esquema de la línea de limpieza y línea de producto de los equipos de procesos (tanques de almacenamiento, esterilizador, envasadoras, etc) para la identificación de puntos muertos.
7. Involucrar al personal operativo de las propuestas de mejoramiento en el diseño sanitario de la línea de limpieza y en el procedimiento de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento.

### **Procedimientos de L&D:**

8. Realizar la capacitación de la personal in situ, es decir en el lugar donde se aplica el procedimiento de limpieza y desinfección, haciendo que el aprendizaje sea más dinámico.
9. Evidenciar la efectividad de la capacitación del procedimiento de limpieza y desinfección mediante el cumplimiento de los parámetros establecidos a través de los registros y los análisis microbiológicos.

## REFERENCIAS

- Aldana Campos, L. M. (2017). *Revalidación de la vida de anaquel de la variedad de productos lácteos fluidos ultrapasteurizados mediante la identificación de Puntos Críticos de Control en una industria láctea en la ciudad de Guatemala. Tesis de grado*. Universidad Rafael Landívar, Guatemala. Obtenido de <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2017/09/15/Aldana-Linda.pdf>
- Acaro Cordova, S. D. (2019). *Evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda que se expende en la ciudad de Chulucanas, Piura, Perú*. Chulucanas, Perú: Tesis Pregrado. Obtenido de <http://repositorio.ucss.edu.pe/handle/UCSS/705>
- Anrango Tuquerrez, E. P. (2018). *Sistema de lavado automático del tanque enfriador de leche para microempresas de almacenamiento de leche. Tesis de grado*. Universidad Técnica del Norte, Ecuador. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/8151/1/04%20MEC%20225%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf>
- Brousett-Minaya, M., & Mamani Villalba Bethy, J. A. (12 de Julio de 2015). Calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de leche. *Scientia Agropecuaria*. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.03.03>
- Calvo Gómez, M. (2018). *Identificación de microorganismos termofílicos provenientes de leche cruda productores de enzimas de deterioro y evaluación de su actividad en biofilm. Tesis de grado*. Universidad de la República, Uruguay. Obtenido de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/21393/1/uy24-19243.pdf>
- Canches Gonzales, T. A. (2017). *Determinar la carga bacteriológica de leche cruda de vaca y su relación con la calidad higiénica y sanitaria en el distrito de baños Huánuco 2017. Tesis Posgrado*. Universidad de Huánuco, Huánuco, Perú. Obtenido de [http://repositorio.udh.edu.pe/bitstream/handle/123456789/873/T\\_047\\_22497889.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.udh.edu.pe/bitstream/handle/123456789/873/T_047_22497889.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Clerici, Sacco. (2016). *Protective cultures in the food industry. 4 PROTECTION SPECIAL PROTECTIVE CULTURES SACO*. Roma Italia: 60 diapositivas.
- Codex CAC/RCP 57-2004. (2004). *Código de Prácticas de Higiene para leche y productos lácteos*.
- D'Amico de Alcântara, A. L., Rafaela Bruzaroski, S., Lima Luiz, L., Hoch Batista de Souza, C., Poli Frederico, R. C., Walter de Santana, E. H., & Fagnani, R. (2019). Actividad antimicrobiana de *Lactobacillus rhamnosus* against *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida* de leche cruda. *Journal of food processing and preservation*, 43(9).
- Decreto Supremo N° 007-2017 MINAGRI Reglamento de leche y productos lácteos

- Fan, M., Phinney, D., & Heldman, D. (2018). The impact of clean-in-place parameters on rinse water effectiveness and efficiency. *Journal of Food Engineering*, 222, 276-283. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.029>
- Fernandez, B., Vimont, A., Foucault, E., Daga, M., Arora, G., & Fliss, I. (2017). Antifungal activity of lactic and propionic acid bacteria and their potential as protective culture in cottage cheese. *Food Control*, 78, 350-356. doi:[doi:doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.007](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.007)
- FIRA, F. (2019). *Panorama Agroalimentaria Leche y lácteos*. Obtenido de <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/06/Panorama-Agroalimentario-Leche-y-la769cteos-2019.pdf>
- Grille Peés, L. (2016). *Caracterización Estacional de la Calidad de la leche en tanque en predios de la región litoral del norte del Uruguay*. Tesis de Posgrado. Universidad de la República, Uruguay. Obtenido de <https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/bitstream/handle/123456789/2623/FV-32255.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Guerrero Lourdes, R. S. (2003). Proteolisis de la leche cruda almacenada en frio. Efecto de las enzimas proteolíticas sobre la integridad de las caseinas. *FCV-LUX Vol XIII N°3*, 187-192. Obtenido de <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/14977/14954>
- Guevara Contreras, M. (15 de Marzo de 2016). Evaluación Físico química e higiénica de la producción de leche fresca en el distrito de Socota, Cutervo, Cajamarca. *Sagasteguiana*, 157-164. Obtenido de <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/REVSAGAS/article/view/1821/1773>
- Leyva Salas, M., Thierry, A., Lemaître, M., Garric, G., Harel-Oger, M., Chatel, M., & Lê, S. (2018). Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Combinations in Dairy Mimicking Models and Their Potential as Bioprotective Cultures in Pilot Scale Applications. *Front. Microbiol*, 9, 1-18. doi:[doi:doi:10.3389/fmicb.2018.01787](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01787)
- Memisia, N., Veskovic Moracanin, S., Milijasevic, M., Babic, J., & Djukic, D. (2015). CIP cleaning processes in the dairy industry. *Procedia Food Science*, 5, 184-186. doi:[DOI: 10.1016/j.profoo.2015.09.052](https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.052)
- Mizhquero Rivera, E. (2017). *Buenas prácticas ganaderas en dos establos lecheros de la Universidad Nacional Agraria La Molina*. Tesis de Postgrado. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3483/mizhquero-rivera-edwin-geovanny.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Muñoz Godoy, S. d. (2004). *Perfil microbiológico de la leche de estanque de tres centros de acopio lecheros(CAL) de la provincia de Valdivia*, Tesis de grado. Valdivia, Universidad Austral Chile. Obtenido de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fam971p/pdf/fam971p.pdf>

- Navia Callisaya, N. W. (2018). *Determinación y evaluación de parámetros del Sistema de limpieza CIP en tanques de Elaboración de la planta de lácteos, Soalpro SRL. Tesis de grado.* Universidad Mayor San Andrés, Bolivia. Obtenido de <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/22390/PG-2265.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Nereida Villa Uvidia, D., Mejía Reinoso, T. J., Toledo Castillo, N., & Briones García, J. I. (2018). Efecto de la variación de la temperatura en la calidad de la leche. *Revista Olimpia de la Facultad de Cultura física de la Universidad de Granma Cuba, 15(50)*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6585406>
- Olivares Tenorio, M. L., & Klotz Ceberio, B. (2020). Evaluación del efecto antifúngico de metabolitos de cultivos bioprotectores: aplicación en derivados lácteos. *Revista de Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, 18*, 15-25. doi:<http://dx.doi.org/10.18684>
- Siedler, S., Balti, R., & Rute, A. (2019). Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. *Current Opinion in Biotechnology, 56*, 138-146. doi:<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.015>
- Scheihing Aguila, O. J. (2017). *Evaluación del recuento de bacterias psicrotrofos en leche de predios con diferentes sistemas de manejo periodo de verano. Tesis de grado.* Universidad Austral, Chile. Obtenido de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2017/fas319e/doc/fas319e.pdf>
- Todorov, S., & Dicks, L. (2005). Growth parameters influencing the production of Lactobacillus rhamnosus bacteriocins ST461BZ and ST462BZ. *Annals of Microbiology, 4*, 283-289. Obtenido de <https://www.researchgate.net/publication/242316206>
- Thomas, A., & Sathian, C. (2014). Cleaning-In-Place (CIP) System in Dairy Plant- Review. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT), 8*, 41-44.
- Valera Villanueva, G. (2019). *Efecto de la inoculación del cultivo protector en la inhibición de Escherichia coli en leche fresca en el fundo la Victoria de la Universidad Nacional de Cajamarca. Tesis de Pregrado.* Perú. Obtenido de <http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/3699/%e2%80%9cEFECTO%20DE%20LA%20INOCULACI%c3%93N%20DEL%20CULTIVO%20PROTECTOR%20EN%20LA%20INHIBICI%c3%93N%20DE%20Escherichia%20coli%20EN%20LECHE%20FRE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vásquez Cepeda, A. (2015). *Comportamiento de algunos parámetros que puedan afectar la vida útil de leche UHT . Tesis de Pregrado* Universidad Astral, Chile. Obtenido de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2015/fav3351c/doc/fav3351c.pdf>

# ANEXOS

## 1. Declaración de Autenticidad

FORMATO 5: Formato de Declaración de autenticidad y no plagio  
CODIGO: FDANP-05-2020EPG-UGA

	UNIVERSIDAD RICARDO PALMA	Escuela de Posgrado
<b>DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y NO PLAGIO</b>		
<b>DECLARACIÓN DEL GRADUANDO</b>		
Por el presente, el graduando: (Apellidos y nombres)		
Romeo Brecco, Jerry		
en condición de egresado del Programa de Posgrado:		
Maestría en Sistema de Calidad e Inocuidad Alimentaria		
deja constancia que ha elaborado la tesis intitulada:		
Medidas preventivas para controlar el desarrollo de las bacterias psicrofílicas en leche refrigerada de PED Anana Alimentos S.A		
<p>Declara que el presente trabajo de tesis ha sido elaborado por el mismo y no existe plagio/copia de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por cualquier persona natural o jurídica ante cualquier institución académica, de investigación, profesional o similar.</p> <p>Deja constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no ha asumido como suyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o de la Internet.</p> <p>Asimismo, ratifica que es plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asume la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento y es consciente de las connotaciones éticas y legales involucradas.</p> <p>En caso de incumplimiento de esta declaración, el graduando se somete a lo dispuesto en las normas de la Universidad Ricardo Palma y los dispositivos legales vigentes.</p>		
 Firma del graduando		25-10-21 Fecha



2. Autorización de consentimiento para realizar la investigación

 <b>Universidad Ricardo Palma</b>		<b>Escuela de Posgrado</b>	
<b>AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR LA INVESTIGACIÓN</b>			
<b>DECLARACIÓN DEL RESPONSABLE DEL AREA O DEPENDENCIA DONDE SE REALIZARA LA INVESTIGACIÓN</b>			
Dejo constancia que el área o dependencia que dirijo, ha tomado conocimiento del proyecto de tesis titulado:			
Medidas preventivas para controlar las bacterias psicótrofos en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A.			
el mismo que es realizado por el Sr./Srta. Estudiante (Apellidos y nombres):			
Romero Briceño, Jeny			
, en condición de estudiante - investigador del Programa de:			
Maestría en Sistema de Calidad e Inocuidad Alimentaria			
Así mismo señalamos, que según nuestra normativa interna procederemos con el apoyo al desarrollo del proyecto de investigación, dando las facilidades del caso para aplicación de los instrumentos de recolección de datos.			
En razón de lo expresado doy mi consentimiento para el uso de la información y/o la aplicación de los instrumentos de recolección de datos:			
Nombre de la empresa: P&D Andina Alimentos S.A.		Autorización para el uso del nombre de la Empresa en el Informe Final	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Apellidos y Nombres del Jefe/Responsable del área: Nakame Nakame, Gloria.		Cargo del Jefe/Responsable del área: Gerente de Calidad e IQD.	
Teléfono fijo (incluyendo anexo) y/o celular: 202 2600 Anexo		Correo electrónico de la empresa:	
<b>P&amp;D ANDINA ALIMENTOS S.A.</b>  <b>Gloria Nakame Nakame</b> GERENTE DE CALIDAD e IQD		11-08-2020 Fecha	

### 3. Matriz de consistencia

<b>Problema Principal</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipotesis General</b>	<b>Variable Independiente</b>	<b>Indicador V.I</b>	<b>Variable Dependiente</b>	<b>Indicador V.D</b>
¿Cómo influye las medidas preventivas aplicadas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas?	Determinar la influencia de la aplicación de las medidas preventivas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A. sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas	La aplicación de las medidas preventivas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos influyen significativamente sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas				
<b>Problemas específicos</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>Hipótesis específicos</b>				
1.¿Cuáles son los niveles de bacterias psicrotrofas en la leche refrigerada de P&D Andina Alimentos?	1.Determinar el recuento de bacterias psicrotrofas en la leche refrigerada de P&D Andina Alimentos antes de la aplicación de las medidas preventivas				Bacterias psicrotrofas	Recuento de bacterias psicrotrofas

<b>Problemas específicos</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>Hipótesis específicos</b>		
2.¿Cuál es la influencia de la aplicación de los cultivos protectores sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas en la leche cruda de P&D Andina Alimentos?	2.Determinar la influencia de la aplicación de los cultivos protectores en leche cruda de P&D Andina Alimentos sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas	1.La aplicación de los cultivos protectores en leche cruda de P&D Andina Alimentos influyen significativamente sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas	Medidas preventivas en leche refrigerada	1.Dosis del cultivo protector
3.¿Cuál es la influencia del cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada de P&D Andina Alimentos S.A. sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas?	3. Determinar la influencia del cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada de P&D Andina Alimentos S.A. sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas.	2. El cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento de leche pasteurizada de P&D Andina Alimentos S.A. influyen significativamente sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas.	Medidas preventivas en leche refrigerada	2.Parmetros de Limpieza y desinfección [Concentración del insumo químico (%) Tiempo de lavado (minutos) y temperatura de lavado (°C Tiempo de desinfección (minutos) Caudal (m <sup>3</sup> /h)]

<b>Problemas específicos</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>Hipótesis específicos</b>				
4. ¿Cuál es la influencia del cumplimiento del plan de capacitación en procedimientos de limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento de leche pasteurizada sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas en la leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A?	4. Determinar la influencia del cumplimiento del plan de capacitación en procedimientos de limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento de leche pasteurizada sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A	3. El cumplimiento de un plan de capacitación en procedimientos de limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento de leche pasteurizada influye significativamente sobre el control del desarrollo de las bacterias psicrotrofas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos S.A.	3.Cumplimiento del plan de capacitación	(N° de personas capacitadas / Total de personas) x100	Bacterias psicrotrofas	Recuento de bacterias psicrotrofas
5. ¿Cuáles son los niveles de bacterias psicrotrofas en la leche refrigerada de P&D Andina Alimentos después de la aplicación de las medidas preventivas establecidas?	5.Determinar el recuento de bacterias psicrotrofas en leche refrigerada de P&D Andina Alimentos después de la aplicación de medidas preventivas					

#### 4 Matriz de operacionalización

Matriz de operacionalización de Variable independiente

<b>Variable Independiente</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Instrumento</b>
<b>Medidas preventivas en leche refrigerada</b>	Dosis del cultivo protector	Conjunto de actividades que me permiten controlar el crecimiento de bacterias psicrotrofas en leche refrigerada	Aplicación de cultivo protector	Aplicación de cultivos protectores en leche cruda	Registro visual
	Concentración del insumo químico (%) Tiempo de lavado (minutos) y temperatura de lavado (°C Tiempo de desinfección (minutos) Caudal (m <sup>3</sup> /h)]		Cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección en tanques de almacenamiento de leche	Procedimientos de limpieza y desinfección de tanques de almacenamiento de leche	Análisis químico Registro diario
	% Cumplimiento del plan de capacitación (N° de personas capacitadas / Total de personas) x100		Cumplimiento del Plan de capacitación	Plan de capacitación	Registro de capacitación

Matriz de operacionalización de Variable dependiente

<b>Variable Dependiente</b>	<b>Indicador</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Instrumento</b>
<b>Bacterias psicrotrofas</b>	Recuento de bacterias psicrotrofas (ufc/ml)	Bacterias cuya temperatura óptima de crecimiento se encuentra en el rango mesofilo, pero pueden crecer a temperaturas de refrigeración inferiores a 7°C.	Número de bacterias psicrotrofas.	Población de bacterias psicrotrofas	Análisis microbiológico (Agar PCA ) 10 días a 7°C

## 4. Ficha técnica del Cultivo protector



### Lyofast LR B

#### Technical Data Sheet

#### General information

##### Description

Lyofast LR B consists of a selected strain of *Lactobacillus rhamnosus* that may be applied in fermented milk products and cheese products as non-starter culture lactic acid bacteria.

Lyofast LR B is a protective culture that affects yeasts and moulds development.

Added to raw milk, it can help controlling the psychrotrophic bacteria growth when milk is stored at cold temperature.

The culture develops a weak acidity and aroma from slow citrate fermentation.

##### Application

Sprinkle the culture powder directly into process milk under aseptic conditions ensuring that the culture is well dispersed by gentle stirring.

The following may be used as inoculation guidelines:

Product	Dose/100 l	Product	Dose/100 l
Semi-hard cheese	1.0-10.0	Hard cheese	1.0-10.0
Fresh cheese	1.0-10.0	Soft cheese	1.0-10.0
Mesophilic fermented milk and cream	1.0-10.0	Thermophilic fermented milk	1.0-10.0

##### Technical information

1 dose is  $10^{11}$  CFU and inoculated in 100 liters of milk 1 dose gives approx.  $10^8$  CFU/ml.

Data are obtained under standardised laboratory conditions, and consequently, should be considered as guidelines:

Trait	Result
Optimal temperature for growth	25-45 °C
Protection attitude at	4-10 °C

#### Microbiological specifications

Assay	Result	Method (Reference)
Bacillus cereus	< 100 CFU/g	M10 (ISO 7932)
Coagulase positive staphylococci*	< 10 CFU/g	M11 (ISO 6888-1-2)
Enterobacteriaceae	< 10 CFU/g	M02 (ISO 21528-1-2-3)
<i>Escherichia coli</i>	< 1 CFU/g	M27 (ISO 11886-1-2/IDF 170)
<i>Listeria monocytogenes</i> *	Not detected in 25 g	M13 (ISO 11290-1-2)
Yeast and mould	< 10 CFU/g	M03 (ISO 6011/IDF 94)
<i>Salmonella</i> spp.*	Not detected in 25 g	M12 (ISO 6783/IDF 93)

\* Analysed on a regular basis. Analytical methods are available upon request.

#### Safety information

##### Heavy metal analysis

Heavy metal*	Amount (ppm)**
Lead (Pb)	< 1
Mercury (Hg)	< 0.03
Cadmium (Cd)	< 0.1

\*Analysed on a regular basis.

<b>Safety sheet</b>	This product is not hazardous; therefore provision of a Safety Data Sheet (SDS) is not mandatory (REACH Art. 31). A Safety Information Data Sheet has been made as a voluntary presentation of certain information that may assist the user in the handling.
<b>OMO status</b>	Sacco organisms are not genetically modified (GMO), in accordance to the European Directive 2001/18/EC. This product does not require labelling with regard to the use of OMO, in accordance to Regulation (EC) No. 1829/2003, and Regulation (EC) No. 1831/2003.
<b>Allergens</b>	The raw materials used are free of the following components and their products thereof: cereals containing gluten, crustaceans, eggs, fish, peanuts, soybeans, nuts, celery, mustard, sesame seeds, sulphur dioxide and sulphite, lupin and molluscs. <b>This product contains MILK.</b> The list of allergens is in compliance with Regulation (EC) 1180/2011.
<b>BSE/TSE status</b>	This product is considered safe with respect to bovine spongiform encephalopathy (BSE) or transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) transmissions in accordance to Regulation EMA 410/01 rev. 5.
<b>Other information</b>	
<b>Colorants</b>	This product does not contain added colorants, in accordance to Regulation (EC) 1333/2008.
<b>Packaging information</b>	The freeze-dried culture is packaged inside waterproof and airtight pouches, consisting of three layers (in order, going inward): polyester, aluminium, and polyethylene. The packaging material used is food grade.
<b>Storage and shelf-life</b>	Cultures should be preferably stored, at -18 °C (-0.4 °F), or below. Under these conditions and in the original sealed package, the shelf-life of the product is 18 months.
<b>Certificate of analysis</b>	Lot's certificate of analysis is available upon request.
<b>Certifications</b>	
<b>General</b>	Sacco S.r.l. is ISO 22000:2005 and FSSC 22000 certified since 2014. Certificates are available in the web site <a href="http://www.saccosystem.com">www.saccosystem.com</a> .
<b>Kosher</b>	Sacco cultures are generally Kosher approved. Please consult Certificates that are available in the web site <a href="http://www.saccosystem.com">www.saccosystem.com</a> .
<b>Halal</b>	Sacco cultures are generally Halal approved. Please consult Certificates that are available in the web site <a href="http://www.saccosystem.com">www.saccosystem.com</a> .
<b>Service and technical support</b>	Please contact your distributor for guidance and instructions for your choice of culture and processing. Information about additional package sizes and sales units is also available upon request.
<b>Liability</b>	The information provided is to the best of our knowledge true, and given in good faith. No guarantee against patent infringement is implied or inferred. This may not be the most updated version of the TDS. For the latest version of this document please visit our website or contact your distributor.

## 5. Certificado de Calidad: Cultivo protector LYOFAST



Sacco S.r.l.

Cap. Soc. € 200.000  
Via Mazzini, 25/A  
22071 Cadenazzo (CO)

Tel. +39 031 9861971  
Fax +39 031 904199

http://www.sacco.it  
E-Mail: info@sacco.it

Partita IVA: 034302107  
Cod. Fiscale: 0369002100

### CERTIFICATE OF ANALYSIS

Cadenazzo, 09/12/2019

STARTER CULTURE	LOT N.	PRODUCTION DATE	BEST BEFORE DATE
LRB-D0002 (LYOFAST DOSI \$ 2)	C245660A	02/10/2019	02/04/2021

MICROBIOLOGICAL PARAMETERS	SPECIFICATION	RESULT	METHOD
Enterobacteriaceae	<10 CFU/g	Complies	Sacco M2
E. coli	<1 CFU/g	Complies	Sacco M27
Yeasts and moulds	<10 CFU/g	Complies	Sacco M3
Cocci positive staphylococci *	<10 CFU/g	Complies	Sacco M11
Salmonella *	Not detected in 25 g	Complies	Sacco M12
List. monocytogenes *	Not detected in 25 g	Complies	Sacco M13
Bacillus cereus	<100 CFU/g	Complies	Sacco M10

\* Analyzed on regular basis  
Analytical methods are available upon request

Quality Control  
Luca Tomadò





### **Beneficios:**

- Posee enjuagabilidad muy rápida sin dejar residuos.
- Por su alto contenido de Oxícloros, se pueden reducir los pasos de limpieza y desinfección de 05 a 03 ahorrando agua y tiempo en el proceso.
- No contiene hipoclorito de Sodio; por esta razón No Forma Subproductos Tóxicos como Trihalometanos, Cloroformos, etc.
- Las propiedades altamente oxidantes de los oxícloros en el compuesto le otorgan la cualidad de eliminar olores y sabores "pungentes" y difíciles.
- Actúa en aguas de alta dureza hasta 600 ppm como Carbonato de Calcio.

**Hexap-022**

PISAPIG SA  
Av. Centinela del Inca 1059 Of. 301 - SURCO  
e-mail: [ventas@pisapig.com](mailto:ventas@pisapig.com)



**ISO 9001:2008**  
Certificado ISO 9001:2008 por  
Soc. Pisapig, S.A. y  
Sociedad de Inversión y  
Comercio S.A. (Soc. Invercom)  
Buenos Aires, Argentina



## 8. Ficha técnica de Acido peracetico

 <b>Pisapig's</b>	<b>FICHA TÉCNICA: PROXITANE 1512</b>	Elaborado por: Dpto. Técnico
		Revisado por: Dirección Técnica
		Fecha de revisión: 20/03/20

### 1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO

**Nombre comercial:** PROXITANE 1512

**Principio activo:** Ácido peracético al 15%, peróxido de hidrógeno 23%

**Fabricante:** PERÓXIDOS DO BRASIL LTDA

**Procedencia:** Brasil

### 2. DESCRIPCIÓN

PROXITANE es un biocida biodegradable de amplio espectro (virus, bacterias, mohos y levaduras, algas y esporas) aplicado para operaciones de desinfección y sanitización en: industria alimentaria, instalaciones pecuarias, hoteles y restaurantes, agroindustria, industria pesquera, hospitales, oficinas, etc. Su alto poder oxidante produce ruptura de la membrana celular microbiana. Presenta los siguientes componentes:

Ácido peracético .....	15 %
Peróxido de hidrógeno .....	23 %
Ácido acético .....	16 %
Vehículo estabilizante q.s.p. ....	100 %

### 3. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

El producto PROXITANE presenta las siguientes propiedades fisicoquímicas:

PROPIEDAD	VALOR
Oxígeno disponible	14 %
Densidad	1.12 g/L
Aspecto	Líquido incoloro a ligeramente ámbar
Olor	Acético
Punto de congelamiento	-30 °C

Av. Caminos del Inca 1088, Dpto. 302, Urb. Las Gardenias, Surco, Lima33-Peru

Tel: 012568666 - 012566515 Anex 26 Celular: 998115080

[ventas@pisapigs.com](mailto:ventas@pisapigs.com)

	<b>FICHA TÉCNICA: PROXITANE 1512</b>	Elaborado por: Dpto. Técnico
		Revisado por: Dirección Técnica
		Fecha de revisión: 20/03/20

#### 4. APLICACIONES RECOMENDADAS

PROXITANE puede aplicarse a la desinfección de todo tipo de materias primas alimenticias: frutas y hortalizas, carcasas de pollo, canales de carne, pescados, mariscos, etc. Asimismo, es adecuado para la sanilización de equipos, utensilios y tuberías (CIP) de acero inoxidable. Puede aplicarse sobre pisos, paredes, techos y desinfecciones ambientales por aspersión o nebulización.

#### 5. MODO DE USO

PROXITANE puede ser manipulado con seguridad mediante el uso de ropas protectoras, guantes de PVC, protección ocular y máscara con filtro para vapores ácido para la preparación de diluciones. Luego de diluido se maneja con la ropa habitual de trabajo (guantes de limpieza, mascarilla descartable). Las dosis y tiempos de aplicación deben determinarse mediante validaciones. Los rangos recomendados (en ppm de ácido peracético) para distintas aplicaciones son:

- ✓ **Frutas y hortalizas:** 40 a 150 ppm (0.26 – 1.00 g/lit de agua)
- ✓ **Carnes, carcasas de pollo, pescados:** 50 a 200 ppm (0.34 – 1.34 g/lit de agua)
- ✓ **Equipos, sistemas cip y utensilios:** 100 a 250 ppm (0.67 – 1.67 g/lit de agua)
- ✓ **Pisos, paredes, techos:** 200 a 300 ppm (1.34 – 2.00 g/lit de agua)
- ✓ **Nebulización de ambientes:** 300 a 450 ppm (2 a 3 g/lit de agua)
- ✓ **Control de SARS-COV-2 (COVID-19):** 1135 ppm (7.6 g/litro de agua) por al menos 01 min o 450 ppm (3.0 g/litro) por 10 min.

Por su naturaleza orgánica y biodegradable PROXITANE no requiere enjuague.

#### 6. BENEFICIOS

- ✓ Amplio espectro microbiano (virus, bacterias, mohos y levaduras, algas y esporas)
- ✓ Desinfectante orgánico y biodegradable.

## 9. Asistencia de capacitación del personal

	<b>P&amp;D ANDINA ALIMENTOS S.A.</b>	Código: P&A-000-0.023 Versión: 03 Aprobado por: JG Fecha de aprobación: 30-09-20 Página: 1 de 1
	Formato Lista de Asistencia Capacitación - Personal	

TEMA: Exceso y Deficiencia de Trazos Alimentarios (C.A./Manual)  
 FECHA DE EXPOSICIÓN: 29-12-20  
 EXPOSITOR: Jay Zorro

N°	NOMBRES / APELLIDOS	FIRMA
01	Fernanda Buldwin	<i>Buldwin</i>
02	Raúl Castro Acosta	<i>Castro</i>
03	Tello Quispe Wilfredo	<i>Tello</i>
04	David Silva Pantoja	<i>Silva</i>
05		

	<b>P&amp;D ANDINA ALIMENTOS S.A.</b>	Código: P&A-000-0.023 Versión: 03 Aprobado por: JG Fecha de aprobación: 30-09-20 Página: 1 de 1
	Formato Lista de Asistencia Capacitación - Personal	

TEMA: Exceso y Deficiencia de Trazos Alimentarios  
 FECHA DE EXPOSICIÓN: 02-02-2021  
 EXPOSITOR: Jay Zorro

N°	NOMBRES / APELLIDOS	FIRMA
01	Tello Quispe Wilfredo	<i>Tello</i>
02	Raúl Castro Acosta	<i>Castro</i>
03	David Silva Pantoja	<i>Silva</i>
04	Fernanda Buldwin	<i>Buldwin</i>
05		

	<b>P&amp;D ANDINA ALIMENTOS S.A.</b>	Código: P&A-000-0.023 Versión: 03 Aprobado por: JG Fecha de aprobación: 30-09-20 Página: 1 de 1
	Formato Lista de Asistencia Capacitación - Personal	

TEMA: Exceso y Deficiencia de Trazos Alimentarios  
 FECHA DE EXPOSICIÓN: 19-01-21  
 EXPOSITOR: Jay Zorro, Barros

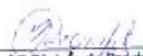
N°	NOMBRES / APELLIDOS	FIRMA
01	Raúl Castro Acosta	<i>Castro</i>
02	Fernanda Buldwin	<i>Buldwin</i>
03	Tello Quispe Wilfredo	<i>Tello</i>
04	David Silva Pantoja	<i>Silva</i>
05		

## 10.Registros de limpieza y desinfección de tanques de almacenamiento

	<b>P&amp;D ANDINA ALIMENTOS S.A.</b> <b>Formulario Limpieza y Desinfección de tanques</b>	Código : FR A 000-3.02.16 Versión : 04 Aprobado por : JPD Fecha de aprobación : 04-01-21 Página : 1 de 1
---	--	--

Etapa	Agente	Concentración	Temperatura	Tiempo	pH Enjuague
Limpieza química	Hidróxido de sodio 50% (Soda Cáustica)	1.2% - 1.6%	70 °C - 80°C	20-25 min	7.0 - 8.0
	Ácido Nítrico 65%	0.6% - 1.0%	60 a 70 °C	20-25 min	
	Delejante	2%	-	-	
	Neosep Clor N.Cl (Detergente alcalino+ tensioactivos)	2%	30°C	20-25 min	
	Neosani N.Ac (Detergente ácido+ tensioactivos)	1.5%	50°C	20-25 min	
Desinfección (Física o química)	Agua caliente (A.C)	-	70-90 °C	20-25 min	7.0 - 8.0
	Ácido peracético (A.P.)	200 ppm	T° Ambiente	20-30 min	

Fecha	N° de Tanque	LIMPIEZA QUÍMICA CIP						LAVADO MANUAL x Detergente	pH Enjuague	DESINFECCIÓN				Observaciones	Resp. de inspección	V°B° Supervisor	
		Conc. soda/ N.Cl O <sub>2</sub> (%)	T°C	Hora		Conc. Acido/ N.Ac (%)	T°C			A.C/ A.P. Conc.	T°C	Hora					
				Inicio	Final							Inicio	Final				Inicio
25-01-21	A	1.4%	80°C	10:40	11:00	1.0%	30°C	11:10	11:30	2%	7.48	200 ppm	Amb.	1:50	12:10	4/6	e
26-01-21	B	1.6%	80°C	11:40	12:00	0.9%	30°C	12:10	12:30	2%	7.51	200 ppm	Amb.	12:50	1:10	4/6	e
01-02-21	B	1.6%	80°C	09:40	09:55	1.0%	30°C	09:05	09:25	2%	7.62	200 ppm	Amb.	09:35	09:55	4/6	e
02-02-21	B	1.6%	80°C	9:10	9:30	0.9%	30°C	9:40	10:00	2%	7.48	200 ppm	Amb.	10:10	10:30	4/6	e
03-02-21	B	1.6%	80°C	9:00	9:20	0.9%	30°C	9:30	9:50	2%	7.51	200 ppm	Amb.	10:00	10:20	4/6	e
08-02-21	B	1.4% 2%	80°C	8:40	9:00	1.5%	30°C	9:10	9:30	2%	7.50	200 ppm	Amb.	9:40	10:00	4/6	e
10-02-21	B	1.5%	80°C	8:00	8:20	1.0%	30°C	8:30	8:50	2%	7.48	100 ppm	Amb.	9:00	9:20	4/6	e
15-02-21	A	1.6%	80°C	8:00	8:20	1.0%	30°C	8:30	8:50	2%	7.52	200 ppm	Amb.	9:00	9:20	4/6	e
18-02-21	A	1.6%	30°C	11:10	11:30	0.2%	30°C	11:40	12:00	2%	7.53	200 ppm	Amb.	12:10	12:30	4/6	e
22-02-21	B	1.4% 2%	80°C	2:20	2:40	1.5%	30°C	2:50	3:10	2%	7.57	200 ppm	Amb.	09:20	09:45	4/6	e

  
 V° B° Jefe de Producción

Etapas	Agente	Concentración	Temperatura	Tiempo	pH Enjuague
Limpieza química	Hidróxido de sodio 50% (Soda Cáustica)	1.2% - 1.6%	70°C - 80°C	20-25 min	7.0 - 8.0
	Acido Nítrico 53%	0.6% - 1.0%	80 a 70°C	20-25 min	
	Detergente	2%	-	-	
	Neosep Clo2 N.Cl (Detergente alcalino-tensioactivos)	2%	80°C	20-25 min	
Desinfección (Física o química)	Neocao : N.Ac (Detergente ácido-tensioactivos)	1.5%	50°C	20-25 min	-
	Agua clorinada (A.C)	-	70-90°C	20-25 min	-
	Acido peracético (A.P.)	200 ppm	T° Ambiente	20-30 min	7.0 - 8.0

Fecha	N° de Tanque	LIMPIEZA QUÍMICA CIP						LAVADO MANUAL % Detergente	pH Enjuague	DESINFECCIÓN				Observación	Resp. de ejecución	Vº Supervisor	
		Conc. actual N.Cl O2 (%)	T°C	Hora		Conc. Acido N.Ac (%)	T°C			A.C./A.P. Conc.	T°C	Hora					
				Inicio	Final							Inicio	Final				
23-02-21	8	1.6%	70°C	7:20	7:40	1.0%	60°C	7:50	8:10	2%	7.49	200ppm	Amb	8:20	8:40	OK	er
24-02-21	8	1.6%	70°C	14:00	14:20	1.0%	70°C	14:30	14:50	2%	7.40	200ppm	Amb	15:00	15:20	OK	er
8-03-21	8	1.6%	70°C	7:45	8:05	0.9%	70°C	8:15	8:35	2%	7.51	200ppm	Amb	8:45	9:05	OK	er
8-03-21	8	1.6%	80°C	13:00	13:20	1.5%	50°C	13:30	13:50	2%	7.50	200ppm	Amb	14:00	14:20	OK	er
11-03-21	8	1.5%	70°C	07:35	07:55	1.0%	70°C	8:05	8:25	2%	7.53	200ppm	Amb	8:35	8:55	OK	er
15-03-21	8	1.6%	70°C	07:05	07:25	1.0%	70°C	07:35	07:55	2%	7.50	200ppm	Amb	8:05	8:25	OK	er
22-03-21	8	1.6%	80°C	02:05	02:25	1.5%	50°C	02:35	02:55	2%	7.52	200ppm	Amb	8:05	8:25	OK	er
5-03-21	8	1.5%	80°C	14:00	14:20	1.0%	70°C	14:35	14:55	2%	7.48	200ppm	Amb	15:05	15:25	OK	er
29-03-21	8	1.6%	70°C	08:00	08:20	1.0%	70°C	08:30	08:50	2%	7.46	200ppm	Amb	09:10	09:30	OK	er
05-04-21	8	1.6%	80°C	07:05	07:25	1.5%	50°C	07:35	07:55	2%	7.50	200ppm	Amb	8:05	8:25	OK	er

**Vº Bº Jefe de Producción**