



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E
INDUSTRIAS**

CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

**PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE
LAS FRACCIONES OBTENIDAS DE LA MICROFILTRACIÓN
DE LACTOSUERO**

**TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERA DE ALIMENTOS**

GIANELLA DENNIS VÁSCONEZ GARCÍA

DIRECTOR: ING. MANUEL CORONEL

Quito, Marzo 2017

© Universidad Tecnológica Equinoccial. 2017
Reservados todos los derechos de reproducción

FORMULARIO DE REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

PROYECTO DE TITULACIÓN

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1003596069
APELLIDO Y NOMBRES:	Vásconez García Gianella Dennis
DIRECCIÓN:	Av. La Gasca y Pablo Palacios
EMAIL:	Giane1992@hotmail.com
TELÉFONO FIJO:	3211942
TELÉFONO MOVIL:	0987908268

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LAS FRACCIONES OBTENIDAS DE LA MICROFILTRACIÓN DE LACTOSUERO
AUTOR O AUTORES:	Gianella Dennis Vásconez García
FECHA DE ENTREGA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	23 de Marzo de 2017
DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Ing. Manuel Coronel
PROGRAMA	PREGRADO <input checked="" type="checkbox"/> POSGRADO <input type="checkbox"/>
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniería de Alimentos
RESUMEN: Mínimo 250 palabras	El objetivo del presente trabajo, fue estudiar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la alimentación, permeado y retenido de la microfiltración de lactosuero de queso fresco. Se recolectó

asépticamente la muestra de suero de la Fábrica de lácteos FEDAC, y se trasladó a la planta piloto de la Universidad Tecnológica Equinoccial, donde se realizó el proceso de microfiltración tangencial en dos equipos; uno escala piloto y otro escala laboratorio, con membranas de 0.5 y 0.45 μm respectivamente. La membrana del equipo escala piloto es de cerámica y del equipo escala laboratorio es de fluoruro de polivinildieno hidrófilo, se trabajó a una presión transmembrana de 1.5 Bar (PTM), los parámetros analizados fueron: flujo de permeado (JP) y factor de retención volumétrica (FRV). El valor máximo del flujo transmembrana, para el equipo escala piloto fue 115.2 l/h. m^2 y el flujo mínimo fue 89.74 l/h. m^2 . Para el equipo escala laboratorio el flujo máximo fue 35.40 l/h. m^2 , mientras que el valor mínimo fue 12 l/h. m^2 . Se realizó análisis fisicoquímicos y microbiológicos de Aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* de las muestras de alimentación, retenido y permeado. En cuanto a los análisis de proteína,

	<p>la corriente de permeado, con el equipo escala piloto, obtuvo un valor superior de 2.23, a comparación del equipo escala laboratorio cuyo valor fue 2.00. En cuanto al contenido de grasa, el permeado obtenido de los equipos, no presentó contenido de grasa, además los resultados fueron comparados con la Norma INEN 2594 (2011). Las corrientes de alimentación y retenido presentaron altas cargas microbianas, por lo que no cumplieron con la norma, sin embargo en la corriente de permeado, no existió presencia de microorganismos.</p>
PALABRAS CLAVES:	Siembra Directa, Carga microbiana, Tecnología de membranas, Lácteos
ABSTRACT:	<p>The objective of the present work was to study the physicochemical and microbiological properties of feed, permeate and retained microfiltration of fresh cheese whey. The serum sample from the FEDAC dairy factory was collected aseptically and transferred to the pilot plant of the Technological Equinoccial University where the tangential microfiltration process was performed in two teams; One pilot scale and another laboratory scale, with membranes of 0.5 and 0.45 μm respectively. The membrane</p>

of the pilot scale equipment is ceramic and the scale laboratory is hydrophilic polyvinylidene fluoride, worked at a transmembrane pressure of 1.5 Bar (PTM), the parameters analyzed were: permeate flow (JP) and volumetric retention factor (FRV). The maximum value of the transmembrane flux for the pilot scale equipment was 115.2 l / h.m^2 and the minimum flux was 89.74 l / h.m^2 . For the laboratory scale equipment the maximum flow was $35.40 \text{ l / h} \text{ [}.m] ^ 2$, while the minimum value was 12 l / h.m^2 . Microbiological and physicochemical analyzes of mesophilic aerobes, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* of the feed, retained and permeate samples were performed. As for protein analysis, the permeate stream, with the pilot scale equipment, obtained a value higher than 2.23, compared to the laboratory scale equipment whose value was 2.00. Regarding the fat content, the permeate obtained from the equipment did not present fat content, in addition the results were compared with the norm INEN 2594 (2011). The feed and retained currents presented

	high microbial loads, so they did not comply with the standard, however in the permeate stream, there was not microorganisms present.
KEYWORDS	Direct Seeding, Microbial Loading, Membrane Technology, Dairy, Sweet Whey

Se autoriza la publicación de este Proyecto de Titulación en el Repositorio Digital de la Institución.

f: _____



VÁSCONEZ GARCÍA GIANELLA DENNIS

C.I: 100359606-9



DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **GIANELLA DENNIS VÁSCONEZ GARCÍA**, CI: 1003596069 autor del proyecto titulado: **Propiedades Físicoquímicas y Microbiológicas del permeado y retenido de la microfiltración de lactosuero**, previo a la obtención del título de **INGENIERA DE ALIMENTOS** en la Universidad Tecnológica Equinoccial.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las Instituciones de Educación Superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la BIBLIOTECA de la Universidad Tecnológica Equinoccial a tener una copia del referido trabajo de graduación con el propósito de generar un Repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Quito, 23 de Marzo del 2017

VÁSCONEZ GARCÍA GIANELLA DENNIS

C.I: 1003596069

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo que lleva por título "**PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL PERMEADO Y RETENIDO DE LA MICROFILTRACIÓN DE LACTOSUERO.**", que, para aspirar al título de **Ingeniero de Alimentos** fue desarrollado por **Gianella Dennis Vásconez García**, bajo mi dirección y supervisión, en la Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias; y cumple con las condiciones requeridas por el reglamento de Trabajos de Titulación artículos 19, 27 y 28.



Ing. Manuel Coronel

DIRECTOR DEL TRABAJO

C.I.1710625227

DEDICATORIA

A Dios por guiarme, bendecirme y darme la sabiduría necesaria para poder llegar hasta el final a pesar de los obstáculos y culminar una etapa de mi vida.

A mi madre por ser una mujer valiente y luchadora que jamás se dejó vencer y que durante toda la vida me apoyo incondicionalmente y fue el pilar fundamental para que pueda culminar con mis estudios, brindándome sus consejos, cariño y la fuerza para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia especialmente a mis hermanos y a mi padre por ser un hombre perseverante y honesto; quien me brindó su apoyo y cariño para que pueda salir adelante, guiándome siempre por el camino correcto para alcanzar mis metas y así poder culminar mi carrera que es el inicio de un largo camino por recorrer.

A mis amigos que durante toda esta etapa universitaria compartieron conmigo momentos inolvidables, siempre me apoyaron y estuvieron conmigo durante toda la carrera; juntos compartimos risas, alegrías, tristezas que nos ayudaron a crecer juntos como una gran familia.

A mis profesores quienes supieron transmitir sus conocimientos durante mi investigación para el buen término de este.

A todas las personas que directa o indirectamente siempre estuvieron conmigo brindándome su confianza y apoyo durante este largo camino.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. LACTOSUERO	3
2.1.1. COMPOSICIÓN	3
2.1.2. IMPORTANCIA DEL LACTOSUERO	5
2.2. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUERO	6
2.3. MICROBIOLOGÍA DEL SUERO DE QUESO	7
2.4. TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS	9
2.5. MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL	11
2.5.1. APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS	16
2.5.2. VENTAJAS DE LA MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL	18
3. METODOLOGÍA	20

	PÁGINA
3.1. CARACTERIZACIÓN DEL SUERO DE LECHE	20
3.2. TOMA DE MUESTRA	20
3.3. MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL	21
3.4. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS	24
3.4.1. DETERMINACIÓN DE PH	24
3.4.2. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE	24
3.4.3. DETERMINACIÓN DE LACTOSA, PROTEÍNA, GRASA Y DENSIDAD	25
3.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	25
3.5.1. PREPARACIÓN MEDIOS DE CULTIVO	25
3.5.2. DILUCIONES SUCESIVAS	26
3.5.3. SIEMBRA EN SUPERFICIE	27
3.5.4. INCUBACIÓN	27
3.5.5. RECUENTO TOTAL DE POBLACIONES MICROBIANAS	28
3.5.5.1. Recuento de aerobios mesófilos	28
3.5.5.2. Recuento de <i>Escherichia coli</i>	28
3.5.5.3. Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	29
3.5.5.4. Detección de <i>Listeria monocytogenes</i>	29
3.5.6. TINCIÓN GRAM	30
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	31
4.1. MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL (MFT)	31
4.2. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS	38

	PÁGINA
4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	43
4.4. TINCIÓN GRAM	47
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
5.1. CONCLUSIONES	52
5.2. RECOMENDACIONES	53
BIBLIOGRAFÍA	54
ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Composición en aminoácidos esenciales (g/100 g) de proteína.	4
Tabla 2. Requisitos físico-químicos del suero de leche líquido.	7
Tabla 3. Especificaciones medios de cultivo	26
Tabla 4. Condiciones de Incubación para microorganismos	28
Tabla 5. Factores del Proceso de Microfiltración Tangencial	32
Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas obtenidas del proceso de microfiltración equipo escala laboratorio y escala piloto	39
Tabla 7. Análisis microbiológicos equipo escala piloto y escala laboratorio	44
Tabla 8. Tinción Gram Bacterias Gram positivas y Gram negativas	49

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Representación esquemática de una membrana	10
Figura 2. Clases de filtración por membrana	11
Figura 3. Esquema del proceso de Microfiltración tangencial	13
Figura 4. Flujo transmembrana (1.5 bar, equipo escala laboratorio)	33
Figura 5. Flujo transmembrana (1.5 bar, equipo escala piloto)	34
Figura 6. Comparación del flujo transmembrana y del factor de retención volumétrico (FRV) a) equipo escala piloto b) equipo escala laboratorio	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	62
ANEXO II. DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	63
ANEXO III. TABLAS DE DATOS	64

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo, fue estudiar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la alimentación, permeado y retenido de la microfiltración de lactosuero de queso fresco. Se recolectó asépticamente la muestra de suero de la Fábrica de lácteos FEDAC, y se trasladó a la planta piloto de la Universidad Tecnológica Equinoccial, donde se realizó el proceso de microfiltración tangencial en dos equipos; uno escala piloto y otro escala laboratorio, con membranas de 0.5 y 0.45 μm respectivamente. La membrana del equipo escala piloto es de cerámica y del equipo escala laboratorio es de fluoruro de polivinildieno hidrófilo, se trabajó a una presión transmembrana de 1.5 Bar (PTM), los parámetros analizados fueron: flujo de permeado (JP) y factor de retención volumétrica (FRV). El valor máximo del flujo transmembrana, para el equipo escala piloto fue 115.2 l/h.m² y el flujo mínimo fue 89.74 l/h.m². Para el equipo escala laboratorio el flujo máximo fue 35.40 l/h.m², mientras que el valor mínimo fue 12 l/h.m². Se realizó análisis fisicoquímicos y microbiológicos de Aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* de las muestras de alimentación, retenido y permeado. En cuanto a los análisis de proteína, la corriente de permeado, con el equipo escala piloto, obtuvo un valor superior de 2.23, a comparación del equipo escala laboratorio cuyo valor fue 2.00. En cuanto al contenido de grasa, el permeado obtenido de los equipos, no presentó contenido de grasa, además los resultados fueron comparados con la Norma INEN 2594 (2011). Las corrientes de alimentación y retenido presentaron altas cargas microbianas, por lo que no cumplieron con la norma, sin embargo en la corriente de permeado, no existió presencia de microorganismos.

Palabras claves:

Siembra Directa, Carga microbiana, Tecnología de membranas, Lácteos

ABSTRACT

The objective of the present work was to study the physicochemical and microbiological properties of feed, permeate and retained microfiltration of fresh cheese whey. The serum sample from the FEDAC dairy factory was collected aseptically and transferred to the pilot plant of the Technological Equinoctial University where the tangential microfiltration process was performed in two teams; One pilot scale and another laboratory scale, with membranes of 0.5 and 0.45 μm respectively. The membrane of the pilot scale equipment is ceramic and the scale scale laboratory is hydrophilic polyvinylidene fluoride, worked at a transmembrane pressure of 1.5 Bar (PTM), the parameters analyzed were: permeate flow (JP) and volumetric retention factor (FRV). The maximum value of the transmembrane flux for the pilot scale equipment was 115.2 l / h.m² and the minimum flux was 89.74 l / h.m². For the laboratory scale equipment the maximum flow was 35.40 l / h [(.m)]², while the minimum value was 12 l / h.m². Microbiological and physicochemical analyzes of mesophilic aerobes, Escherichia coli, Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus of the feed, retained and permeate samples were performed. As for protein analysis, the permeate stream, with the pilot scale equipment, obtained a value higher than 2.23, compared to the laboratory scale equipment whose value was 2.00. Regarding the fat content, the permeate obtained from the equipment did not present fat content, in addition the results were compared with the norm INEN 2594 (2011). The feed and retained currents presented high microbial loads, so they did not comply with the standard, however in the permeate stream, there was not microorganisms present.

Key words:

Direct Seeding, Microbial Loading, Membrane Technology, Dairy, Sweet Whey

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El suero de leche se obtiene de la elaboración del queso, y representa cerca del 85-90 % de la leche; su composición depende de la procedencia de la leche y el tipo de queso que se desea elaborar. A pesar de su alto contenido de proteínas, es un residuo poco aprovechado por la industria láctea, debido a que se desecha en grandes cantidades, ocasionando problemas ambientales por su composición (Valencia & Ramírez, 2009).

El suero es considerado un líquido altamente nutritivo, debido a la cantidad de componentes que lo integran, principalmente proteínas (beta-lactoglobulina y alfa-lactoalbumina), lactosa que alcanza hasta un 70 % de sólidos disueltos, vitaminas hidrosolubles y minerales. Existen dos tipos de lactosuero, el suero dulce que se obtiene de la elaboración de queso, mediante la adición de cuajo a la leche, posee un pH entre 5.6 a 6.3 y el suero ácido que se obtiene de la precipitación ácida de la caseína, presentando un pH entre 4.4 a 5.1 (Motta-Correa & Mosquera, 2015).

Debido a que el suero de leche, puede ser considerado como materia prima principal en la industria alimentaria, es importante conocer su calidad desde el punto de vista microbiológico, ya que puede ser uno de los principales causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, por ello se realizan análisis microbiológicos para identificar microorganismos patógenos presentes. La presencia de microorganismos patógenos en la leche y queso indica malas prácticas higiénicas, instalaciones inadecuadas, utensilios contaminados y mal manejo por parte de los manipuladores (Luigi *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2009).

En la actualidad, la microfiltración es utilizada en la industria láctea, y se fundamenta en el empleo de membranas que funcionan como una

barrera, fraccionando un líquido con ayuda de una fuerza impulsora, evitando que partículas mayores al poro de la membrana, pasen a través de ella (Pandolfi, 2008). Existen diversos procesos de separación por membranas, que se diferencian por las partículas que retienen y dejan pasar; la microfiltración retiene grasa y bacterias, la ultrafiltración proteínas y lactosa, nanofiltración sales disueltas y la osmosis inversa agua (Chacón, 2006)

La tecnología de membranas, es un proceso que ofrece grandes ventajas a la industria de alimentos, conserva las características nutricionales y sensoriales del producto microfiltrado; y el funcionamiento del equipo es automatizado, y permite eliminar contaminantes para añadir valor agregado a los subproductos. (Badilla, 2005; Gallego, 2011).

Actualmente la microfiltración tangencial, ha sido utilizada en la clarificación de extractos de maíz, vinos y cervezas; purificación de agua, pasteurización en frío de leche y jugos, y elaboración de quesos (Tupuna, 2012).

El objetivo general del presente trabajo, fue estudiar las propiedades Físicoquímicas y Microbiológicas de las fracciones obtenidas de la microfiltración de lactosuero.

Los objetivos específicos planteados fueron:

- Caracterizar el lactosuero, obtenido de la elaboración de queso fresco.
- Analizar las propiedades físicoquímicas, y microbiológicas del retenido y permeado en los procesos de microfiltración tangencial.
- Comparar procesos de microfiltración tangencial a escala laboratorio con escala piloto.

2. MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1. LACTOSUERO

El lactosuero, se obtiene como subproducto de la elaboración de queso y otros productos lácteos; mediante la acción ácida, o de enzimas propias del cuajo, que divide el sistema coloidal de la leche, en dos fracciones; una fracción sólida, que está compuesta por proteínas insolubles y lípidos y una fracción líquida, en la cual se encuentran suspendidos otros compuestos que no participaron en el proceso de coagulación de la caseína. En el suero, se encuentra suspendidas partículas tanto solubles e insolubles; como proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, minerales y otros compuestos de alto valor biológico (Poveda, 2013).

2.1.1. COMPOSICIÓN

La composición nutricional del suero de leche, depende principalmente de las características de la leche, utilizada para la elaboración del queso, el proceso tecnológico empleado en la elaboración del queso y el tipo de queso que se va a producir en la industria (Poveda, 2013).

Más de la mitad del lactosuero, está compuesto por los sólidos presentes en la leche original y otro tipo de componentes como lactosa, proteínas solubles, vitaminas hidrosolubles y minerales (calcio, fosforo, sodio y magnesio) (Hernández & Vélez, 2014).

El lactosuero representa cerca del 90 % del volumen de la leche, está compuesto por un alto contenido de agua (93.1 %) y otras sustancias solubles como lactosa 4.9 %, proteínas solubles 0.9 % que desempeñan un papel importante como fuente de aminoácidos esenciales,

fundamentales para la alimentación humana, sales minerales 0.6 %, grasa 0.3 % y 0.2 % de vitaminas hidrosolubles del grupo B como ácido nicotínico, riboflavina, cobalamina, tiamina, ácido pantoténico, piridoxina y ácido ascórbico (Parra, 2009; Valencia et al., 2009).

Las proteínas del suero de la leche, representan el 18 -20 % de las proteínas de la leche, no son la fracción más importante pero si tienen un papel fundamental en aspectos económicos y nutricionales. (Hernández & Vélez, 2014). Estas representan una rica y variada mezcla de proteínas por ser una fuente de aminoácidos esenciales; su calidad es igual a de las proteínas del huevo como se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición en aminoácidos esenciales (g/100 g) de proteína.

AMINOÁCIDO	LACTOSUERO	HUEVO	EQUILIBRIO RECOMENDADO POR LA FAO
Treonina	6.2	4.9	3.5
Cisteína	1.0	2.8	2.6
Metionina	2.0	3.4	2.6
Valina	6.0	6.4	4.8
Leucina	9.5	8.5	7.0
Isoleucina	5.9	5.2	4.2
Fenilalanina	3.6	5.2	7.3
Lisina	9.0	6.2	5.1
Histidina	1.8	2.6	1.7
Triptófano	1.5	1.6	1.1

(Parra, 2009)

Los principales componentes de este subproducto son cuatro proteínas; la β -lactoglobulina (β -LG), α -lactoalbúmina (α -La), albúmina de suero sanguíneo (BSA) e inmunoglobulina además, contiene otras proteínas como, lactoferrina, transferrina y la fracción lactolin glicomacropéptidos. Estas proteínas presentan una estructura globular compacta con una distribución uniforme, de la secuencia de residuos polares, no polares y cargados. De aquí se pliegan intramolecularmente, introduciendo sus residuos hidrofóbicos, por lo que no tiene una extensa interacción con otras proteínas (Antuña, Celeguin & Rubiolo, 2009).

2.1.2. IMPORTANCIA DEL LACTOSUERO

Las proteínas del suero han sido utilizadas en la industria alimentaria como suplementos alimenticios, debido a su alto valor nutritivo y capacidad para producir aminoácidos esenciales (Hernández & Vélez, 2014).

Las proteínas del suero de la leche, la β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina, son parte de la fracción proteica, la cual es una mezcla de diferentes proteínas alimenticias, que son responsables de las propiedades funcionales como ingrediente en algunos alimentos. Sin embargo estas propiedades funcionales pueden ser afectadas por diferentes propiedades intrínsecas y extrínsecas, como la secuencia de aminoácidos, la estructura secundaria y terciaria, el carácter hidrófilo de la superficie de la proteína, pH, temperatura y fuerza iónica (Parra, 2009).

Las proteínas del suero, de la leche contienen un alto valor biológico por su contenido de aminoácidos esenciales, la calidad de las proteínas, está definida por la cantidad de aminoácidos que contienen azufre como cisteína y metionina. Una de las razones por la que la calidad de las

proteínas es alta, es por su capacidad para suministrar equilibradamente nitrógeno, tanto en aminoácidos esenciales y no esenciales (Hernández & Vélez, 2014).

Algunos estudios, demuestran que las proteínas también tienen funciones biológicas que intervienen en la prevención de enfermedades cancerígenas, incremento en los niveles de glucosa, tratamiento en pacientes con VIH y actividades antimicrobianas y antivirales (Hernández & Vélez, 2014).

2.2. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUERO

El suero de leche, debe cumplir con parámetros establecidos en la Norma INEN 2594 (2011). Suero de leche, presentes en la Tabla 2. Requisitos; norma que señala que el suero de leche debe proceder de productos que hayan sido elaborados con leche pasteurizada y no contener compuestos extraños, que no sean propios del procesamiento de queso o de la misma naturaleza del producto.

Tabla 2. Requisitos físico-químicos del suero de leche líquido.

Requisitos	Suero de leche dulce		Suero de leche ácido	
	Min	Max	Min	Max
Lactosa % (m/m)	---	5.0	---	4.3
Proteína Láctea	0.8	---	0.8	---
Grasa Láctea % (m/m).	---	0.3	---	0.3
Ceniza % (m/m)	---	0.7	---	0.7
Acidez, titulable, % (Calculada como ácido láctico)	---	0.16	0.35	---
pH	6.8	6.4	5.5	4.8
El contenido de proteína láctea es igual a 6.38 por el % nitrógeno total determinado				

(INEN 2594, 2011)

2.3. MICROBIOLOGÍA DEL SUERO DE QUESO

La estabilidad y calidad microbiológica de los quesos, se miden a través de la humedad, actividad de agua y pH. La presencia de patógenos, puede ser consecuencia de la inadecuada manipulación por parte de los operarios, utensilios contaminados, el medio ambiente y otros factores. La actividad de agua, es un factor clave para el crecimiento microbiano, esto se debe a la presencia de agua libre en el queso, haciendo que este sea perecedero y susceptible a la multiplicación de microorganismos (Vásquez et al., 2012).

La presencia de patógenos como *Staphylococcus aureus*, aerobios mesófilos, *Escherichia coli* y *Salmonella spp*, son consecuencia de una posterior contaminación, causada por inadecuadas prácticas de Manufactura y malas condiciones de instalaciones. Otro factor que puede

influir en la presencia de patógenos, es la contaminación pre-pasteurización de la leche cruda por enfermedades de la ubre como es el caso de la mastitis, por lo que se considera que no se realizó Buenas prácticas de Ordeño (Lanchipa & Sosa, 2003).

▪ **Enterobacterias**

Son bacilos Gram negativos, en su mayoría móviles que reducen los nitritos a nitratos, a través de los procesos de fermentación que convierten la glucosa en ácido. Invaden el intestino del ser humano y animales domésticos o salvajes, actuando como patógenos oportunistas también están presentes en el medio ambiente principalmente en el agua.

Algunos de los microorganismos que forman parte de este grupo de enterobacterias son *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, y *Enterobacter* (Olivas, 2001).

La *Escherichia coli* es un microorganismo anaerobio facultativo, móvil y presenta flagelos, la presencia de *E.coli* es significado de contaminación fecal y principalmente se pueden encontrar en agua y alimentos. Las cepas de *E.coli*, provocan una gran cantidad de afecciones especialmente enfermedades gastrointestinales, que afectan al ser humano como por ejemplo las infecciones urinarias y meningitis (Álvarez, 2012).

Salmonella es un microorganismo Gram- negativo, facultativo que produce ácido y gas mediante la fermentación de la glucosa, crece a temperaturas de 32- 37 °C y no resiste bajas temperaturas, razón por la cual se inhibe su crecimiento. Este tipo de microorganismo la mayoría de veces proviene del intestino de diversos animales y del medio ambiente. El género *Salmonella*, crece en alimentos con baja actividad de agua y puede sobrevivir por varios años. Es causante de varias infecciones

entéricas que producen diarrea, gastroenteritis y la principal y más grave, fiebre tifoidea causante de muerte en humanos (López, 2015).

- ***Staphylococcus aureus***

Según Erika (2013), este tipo de microorganismo pertenece al género de bacterias anaerobias, soportan altas y bajas temperaturas así como irradiación. Se encuentran en el ambiente aire, agua, utensilios y maquinaria, están presentes en alimentos con un alto contenido de sales y azúcares, su forma de contaminación en los seres humanos es por medio del consumo de alimentos que han sufrido contaminación cruzada, falta de higiene por parte de manipuladores al momento de su elaboración y su inadecuada forma de conservación.

2.4. TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS

La tecnología de membranas, ha crecido gradualmente en los últimos años y se ha convertido en un proceso importante e innovador para las industrias del mundo, puesto que la separación de membranas, sustituye varios procesos tradicionales de la industria, como evaporación, rectificación, extracción y absorción convirtiéndose en una tecnología más rentable, que alcanza rápidamente aceptación global (Matheus, 2012).

El proceso de separación de membranas, utiliza varias membranas semi-permeables que actúan como un filtro permitiendo el paso de un líquido, dependiendo del tamaño de los poros, que oscilan entre 100 hasta 5 micras, mientras retiene sólidos en suspensión y otros componentes. Estos procesos generalmente, se realizan a temperatura ambiente, sin la adición de sustancias químicas y con un uso bajo de energía. En la

Figura 1 se muestra el funcionamiento de la membrana (Camacho, 2009; Matheus, 2012; Calvo et al., 2010).

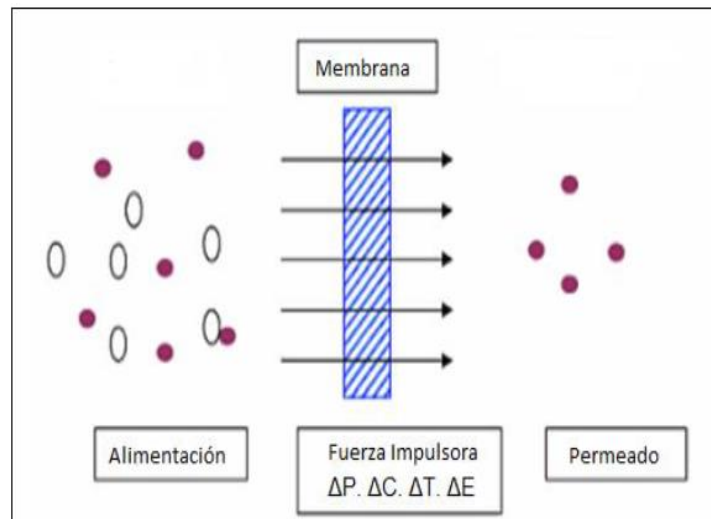


Figura 1. Representación esquemática de una membrana

(Raventós, 2005)

Los procesos de separación de membranas, se clasifican en microfiltración, Ultrafiltración, Nanofiltración y Osmosis inversa de acuerdo al tamaño de poro de la membrana, el tipo de los compuestos que se van a separar y las diferentes fuerzas de presión que se utilizan para fraccionar fluidos como se presentan en la Figura 2 (Mendoza, 2010).

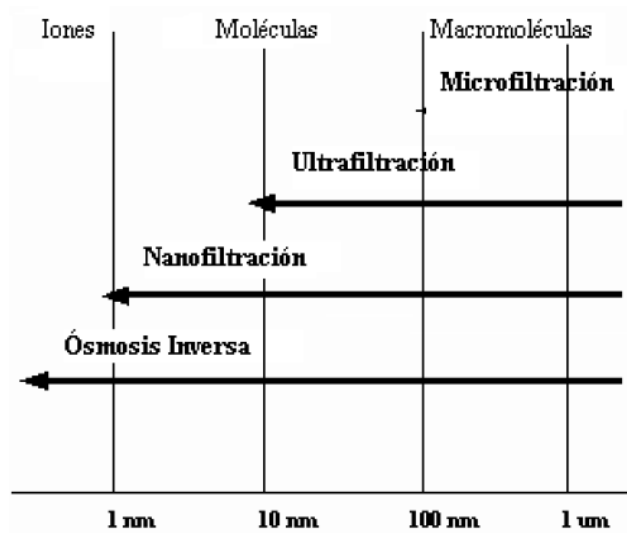


Figura 2. Clases de filtración por membrana

(Camacho, 2009)

2.5. MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL

La microfiltración, es un proceso que utiliza membranas para separar un fluido, en dos fracciones el primero se denomina retenido, cuya concentración de componentes son de mayor tamaño, que el diámetro de poro, mientras que el permeado, es el líquido que se obtiene cuando pasa a través de la membrana y los componentes son de menor tamaño, que el diámetro de poro. El tamaño de poro de las membranas usadas para microfiltración, se encuentra en un rango que va desde 0.1 y 10 micras dependiendo del fluido que se va a microfiltrar. (Binetti, Bailo & Reinheimer, 2004).

Por lo general el proceso de microfiltración tangencial, se utiliza para diferentes procesos como; concentración, clarificación y fraccionamiento,

con el objetivo de obtener un líquido con características diferentes al fluido inicial (León & Rosero, 2009).

Es una tecnología que utiliza, una fuerza de presión para remover de un fluido alimentado, microorganismos y otros contaminantes, mientras que permite pasar a través de la membrana proteínas, agua y otros componentes. (Mukhopadhyay et al., 2010). Como resultado de la fuerza de presión aplicada los sólidos, se concentran en la superficie de la membrana, provocando una resistencia al flujo, ocasionando una gran disminución del caudal. Resulta muy difícil utilizar altos flujos de permeado, si el proceso sufre un colmataje, originado principalmente por la obstrucción de los poros de la membrana, debido a la interacción de la proteínas (Fernández, 2015).

El mecanismo de fraccionamiento del proceso de microfiltración, se basa en la separación de un fluido en componentes, este fluido circula tangencialmente, a la superficie de la barrera de filtración evitando el arrastre de sustancias, colmatación de la membrana y posterior conformación de la torta, debido a que los solutos son de menor tamaño que los poros de la membrana, pasan fácilmente a través de ella, por lo que se produce un líquido de permeado, que está libre de partículas convirtiéndose en un fluido de alto valor comercial, el líquido de retenido, es la fracción que tiene mayor concentración de solutos y no logra pasar a través de la membrana por la alta cantidad de partículas presentes como se puede ver en la Figura 3 (León & Rosero, 2009; Ortiz et al., 2008).

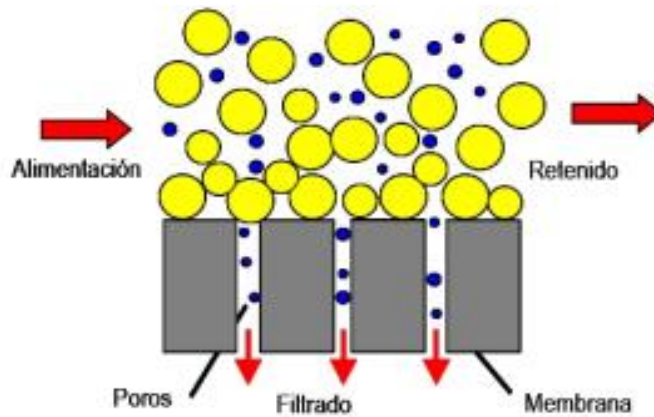


Figura 3. Esquema del proceso de Microfiltración tangencial

(De la casa, 2006)

En la industria, una de las principales restricciones es la disminución del flujo de permeado, respecto al tiempo ya que el flujo se reduce a un nivel bajo ocasionando, que el proceso de microfiltración se detenga y para que se restablezca la permeabilidad de la membrana, es necesario una serie de lavados combinados con químicos fuertes y temperaturas que van de 60 a 80 °C. Este proceso puede provocar la alteración de la estructura y composición química de las membranas y ocasiona que los procesos sean más costosos, ya que se aumentan los tiempos de producción (Gallego, 2011).

Existen algunos parámetros limitantes en el proceso de microfiltración tangencial.

- **Presión transmembranaria (*PTM*)**

Es la diferencia de presión, entre los dos lados del proceso, tanto el permeado, como el retenido. Se expresa con la ecuación 1 (Laverde, 2010; Arias & Espinel, 2006).

$$P_{TM} = \frac{P_e + P_s}{2} - P_p \quad (1)$$

Dónde:

Pe: Presión de alimentación

Ps: Presión de salida

Pp: Presión de permeado que también se considera atmosférica, $P_p = 0$

- **Flujo de Permeado (*JP*)**

El flujo de permeado, o también conocido como flujo volumétrico, es aquel que atraviesa la membrana, en un intervalo de tiempo y generalmente se expresa en l/h.m² como se muestra en la ecuación 2 (Fernández, 2015).

$$J_p = \frac{1}{A_m} \frac{dV}{dt} \quad (2)$$

Dónde:

Am: Área de membrana

V: volumen de permeado

dt: tiempo

- **Factor de reducción volumétrico (FRV)**

Este parámetro, se encarga de medir esta disminución, y se relaciona con el rendimiento del proceso, es decir tanto el volumen de retenido, alimentación y permeado. Se calcula con la ecuación 3 (Arellano, 2013; Chacón, 2006).

$$FRV = \frac{V_a}{V_r} = 1 + \frac{V_p}{V_r} \quad (3)$$

Dónde:

V_a : Volumen de alimentación

V_r : Volumen de retenido

V_p : Volumen de permeado

- **Permeabilidad de la membrana (Lm)**

La permeabilidad, es un factor que permite el paso de un líquido a través de la membrana bajo una presión y temperatura, dada, las membranas utilizadas en el proceso de microfiltración, generalmente poseen permeabilidades de $1 \cdot 10^{-11}$. Se encuentra representado en la ecuación 4 (Arellano, 2013; Laverde, 2010).

$$Lm = \frac{1}{R_m} \quad (4)$$

Dónde:

R_m : Resistencia de la membrana

- **Colmataje**

El colmataje de la membrana, es un factor que afecta al proceso de microfiltración tangencial, ya que causa la disminución del flujo de permeado, debido a la acumulación de varios compuestos, que se adhieren en la superficie de la membrana, afectando la eficiencia del proceso; esta colmatación es provocada por distintos tipos de mecanismos, la polarización de la concentración, bloqueo de poros, y el aumento de la viscosidad, debido a la concentración en el fluido. El fenómeno de colmataje, no solo es ocasionado por factores, como la presión, las características de flujo y operación; también está influenciado por la estructura tanto interna, como externa, de la membrana y la interacción de la membrana con los componentes colmatantes (Ortiz, Vélez & Mejía, 2008; Chacón, 2006).

2.5.1. APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

Las aplicaciones, que han surgido a través de los años en la industria de alimentos, utilizando tecnología de membranas, son muy diversas y se presentan en varias ramas de la industria (Hernández et al., 1990).

La microfiltración tangencial, se ha utilizado en la industria láctea para procesos de pasteurización de leche entera, pues elimina la mayoría de microorganismos, y no altera sus características químicas y sensoriales conservando más del 99% de las proteínas de la leche, además esta técnica no solo ha sido aplicada en leche, sino también en suero de

leche, permitiendo la eliminación de grasa (Hernández et al., 1990; Coronel, 2012).

La técnica de microfiltración, ha sido aplicada también para leche descremada, con el objetivo de obtener materia prima esterilizada, para la elaboración de quesos, productos lácteos deshidratados y derivados de proteínas. Otra aplicación es la fragmentación del suero, para separar la caseína y utilizarlo como suplementos alimenticios o para fortificación de quesos (Romero, 2010).

En la industria quesera, se ha demostrado que el uso de la microfiltración, ayuda a producir quesos más seguros higiénicamente, ya que permite la purificación de la salmuera, eliminando completamente hongos, levaduras así; como la mayor parte de bacterias contaminantes y una pequeña fracción de materia nitrogenada y sales de calcio. La calidad del queso y de la salmuera, depende del equilibrio entre el NaCl, ácido láctico, lactosa y proteínas solubles del suero (Reinheimer & Zalazar, 2006).

En cuanto a jugos de frutas la tecnología, de membranas actúa como un proceso de esterilización en frío, que permite conservar y obtener jugos microbiológicamente, estables y clarificados que no alteran sus propiedades organolépticas, como su aroma y sabor, garantizando un jugo apto para el consumo humano mejorando su calidad y frescura; este tipo de técnica es capaz de reemplazar a los métodos tradicionales de clarificación de jugos ayudando a reducir el tiempo, mano de obra y energía (Ramírez et al., 2011; Rezzadori et al., 2012).

En Brasil, algunas industrias de alimentos, aplican el proceso de microfiltración para la clarificación de jugos de frutas, como manzana, limón, naranja, pera y uva (Carneiro et al., 2002).

Se ha realizado en Venezuela, un estudio para determinar si después del proceso de microfiltración, las características físicas y químicas del jugo de mango clarificado, son alteradas, presentando un jugo estable sin modificación de pH, acidez total, sólidos solubles, polifenoles y capacidad antioxidante en sus tres fases: alimentación, permeado y retenido (García et al., 2015).

En la industria de vinos y bebidas alcohólicas; como cerveza, se ha demostrado que la microfiltración permite, la clarificación, estabilización y eliminación de impurezas que alteran la calidad del vino, obteniendo bebidas con una larga vida útil (Arellano, 2013; Hernández et al., 1990).

En Estados Unidos, se realizó un estudio acerca de la clarificación de extractos de maíz, en donde se demostró que el proceso de microfiltración, también es un método efectivo para la clarificación de sólidos y líquidos conservando sus proteínas (Aspelund & Glatz, 2010).

2.5.2. VENTAJAS DE LA MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL

El sistema tiene un alto rendimiento, por lo tanto no es indispensable elevar la temperatura del producto, para prevenir la pérdida de las propiedades de los componentes (Arellano, 2013).

Es un proceso continuo, ya que elimina muchas operaciones del sistema, reduciendo, significativamente el tiempo y los costos de energía en el proceso de microfiltración; incrementando la eficacia del proceso y calidad del producto (Brito et al, 2010; Badilla, 2005).

Ayuda a conservar las características nutricionales y sensoriales, del producto microfiltrado, mejorando su calidad (Gallego, 2011).

La microfiltración tangencial, es un proceso limpio, que permite eliminar contaminantes para añadir valor agregado a los subproductos (Badilla, 2005).

Según Vilavella, 1997; Romero, 2010; Raventós, 2005, la aplicación del proceso de microfiltración, tiene múltiples ventajas a diferencia de los procesos tradicionales de separación, que se utilizan en la industria. Entre sus principales ventajas se tiene:

- Durante el proceso de microfiltración, se puede trabajar a temperatura ambiente, para poder fraccionar compuestos.
- Este proceso no origina residuos contaminantes, para el medio y ambiente y se puede reutilizar los desechos.
- El equipo de microfiltración, es un equipo modular que funciona según los requerimientos de la empresa en cuanto a su capacidad y tamaño.
- Las propiedades de las membranas, del equipo son inestables y se pueden usar en diversas aplicaciones en la industria.
- Generalmente, se trabaja con presiones bajas que oscilan entre 0.5 – 5 bares, por lo tanto no es necesario realizar grandes inversiones.
- Las membranas, tienen una estructura y propiedades resistentes, que pueden soportar condiciones extremas y el ataque de compuestos químicos como ácidos y bases.
- El funcionamiento del equipo es automatizado
- No necesita la adición de compuestos químicos

3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

La fase experimental se realizó en la Universidad Tecnológica Equinoccial en la Planta de Piloto de Alimentos, Laboratorio de Microbiología y Química Analítica. Se analizó las propiedades Físicoquímicas y Microbiológicas de la alimentación, permeado y retenido del proceso de Microfiltración.

3.1. CARACTERIZACIÓN DEL SUERO DE LECHE

El suero de leche que se utilizó en la presente investigación procede de una empresa ubicada en el Cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha., dedicada a la producción de queso fresco, mozzarella, yogurt, mantequilla y crema de leche.

3.2. TOMA DE MUESTRA

Las muestras se recolectaron en diferentes días inmediatamente después del proceso de elaboración de queso fresco pasteurizado.

Las muestras se tomaron en envases estériles de 18 litros y posteriormente fueron colocadas en contenedores con hielo. Una vez que se obtuvo la muestra se trasladó hasta la Universidad Tecnológica Equinoccial a la Planta Piloto de Alimentos para continuar con el proceso de microfiltración.

3.3. MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL

Se utilizaron dos equipos de microfiltración tangencial de la Planta Piloto de alimentos en la Universidad Tecnológica Equinoccial, el primer equipo Escala piloto y el segundo Escala laboratorio.

El proceso de microfiltración tangencial tanto en el equipo pequeño como en el grande se realizó con suero de leche y se trabajó a una presión de 1.5 Bar con una temperatura constante.

Los parámetros que se calcularon fueron flujo de permeado (FP), Flujo transmembrana (JP) y Factor de retención volumétrica (FRV).

El equipo de microfiltración tangencial Escala laboratorio está construido en polipropileno, constituido por una membrana polimérica (fluoruro de polivinildieno hidrófilo), la cual posee una superficie de filtrado de 50 cm² y poros de 0.45 µm. La longitud de la membrana es de 18.8 cm.

El procedimiento se desarrolló de la siguiente manera:

1. Se llenó el tanque de alimentación con 500 ml de suero de leche y se alimentó continuamente durante el proceso de microfiltración
2. El tubo de salida del permeado se desconectó para permitir la salida del fluido y se colocó en el depósito de residuos
3. Posteriormente se retiró el tapón del orificio de ventilación para garantizar que la ventilación del sistema funcione correctamente.
4. El tubo de retenido permaneció conectado en el equipo para permitir la recirculación del fluido.
5. Se encendió la bomba del equipo y se ajustó la presión de trabajo a 1.5 Bar.
6. El proceso de microfiltración terminó cuando se produjo la colmatación de la membrana.

7. Cuando finalizó el proceso de microfiltración se apagó la bomba ajustando la velocidad a 0 y a continuación se retiró el fluido del tanque de alimentación a través del tubo de salida de la bomba.

Para el proceso de limpieza se realizó el mismo procedimiento de microfiltración con la variación de la velocidad de la bomba ya que se ajustó a 2 y la conexión del tubo de permeado al tanque de alimentación permitiendo la recirculación del fluido a través del sistema.

La limpieza del equipo se realizó con una solución de NaOH 0.1 N y ácido Nítrico al 1 %, durante 60 min, una vez transcurrido este tiempo se colocó agua destilada en el tanque y se retiró a través de los tubos de permeado y retenido hasta que se recuperó la permeabilidad y el pH del agua

El segundo equipo de Microfiltración tangencial escala Piloto está fabricado en acero inoxidable AISI 304, constituido por una membrana cerámica (α -alúmina) MARCA MEMBRALOX EP 1960 la cual consta de 19 canales, cada uno posee un diámetro de 6mm y poros de 0.5 μ m con una superficie de filtrado de 0.36 m². La longitud total de la membrana es de 1020 mm. La descripción del equipo se encuentra en el Anexo II.

El proceso de microfiltración tangencial se realizó con suero de leche y se trabajó a una presión de 1.5 Bar con una temperatura constante. El procedimiento de microfiltración tangencial se lista a continuación.

1. Se conectó el compresor a la válvula de entrada del aire.
2. Se introdujo la manguera de alimentación en el tanque que contenía suero de leche.
3. Se procedió a cerrar las válvulas de Retenido y salida de permeado

4. Para que pueda ingresar agua en el módulo de refrigeración se conectó la manguera de agua en la válvula del equipo y a continuación se abrió la toma de agua.
5. Se encendió el compresor y se reguló la presión del aire para que la bomba empiece a funcionar y transportar el fluido desde el tanque de alimentación hacia el interior del equipo.
6. Se cerró la válvula de salida de presión hasta que el suero comenzó a salir por la misma, esto nos indica que el equipo se encuentra lleno y no tiene presión acumulada o espacios de aire.
7. Se abrió la válvula de salida del permeado para que comience el proceso de microfiltración, el proceso termina cuando se produce la colmatación de la membrana o la alimentación se termina.
8. Para que el sistema se apague, se cerró la válvula de salida de permeado, válvula de entrada de aire y finalmente se apaga el compresor.
9. Para permitir la salida del aire del compresor y del equipo se accionó un mecanismo en la válvula de presión hasta que ya no existió presencia de aire.
10. Se abrió la válvula de salida de retenido y las demás válvulas para permitir que el fluido salga completamente del equipo.

Durante el proceso de microfiltración se tomó datos experimentales de flujo de permeado (FP), Flujo transmembrana (JP) y Factor de retención volumétrica (FRV).

El proceso de limpieza del equipo se realizó después de cada microfiltración, para ello se utilizó una solución de NaOH al 2 %, ácido nítrico (HNO₃) al 1 % y agua destilada para recuperar el pH.

Para el proceso de limpieza se sigue el mismo procedimiento de microfiltración con la diferencia que el fluido de permeado recircula por el tanque de alimentación varias veces. Este proceso se lo realizó durante 60 minutos, después de transcurrido este tiempo se recirculó agua

destilada durante 20 minutos y se realizó la medición de permeabilidad de la membrana. Con la solución ácida se realiza el mismo proceso, principalmente cuando no se recupera la permeabilidad.

Finalmente al momento que se llegó a la permeabilidad inicial se hizo el mismo procedimiento hasta que el pH del agua que recircula por el sistema se encuentra entre 6.5 y 7.

3.4. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

3.4.1. DETERMINACIÓN DE PH

Para la determinación de pH se utilizó un potenciómetro marca METTLER TOLEDO, siguiendo el Método Oficial AOAC 960.19 (2012).

3.4.2. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE

La determinación de Acidez Titulable se realizó en base a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0013 (1984) y se calculó como porcentaje de ácido láctico empleando la ecuación 6.

$$\text{Acidez (\% ácido láctico)} = 0,090 \frac{V_{\text{NaOH}} * N_{\text{NaOH}}}{m_1 - m} \times 100 \quad (6)$$

Dónde:

V_{NaOH} = Volumen de NaOH consumido en la titulación

N_{NaOH} = Normalidad del NaOH

m_1 = masa del matraz Erlenmeyer vacío
 m = masa del matraz Erlenmeyer con la leche

3.4.3. DETERMINACIÓN DE LACTOSA, PROTEÍNA, GRASA Y DENSIDAD

Se utilizó el equipo Milkoscope Julie C2 de la planta Piloto de Alimentos, para determinar el contenido de macronutrientes proteína, lactosa, agua, sólidos no grasos y la densidad de la leche expresados en porcentajes.

3.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Para las pruebas microbiológicas se analizaron los microorganismos evaluados en la Norma INEN 2594 (2011).

Las evidencias de los análisis microbiológicos realizados en el presente trabajo de investigación se presentan en el Anexo I.

3.5.1. PREPARACIÓN MEDIOS DE CULTIVO

Se utilizó 3 medios de cultivo los cuales se prepararon de acuerdo a las especificaciones en la etiqueta de cada agar y placas cromógenas Compact Dry X- SA, específicas para el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

En la Tabla 3 se indica los medios de cultivo utilizados y la cantidad requerida de cada uno.

Tabla 3. Especificaciones medios de cultivo

AGAR	Cantidad Requerida (1L de medio)	Microorganismos
TSA	40.00 g	<i>Escherichia coli</i>
Oxford	54.00 g	<i>L. monocytogenes</i> y <i>L. spp</i>
MacConkey	50.00 g	<i>Aerobios mesofilos</i>

El agar fue pesado en la balanza analítica y colocado en un frasco que contenía 1000 ml de agua destilada y se homogenizo por 5 min, posteriormente, se calentó la mezcla en la estufa por un tiempo aproximado hasta ebullición para que los componentes, se disuelvan completamente y no haya presencia de grumos. Finalmente se llevó la mezcla al autoclave a 121 ° C por 40 minutos.

El agar se dejó enfriar a una temperatura óptima, para proceder a realizar el vertido en cajas Petri, se realizó inmediatamente en la cámara de flujo laminar.

3.5.2. DILUCIONES SUCESIVAS

Se realizó diluciones sucesivas en base a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1529-2 (1999).

Se tomó 10 ml de muestra y se transfirió en un frasco con 90 ml de agua peptonada bufferada, la muestra se homogenizó agitando el frasco varias veces siendo esta la (Dilución 10^{-1}). Con la ayuda de una micropipeta se tomó una alícuota de 1 ml de dilución 10^{-1} y posteriormente se colocó en un tubo que contenía 9 ml de agua peptonada bufferada formándose

la dilución 10^{-2} , este tubo se homogenizó por 15 segundos. Finalmente para las diluciones 10^{-3} 10^{-4} y 10^{-5} se realizó el mismo procedimiento.

3.5.3. SIEMBRA EN SUPERFICIE

Se utilizó placas monopetri previamente preparadas con medio de cultivo específico para cada microorganismo.

En presencia de un mechero de Bunsen, se tomó 100 μL de cada dilución, la muestra fue colocada en la superficie de la caja Petri y con el asa de Digralski previamente esterilizada, se procedió a extender la muestra en toda la superficie de la placa siempre cerca del mechero para evitar una posterior contaminación cruzada.

Para el caso de *Staphylococcus aureus*, con la micropipeta se tomó 1000 μL de cada dilución cerca de la llama del mechero de Bunsen y se colocó en el centro de la superficie de la placa Compact Dry X-SA para su posterior incubación.

El proceso de siembra, se realizó mediante la técnica de siembra en superficie detallada en (Pascual & Calderón, 2000).

3.5.4. INCUBACIÓN

Se colocó las placas invertidas, según sus condiciones de incubación (Tabla 4).

Tabla 4. Condiciones de Incubación para microorganismos

Microorganismo	Condiciones de incubación
<i>Escherichia coli</i>	37 °C / 24 h
<i>Aerobios mesofilos</i>	37 °C / 24 h
<i>Staphylococcus aureus</i>	37 °C / 24 h
<i>L. monocytogenes</i>	37 °C / 24 h

3.5.5. Recuento total de poblaciones microbianas

Para realizar el recuento microbiano se siguió la metodología detallada por Ahmed y Carlstrom (2006). Con la ayuda de una lupa, una lámpara de luz y un lápiz marcador se contaron las colonias de cada placa.

Según (Camacho, 2009), para efectuar los cálculos de recuento total solo se consideran colonias en un rango de 30 a 300.

3.5.5.1. Recuento de aerobios mesófilos

En cuanto al recuento de aerobios mesófilos, se siguió la metodología detallada en la norma INEN 1529-5 (2006), la cual indica que el rango establecido para el recuento es de 15 a 300 colonias.

3.5.5.2. Recuento de *Escherichia coli*

El reporte de resultados para *Escherichia coli* se realizó de acuerdo a la Norma INEN 1529-5.

3.5.5.3. Recuento de *Staphylococcus aureus*

Este microorganismo, fue sembrado en placas Compact Dry X-SA, que son placas selectivas y por lo tanto las colonias presentes pertenecen a *Staphylococcus aureus*. Según la Norma INEN 1529-14 (2013) el rango establecido para el recuento es de 30 a 300 colonias.

3.5.5.4. Detección de *Listeria monocytogenes*

Se utilizó un agar selectivo para este tipo de microorganismo por lo que las colonias presentes fueron solo de *Listeria monocytogenes*.

Para el cálculo de los resultados del recuento de las poblaciones microbianas, se utilizó la ecuación 7, establecida en la norma INEN 1529-14 (2013).

$$N = \frac{\Sigma C}{V(n_1 + 0,1n_2)d} \quad (7)$$

Dónde:

N: Número de unidades formadoras de colonia por mililitro.

ΣC : Suma de todas las colonias contadas en todas las placas retenidas.

V: Volumen del inóculo aplicado a cada placa en mililitros.

n_1 : Número de placas retenidas en la primera dilución.

n_2 : Número de placas retenidas en la segunda dilución.

d: Nivel de dilución correspondiente a la primera dilución retenida.

3.5.6. TINCIÓN GRAM

En la tinción Gram, se siguió la metodología detallada en Olivas (2001), se colocó una gota de agua destilada en el porta objetos y se esterilizo un asa de metal con la ayuda de un mechero de Bunsen. Con la misma asa se tomó una colonia aislada de la caja Petri, se disolvió la colonia en una gota de agua destilada formando una emulsión y para fijar el cultivo se colocó varias veces sobre la llama del mechero de Bunsen. Una vez fijado, se procedió a colocar en el porta objetos cristal de violeta durante 1 minuto, después de este tiempo se lavó con abundante agua destilada luego, se colocó lugol por 1 minuto y se lavó con agua destilada. Para eliminar el color, se colocó alcohol cetona hasta que ya no hubo presencia de color e inmediatamente se lavó con agua destilada. Finalmente se colocó safranina por 1 min nuevamente se lavó, se secó el exceso de agua y se tapó con el cubre objetos.

En el microscopio electrónico se observó el cultivo con ayuda de una gota de aceite de inmersión.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL (MFT)

La microfiltración de suero de leche de queso fresco, realizado a 1.5 bar de presión en el equipo escala laboratorio, tuvo aproximadamente una duración de 5 horas hasta que se produjo la colmatación de la membrana. Se colocaron en el tanque de alimentación 0.903 litros, de los cuales se obtuvieron 0.399 litros de permeado y 0.500 litros de retenido.

En la Tabla 5, se observa que el Factor de Retención volumétrico en el equipo escala piloto presentó un valor mayor al que se obtuvo utilizando el equipo escala laboratorio. Los valores de FRV fueron 4.53 y 1.80 respectivamente. Esto puede ser ocasionado por varios factores como el tipo de membrana que se utilizó, debido a que en el equipo escala piloto se utilizó una membrana cerámica y en el equipo escala laboratorio una de fluoruro de polivinildieno. De acuerdo a Chacón (2006), el material de construcción de las membranas, la temperatura, la concentración del fluido y las características fisicoquímicas de las membranas influyen en la selectividad de la membrana y el rendimiento del proceso. Las membranas poliméricas, por su estructura poseen estabilidad térmica y química además de una alta capacidad de adsorción razón por la cual en estas membranas la compactación de las moléculas en la superficie tiende a ser más rápida (Benítez et al. 2006; Guastalli, 2006), a comparación de las membranas cerámicas que presentan mayor estabilidad térmica y química que las poliméricas y soportan muy bien la compactación.

Otro factor que influye en el proceso de microfiltración es el tamaño de poro que poseen las membranas. El tamaño de poro en el equipo escala laboratorio es de 0,45 μm y en el equipo escala piloto es 0.5 μm . Aspelund

et al. (2010), determinó que al utilizar membranas con un tamaño de poro más grande se obtiene mayores rendimientos en el proceso debido a que la acumulación de partículas en la superficie de la membrana se produce en mayor tiempo.

Tabla 5. Factores del Proceso de Microfiltración Tangencial

Factor	Escala Piloto (0.5 µm)	Escala Laboratorio (0.45 µm)
Presión de entrada (bar)	1.5	1.5
Presión de permeado (bar)	0	0
Volumen de Alimentación (l)	17	0.903
Volumen de Retenido (l)	3	0.500
Volumen de Permeado (l)	13.25	0.399
Factor de Retención Volumétrico	4.53	1.80
Duración del proceso (min)	16	290

En la Figura 4, se observa el flujo transmembrana durante la microfiltración en el equipo a escala laboratorio, se determinó que el flujo transmembrana (JP) máximo fue de 35.40 l/h.m² al iniciar el proceso de microfiltración y fue disminuyendo hasta 12 l/h.m², a los 290 minutos, el descenso del flujo de permeado fue mayor con el transcurso del tiempo. Se consideró que a los 290 minutos se llegó a la colmatación de la membrana.

Este mismo fenómeno se presenta en el estudio realizado por Gallego (2011), indica que el flujo de permeado se ve afectado por una serie de

factores como es la polarización de la concentración y el ensuciamiento o colmatación de la membrana.

Según Guastalli (2006), el fenómeno de polarización se produce cuando la concentración de los componentes se eleva demasiado alcanzando su límite de solubilidad, provocando la acumulación de dichos compuestos cerca de la superficie de la membrana, lo cual disminuye el flujo de permeado. La adsorción de componentes como proteínas, grasa y otras partículas, es otro factor que influye sobre el comportamiento de la membrana, debido a que ocasionan el estrechamiento del poro, provocando la disminución del flujo hasta la colmatación. Los datos obtenidos se muestran en el (Anexo-3_ A-3 Tabla 1)

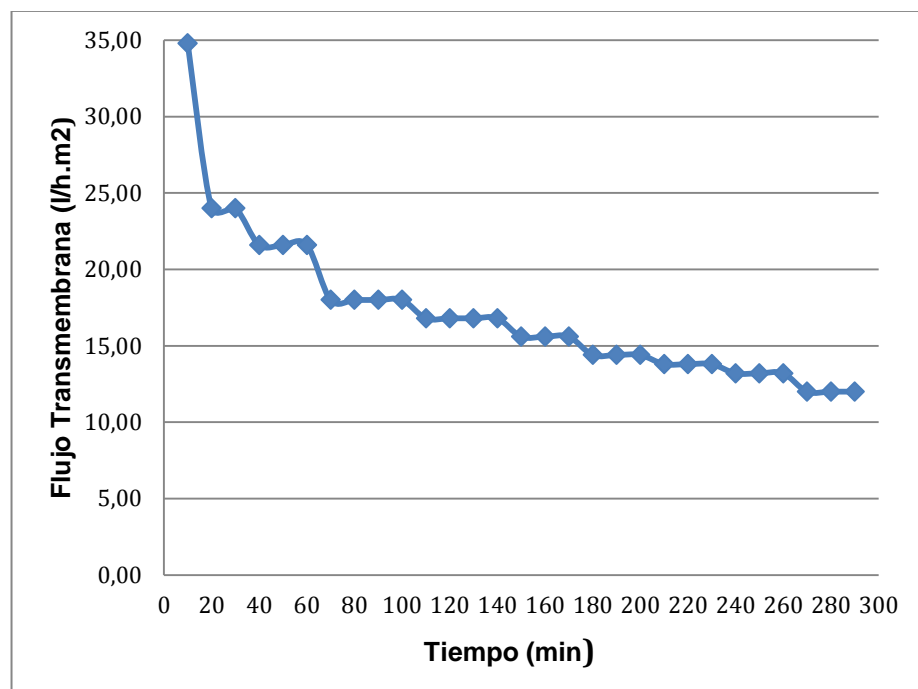


Figura 4. Flujo transmembrana (1.5 bar, equipo escala laboratorio)

En la Figura 5, se presenta la curva del flujo transmembrana (JP) con respecto al tiempo, utilizando el equipo de microfiltración escala piloto, el

flujo transmembrana (JP) máximo fue de 115.2 l/h.m² que corresponde al inicio del proceso y fue disminuyendo hasta 89.74 l/h.m², a los 16 minutos, tiempo en el que alimentación se terminó y por tanto se finalizó el proceso. Para la microfiltración, escala piloto, se tuvo una alimentación de 17 litros, con un volumen de permeado de 13.25 y 3 litros de retenido (Anexo 3_ A-3 Tabla 2).

El comportamiento del flujo transmembrana en la microfiltración del suero es similar al observado en la microfiltración de vino de mora realizada por Arellano (2013), que registró una disminución del flujo transmembrana de 39.44 l/h.m² a 5.18 l/h.m² en 26 minutos. En jugo de Piña Carneiro et al. (2002), obtuvo un descenso del flujo transmembrana de 232 l/h.m² hasta 100 l/h.m² en 15 minutos.

El mismo comportamiento se presenta en la microfiltración tangencial de jugo clarificado de granadilla reportado por Brito et al. (2010), en el cual se obtuvo un flujo transmembrana máximo de 245 l/h.m² y fue disminuyendo hasta 47 l/h.m² en 90 minutos.

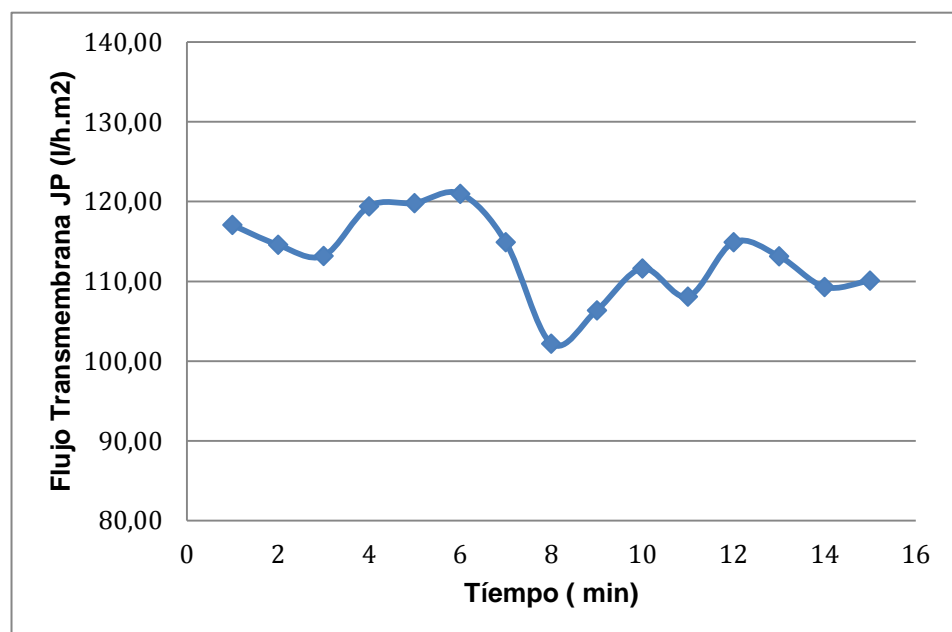


Figura 5. Flujo transmembrana (1.5 bar, equipo escala piloto)

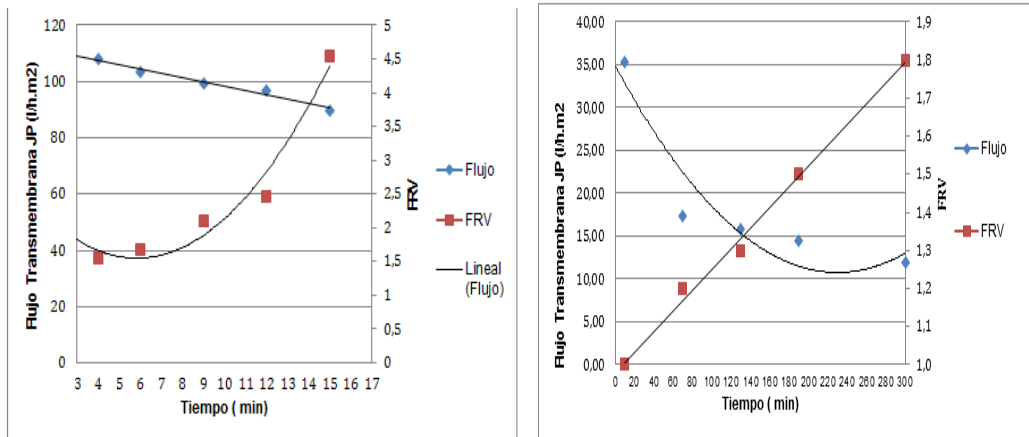
En la Figura 6, se observa la variación del flujo transmembrana (JP) y del factor de retención volumétrico (FRV) en el equipo escala piloto y laboratorio, como se observa, el equipo escala piloto presentó valores superiores a los que se obtuvo utilizando el equipo escala laboratorio con un flujo transmembrana inicial de 115.2 l/h.m^2 hasta 89.74 l/h.m^2 en 16 minutos con un factor de retención volumétrico de 4.53 (Anexo 3_ A-3 Tabla 3), mientras que, para el equipo escala laboratorio, se presentaron valores de 24.0 y 12.0 l/h.m^2 en donde el flujo transmembrana al inicio del proceso fue de 35.40 l/h.m^2 hasta 12 l/h.m^2 en un tiempo de 5 horas, con un factor de retención volumétrico de 1.80 los datos obtenidos se muestran en el (Anexo 3_ A-3 Tabla 4).

Como se aprecia en el equipo escala piloto los descensos del flujo transmembrana son menores que los que presenta el equipo escala laboratorio y no se presentó colmatación de la membrana debido a que el proceso finalizó cuando se terminó la alimentación a diferencia del equipo escala laboratorio en el cual si se presentó la colmatación de la membrana al final del proceso.

El comportamiento del flujo transmembrana, con respecto al tiempo obtenido en las dos curvas del proceso, es similar a lo establecido por Debon et al. (2012) ,que confirman que a medida que transcurre el tiempo del proceso se observa una caída constante, hasta su estabilización, provocada por la obstrucción de los poros en el interior de la membrana conocido como colmatación. Además se puede observar el comportamiento del FRV en el equipo escala piloto y laboratorio; mientras el flujo transmembrana disminuye el FRV aumenta.

Laverde (2010); Arellano (2013), indican que mientras el flujo transmembrana disminuye progresivamente con el tiempo los valores de FRV aumentan; por lo tanto el factor FRV presenta una relación

inversamente proporcional al flujo transmembrana, mientras menos volumen de retenido mayor va a ser el FRV.



a)

b)

Figura 6. Comparación del flujo transmembrana y del factor de retención volumétrico (FRV) a) equipo escala piloto b) equipo escala laboratorio

El Factor de Retención volumétrico en el equipo escala piloto presentó un valor de 4.53 mayor al que se obtuvo utilizando el equipo escala laboratorio que fue de 1.80, esto puede ser ocasionado por varios factores como el tamaño de poro de la membrana, el tipo de membrana y la escala del equipo. En un estudio realizado por Sáenz (2010), se registró un comportamiento similar acerca del cambio de escala de un equipo escala piloto a un equipo escala industrial, en el cual se obtuvo un rendimiento de 208 litros mayor al de operación en el equipo escala piloto, este comportamiento se debe a la influencia de varios factores el tipo de membrana, el tamaño de poro y el material de construcción del equipo. Según González (2000), la similitud estricta de las condiciones de operación en equipos de diferente escala son casi imposibles pero si puedan presentar similitudes en su proceso y funcionamiento. El equipo escala piloto y laboratorio cumplen la misma función de recuperar y purificar fluidos y sus condiciones de operación son similares, pero

presentan diferencias. En el equipo escala piloto se obtienen mayores rendimientos, la velocidad de reacción es mayor, optimiza la materia prima y reduce los costos de producción, pero puede presentar algunos problemas asociados con los sistemas de enfriamiento y calentamiento, se usan materiales metálicos para su construcción los cuales pueden ocasionar problemas de contaminación, a comparación del equipo escala laboratorio que Según Páez (2011) al utilizar un equipo escala laboratorio es posible replicar las mismas condiciones que existen a escala piloto, los parámetros pueden ser evaluados con mayor rapidez y generalmente se utilizan materiales de vidrio para evitar contaminación, las desventajas de utilizar equipos escala laboratorio radica en el menor rendimiento que se obtiene del proceso, volúmenes de permeado bajos y el tiempo del proceso es largo.

Otro factor que puede influir en el comportamiento del FRV es el tamaño de poro que presentan las membranas, debido a que el tamaño de poro en el equipo escala piloto es de $0,5 \mu\text{m}$ mayor al equipo escala piloto que es de $0.45 \mu\text{m}$. Fernández (2015), afirma que el tamaño de poro de la membrana influye en el proceso de microfiltración tangencial, como también el tamaño de las moléculas de los fluidos que pueden ser mayor a los poros de la membrana. Sin embargo, este fenómeno puede ser ocasionado por diversos factores, de acuerdo al tipo y composición de fluido.

En relación a lo anterior, Arias & Espinel (2006), expresan que existen varios factores que afectan el flujo de permeado en el proceso de microfiltración, entre ellos, el contenido de partículas presentes en el fluido a ser filtrado; como es el caso de la leche, donde el contenido de grasa y la concentración de proteína, influyen directamente en el proceso, debido a que origina en menor tiempo la formación de la torta, evitando así, el paso del fluido por los poros de la membrana.

4.2. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

En la Tabla 6, se presentan los resultados de la caracterización físicoquímica de las corrientes obtenidas del proceso de microfiltración tangencial del suero de leche. El valor de pH es semejante en las corrientes de alimentación, permeado y retenido, tanto en el equipo escala laboratorio y piloto. Este comportamiento puede deberse a que los compuestos donadores de protones del suero de leche atravesaron la membrana por tener un tamaño menor que el tamaño de poro de la membrana distribuyéndose entre las diferentes corrientes. Vaillant et al. (1999), afirman que los valores de pH no se alteran cuando se realiza la microfiltración tangencial en membranas con un diámetro de poro de 0.2 μm ; debido a que los azúcares, vitaminas, ácidos, y otro tipo de compuestos, pueden atravesar fácilmente la membrana, razón por la cual los valores de pH en las diferentes corrientes son similares.

Se reportó un comportamiento semejante en el estudio realizado por Brito et al. (2010) sobre la microfiltración de jugo de granadilla, en el cual las fracciones obtenidas de alimentación, permeado y retenido no presentaron cambios de pH.

El pH de las corrientes de alimentación en el equipo escala piloto y laboratorio fueron 6.6 y 6.7 respectivamente, estos valores fueron comparados con la Norma INEN 2594 (2011); para suero de leche dulce; que exige un valor de mínimo de pH 6.8 y máximo 6.4, es decir que estos valores cumplen con los parámetros establecidos en la Norma.

Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas obtenidas del proceso de microfiltración equipo escala laboratorio y escala piloto

Equipo		Alimentación	Retenido	Permeado
Escala laboratorio	pH	6.6 ± 0.08	6,4 ± 0.004	6,6 ± 0.008
	Acidez % (Ácido láctico)	0.08 ± 0.003	0.06 ± 0.005	0.08 ± 0.003
	Grasa % (m/m)	0.21 ± 0.02	0.68 ± 0.04	0.0 ± 0.00
	SNF	6.08 ± 0.22	5.97 ± 0.07	5.45 ± 0.05
	Densidad (g/ml)	0.83 ± 0.89	0.80 ± 0.35	0.74 ± 0.13
	Proteína % (m/m)	2.24 ± 0.08	2.20 ± 0.03	2.00 ± 0.02
	Lactosa % (m/m)	3.20 ± 0.12	3.14 ± 0.04	2.86 ± 0.03
	Agua	32.5 ± 1.97	34.08 ± 0.76	40.65 ± 0.66
Escala Piloto	pH	6.7 ± 0.01	6.1 ± 0.18	6.1 ± 0.26
	Acidez % (Ácido láctico)	0.11 ± 0.003	0.27 ± 0.02	0.14 ± 0.03
	Grasa % (m/m)	0.24 ± 0.01	1.22 ± 0.02	0.0 ± 0.00
	SNF	5.72 ± 0.09	5.71 ± 0.13	5.41 ± 0.38
	Densidad (g/ml)	0.78 ± 0.34	0.93 ± 0.15	0.80 ± 2.37
	Proteína % (m/m)	2.49 ± 0.47	2.91 ± 0.37	2.23 ± 0.38
	Lactosa % (m/m)	2.98 ± 0.62	3.02 ± 0.14	2.84 ± 0.41
	Agua	36.38 ± 3.23	37.0 ± 1.34	42.78 ± 0.91

n=6; ± Desviación estándar

Los valores de acidez (Tabla 6.) de la corriente de alimentación en el equipo escala laboratorio y piloto fueron de 0.08 % y 0.11 % respectivamente, estos valores se encuentran dentro de los parámetros establecidos en la Norma INEN 2594: (2011), la cual establece que el límite máximo de Acidez es 0.16 % para suero de leche dulce.

Se puede observar que los valores de acidez en la alimentación, retenido y permeado son semejantes, este comportamiento puede deberse a que las moléculas de ácidos orgánicos presentaron menor tamaño que el poro de la membrana, razón por la cual logran pasar a través de ella. De acuerdo a Parra (2009), los ácidos orgánicos principalmente el ácido

láctico se encuentran presentes en el suero de leche y son los responsables de la fermentación láctica. García et al. (2015), indican que los ácidos orgánicos y azúcares responsables de este fenómeno son moléculas que presentan un tamaño inferior al poro de la membrana por lo que pueden atravesarla con mayor facilidad.

El valor de acidez es mayor en el retenido tanto en el equipo escala piloto y laboratorio lo que significa que existió mayor concentración de ácidos, debido a que el tamaño de algunos ácidos orgánicos y azúcares fueron mayores y quedaron retenidos en la membrana. Brito et al. (2010), afirma que una elevada concentración de macromoléculas que son retenidas y no logran atravesar la membrana producen una capa impermeable en la superficie de la membrana ocasionando la polarización de la misma y la alteración de las características fisicoquímicas del fluido.

Se observa que el porcentaje de grasa en el permeado tanto para el equipo escala laboratorio y piloto presenta un valor de 0 % (Tabla 6). Los valores obtenidos, son similares a los reportados por Camacho (2009), el cual obtuvo un permeado con 0 % de grasa y establece que los glóbulos de grasa presentan un tamaño mayor al poro de la membrana, razón por la cual no logran atravesarla.

El porcentaje de grasa en la corriente de alimentación tanto en el equipo escala piloto y laboratorio cumple con los parámetros establecidos en la Norma INEN 2594 (2011) para suero de leche dulce; que establece un valor máximo de Grasa láctea 0.3 %.

En cuanto al valor de grasa en la corriente de retenido en el equipo escala piloto es 5 veces mayor a la alimentación a diferencia del equipo escala laboratorio que es 3 veces mayor, este comportamiento se relaciona con el Factor de retención Volumétrico ya que mientras más alto sea el valor de FRV mayor será el rendimiento del proceso. Otro factor importante en el contenido de grasa es el tamaño que poseen las

moléculas, las cuales son mayores al poro de la membrana quedando mayormente concentradas en el retenido. Cheryan (1998), señala que membranas con un tamaño de poro que oscila entre 5 y 10 μm son capaces de retener moléculas globulares, ya que tienen menor posibilidad de pasar que las moléculas lineares.

Según Camacho (2009), la grasa es una macromolécula de tipo hidrofóbico que puede ocasionar más problemas que otras partículas debido a que crea en las membranas un mayor taponamiento por su capacidad de adhesión y atrapamiento en los poros. Motta-correa & Mosquera (2015), recomienda que la grasa procedente del suero de leche, debe ser eliminada debido a que es uno de los factores de saturación, que ocasionan la pérdida gradual de flujo de permeado, durante el proceso con membranas; razón por la cual se debe utilizar el proceso de microfiltración para retener estas partículas.

Al comparar los valores de proteína (Tabla 6) de la corriente de alimentación del equipo escala laboratorio y piloto con la Norma INEN 2594: (2011) para suero de leche dulce; se determina que estos valores se encuentran dentro de los parámetros establecidos en la Norma.

Los valores de proteína en la corriente de alimentación, permeado y retenido en el equipo escala laboratorio y piloto son similares, esto se debe a que la proteínas atravesaron fácilmente las membranas, debido a que el tamaño molecular fue menor al poro de la membrana. Camacho (2009), sostiene que al utilizar membranas con un tamaño de poro, más grande se obtiene mayores concentrados de proteínas. Las membranas que poseen un tamaño de poro entre 0.14 μm y 0.20 aseguran el paso de la mayoría de proteínas del suero (Astudillo, 2010).

Según Fernández (2015), las partículas de proteína del suero poseen un diámetro entre 3-6 nm razón por la cual se explica que dichas proteínas hayan podido pasar a través de los poros de la membrana. La

conformación y la forma que presentan las macromoléculas son afectadas por la temperatura y la fuerza iónica, debido al peso molecular de las proteínas cambia frente a las membranas.

La adsorción y la interacción proteína-proteína pueden ocasionar la obstrucción de los poros de la membrana lo cual conlleva a la posterior polarización y colmatación de la misma debido al rechazo que tienen las partículas para atravesar la membrana (Chacón, 2006).

En la Tabla 6, los valores de lactosa son similares para las corrientes de la alimentación, permeado y retenido de los dos equipos, que este comportamiento se debe a que en los procesos de microfiltración no se concentra la lactosa y por lo tanto las partículas lograron atravesar fácilmente las membranas distribuyéndose en las diferentes corrientes. Según Romero (2010), los procesos de tecnología de membranas poseen un mecanismo de selectividad que está ligado al tamaño molecular de las partículas que desean eliminar o retener del suero, la ultrafiltración es el proceso ideal para concentrar lactosa y proteína, debido a que utiliza membranas con un diámetro de poro entre 5 a 100 nm. Vera et al. (2013), menciona que la lactosa es el componente mayoritario del suero de leche ya que es un azúcar relativamente insoluble, que se halla libre en suspensión y que contiene dos isómeros de lactosa la β -lactosa y la α -lactosa.

En cuanto a la alimentación en el equipo escala piloto y laboratorio, los valores de contenido de lactosa cumplen con los parámetros establecidos, en la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2594 (2011), la cual establece que el límite máximo de % Lactosa es 5.0; es decir la alimentación, el permeado y el retenido se encuentran bajo condiciones ideales para ser utilizados.

En el caso de la densidad (Tabla 6), se puede observar que fue mayor en la corriente de alimentación y retenido tanto en el equipo escala piloto y laboratorio, este fenómeno está relacionado con el porcentaje de grasa que presenta cada una de las corrientes. Paredes et al. (2014), en su estudio acerca de las características fisicoquímicas del suero de leche, menciona que existe una relación directa entre la densidad y el contenido de grasa; es decir a mayor contenido de grasa mayor densidad.

La densidad en el permeado fue menor tanto en el equipo escala laboratorio y piloto esto se debe a que la mayor parte de glóbulos de grasa fue retenido y solo paso una mínima fracción. Se reportó un comportamiento semejante en el estudio realizado por Arias & Espinel (2006), los cuales reportaron que la densidad obtenida en la corriente de permeado fue menor y no tuvo mucha variación debido a que el coeficiente de retención de la grasa fue del 100% y los componentes que lograron pasar son mínimos o iguales a cero. .

4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

En el recuento, de aerobios mesófilos para la corriente de alimentación utilizada en el equipo escala piloto y laboratorio (Tabla 7) , presenta un valor de 5.88 log UFC/ml y 5.19 log UFC/ml respectivamente (Anexo 3_ A-3 Tabla 5), se puede observar que los valores obtenidos, presentan diferencias significativas y no cumplen con los parámetros establecidos en la Norma INEN 2594 (2011), para suero de leche, el cual establece un valor máximo de 5.00 log UFC/ g para aerobios mesófilos. Según Moreno et al. (2007), la calidad de la leche, puede ser alterada durante el ordeño por diversas fuentes de contaminación debido a las malas prácticas de manipulación, por parte del operador y las infecciones, en la ubre de la vaca que son uno de los principales factores que transfieren un gran número de microorganismos a la leche.

Tabla 7. Análisis microbiológicos equipo escala piloto y escala laboratorio

Microorganismo	Alimentación		Retenido		Permeado
	Equipo escala piloto	Escala laboratorio	Escala piloto	Escala laboratorio	Escala piloto y laboratorio
	Log UFC/ml		Log UFC/ml		Log UFC/ml
Aerobios mesófilos	5,88±0,10b	5,19±0,08d	5,85±0,06c	6,37±0,10a	Ausencia
<i>Escherichia Coli</i>	6,18±0,08a	5,66±0,14c	6,10±0,01b	6,31±0,02a	Ausencia
Staphylococcus aureus	5,59±0,08c	5,15±0,11d	5,56±0,08d	5,83±0,11c	Ausencia
Listeria monocytogenes	6,15±0,06a	6,29±0,04a	6,11±0,02b	5,61±0,08d	Ausencia

n=3; ± Desviación estándar

Letras diferentes entre tratamientos indican diferencias significativas (P<0.05)

Los valores obtenidos en la corriente de alimentación para *Escherichia coli* (Tabla 7) no cumplen con los parámetros de la Norma INEN 2594 (2011), para suero de leche dulce que establece un valor mínimo de 1.0 log UFC/ml para *E. coli*.

En cuanto a la corriente de alimentación en el equipo escala piloto y laboratorio se obtuvo un valor de 6.18 log UFC/ml y 5.66 log UFC/ml respectivamente presentando diferencias estadísticamente significativas (Anexo 3_ A-3 Tabla 5), sin embargo se puede observar que el incremento de la población, es mayor en el equipo escala piloto, esto puede darse debido a la inadecuada manipulación de la materia prima provocando contaminación cruzada además de la manipulación

inadecuada por parte de los operadores al momento del procesamiento y la falta de higiene en los equipos (Bidón) .

Calderón et al. (2006); Batista, (2011), establecen que la existencia de *Escherichia coli*, es un indicador de contaminación fecal, debido a que se presenta en las heces de los animales y aguas residuales, estos microorganismos pueden ser transferidos a la leche, a través de los manipuladores y el incorrecto ordeño del animal. La falta de higiene que existe por parte de los manipuladores, así como las instalaciones, utensilios y el inadecuado almacenamiento. El crecimiento de *Staphylococcus aureus*, presentó diferencias significativas en la alimentación, tanto para el equipo escala piloto como de laboratorio (Tabla 7), con valores de 5.59 log UFC/ml y 5.15 log UFC/ml respectivamente; sin embargo se puede observar que existió variación de la población en el equipo escala piloto, ya que presenta un mayor crecimiento (Anexo 3_ A-3 Tabla 5).

La Norma INEN 2594 (2011), indica que el valor mínimo para *Staphylococcus aureus* son valores menores a 2.0 log UFC/ml y el valor máximo 2.0 log UFC/ml, lo que indica que estos valores no cumplen con lo establecido, y por lo tanto el suero de leche, no podría ser utilizado para el procesamiento de queso. En el estudio realizado por Batista (2011), acerca de la caracterización fisicoquímica y microbiológica del suero costeño, se obtuvieron valores entre 2.60 y 2.95 log UFC/ml lo que indica que estos valores de recuento, son altos pues establece valores mayores a 2.0 log UFC/ml, razón por la cual, se puede decir que el suero de leche procedente de los diferentes tipos de quesos, contienen una elevada carga microbiana.

Según Chams et al. (2012); Signorini, et al. (2008), la presencia de *Staphylococcus aureus*, puede ser consecuencia de malas prácticas higiénicas, en las diferentes etapas del proceso por parte de los manipuladores. Los seres humanos son el principal transmisor de este

microrganismo, a partir de las manos, fosas nasales y boca que son la fuente de contaminación. *Staphylococcus aureus*, es el principal causante de las infecciones en la ubre de la vaca, ocasionando la contaminación de la leche; y cuando no hay un correcto tratamiento de pasteurización, la carga microbiana no desaparece y la toxina se vuelve termorresistente, provocando enfermedades e intoxicaciones alimentarias en humanos.

El análisis estadístico para *Listeria monocytogenes*, en la corriente de alimentación no presentó diferencias significativas entre los equipos con valores de 6.15 log UFC/ml y 6.29 log UFC/ml respectivamente (Anexo 3_ A-3 Tabla 5).

La Norma INEN para suero de leche líquido, indica que no debe existir presencia de *Listeria monocytogenes*, los datos obtenidos en la Tabla 7 no cumplen con la norma, debido a que existe crecimiento de *Listeria*. Lo cual podría deberse, a que muchas veces el queso es elaborado con leche cruda infectada durante el proceso de ordeño. Acorde a Baquero et al. (2006); Muñoz et al. (2011), las cepas de *Listeria monocytogenes*, son capaces de desarrollarse en leche y derivados lácteos que poseen, un alto contenido de grasa principalmente en quesos frescos, debido a su composición, pH y constante humedad.

La presencia de *Listeria monocytogenes*, se da por inadecuadas prácticas de manufactura, deficiencias en la conservación, e inadecuado sistema de refrigeración, durante la elaboración de queso, debido a que este microorganismo, resiste temperaturas de 9 a 31 °C, y su presencia en alimentos puede provocar listeriosis, en los seres humanos siendo este uno de los patógenos de alta mortalidad, en la población (Baquero et al. 2006; Muñoz et al. 2011).

En la Tabla 7, los resultados microbiológicos para aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria Monocytogenes* del equipo escala laboratorio para la corriente de retenido, presentaron diferencias estadísticamente significativas (Anexo 3_ A-3 Tabla 5) con el equipo escala piloto. Esto se debe a que todos los microorganismos del suero de alimentación, fueron retenidos provocando la existencia de una elevada carga microbiana; otro factor es el tiempo al que estuvo expuesto el suero al medio ambiente antes y durante el proceso de microfiltración.

En la corriente de permeado (Tabla 7), se puede observar, que no existió presencia de microorganismos, tanto en el equipo escala piloto y laboratorio. De acuerdo a Brito (2010), la microfiltración retiene microorganismos cuyo diámetro, es mayor al poro de la membrana razón por la cual se explica que dichos microorganismos no pudieran atravesar la misma; la microfiltración, actúa como un proceso de pasteurización en frío, que permite obtener un permeado estéril libre de contaminantes.

4.4. TINCIÓN GRAM



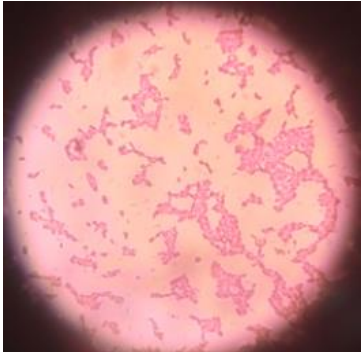
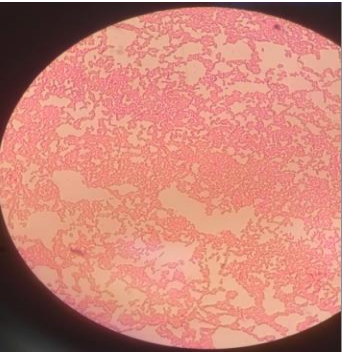
En la Tabla 8, se puede observar el crecimiento de aerobios mesófilos en la placa. En la coloración Gram presentaron un color rosa y forma bacilar, lo cual indica que son bacterias Gram negativas; corroborando que el crecimiento fue de aerobios mesófilos.

En el agar TSA se observa el crecimiento de colonias de color blanco que según Rojas (2011), pueden tratarse de *E coli*. En la tinción Gram se observa una morfología bacilar y una tinción Gram negativa, lo que indica que el crecimiento fue de *E. coli*.

Para *Staphylococcus aureus*, se observa el crecimiento de colonias blancas en el medio selectivo utilizado; mientras que para tinción Gram presentaron una coloración azul y violeta correspondiente a bacterias Gram positivas con forma de cocos. Con esto se corrobora la presencia de estos microorganismos.


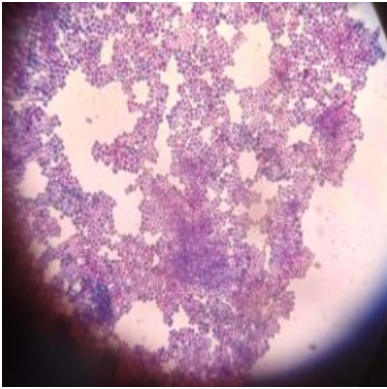
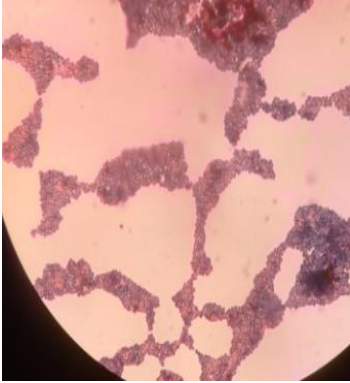
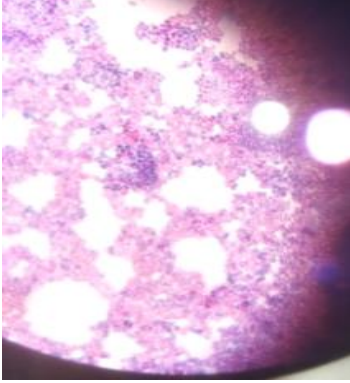
Al analizar la Tabla 8, se observa que existe presencia de *Lysteria monocytogenes*, debido a la coloración de colonias, verdosas brillantes, mientras que el color de la tinción Gram de las diferentes muestras, indican un color violeta

Tabla 8. Tinción Gram Bacterias Gram positivas y Gram negativas

Aerobios mesófilos	
Tinción Gram	
Alimentación	Retenido
	
<i>Escherichia coli</i>	
Alimentación	Retenido
	

Continuación....

Continuación....

<i>Staphylococcus aureus</i>	
<p>Alimentación</p> 	<p>Retenido</p> 
<i>Listeria monocytogenes</i>	
<p>Alimentación</p> 	<p>Retenido</p> 

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- En la caracterización inicial de lactosuero, utilizado en el equipo escala piloto y escala laboratorio, se determinó que los valores obtenidos cumplen con los parámetros establecidos en la norma INEN 2594 (2011) para los parámetros de calidad: porcentaje de Lactosa, máximo permitido de 5.0 %, para proteína mínimo 0.8 %, para grasa láctea un máximo de 0.3 %, para acidez titulable, un máximo permitido de 0.16 % y el pH mínimo de 6.8.
- En el análisis microbiológico de suero de queso fresco, se determinó crecimiento bacteriano alto para Aerobios mesófilos. *Escherichia Coli*, *S. aureus* y *Listeria monocytogenes*, superando los valores máximos establecidos en la Norma INEN 2594 (2011), es decir que el suero de queso fresco, no puede ser utilizado para un posterior proceso.
- El experimento realizado en el equipo escala piloto a 1.5 Bar de presión, alcanzó un flujo transmembrana de 115.2 l/h.m², en un tiempo de 16 min, mayor al flujo transmembrana obtenido en el equipo escala laboratorio que fue de 35.40 l/h.m² en un tiempo de 5 horas, esto sugiere que la microfiltración en el equipo escala piloto es mejor debido a que el rendimiento del proceso fue mayor ya que presento un factor de retención volumétrico de 4.53 a diferencia del equipo escala laboratorio que fue de 1.80.
- Con respecto a las características fisicoquímicas en el equipo escala piloto y laboratorio se determinó que en el permeado no existió presencia de grasa debido a que los glóbulos de grasa fueron

- retenidos y no lograron atravesar las membranas, mientras que las partículas de proteína y lactosa atravesaron fácilmente las membranas por presentar un diámetro menor al poro de la membrana y se distribuyeron en las corrientes de retenido y permeado , el pH en las corrientes de alimentación permeado y retenido fueron similares y no presentaron diferencias significativas.
- Los valores de acidez obtenidos en el equipo escala piloto y laboratorio fueron similares a diferencia de la corriente de retenido que fue mayor en el equipo escala piloto, la densidad en la corriente de permeado en los dos equipos fue menor debido a que la densidad está directamente relacionada con el porcentaje de grasa.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios, para comprobar si el retenido obtenido del proceso de microfiltración tangencial, puede ser reutilizado, para la elaboración de otro tipo de productos.
- Estudiar la obtención de nuevos productos bajos en calorías con el permeado del suero de leche microfiltrado, debido a su inocuidad y la ausencia de grasa.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

Ahmed, Y., & Carlstrom. (2006). *Microbiología de los Alimentos, Manual de Laboratorio*. Editorial Acribia.

Álvarez, B. (2012). *Caracterización de Cepas de Escherichia coli de importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de la Habana*. Cuba: Universidad de la Habana.

Antuña, S., Celeguin, A., & Rubiolo, A. (2009). *Estudio de la desnaturalización térmica y agregación de las proteínas de suero por calorimetría diferencial de barrido*. *Revista FABICIB*, 13,89-95

Arellano, S. (2013). *Efectos de la microfiltración tangencial en el color del vino de mora de castilla*. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial.

Arias, M., & Espinel, A. (2006). *Evaluación de la utilización de la microfiltración tangencial para la fabricación de queso y aprovechamiento del lactosuero*. Quito: Escuela Politécnica Nacional

Aspelund, M., & Glatz, C., (2010). *Clarification of aqueous corn extracts by tangential flow microfiltration*. *Journal of Membrane Science*, 365, 123-129.

Astudillo, C. (2010). *Estudio de microfiltración de leche con membranas cerámicas para la obtención de concentrados de caseínas y proteínas del suero*. Valparaíso.

Badilla, M. (2005). *Caracterización de compuestos volátiles en jugos pulposos y clarificados de frutas de exportación*. Costa Rica: San José

Baquero, D., Bernal, A., & Campuzano, S. (2006). *Determinación de Listeria monocytogenes en quesos blancos artesanales expendidos en la plaza de mercado de Caqueza, Cundinamarca*. *NOVA*, 4(6), 80-83.

Batista, K. (2011). *Evaluación y Caracterización Físicoquímica y Microbiológica del suero costeño elaborado en el municipio de Turbaco, Arjona y el Carmen de Bolívar*. Cartagena : Universidad de Cartagena.

Benitez, F., Acero, J., Leal, A. (2006). *Application of microfiltration and ultrafiltration processes to cork processing wastewaters and assessment of the membrane fouling*. *Separation and Purification Technology*, 50, 354-364.

Binetti, A., Bailo, N., & Reinheimer, J. (2004). *Aplicaciones de la microfiltración en la industria láctea*. *Alimentaria*, 10.

Brito, B., Picho, L., Vera, E., & Vaillant, F. (2010). *Estudio de las condiciones óptimas de operación para la obtención de jugo clarificado de granadilla (Passiflora Ligularis L.) a través de la microfiltración tangencial*. *Revista Tecnológica ESPOL*, 23 (2) ,49-55.

Calderon , A., Garcia, F., & Martinez, G. (2006). *Indicadores de Calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia*. *MVZ Cordoba*, 11(1), 725-737.

Calvo, G., Mora, J., & Quesada, J. (2010). *Aplicación de la tecnología de membranas en el tratamiento, de algunos residuos líquidos altamente peligrosos*. *Tecnología en Marcha*, 23(1), 94-106.

Camacho, M. E. (2009). *Obtención de un concentrado proteico del suero de la leche de vaca, utilizando tecnología de membranas*. Quito: Escuela Politécnica Nacional.

Carneiro, L., Sa, I., Gomes, F., Matta, V., & Cabral, L. (2002). *Cold sterilization and clarification of pineapple juice by tangential microfiltration*. *Revista Desalination*, 148, 93-98.

Coronel Feijó, M. (2012). *Microfiltración Tangencial*. *Revista EnfoqUTE*, 3,1-7.

Chacón, A. (2006). *Tecnología de membranas en la Agroindustria Láctea. Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 243-264.

Chams, L., Cury, K., & Aguas, Y. (2012). *Evaluación microbiológica de suero costeño y valoración higiénica en puntos de venta en montería, córdoba. Revista Colombiana cienc*, 4(2), 344-352.

Cheryan, M. (1998). *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*. Pensylnavia. Editorial Technomic, pp. 349-366.

Debon, J., Prudencio, E., Cunha, J., Fritzen, C., Muller, C., Castanho, R., & Werneck, C. (2012). *Storage stability of prebiotic fermented milk obtain from permeate resulting of the microfiltration process. Revista Elseiver*, 47, 96 -102.

De la casa, E.J., 2006. *Estudio de las interacciones Proteína- Membrana en los procesos de Filtración tangencial*. Granada-España: Universidad de Granada.

Elika. (2013). *Staphylococcus aureus*. España. Recuperado el 27 de Diciembre del 2016 de: http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf

Fernández, C. (2015). *Microfiltración tangencial de leche descremada de vaca*. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial.

Gallego, H. (2011). *Factores que influyen en la colmatación de membranas de microfiltración tangencial y representación matemática. Revista ReCiTeIA*, 11 (1).

García, T., Torres, A., Molina, J., & Martínez, J. (2015). *Evaluación del pretratamiento enzimático en el proceso de filtración de jugo de mango Bocado. Revista de la Facultad de Ingeniería U.V.C*, 30(1), 27-36.

González, R. (2000). *Principios básicos del escalado*. Matanzas: Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos.

Guastalli, A. (2006). *Estudio sobre la aplicación de la tecnología de membranas, para la recuperación de ácido fosfórico de las aguas de lavado en el proceso de Anodizado de aluminio*. España: Universidad de Barcelona.

Hernández, A., Tejerina, F., Arribas, J., & Martínez, L. (1990). *Microfiltración, ultrafiltración y osmosis inversa*. Murcia: Secretariado de publicaciones.

Hernández, M., & Vélez, J. (2014). *Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales*. *Temas Selectos de Ingeniería de alimentos*, 8(2), 13-22.

Lanchipa, L., & Sosa, Y. (2003). *Evaluación de la carga microbiana patógena en la elaboración del queso fresco en el distrito de Tacna*. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Perú. Recuperado el 27 de Diciembre de 2016 de:

<http://www.unjbg.edu.pe/coin2/pdf/01040700503.pdf>

Laverde, J. (2010). *Estudio de la condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá (Eugenia Stipitata) mediante proceso enzimático y membranario*. Quito: Escuela Politécnica Nacional.

León, G., & Rosero, E. (2009). *Obtención de jugo clarificado de uvilla (Physalis Peruviana. L.) utilizando degradación enzimática y microfiltración tangencial*. Quito: Universidad Técnica del Norte.

López, A. (2015). *Investigación de Salmonella spp en alimentos mediante el método tradicional ISO 6579 y dos métodos inmunoenzimáticos*. España. Universidad Politécnica de Catalunya.

Luigi, T., Rojas, L., Valbuena, O. (2013). *Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela*. *Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud*, 17(1).

Matheus, C. A. (2012). *Obtención de jugo clarificado de carambola (Averroha carambola L.) mediante microfiltración tangencial*. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial

Mendoza, J. (2010). *Uso de la tecnología de membranas en la clarificación de vinos*. *ReCiTeLa*, 10(2).

Moreno, F., Rodriguez, G., Mendez, V., Osuna, L., & Vargas, M. (2007). *Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (Departamento de Boyaca)*. *Revista de Medicina Veterinaria*, 14, 61-83.

Motta-Correa, Y., Mosquera, M. (2015). *Aprovechamiento del lactosuero y sus componentes como materia prima en la industria de alimentos*. *Alimentech Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 13(1), 81-91.

Mukhopadhyay, S., Tomasula, P., Luchansky, Porto-Fett, A., & Call, J. (2010). *Removal of Salmonella Enteritidis from commercial unpasteurized liquid egg white using pilot scale cross flow tangential microfiltration*. *International Journal of Food Microbiology*, 142, 309-317.

Muñoz, A., Vargas, M., Otero, L., Diaz, G., & Guzman, V. (2011). *Presencia de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena*. *Biomedica*, 31, 428-39.

NTE INEN 2594. (2011). *Suero de leche líquido. Requisitos*.

NTE INEN 1529-14. (2013). *Control Microbiológico de los Alimentos Staphylococcus aureus. Recuento en Placa de Siembra por Extensión en Superficie. Primera revisión*.

NTE INEN 1529-2. (1999). *Control Microbiológico de los Alimentos Toma Envío y Preparación de Muestras para el Análisis Microbiológico*.

NTE INEN 1529-5. (2006). *Control Microbiológico de los Alimentos. Determinación de la Cantidad de Microorganismos Aerobios mesofilos. Rep.*

NTE INEN 0013 (1984). *Determinación de la acidez titulable. Requisitos.*

Olivas, E. (2001). *Manual de Microbiología.* Programa de Entrenamiento Deportivo. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Primera edición. México.

Ortiz, M., Vélez, C., & Mejía, E. (2008). *Modelos matemáticos de la colmatación de membranas en microfiltración tangencial. Revista Ingeniería e Investigación, 28(1), 123-132.*

Páez, M. (2011). *Escalado de la Producción industrial de levadura de panificación usando dos reactores modelo y un Bio-reactor prototipo.* Quito: Universidad Politécnica Nacional.

Pandolfi, E. (2008). *Aplicación de la tecnología de membranas en el proceso de vinificación.* Concepción: Universidad de Concepción.

Paredes, P., Chávez, A., Rodríguez, J., Aguilar, N., Rentería, A., & Rodríguez, G. (2014). *Características fisicoquímicas y microbiológicas de suero de leche de queso Chihuahua. Investigación y Ciencia, 22(62), 11-16.*

Parra, R. (2009). *Lactosuero: Importancia en la Industria de Alimentos, Revista Facultad Nacional de Agronomía, 62(1), 4967- 4982.*

Pascual, M., & Calderón, V. (2000). *Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas.* Ediciones Diaz de Santo S.A. Segunda Edición. España.

Poveda, E. (2013). *Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad, Rev Chil Nutr, 40(4), 397-403.*

Ramírez, A., De los Ríos., Vélez, C., & Gallego, H. (2011). *Optimization of the Crossflow Microfiltration of Araza Juice (Eugenia stipata) under different operation modes. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, 18(2), 153-161.*

Raventós, M. (2005). *Industria alimentaria. Tecnologías emergentes.* Cantaluya: UPC.

Reinheimer, J., & Zalazar, C. (2006). *Avances en microbiología, Bioquímica y Tecnología de Quesos.* Argentina: Ediciones UNL.

Rezzadori, K., Petrus, R., Benedetti, S., Carminatti, C., & Petrus, J. (2012). *Effects of tangential microfiltration and pasteurization on the rheological, microbiological, physico-chemical and sensory characteristics of sugar cane juice. International Journal of food science and Technology, 48(1), 1-9.*

Rodriguez, C., Caldas, L., & Ogeerally, P. (2009). *Calidad Sanitaria en queso artesanal "telita". Sociedad Venezolana de Microbiología, 29, 98-102.*

Rojas, A. (2011). *Conceptos y práctica de Microbiología general.* Recuperado el 11 de Marzo del 2017 de <http://www.bdigital.unal.edu.co/4999/1/albertorojastrivino.2011.pdf>.

Romero, J. (2010). *Control Avanzado en procesos industriales de Microfiltración y Ultrafiltración tangencial.* España: Universidad de Valencia.

Sáenz, R. (2010). *Escalado: Scale down.* Bernal: Universidad Nacional de Quilmes.

Signorini, M., Sequeira, G., Bonazza, J., Santina, R., Marti, L., Frizzo, L., et al. (2008). *Utilización de microorganismos marcadores para la evaluación de las condiciones higienico-sanitarias en la producción primaria de la leche. FCV-LUZ, 18(2), 207-217.*

Tupuna, D. (2012). *Obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño (Vaccinium floribundum Kunth) mediante el uso de tecnología de membranas*. Quito: Escuela Politécnica Nacional.

Vaillant, F., Millan, A., Dornier, M., & Decloux, M. (1999). *La microfiltración tangencial de los jugos una nueva estrategia. Simposio Internacional Aplicaciones de Tecnologías de Membranas en la Industria Agro-alimentaria Latinoamericana*. Quito. GUIMAR.

Valencia, E., & Ramírez, M. (2009). *La industria de la leche y la contaminación del agua. Revista Elementos, 73, 27-31*.

Vásquez, N., Duran, L., Sánchez, C., & Acevedo, I. (2012). *Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso blanco a nivel de distribuidores, estado Lara. Venezuela. Zootecnia Trop, 30(3)*.

Vera, A., Muñoz, A., Moya, G., Moreno, J., De la cruz, O., Aranda, J. (2013). *Fermentación de leches y cremas*. Perú: Universidad Nacional del Santa.

Vilavella, M. (1997). *La filtración tangencial en el tratamiento de vinos*. Lleida: Escola Tecnica Superior Deginyeria Agraria.

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO I

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS



a)



b)



c)



d)

Figura A.1. Análisis microbiológicos. a) Preparación de medios de cultivo. b) Siembra en placa en superficie. c) Incubación de microorganismos. d) Recuento de microorganismos

ANEXO II

DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO

El equipo de microfiltración tangencial posee una tubería sanitaria de acero inoxidable con tomas para mangueras, válvulas tipo mariposa y dos entradas para manómetros y una para un termómetro. El módulo de refrigeración está constituido por una tubería de enfriamiento por el cual circula el agua. Posee dos bombas, una bomba centrífuga de acero inoxidable (1.5 HP) que ayuda al trabajo del sistema y una bomba neumática que junto a un compresor de aire funciona como un pulmón permitiendo que el fluido de alimentación ingrese al equipo. En la Figura A.1 se muestra el equipo de microfiltración.

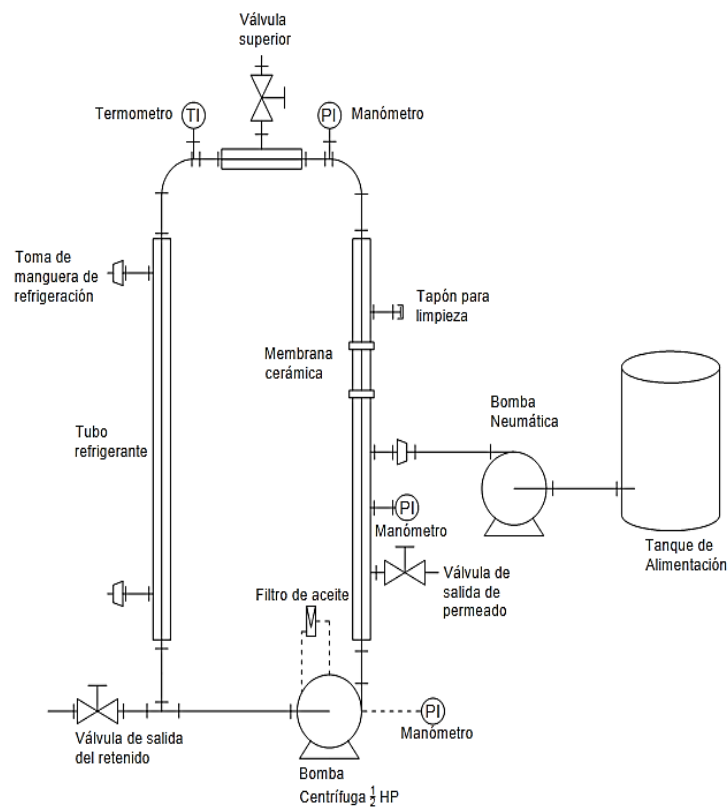


Figura A.2. Esquema del equipo de microfiltración tangencial

ANEXO III

TABLAS DE DATOS

A-3 Tabla 1. Microfiltración Tangencial a 1.5 bar, equipo escala laboratorio

muestra	Mediciones Iniciales				Medición de flujo transmembrana			
	tiempo (min)	Presión Trabajo (Entrada) (Bar)	tiempo (min)	tiempo (s)	volumen de permeado (ml)	flujo permeado (ml/s)	Flujo Transmembrana (ml/s.m2)	Flujo Transmembrana (l/h.m2)
1	0							
2	10	1,5	2,0	120,00	5,90	0,05	9,83	35,40
3	20	1,5	2,0	120,00	4,00	0,03	6,67	24,00
4	30	1,5	2,0	120,00	3,80	0,03	6,33	22,80
5	40	1,5	2,0	120,00	3,60	0,03	6,00	21,60
6	50	1,5	2,0	120,00	3,60	0,03	6,00	21,60
7	60	1,5	2,0	120,00	3,60	0,03	6,00	21,60
8	70	1,5	2,0	120,00	3,30	0,03	5,50	19,80
9	80	1,5	2,0	120,00	2,90	0,02	4,83	17,40
10	90	1,5	2,0	120,00	2,90	0,02	4,83	17,40
11	100	1,5	2,0	120,00	2,90	0,02	4,83	17,40
12	110	1,5	2,0	120,00	2,70	0,02	4,50	16,20
13	120	1,5	2,0	120,00	2,70	0,02	4,50	16,20
14	130	1,5	2,0	120,00	2,65	0,02	4,42	15,90
15	140	1,5	2,0	120,00	2,65	0,02	4,42	15,90
16	150	1,5	2,0	120,00	2,55	0,02	4,25	15,30
17	160	1,5	2,0	120,00	2,55	0,02	4,25	15,30
18	170	1,5	2,0	120,00	2,55	0,02	4,25	15,30
19	180	1,5	2,0	120,00	2,45	0,02	4,08	14,70
20	190	1,5	2,0	120,00	2,40	0,02	4,00	14,40
21	200	1,5	2,0	120,00	2,40	0,02	4,00	14,40
22	210	1,5	2,0	120,00	2,35	0,02	3,92	14,10
23	220	1,5	2,0	120,00	2,35	0,02	3,92	14,10
24	230	1,5	2,0	120,00	2,30	0,02	3,83	13,80
25	240	1,5	2,0	120,00	2,25	0,02	3,75	13,50
26	250	1,5	2,0	120,00	2,20	0,02	3,67	13,20
27	260	1,5	2,0	120,00	2,20	0,02	3,67	13,20
28	270	1,5	2,0	120,00	2,20	0,02	3,67	13,20
29	280	1,5	2,0	120,00	2,10	0,02	3,50	12,60
30	290	1,5	2,0	120,00	2,00	0,02	3,33	12,00
31	300	1,5	2,0	120,00	2,00	0,02	3,33	12,00

A-3 Tabla 2. Microfiltración tangencial a 1.5 bar, equipo escala Piloto

<i>Mediciones Iniciales</i>					<i>Medición de flujo transmembrana</i>		
muestra	tiempo (min)	Presión Trabajo (Salida) (Bar)	tiempo (s)	volumen de permeado (ml)	flujo volumétrico (ml/s)	Flujo Transmembrana (ml/s.m2)	Flujo Transmembrana JP (l/h.m2)
1	0						
2	1	1,5	16,9	195,00	11,52	32,00	115,21
3	2	1,5	18,0	200,00	11,13	30,91	111,27
4	3	1,5	23,8	259,00	10,89	30,24	108,87
5	4	1,5	22,3	243,00	10,89	30,26	108,92
6	5	1,5	21,5	232,00	10,80	30,00	108,01
7	6	1,5	22,7	246,00	10,85	30,14	108,49
8	7	1,5	31,8	330,00	10,37	28,80	103,68
9	8	1,5	26,1	251,00	9,60	26,67	96,02
10	9	1,5	21,3	202,00	9,49	26,36	94,88
11	10	1,5	17,8	177,00	9,95	27,63	99,47
12	11	1,5	26,2	264,00	10,09	28,04	100,94
13	12	1,5	21,4	224,00	10,48	29,12	104,84
14	13	1,5	22,1	214,00	9,68	26,89	96,81
15	14	1,5	17,1	159,00	9,30	25,83	92,98
16	15	1,5	25,9	263,50	10,16	28,22	101,58
17	16	1,5	21,0	188,00	8,97	24,93	89,74

A-3 Tabla 3. Factor de Reducción Volumétrica a 1.5 Bar, equipo escala piloto

tiempo (min)	Volumen total permeado (L)	Flujo Transmembrana JP (l/h.m2)	Factor de Reducción volumétrica (FRV)
0			
1			
2			
3			
4	6,00	108,01	1,55
5	6,34		
6	6,81	103,68	1,67
7	7,18		
8	7,43		
9	8,93	99,47	2,11
10	9,37		
11	9,74		
12	10,11	96,81	2,47
13	10,38		
14	10,71		
15	13,25	89,74	4,53

A-3 Tabla 4. Factor de Reducción Volumétrica a 1.5 Bar, equipo escala laboratorio

tiempo (min)	Flujo Transmembrana (l/h.m2)	Factor de Reducción volumétrica (FRV)
0		
10	35,40	1,0
20		
30		
40		
50		
60		
70	17,40	1,2
80		
90		
100		
110		
120		
130	15,90	1,3
140		
150		
160		
170		
180		
190	14,40	1,5
200		
210		
220		
230		
240		
250		
260		
270		
280		
290		
300	12,00	1,8

A-3 Tabla 5. ANOVA MÉTODO TUKEY

Método: 95,0 HSD Tukey

Alimentacion

Tratamiento	Repeticiones	Media	Grupos Homogéneos
2	3	5,57417	x
1	3	5,94917	x

Equipo	Repeticiones	Media	Grupos Homogéneos
1-1	3	5.88	x
1-2	3	6.1766	x
1-3	3	5,5933	x
1-4	3	6.1466	x
2-1	3	5,19	x
2-2	3	5,66	x
2-3	3	5,1533	x
2-4	3	6,2933	x

Método: 95,0 HSD Tukey

Retenido

Tratamiento	Repeticiones	Media	Grupos Homogéneos
2	3	6,0325	x
1	3	5,90417	x

Equipo	Repeticiones	Media	Grupos Homogéneos
1-1	3	5.8466	x
1-2	3	6.1	x
1-3	3	5,5633	x
1-4	3	6.1066	x
2-1	3	6.3733	x
2-2	3	6.3133	x
2-3	3	5.83	x
2-4	3	5.6133	x