



## Evaluación del efecto de temperatura, tiempo, PH y UFC, sobre la vida útil de leche pasteurizada en marcas comercializadoras en Pasto (Nariño)

Juliana García Caicedo\*

Javier Villota Paz \*\*

José Faruk Rojas Navarro \*\*\*

---

\* Estudiante Programa Ingeniería de Procesos, Universidad Mariana, San Juan de Pasto.

\*\* Estudiante Programa Ingeniería de Procesos, Universidad Mariana, San Juan de Pasto.

\*\*\* Docente investigador Programa Ingeniería de Procesos, Universidad Mariana, San Juan de Pasto.

## Resumen

La leche pasteurizada es un alimento muy consumido a nivel Regional, en el municipio de Pasto existen empresas que comercializan este producto; mediante encuestas realizadas a negocios minoritarios ubicados en las comunas ocho y once de este Municipio se reconocieron las marcas Colácteos, Andinos y Tapioka, como las de mayor consumo. Estas empresas procesan y distribuyen leche pasteurizada cada una con su respectiva cadena de suministro, donde por diferentes causas, principalmente el rompimiento de la cadena de frío la leche pasteurizada puede sufrir alteraciones en sus factores fisicoquímicos y microbiológicos afectando su vida útil. Se realizó una evaluación de factores como: temperatura, pH, unidades formadoras de colonias y tiempo a través de experimentación en el laboratorio de microbiología de la Universidad Mariana, simulación en Software como Excel y Matlab, y modelamiento matemático para poder predecir y conocer el comportamiento de la vida útil a diferentes condiciones de temperatura mediante la ecuación de Arrhenius, de la cual se obtuvo que la marca que resultaba más afectada en menor tiempo es Andinos, teniendo el menor tiempo de vida útil con una energía de activación de 581,73889 Kj/Mol seguido de Colácteos con una energía de activación de 334,30594 Kj/Mol y Tapioka con energía de activación de 212,14834 Kj/Mol. Finalmente se concluyó que crecimiento para las BAL depende directamente de la temperatura ya que para las muestras expuestas a temperatura de 36°C al cabo de 24 horas el crecimiento alcanza su fase exponencial, y para la muestra expuesta a 4°C el crecimiento es bajo.

**Palabras Claves:** Cadena, refrigerar, factores, marcas.

## Evaluating the effect of factors such as temperature, time, ph and ufc on the shelf life pasteurized milk trading brands in Pasto (Nariño)

### Abstract

Pasteurized milk is a food widely consumed at regional level, in the municipality of Pasto there are companies that sell this product; by surveys of minority businesses located in communes eight eleven of this Municipality the Colácteos, Andean and Tapioka brands, such as increased consumption is recognized. These companies process and distribute pasteurized milk each with its respective supply chain, where for various reasons, mainly the breaking of the cold chain pasteurized milk may be altered in their chemical and microbiological factors affecting its life. an assessment of factors such as was done: temperature, pH, colony forming units and time through experimentation in the laboratory of microbiology at Mariana University, simulation software such as Excel and Matlab, and mathematical modeling to predict and understand the behavior the useful life of different temperature by the Arrhenius equation, which was obtained that the mark was more affected in less time is Andean, with the shortest lifespan with an activation energy of 581.73889 Kj / Mol Colácteos followed with an activation energy of 334.30594 kj / mol and Tapioka with activation energy of 212.14834 kj / mol. Finally it was concluded that the BAL growth depends directly on the temperature and for the samples exposed to temperatures

of 36 ° C after 24 hours reached its exponential growth phase, and the sample exposed at 4 ° C growth is low.

**Key words:** Chain, cool, factors, trademarks.

## Avaliar o efeito da temperatura, tempo, PH e UFC sobre a vida de leite pasteurizado marcas de negociação na Pasto (Nariño)

### Resumo

O leite pasteurizado é um alimento muito consumido a nível regional, no município de Pasto há empresas que vendem este produto; por pesquisas de negócios minoritários localizadas em oito municípios onze deste Município marcas Colácteos, andinos e tapioca, tais como o aumento do consumo é reconhecido. Estes processos e empresas distribuem leite pasteurizado cada um com sua respectiva cadeia de abastecimento, onde por várias razões, principalmente a quebra da cadeia de frio leite pasteurizado pode ser alterada nos seus factores que afectam a sua vida microbiológicas e químicas. uma avaliação de fatores como foi feito: temperatura, pH, unidades formadoras de colônia e do tempo através da experimentação no laboratório de microbiologia na Universidade de Mariana, software de simulação como o Excel e Matlab, e modelagem matemática para prever e entender o comportamento a vida útil de temperatura diferente, a equação de Arrhenius, a qual foi obtida a marca que foi mais afectada em menos tempo é andina, com o tempo de vida mais curto com uma energia de activação de 581,73889 KJ / Mol Colácteos seguido com uma energia de ativação de 334,30594 kJ / mol e Tapioka com energia de ativação de 212,14834 kJ / mol. Finalmente concluiu-se que o crescimento BAL depende directamente da temperatura como amostras expostas a uma temperatura de 36 ° C após 24 horas atingido a sua fase de crescimento exponencial, e a amostra exposta a 4 ° C o crescimento é baixo.

**Palavras-chave:** Corrente, Cool, fatores, Marcas Registradas

### 1. Introducción

La leche pasteurizada es uno de los alimentos con mayor valor nutricional, y de mayor consumo per cápita tanto a nivel nacional, como regional. Nariño tiene como principal actividad económica, la producción de leche, y según FEDEGAN en el sector lácteo, el departamento cuenta con una producción de 827.353 litros de leche diarios FEDEGAN (2013). De igual manera la leche es un producto con alta perecibilidad, por esta razón, su vida útil es demasiado corta (aproximadamente tres días), lo anterior lleva a los productores a desecharla en las vertientes, aportando así carga contaminante en el efluente, ya que un litro de leche entera equivale aproximadamente a una

DBO5 de 110.000 mgO<sub>2</sub>/L y una DQO de 210.000 mgO<sub>2</sub>/L GARZON (2012).

Al aplicar un tratamiento térmico a la leche, se inactivan parte de los microorganismos presentes en ella, sin embargo al no contar y romper la adecuada cadena de frío necesaria para su conservación, los microorganismos adoptan condiciones óptimas, proliferando, y con ello aumentando su pH y por ende su acidez, de esta manera se disminuye su calidad y vida útil, generando así problemas gastrointestinales de quien consuma este producto.

En el caso de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), La incidencia mundial es difícil de estimar; se informó que en el 2005 sólo 1,8 millones de personas murieron

a causa de enfermedades diarreicas; una gran proporción de estos casos se puede atribuir a la contaminación de alimentos y fuentes de agua potable INS (2014). En Colombia, donde no existen estadísticas reales, el sistema de vigilancia en salud pública, SIVIGILA, reportó para el año 2009, 14.562 casos de ETAs. En cualquier lugar, se puede establecer la ocurrencia de estas enfermedades como un indicador directo de la calidad de los alimentos SILVA (2010).

De acuerdo a lo anterior se busca analizar y simular el comportamiento que tiene la vida útil de la leche pasteurizada, se evaluarán factores físico químicos y microbiológicos como la temperatura, el pH, tiempo y unidades formadoras de colonias, de las tres principales marcas procesadoras de leche pasteurizada en el municipio de Pasto.

## Metodología

**Muestra:** Para seleccionar las muestras se realizó encuestas en las tiendas de las comunas 2 y 11 de la ciudad de Pasto, las cuales se determinan por método probabilístico aleatorio, determinando las tres principales marcas de mayor consumo en leche pasteurizada.

**Recolección de muestra:** Conociendo estas tres marcas, se procedió a recoger la muestra de leche pasteurizada (una de cada marca) a tres diferentes locales o tiendas ubicadas en la comuna 2 y 11 del Municipio de Pasto, estas se recolectaron a horas de entrega por los proveedores, teniendo en cuenta la temperatura en la que la muestra llega.

**Transporte hacia laboratorio de Microbiología:** Las muestras fueron transportadas al laboratorio de microbiología ubicado en la Universidad Mariana, en recipientes isotérmicos con hielo para reducir al mínimo los posibles cambios microbiológicos y de temperatura durante el transporte y almacenamiento de las muestras. Éstas se conservaron a temperatura de refrigeración (4 °C).

**Diseño Experimental y realización de pruebas de factores fisicoquímicos:** Se realizó el diseño experimental multifactorial en software

Statgraphics Centurión XV versión 15.2.06 donde se determinó la matriz para las evaluaciones de tres tratamientos donde los factores evaluados en este caso son: la temperatura, el pH, de igual manera los factores microbiológicos evaluados son las unidades formadoras de colonias presentes en la leche pasteurizada, donde el cambio de factores como pH y el crecimiento las unidades formadoras de colonias dependen directamente de factores como la temperatura el tiempo y la marca.

Las pruebas para la determinación de estos parámetros se realizaron en el laboratorio de microbiología, teniendo en cuenta:

**Tiempo:** La siembra de unidades formadoras para Leche pasteurizada se debe realizar durante 48h (Lasso, 2010), en base a esto se realizaron mediciones a través de un cronometro cada 30 minutos por dos días, en una aproximación de 4 mediciones por día.

**Temperatura:** El instrumento que se utilizó para la medición de temperatura con un termómetro de mercurio, teniendo en cuenta las siguientes temperaturas: Temperatura de refrigeración: 4°C, Temperatura ambiente: 20°C, Temperatura de uso: 13 °C y temperatura de abuso: 36°C.

**pH:** Se tomaron medidas cada 30 minutos por dos días a las condiciones de temperatura mencionadas en el anterior apartado, a las marcas de leche pasteurizada: Andinos, Colácteos y Tapioka; estas mediciones se realizaron a través de un pH- metro.

## Unidades formadoras de colonias

Preparación de la dilución:

Según Jiménez Javier (2015) el tubo con absorbancia 0.253 tiene 3\*10<sup>8</sup> UFC/ml, siendo la referencia de tubo inicial para el crecimiento de microorganismo, en base a esto se hicieron tres diluciones de marca con relación 1:9 con agua peptona, para de esta manera llegar a la absorbancia de referencia. JIMENEZ (2015)

Recuento de Microorganismos presentes en la leche pasteurizada:

El recuento de bacterias ácido lácticas se hizo por método de turbidimetría, para ello se utili-

zó el patrón de McFarland con concentración de 0.5, el cual indica la presencia en número de células de  $1,5 \times 10^8$  y tiene una absorbancia de 0.107 JIMENEZ (2015).

La turbidez producida por el crecimiento microbiano puede ser medida de acuerdo a la capacidad de absorber la luz, por lo cual se determinó por densidad óptica expresada en absorbancia medida a través del espectrofotómetro, equipo que se calibro con una longitud de onda de 580.

Una vez encontrada la absorbancia de referencia a 0.253 se incubaron los tubos a diferentes condiciones de temperaturas, temperatura de refrigeración a 4°C, temperatura de uso a 13°C, temperatura ambiente a 20°C y temperatura de abuso a 36°C. Se realizó mediciones de absorbancia cada 30 minutos por dos días, en una aproximación de 4 mediciones por día.

El conteo Se realizó por absorbancia expresada en Logaritmo de unidades formadoras de colonias por volumen (Log (UFC/ml)). El recuento para cada cepa en los tiempos de control se realizó por triplicado.

Análisis y simulación del comportamiento de la vida útil de la leche pasteurizada:

En base a los datos obtenidos, se realizó análisis de estos a través de gráficas, regresiones lineales y modelación matemática en software: Matlab y Excel, aplicando ecuaciones de velocidad de crecimiento en microorganismos como:

$$V = k[A]^n$$

Donde K: constante cinética de crecimiento, A: concentración de microorganismos, y n: Numero de reacción.

Para analizar y predecir el comportamiento de la vida útil de la leche pasteurizada a diferentes temperaturas mediante la aplicación de la ecuación de Arrhenius:

$$K = Ae^{-Ea/RT}$$

La ecuación anterior nos permitió definir la energía de activación para la marca: Andinos Colácteos y Tapioka, para ello se definió el orden de reacción en la variación de concentración de microorganismos respecto al tiempo para cada temperatura, de esta manera se definió la constante de velocidad K, esto mediante gráficas y modelamiento con regresión lineal mediante software Excel y Matlab.

## Resultados y discusión

### Análisis de la determinación de las principales marcas procesadoras de leche pasteurizada:

Las encuestas que se realizaron a negocios minoritarios de las comunas 8 y 11 ubicadas en el Municipio de Pasto arrojan como resultado las marcas procesadoras de leche pasteurizada de mayor consumo:

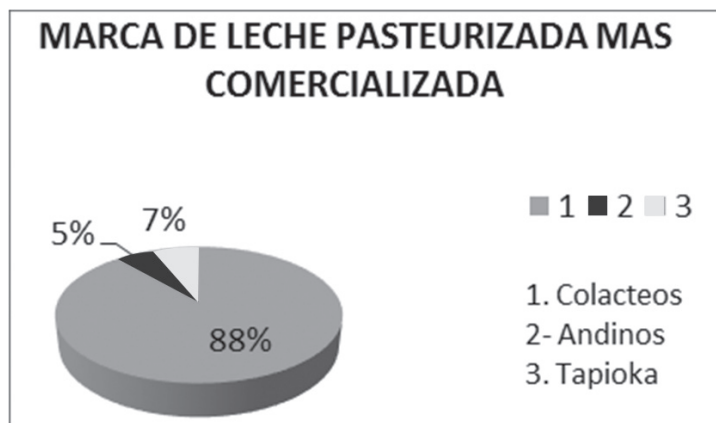


Figura 1. Marcas de mayor comercialización en el Municipio de Pasto.

De la gráfica número uno se concluye que la marca que más se comercializa en la ciudad de pasto es Colácteos con un 88% del total de negocios encuestados, seguido por la marca Tapioka con un 7% del total de negocios encuestados y por último Andinos con un 5%. En contraste con los resultados de la gráfica uno se conoce que Colácteos es una cooperativa Nariñense que abarca la mayor parte del mercado en cuanto a productos lácteos, la producción de leche pasteurizada es una de sus líneas más distribuidas teniendo sus mejores resultados de en los últimos tres años, al pasar de unas ventas de 3.500 millones en 1994 a 21.000 millones de pesos el año pasado NULLVALUE (2015)

### Análisis de pruebas comparación de medias

Los datos obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza y prueba de comparación de medias LSD de Fisher a mediante el Software Statgraphics Centurion XV versión 15.2.06, los análisis se hicieron con un nivel de significancia de 0.05, para cada factor dependiente: pH y UFC.

### Crecimiento de UFC en leche pasteurizada

En el análisis de la variable Unidades formadoras de colonia en la leche pasteurizada indica diferen-

cias estadísticas en los diferentes tratamientos en cuanto a temperatura, presentando que el mejor tratamiento es a una temperatura de 4°C como se observa en la figura uno, de igual manera el crecimiento de UFC no tiene diferencia estadística para tratamiento a 13 y 20°C.

En la figura dos se indica como los tratamientos 0, 90 y 1140 no tienen diferencia estadística, es decir a estos tiempos el comportamiento de crecimiento de UFC tiene el mismo comportamiento, ya que los Microorganismos presentes en la leche tienen un crecimiento optimo en un tiempo de 2 hasta las 24 horas PARRA (2010). De igual manera los tratamientos a 1470 y 1500 no tienen diferencias estadísticas, ya que son tiempos muy cortos para variar el crecimiento de microorganismos de manera significativa.

En el análisis del comportamiento de UFC con respecto a la marca presenta diferencia estadística en los tres tratamientos: Andinos, Colácteos y Tapioka.

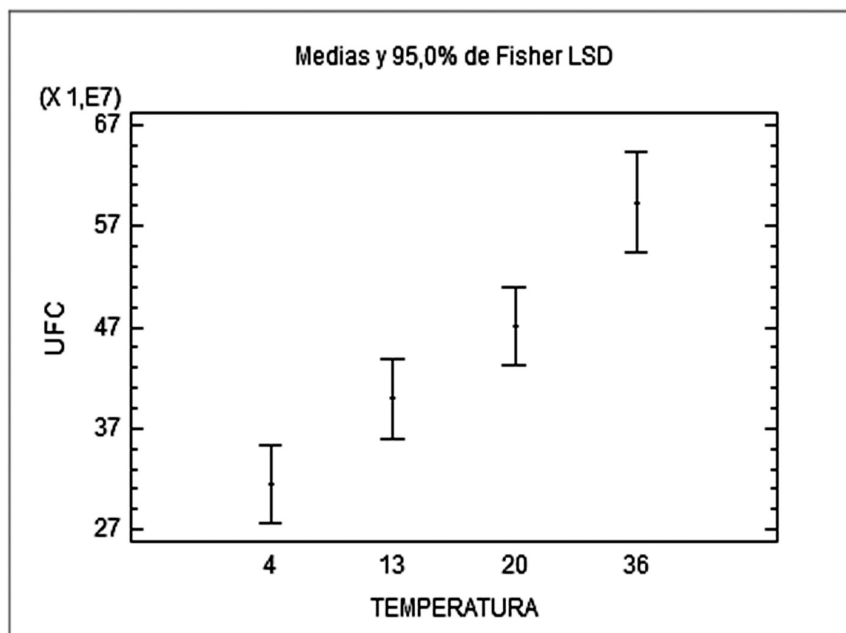


Figura 2. Prueba LSD, UFC vs Temperatura

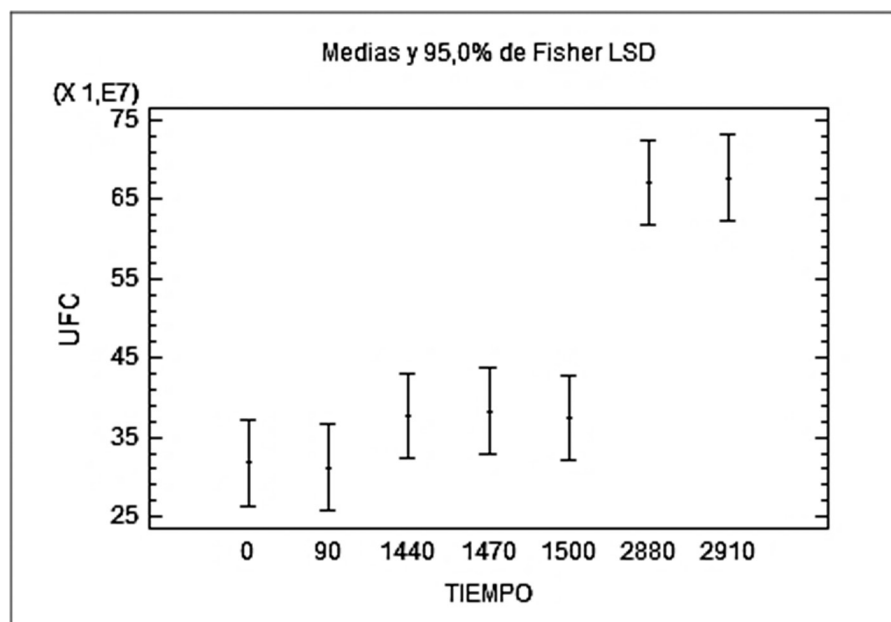


Figura 3. Prueba LSD UFC Vs Tiempo

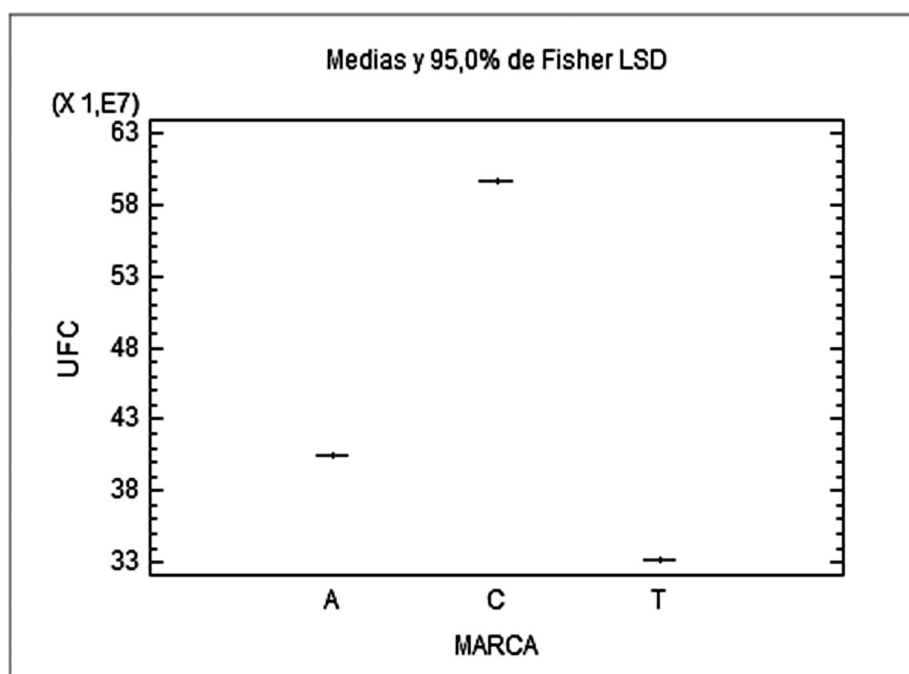


Figura 4. Prueba LSD, UFC Vs Marca

### Cambio de pH en la leche pasteurizada.

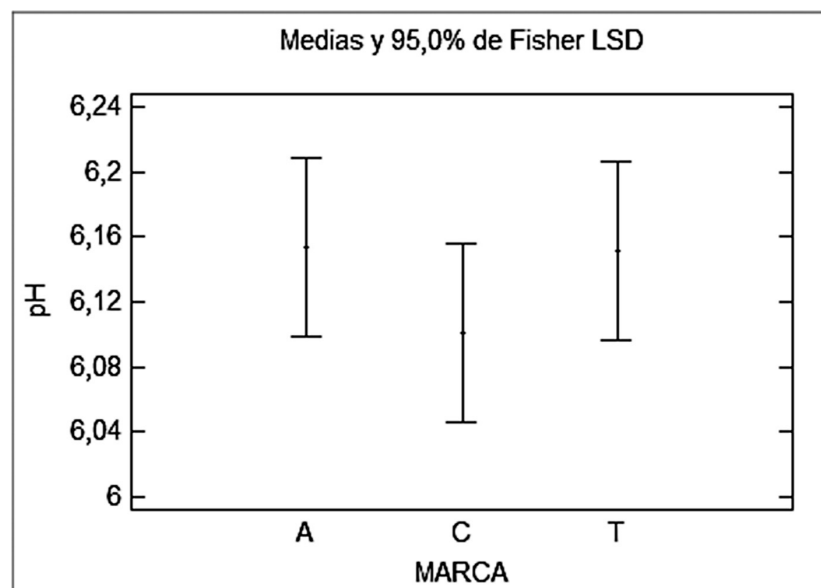


Figura 5. Prueba LSD para pH vs Marca

Para el análisis del comportamiento del pH versus las distintas marcas, se tiene que estas presentan comportamientos en su varianza de pH similares, y en el caso de la marca Andinos y Tapioka los niveles alcanzados son muy cercanos.

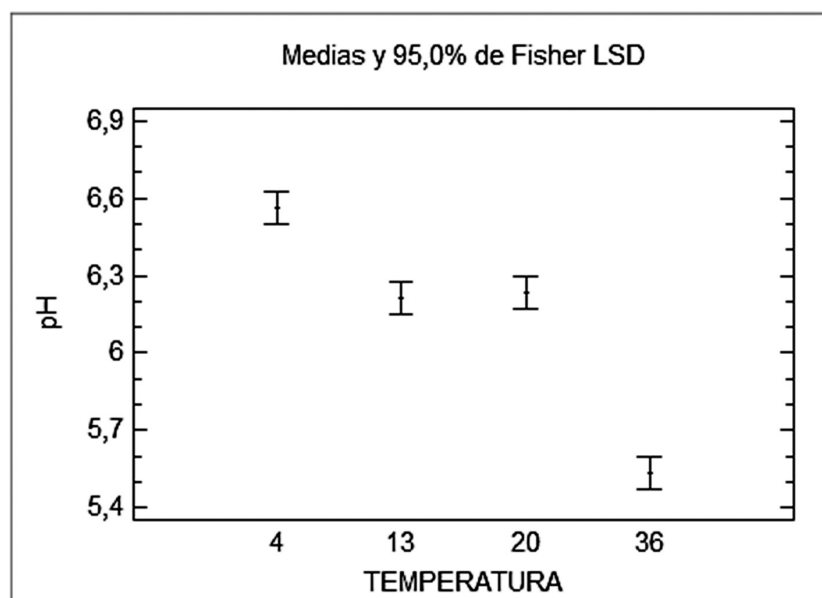


Figura 6. Prueba LSD para pH vs temperatura.

Se identifica en la gráfica que la prueba LSD para el caso de la temperatura de 13 y 20 grados Celsius tiene una relación directa en cuanto su comportamiento, ya que alcanzan valores de pH entre el 6,6 y 6.

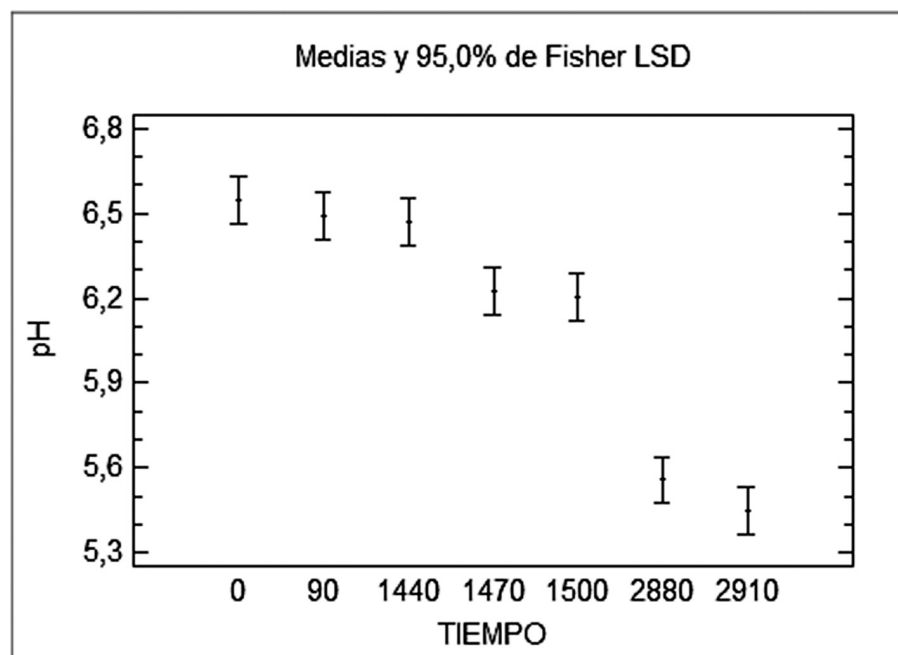


Figura 7. Prueba LSD para pH vs tiempo

En cuanto al tiempo se puede identificar que a entre mayor transcurra este factor, el pH para todas las temperatura iba a variar hasta alcanzar niveles cercanos a 5.

### Análisis microbiológico

El recuento se hizo por turbidimetría expresado en Log UFC/ml para las tres marcas se obtuvo:

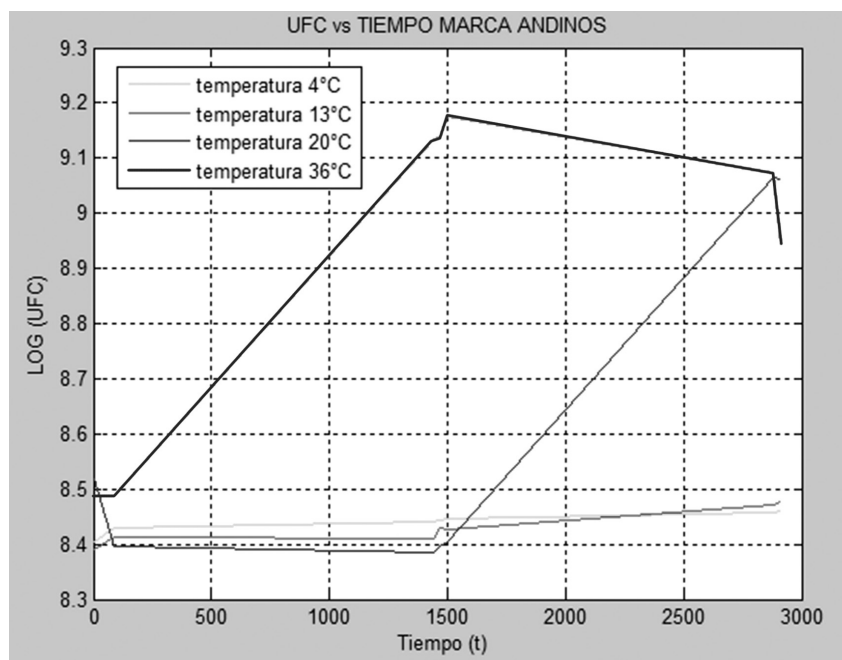


Figura 8. Crecimiento BAL a diferentes temperaturas, Marca Andinos

La marca Andinos presenta un crecimiento microbiano de manera exponencial hasta llegar a las 1497588424 UFC en una temperatura de 36°C, esto se debe a que esta marca no distribuye a diario a los locales minoristas lo cual hace que su crecimiento tenga un tiempo más de proliferación. De igual manera a esta temperatura los microorganismo tienen su fase de crecimiento, latencia y muerte, como se observa en la gráfica número uno esta curva tiene un comportamiento exponencial y en tiempo de 2880 minutos esta empieza a descender notoriamente; Una de las razones puede ser que el medio en el cual están creciendo se acidifico de manera significativa produciendo la muerte de las mismas.

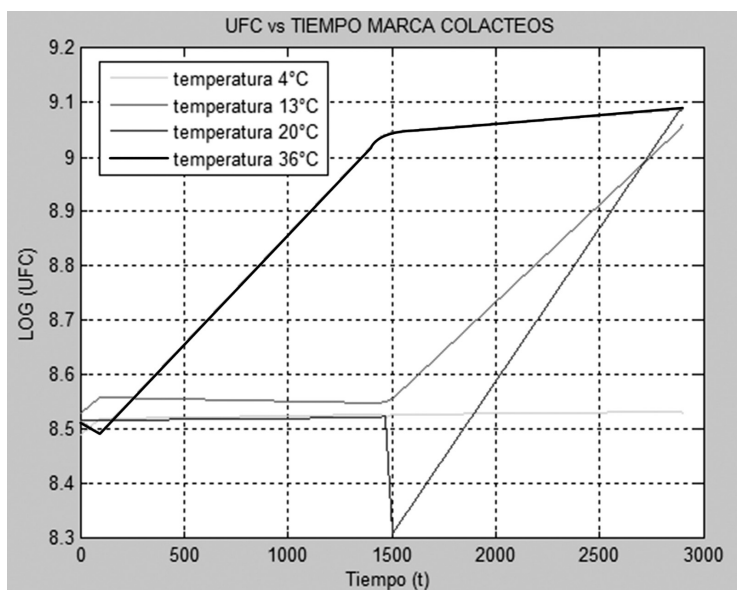


Figura 9. Crecimiento BAL a diferentes temperaturas, Marca Colácteos

La marca Colácteos presento un número elevado de microorganismos en temperaturas de 13° C, 20°C y 36°C, mientras que en la temperatura de refrigeración se mantuvo constante, no tuvo un crecimiento notable de microorganismo

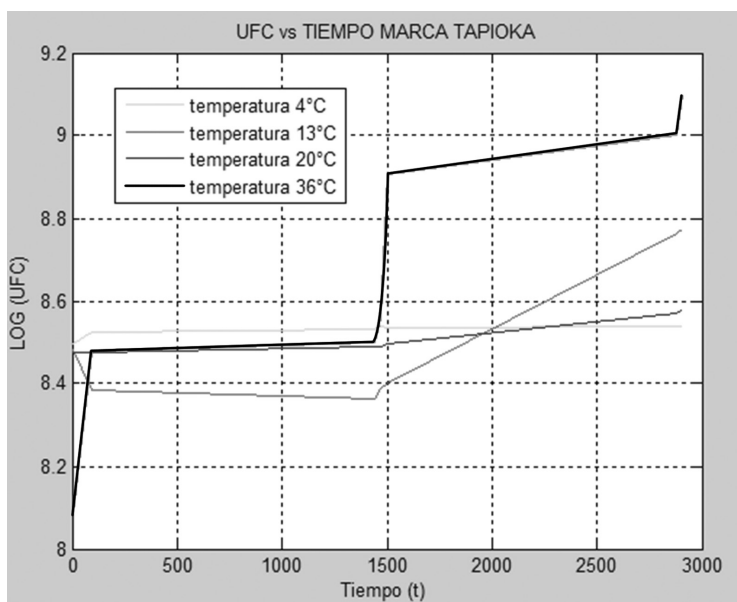


Figura 9. Crecimiento BAL a diferentes temperaturas, Marca Tapioka

La leche pasteurizada a pesar de ser un producto resultante de un proceso térmico, en temperaturas superiores a la de refrigeración, desarrolla el crecimiento de bacterias ácido lácticas, según Parra Ricardo, estas a unas temperaturas de 35 a 45 °C tienen un crecimiento óptimo en un tiempo de 2 a 4 Horas PARRA (2010), esto se puede observar en las gráficas uno, dos y tres ya que las bacterias ácido lácticas presentes en la leche pasteurizada de las marcas: Andinos, Colácteos y Tapioka fueron sembradas en cultivos de dilución  $10^{-3}$  a diferentes temperaturas, siendo la que mayor crecimiento aquellas que son expuestas a condiciones de temperatura de 36 °C en las tres marcas.

La temperatura de menor crecimiento microbiano para Andinos, Colácteos y Tapioka es la temperatura de refrigeración es decir a 4°C, esto se debe a que los microorganismos no tienen las condiciones aptas para su crecimiento, y de aquí la importancia de mantener este producto con la cadena de frío apropiada.

Por último se concluyó que el crecimiento de microorganismos se comporta de manera similar para las temperaturas 13°C y 20°C, y que este es más acelerado en aumento de la temperatura en las tres marcas estudiadas.

#### Determinación de tiempo de vida útil para leche pasteurizada en las tres marcas:

La determinación de la vida útil de la leche pasteurizada se realizó analizando la velocidad de crecimiento de microorganismos presentes en la leche de las tres marcas, es decir como vario la concentración de UFC con respecto al tiempo en diferentes condiciones de temperatura.

Para ello se hizo recuento de microorganismos donde [A] es la concentración final de microorganismos y [A] es la concentración inicial.

La constante cinética K y el tiempo de vida útil depende del orden de reacción de cada temperatura, cuyo factor se determinó de manera

experimental mediante regresión lineal de las concentraciones en el tiempo.

Para abreviar los nombres de factores, condiciones y demás componentes de la tabla, se va a emplear las siguientes letras:

M: Marca

Tº: Temperatura

A: Marca Andinos

C: Marca Colácteos

T: Tapioka

Orxn: Orden de Reacción

K: Constante Cinética

tvu: Tiempo de vida Útil

**Tabla 1.** Tiempo de vida útil para leche pasteurizada a diferentes temperaturas para tres marcas.

| M | Tº | Orxn | K                   | tvu (min) |
|---|----|------|---------------------|-----------|
| A | 4  | Cero | 9246,9              | 3676      |
|   | 13 | Dos  | $-2 \cdot 10^{-13}$ | 3758      |
|   | 20 | Cero | 303986              | 2710      |
|   | 36 | Dos  | $-8 \cdot 10^{-13}$ | 2632      |
| C | 4  | Cero | 7179,9              | 4074      |
|   | 13 | Dos  | $-7 \cdot 10^{-13}$ | 2961      |
|   | 20 | Cero | 311678              | 2878      |
|   | 36 | Cero | 317043              | 2833      |
| T | 4  | Cero | 7123                | 4384      |
|   | 13 | Cero | 109439              | 2627      |
|   | 20 | Dos  | $-2 \cdot 10^{-13}$ | 3550      |
|   | 36 | Cero | 177, 67             | 2002      |

En la tabla número uno se encuentran los datos del tiempo en el cual la leche pasteurizada va a perder las condiciones óptimas para su consumo en las marcas: Andinos, Colácteos, Tapioka, donde Andinos tendrá un tiempo menor en perder sus condiciones de consumo frente a Colácteos y Tapioka. Se determinó que la temperatura es un factor inversamente proporcional con la degradación del tiempo óptimo de consumo puesto que a medida que este aumenta la vida útil disminuye en las tres marcas.

## Modelo Matemático según la ecuación de Arrhenius

El modelo matemático desarrollado nos permitió predecir la velocidad de crecimiento de los microorganismos bajo determinadas condiciones ambientales, o factores relacionados al crecimiento microbiano, en este caso la temperatura.

Se tomó como base la ecuación matemática de Arrhenius, para predecir la constante de velocidad a diferentes temperaturas y con esto la velocidad de crecimiento y el tiempo de vida útil de la leche pasteurizada para cada marca procesadora. Para ello fue necesario determinar la energía de activación a una temperatura establecida de manera experimental.

Para el caso de la siguiente tabla se va a emplear la siguiente nomenclatura:

M: Marca

T°: Temperatura

A: Marca Andinos

C: Marca Colácteos

T: Tapioka

K: Constante Cinética

En: Energía de activación (Kj/MoL)

Tabla 2. *Energía de activación de leche pasteurizada en tres diferentes marcas.*

| M | T° (K) | K      | En        |
|---|--------|--------|-----------|
| A | 4      | 9246,9 | 581,73889 |
|   | 13     | -2E-13 |           |
|   | 20     | 303986 |           |
|   | 36     | -8E-13 |           |
| C | 4      | 7179,9 | 334,30594 |
|   | 13     | -7E-13 |           |
|   | 20     | 311678 |           |
|   | 36     | 317043 |           |
| T | 4      | 7123   | 212,14834 |
|   | 13     | 109439 |           |
|   | 20     | -2E-13 |           |
|   | 36     | 177,67 |           |

Conocida la energía de activación, se puede aplicar el modelo matemático para predecir el comportamiento de la vida útil de la leche pasteurizada a diferentes temperaturas, puesto que la ecuación de Arrhenius nos describe la velocidad de reacción, en este caso de la concentración de microorganismos a diferentes temperaturas, aplicando la ecuación de Arrhenius.

## Conclusiones

Se logró identificar las principales marcas de mayor consumo en la ciudad de Pasto; obteniendo así que la principal es la marca Colácteos, seguido por Andinos y Tapioka.

Para la simulación se dispuso las muestras a diferentes condiciones de temperatura, se identificó que estas tienen efecto directo con el crecimiento de bacterias ácido lácticas, puesto que a temperaturas de 36°C tienen un crecimiento óptimo en tiempos de solo 24 horas, mientras que a temperaturas de 4°C presentan un bajo crecimiento, de ahí la importancia de mantener la leche pasteurizada con su respectiva cadena de frío.

La vida útil de la leche pasteurizada se ve directamente afectada por la temperatura, y del orden de reacción que tiene la concentración con respecto al tiempo, siendo este factor inversamente proporcional con la degradación del tiempo óptimo de consumo puesto que a medida que este aumenta la vida útil disminuye en las tres marcas: Andinos, Colácteos y Tapioka.

Se determinó la energía de activación mediante datos experimentales a diferentes temperaturas para las marcas Andinos, Colácteos y Tapioka, para conocer y simular el comportamiento de la degradación de la vida útil de la leche pasteurizada mediante la ecuación de Arrhenius.

## Bibliografía

DAVIES, 1995, Tema 5. Refrigeración de la leche.

FEDEGAN. 2013, Encuesta de leche (producción diaria) - departamento de Nariño.

- Garzon, Janneth, Lopéz, Johanna, 2012, Análisis de una alternativa de producción más limpia que permita aprovechar los residuos grasos que generan los procesos de pasteurización y enfriamiento de la leche en la empresa Friesland lacteos Purace de San Juan de Pasto, UTP.
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales y Servicio de Información Meteorológica Mundial. Colombia, Información del tiempo para Pasto. 2009.
- INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, 2014, Enfermedades Transmitidas Por Alimentos (ETA). Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Enfermedades%20Trans.%20por%20alimentos.pdf> (26/04/2015).
- JIMENEZ, Javier; ROSALES, Diana. 2015, Validación secundaria del método filtración por membrana para la detección de coliformes totales y *Escherichia coli* en una matriz de agua.
- LASSO, Rosa Ángela, 2010, Selección de los componentes estructurales de un integrador biológico de tiempo y temperatura (ITI) como indicador de la calidad microbiológica de la leche cruda y pasterizada.
- KIM, Min Jung, JUNG, Seung Won, PARK, Hye RI, LEE, Seung Ju, 2012, Selection of an optimum pH-indicator for developing lactic acid bacteria-based time-temperature integrators (ITI), Elsevier.
- NULLVALUE, 2015, Colácteos una empresa campesina para mostrar. Revista el tiempo.
- SILVA, Elizabeth, ORTIZ Jaime Eduardo (Q.E.P.D.), MURILLO Carmenza, NAVA, Gerardo, CARDENAS, Omayda, PERALTA, Alejandro, PAREDEZ, Marta, PIÑEROS, Karina, OTÁLORA, Andrés, 2010, Estudio de caracterización de la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua utilizada en la industria de alimentos, Colombia. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/sivicap/Normatividad/Calidad%20de%20aguas%20-%20Industria%20de%20alimentos%202010.pdf>. (26/04/2105).
- PARK Hye Ri, 2013, Adjustment of Arrhenius activation energy of laccase-based time e temperature integrator (ITI) using sodium azide, Elsevier.
- PARRA, Ricardo, 2010, Bacterias acido lácticas: papel funcional en los alimentos. Revista Scielo.
- REALPE, Karen; QUINTERO, Viviana. 2014, Taller de microbiología.