

EVALUACION BACTERIOLOGICA DE LECHE ALMACENADA EN ESTANQUES PREDIALES¹

Bacteriological assessment of milk stored in farm bulk cooling tanks

Hernán Agüero E.², Carlos Pedraza G.³ y Ximena Suazo D.⁴

SUMMARY

Milk samples of 25 farms of the Region Metropolitana and the VI Region of Chile, were taken at the beginning (0 hr) and at the end (36 hr) of storage in the cooling tanks. Subsequently they were transported at low temperature to the laboratory, to determine the counts/ml for the total bacteria (RBT), coliform bacteria (RC), and psychrotrophic bacteria (RP). Results were statistically studied through ANOVA, correlation and regression analyses.

The means at 0 and 36 hr were: RBT = 131,368a and 287,956b ($P \leq 0,05$); RC = 9,780a and 9,708a; RP = 35,544a and 323,524b ($P \leq 0,05$). Considering different standards for alternate day collection, the bacteriological quality of milk would be appropriate in 8 to 60, 12 to 36, 16 to 40% of the samples, when assessed according to RBT, RC and RP, respectively. The correlation coefficients between initial and final counts were; RBT: 0.79 ($P \leq 0.001$), RC: 0.74 ($P \leq 0.001$) and RP: 0.74 ($P \leq 0.001$). It was concluded that the alternate day milk collection would be affected principally by RP and RC, and to a lesser extent, by RBT. The final microbial load of milk would depend on the initial counts, showing variability among farms, specially as far as psychrotrophics are concerned.

INTRODUCCION

Los antecedentes disponibles en el país sobre calidad bacteriológica de la leche, se basan fundamentalmente en estimaciones obtenidas mediante el tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM) y en la determinación de recuentos bacterianos totales en leche cruda recepcionada en las plantas lecheras, existiendo escasa información sobre leche refrigerada a nivel predial (Pedraza y otros, 1981; Haverbeck, 1982; Pedraza, Agüero y Godoy, 1987).

Una evaluación apropiada del contenido bacteriano de la leche, además del recuento de bacterias totales, debería incluir la realización de otras pruebas, como los recuentos de bacterias coliformes y psicrótróficas. El recuento de coliformes se usa principalmente como indicador de la higiene aplicada durante la obtención, manejo y transporte de la leche (Lück, 1972; Pinto y Haverbeck, 1978). Las psicrótróficas son bacterias que pueden crecer a 7° C o menos, a pesar de que su temperatura óptima de crecimiento está alrededor de los 20° C. Estos microorganismos se relacionan íntimamente con la capacidad de conservación de la leche, principalmente a través de enzimas termoestables que provocan diversas alteraciones en los productos lácteos (Thomas, 1958; Cousin, 1982).

Este trabajo constituye parte de una línea de investigación sobre calidad bacteriológica de leche e intenta aportar mayor información sobre el contenido microbiano de leche refrigerada a nivel predial. Sus objetivos son evaluar el crecimiento experimentado por las bacterias totales, coliformes y psicrótróficas; caracterizar la calidad bacteriológica de la leche al término

¹ Recepción de originales: 5 de noviembre de 1987.

Los autores agradecen a SOPROLE S.A. el apoyo otorgado para la realización de este trabajo y, en especial, al Dr. Marcelo Rippe de T., Dr. Pedro Kellner G., Sr. Hernán Farías Ch. y Sr. Emilio Servoin V.

² Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, U. de Chile, Casilla 2, Correo 15, Santiago, Chile.

³ Estación Experimental La Platina (INIA), Casilla 439, Correo 3, Santiago, Chile.

⁴ Parte de los requisitos para postular al título de Médico Veterinario, U. de Chile.

del período de almacenamiento en los estanques prediales; e investigar la asociación entre la contaminación inicial de la leche y la registrada en el momento de su recolección.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó entre mayo y julio de 1986, ambos meses inclusive, en 25 lecherías de la Región Metropolitana y la VI Región. Estas representaban la casi totalidad de los predios proveedores de la Sociedad de Productores de Leche (SOPROLE S.A.) que contaban con estanques enfriadores, en los cuales se recolectaba la leche cada 2 días. En cada predio, se efectuó un muestreo de leche, al comienzo y al término del período de almacenamiento refrigerado.

La leche de la primera ordeña se recolectó en frascos higienizados a 60° C por un mínimo de 2 hr, los cuales fueron enfriados y transportados al Laboratorio Central de SOPROLE S.A., a una temperatura < 5° C, de acuerdo a las indicaciones de la Norma Chilena (NCh 1011) para muestreo de leche y productos lácteos (Chile-INN, 1979). La siembra de las muestras de leche en medios de cultivo, se realizó dentro de un máximo de 3 hr con posterioridad a su obtención, considerándose éste como tiempo 0. Posteriormente, en los mismos predios, se tomaron muestras de la mezcla de leche de las cuatro ordeñas sucesivas acumuladas en los estanques, a objeto de establecer la calidad bacteriológica final y el crecimiento experimentado por la flora bacteriana, al cabo de aproximadamente 36 hr de almacenamiento.

Las determinaciones realizadas en las muestras fueron las siguientes: recuento de bacterias totales (o aerobias mesófilas), recuento de coliformes y recuento de psicotróficas, utilizándose para su ejecución las técnicas descritas por Magariños (1978).

Para caracterizar la calidad bacteriológica de la leche producida en cada predio, se consideraron diferentes normas y recomendaciones bibliográficas. Las diferencias entre recuentos, atribuibles al tiempo de almacenamiento refrigerado, se estudiaron estadísticamente mediante análisis de variancias, con los datos transformados a logaritmos base 10. A fin de evaluar la relación entre la calidad bacteriológica inicial y final de la leche, se practicó análisis de correlación y regresión simples entre los recuentos de bacterias totales, coliformes y psicotróficas, a las 0 y 36 hr de almacenamiento refrigerado (Sokal y Rohlf, 1969).

RESULTADOS Y DISCUSION

Recuento bacteriano total

En el contexto nacional, el promedio de 131.368 colonias/ml obtenido al comienzo del período de almacenamiento refrigerado (Cuadro 1), refleja una situación similar a la descrita por Pedraza y otros (1981), en 32 predios de la Región Metropolitana, cuyo promedio de recuento bacteriano total en leche recién ordeñada alcanzó a 114.438 colonias/ml. Sin embargo, al confrontarlo con el encontrado por Pedraza y otros (1987), en lecherías de la misma zona (36.750 colonias/ml), se aprecia una calidad láctea inferior en cuanto a su recuento inicial de bacterias mesófilas.

Por otra parte, el promedio de 287.956 colonias/ml a las 36 hr de almacenamiento, está por debajo de las 492.000 colonias/ml obtenidas por Haukka (1969), citado por Thomas y Druce (1971), en leche almacenada 2 días a 4–5° C. Supera, en cambio, las 110.000 colonias/ml encontradas por Mikolajcik y Simon (1978) y las 79.516 colonias/ml, correspondientes a 10 predios del estrato superior de lecherías de la Región Metropolitana (Pedraza y otros, 1987). También

CUADRO 1. Promedios de recuento de bacterias totales, coliformes y psicotróficas, según tiempo de almacenamiento de la leche en estanques prediales

TABLE 1. Average counts of total, coliforms and psychrotrophics bacteria, according to milk storing time in farm bulk cooling tanks

Tiempo de almacenamiento (hr)	Bacterias totales (colonias/ml)	Bacterias coliformes (colonias/ml)	Bacterias psicotróficas (colonias/ml)
0	131.368 a	9.780 a	35.544 c
36	287.956 b	9.708 a	323.524 d

Letras distintas en cada columna indican promedios estadísticamente diferentes según Tukey; a, b ($P \leq 0,05$); c, d ($P \leq 0,01$).

es mayor en comparación a los resultados de Randolph y otros (1973), quienes determinaron recuentos de 70.000 colonias/ml, en muestras tomadas de estanques prediales.

Valores más bajos aún, han sido informados por otros autores. Así, Andrey y Frazier (1959) obtuvieron un promedio de 27.000 colonias de bacterias totales/ml, en leche almacenada en estanques prediales durante 2 días; mientras que Brazis y Black (1962) informan que los recuentos bacterianos de la leche, en la mayoría de los predios que analizaron, promediaron menos de 30.000 colonias/ml. Los recuentos de bacterias totales encontrados en el presente trabajo superan, en general, a los informados en la literatura para la fase de recolección de leche almacenada en estanques prediales e, incluso, son mayores que los determinados en algunas investigaciones, a nivel del transporte o de la recepción (Randolph y otros, 1973; Agger, 1981; Sogaard y Lund, 1981).

El rango de 4.000–1.608.800 bacterias totales/ml, observado en este estudio al término del almacenamiento refrigerado, confirma lo detectado en investigaciones nacionales y extranjeras, en cuanto a la gran variabilidad que exhibe la calidad higiénica de la leche en distintos predios (IDF, 1981; Pedraza y otros, 1981; Pedraza y otros, 1987). Al cabo de 36 hr, un 60% de las muestras examinadas está dentro del límite de 100.000 colonias/ml, sugerido por la Federación Internacional de Lechería en 1967, para leche refrigerada en estanques (Lück, 1972) e indicado por Bigalke (1978) como nivel aceptable para leche clase A. Un 40% de las muestras exhibieron cifras de recuento total < 50.000 colonias/ml, lo que según Twomey y Crawley (1968), citados por Lück (1972), es factible lograr mediante la refrigeración predial en estanques. Otros autores, citados por Lück (1972), postulan que con utensilios y equipos higienizados adecuadamente, es posible producir leche con recuentos de 10.000–20.000 colonias/ml; de acuerdo a este último criterio, sólo el 8% de las muestras sería aceptable.

En el Cuadro 1, se aprecia que los promedios de recuento de bacterias totales a las 0 y 36 hr difieren estadísticamente ($P \leq 0,05$), registrándose un incremento de 2,2 veces en dicho período, valor idéntico al encontrado por Pedraza y otros (1987). Esta situación concuerda con lo expresado por otros autores, según los cuales el almacenamiento de la leche en estanques prediales, a una temperatura < 5°C durante 2 días, causa un aumento limitado del número total de bacterias (Thomas y Druce, 1971).

El análisis de correlación entre los recuentos iniciales y finales de aerobios mesófilos, entregó un coeficiente de 0,79 ($P \leq 0,001$) (Cuadro 2). De acuerdo a esto,

CUADRO 2. Relación entre recuentos iniciales (X) y finales (Y) de bacterias de la leche almacenada en estanques prediales (log 10 colonias/ml)

TABLE 2. Relationship between initial (X) and final (Y) bacteria counts of stored milk in farm bulk cooling tanks (log 10 colonies/ml)

	Regresión	Coefficiente de correlación
Recuento bacteriano total	$Y = 0,99 + 0,88X$	0,79*
Recuento de coliformes	$Y = 1,05 + 0,73X$	0,74*
Recuento de psicrótrofos	$Y = 1,80 + 0,73X$	0,74*

* $P \leq 0,001$.

la efectividad del enfriamiento como elemento conservador de la calidad láctea, sería dependiente de la contaminación inicial, lo que coincide con lo establecido por Lacrosse y Piraux (1962), citado por Thomas y Druce (1971). No obstante, se observó diferencias en las tasas de multiplicación microbiana, que podrían obedecer a variaciones en el tipo de aerobios mesófilos presentes en cada muestra (Jackson y Clegg, 1965).

Recuento de coliformes

La comparación de los resultados del presente estudio, con los antecedentes proporcionados por diversos autores, revela una calidad insatisfactoria de la leche, en cuanto a su contenido de bacterias coliformes. El promedio final de 9.708 colonias/ml (Cuadro 1), es superior al informado por Haukka (1969), citado por Thomas y Druce (1971), quien determinó 3.900 coliformes/ml de leche, al cabo de 2 días de almacenamiento a 4–5°C. También, excede las 1.369 y 1.200 colonias/ml encontradas por Pedraza y otros (1987) y Randolph y otros (1972), respectivamente. Bigalke (1978), haciendo variar la temperatura del agua para lavar el equipo de ordeña, obtuvo promedios de recuento que oscilaron entre 47 y 220 coliformes/ml en leche recolectada desde el estanque enfriador, después de acumular cuatro ordeñas sucesivas. De la revisión bibliográfica realizada por Lück (1972), se desprende que es posible obtener leche refrigerada, con recuentos tan bajos como 95 y 113 coliformes/ml, al final del período de almacenamiento.

Análogamente a lo descrito para las bacterias totales, los recuentos de coliformes exhibieron una amplia variabilidad entre muestras, comprobándose un rango de 100–92.500 colonias/ml, al término del almacenamiento predial. Sólo un 12% de las muestras satisface el estándar de 100 colonias de coliformes/ml propuesto por Twomey y Crawley (1968), citados por

Lück (1972), para leche refrigerada en estanques. Al considerar el límite de 200 colonias/ml sugerido por Thomas y Druce (1971), la evaluación de la calidad láctea no cambia sustancialmente, puesto que la proporción de muestras aceptables aumentaría apenas a un 20%. Si se utiliza como valor de referencia las 1.000 colonias/ml que proponen Tatini, Dabbah y Olson (1965) como límite apropiado para leche clase A, dicha proporción alcanzaría a un 36%.

Con respecto al efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de bacterias coliformes de la leche, en el Cuadro 1 se observa que los promedios de recuento inicial y final no se diferencian estadísticamente, lo que coincide con lo encontrado por Pedraza y otros (1987). De igual forma, en investigaciones sobre leche recolectada en días alternados realizadas en el extranjero, se concluyó que la población de coliformes permanece constante durante los 2 días de almacenamiento refrigerado (Thomas y Druce, 1971).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indicarían que las bacterias coliformes, en promedio, no experimentan incremento alguno en leche almacenada en estanques prediales a temperatura de refrigeración. Sin embargo, un análisis individual denota la presencia de muestras con un incremento marcado de su contenido de coliformes, si bien en la mayoría de ellas estos microorganismos permanecieron constantes o sufrieron alzas o reducciones moderadas en su número. Por otra parte, mediante el análisis de correlación entre los recuentos iniciales y finales de coliformes, se determinó un coeficiente de 0,74 ($P \leq 0,001$) (Cuadro 2), valor que viene a corroborar el alto grado de asociación existente en los recuentos detectados entre ambas instancias de medición. Esto a su vez reitera la importancia del control de la flora coliforme en las primeras etapas del proceso de extracción de leche.

Los elevados recuentos de coliformes detectados en este trabajo, corroboran resultados previos obtenidos en lecherías de la misma zona (Pedraza y otros, 1987) y señalan la conveniencia de someter a investigación las causas de este problema. Presuntivamente, podrían estar relacionados con un elevado nivel de contaminación por coliformes del agua utilizada en el lavado e higienización de los equipos de ordeña (Agüero, Pedraza y Godoy, 1987), así como con una rutina inadecuada de lavado y secado de los pezones, los cuales están expuestos a contaminación provenientes del ambiente de confinamiento de las vacas (Bradley, 1987). Según este último autor, ésta es una de las explicaciones más probables de los altos recuentos de coliformes en la leche, cuando los equipos de ordeña se encuentran aparentemente limpios a la inspección. Adicionalmente a estos factores, que inciden en la contaminación inicial, los resultados del presente trabajo

sugerirían la existencia de especies de coliformes con características psicrótroficas, que se desarrollan abundantemente pese a su bajo número inicial.

Recuento de psicrótrofos

El promedio inicial de 35.544 psicrótrofos/ml (Cuadro 1), excede las 1.000 y 2.975 colonias/ml obtenidas en leche recién ordeñada por Ogawa (1967), citado por Cousin (1982), y Pedraza y otros (1987), respectivamente. Del análisis del promedio de psicrótrofos a las 36 hr de almacenamiento (323.524/ml), se deduce que éste supera notablemente los valores publicados. Pedraza y otros (1987) encontraron 84.480 colonias/ml, al cabo de 48 hr de almacenamiento refrigerado; mientras que Randolph y otros (1973) comunican un promedio de 25.000 psicrótrofos/ml en muestras de leche de estanques prediales. Por su parte, Bigalke (1978) obtuvo valores que promediaron entre 800 y 3.300 psicrótrofos/ml, en leche almacenada en estanques enfriadores de ocho predios.

El rango de microorganismos psicrótroficos, al momento de la recolección predial, fue extremadamente amplio (2.000 a 5.775.000 colonias/ml) y se compara desfavorablemente con lo informado por Andrey y Frazier (1959), cuyos recuentos en leche clase A recolectada día por medio fluctuaron entre 300 y 4.800 colonias/ml. También sobrepasa al determinado por Randolph y otros (1973), el que osciló entre 5 y 430.000 colonias/ml y al encontrado por Pedraza y otros (1987), en leche proveniente de predios de la misma zona estudiada en el presente trabajo (1.000 a 500.000 colonias/ml).

Al someter a evaluación los valores de recuento de bacterias psicrótroficas, una vez finalizado el período de almacenamiento predial, un 16% de las muestras analizadas está dentro del límite sugerido por Lück (1972), quien considera la posibilidad de obtener leche con recuentos < 5.000 psicrótrofos/ml, si los equipos se higienizan apropiadamente; en tanto que un 28% presenta recuentos < 10.000 psicrótrofos/ml, lo que según Richard (1981), es factible lograr en predios que han alcanzado un buen nivel higiénico. También se han propuesto como límites para el contenido de bacterias psicrótroficas en la leche, recuentos de 16.000 (Lück y Clark, 1970; citados por Lück, 1972) y de 20.000 colonias/ml (Tatini y otros, 1965), los cuales son satisfechos por el 40% de las muestras examinadas.

Los datos expuestos en el Cuadro 1 demuestran un aumento significativo de la flora psicrótrofica de la leche refrigerada, en el período que media entre su obtención y recolección. La diferencia entre promedios, equivale a un incremento de 9,1 veces en el número inicial de psicrótrofos, comparativamente me-

nor al determinado por Pedraza y otros (1987), quienes informan de un alza de 28,4 veces entre las 0 y 48 hr de almacenamiento refrigerado.

No obstante, los resultados del presente trabajo revelarían una situación coincidente con la descrita por Orr y otros (1964), Smith y Mitchell (1966) y Hartley y otros (1969), todos citados por Lück (1972), los cuales observaron un aumento apreciable en el número de psicrótrofos durante la fase de almacenamiento predial. En oposición a ello, numerosos autores han comprobado que la recolección de leche en días alternados, no afecta o sólo incide levemente en el recuento de bacteria psicrotóricas, particularmente si su calidad inicial es buena (Thomas, 1958; Andrey y Frazier, 1959; Thomas y Druce, 1971; Lück, 1972).

El coeficiente de correlación de 0,74 ($P \leq 0,001$) entre los recuentos de psicrótrofos a las 0 y 36 hr de almacenamiento refrigerado (Cuadro 2), estaría indicando un grado de asociación similar al detectado entre las concentraciones iniciales y finales de bacterias totales y coliformes. Sin embargo, el rango de variabilidad observado en la tasa de crecimiento de los psicrótrofos (0,6 a 182 veces) y la magnitud de cambio expresada a través de las ecuaciones de regresión en las muestras de leche analizadas, fueron comparativamente mayores a lo registrado para las bacterias totales (0,1 a 11,9 veces) y los coliformes (0,3 a 77 veces). Esta situación dificultaría predecir la calidad láctea, basándose en la contaminación inicial de estos microorganismos y es compatible con el menor coeficiente de correlación ($r = 0,51$; $P \leq 0,01$), entre los recuentos iniciales y finales de psicrótrofos, obtenido con los datos originales no expresados en logaritmos base 10, fenómeno que no ocurrió para los recuentos de bacterias totales ni de coliformes.

Lo anterior sería atribuible, en parte, a diferencias en la flora psicrotófica predominante en cada muestra, puesto que se han descrito variaciones considerables en la tasa de crecimiento que exhiben distintos géneros de psicrótrofos (Marth y Frazier, 1957; citados por Thomas, 1958; Andrey y Frazier, 1959; Richard, 1981). Estos antecedentes permiten suponer que el

elevado incremento mostrado por estas bacterias, no sería consecuencia sólo de un alto número inicial, sino también de la presencia de ciertos microorganismos que se multiplican activamente, como lo señalan Druce y Thomas (1972).

Otros aspectos que podrían contribuir a explicar la alta tasa de crecimiento de los psicrótrofos y su variabilidad entre predios, son eventuales fluctuaciones en la temperatura de almacenamiento de la leche en los estanques (Thomas y Druce, 1971) e incrementos en el tiempo en que el estanque es capaz de enfriarla a $< 5^{\circ} \text{C}$. El retraso del enfriamiento, ya sea por falta de pre-enfriadores o por fallas del sistema de refrigeración de los estanques, podría condicionar un crecimiento rápido de los psicrótrofos, aun cuando inicialmente se encuentren en bajo número (Twomey y Crawley, 1969, citados por Lück, 1972; Standhouders, 1981).

Cabe señalar que 12 de 25 lecherías disponían de sistemas de pre-enfriamiento de la leche, antes de ser depositada en el estanque; de tal forma que al ingresar a éste, tarda menos tiempo en alcanzar la temperatura adecuada de almacenamiento. Analizando los recuentos bacterianos de leche provenientes de predios con y sin pre-enfriadores, se determinó que el incremento entre los promedios inicial y final de los recuentos de bacterias psicrotóricas, fue menor en los primeros: 1,2 y 9,7 veces, respectivamente.

Los valores de recuento de bacterias psicrotóricas, al término del período de almacenamiento refrigerado, corroboran los resultados obtenidos en una investigación anterior (Pedraza y otros, 1987) y ponen de manifiesto la necesidad de controlar la contaminación inicial y el desarrollo de este tipo de microorganismos, dadas las consecuencias que pueden provocar en los productos lácteos. La capacidad de almacenamiento de la leche y la calidad de los productos lácteos, como quesos y leches U.H.T., se ven afectadas por una serie de alteraciones en el sabor y olor, que resultan principalmente de la actividad lipolítica y/o proteolítica de estos microorganismos, fundamentalmente debido a la acción de enzimas que resisten las temperaturas de pasteurización (Cousin, 1982).

RESUMEN

Se tomaron muestras de leche en 25 predios de la Región Metropolitana y de la VI Región al comienzo y el término del almacenamiento en estanques enfriadores (0 y 36 hr, respectivamente). Luego, se llevaron en frío al laboratorio, para determinar los recuentos/ml

de bacterias totales (RBT), coliformes (RC) y psicrotóricas (RP). Los resultados se estudiaron estadísticamente mediante análisis de variancia, correlación y regresión simples.

Los promedios a las 0 y 36 hr fueron: RBT = 131.368a y 287.956b ($P \leq 0,05$); RC = 9.780a y 9.708a; RP = 35.544a y 323.524b ($P \leq 0,01$). Considerando diferentes estándares para recolección en días alternados, la calidad bacteriológica de la leche sería apropiada en el 8 a 60, 12 a 36 y 16 a 40% de los casos, al ser evaluada según RBT, RC y RP, respectivamente. Los coeficientes de correlación entre los recuentos iniciales y finales fueron: RBT: 0,79 ($P \leq 0,001$); RC: 0,74 ($P \leq 0,001$) y RP: 0,74 ($P \leq 0,001$).

Se concluye que la recolección de leche en días alternados se vería afectada principalmente por RP y RBT y en menor medida, por RC. La carga microbiana final dependería de los recuentos iniciales, aunque existe variabilidad entre predios, particularmente en lo que respecta a RP.

LITERATURA CITADA

- AGGER, P. 1981. The bacteriological influence on raw milk during collection and storage. En: Symposium on Bacteriological Quality of Raw Milk. FIL-IDF. Kiel, 8–10 Sep. 1981. p.: 363–368.
- AGUERO E., HERNAN, PEDRAZA G., CARLOS y GODOY O., SELFA. 1987. Calidad higiénica del agua y su relación con el contenido microbiano de la leche. *Agricultura Técnica (Chile)* 47 (2): 136–141.
- ANDREY, Jr. J. and FRAZIER, W.C. 1959. Psychrophiles in milk held two days in farm bulk cooling tanks. *J. Dairy Sci.* 42 (11): 1781–1784.
- BIGALKE, D.L. 1978. Effect of low-temperature cleaning on microbiological quality of raw milk and cleanliness of milking equipment on the farm. *J. Food Prot.* 41 (11): 902–906.
- BRADLEY, R.L. 1982. Efficient cleaning with warm water. *J. Food Prot.* 45 (11): 1010–1012.
- BRAZIS, A.R. and BLACK, L.A. 1962. Bacterial counts of bulk milk for interstate shipment. II. Influence of farm and plant practices. *J. Milk Food Technol.* 25 (8): 240–247.
- COUSIN, M.A. 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: A review. *J. Food Prot.* 45 (2): 172–207.
- CHILE-INN, Instituto Nacional de Normalización. 1979. Manual de normas chilenas para la determinación de la calidad de la leche cruda. Santiago.
- DRUCE, R. G. and THOMAS, S. B. 1972. Bacteriological studies on bulk milk collection: pipeline milking plants and bulk milk tanks as sources of bacterial contamination of milk – A review. *J. Appl. Bact.* 35: 253–270.
- HAVERBECK, JAVIER. 1982. Evolución de la calidad higiénica de la leche cruda, medida a través del tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM). En: VI Seminario Nacional de Análisis de la Industria Lechera. Valdivia. Centro Tecnológico de la Leche. Universidad Austral de Chile, 2–3 diciembre 1982. 3 p. (mimeografiado).
- IDF—International Dairy Federation. 1981. Summary reports and conclusions. En: Symposium on Bacteriological Quality of Raw Milk. FIL-IDF. Kiel, 8–10 Sept. de 1981. p.: 178–185.
- JACKSON, H. and CLEGG, L.F.L. 1965. Effect of preliminary incubation (55° F/18 h) on microflora of raw bulk tank milk, with some observations on microflora of milking equipment. *J. Dairy Sci.* 48: 407–409.
- LUCK, H. 1972. Bacteriological quality tests for bulk cooled milk. *Dairy Sci. Abs.* 34 (2): 101–122.
- MAGARIÑOS, HAROLDO. 1978. Análisis microbiológico de leche y productos lácteos. Manual práctico. Valdivia. Centro Tecnológico de la Leche, Universidad Austral de Chile. 243 p.
- MIKOLAJCIC, E.M. and SIMON, N.T. 1978. Heat resistant psychrotrophic bacteria in raw milk and their growth at 7° C. *J. Food Prot.* 41 (2): 93–95.
- PEDRAZA G., CARLOS, AGUERO E., HERNAN y GODOY O., SELFA. 1987. Efecto del tiempo de almacenamiento refrigerado sobre la calidad bacteriológica de la leche. *Agricultura Técnica (Chile)* 47 (2): 142–147.
- PEDRAZA G., CARLOS, JARPA H., CRISTIAN, HARGREAVES B., ANTONIO y AGUERO E., HERNAN. 1981. Antecedentes sobre contaminación bacteriana de la leche entre predio y planta y factores que la influyen. *Agricultura Técnica (Chile)* 41 (4): 233–237.
- PINTO, M. and HAVERBECK, J. 1978. Variations in the quality of raw milk. Farm-dairy industry phase. *Revista do ILCT* 33 (195): 3–12.
- RANDOLPH, H.E., CHACRABORTY, B.K., HAPTON, O., and BOGART, D.L. 1973. Microbial counts of individual producer and commingled grade A raw milk. *J. Milk Food Technol.* 36 (3): 146–151.
- RICHARD, J. 1981. Microbiological aspects of cold cleaning with an iodophor of milk pipelines installations. *J. App. Bact.* 50: 229–238.
- SOGAARD, H. and LUND, R. 1981. Psychrotrophic counts in raw milk and the keeping quality of pasteurized milk products. En: Roberts *et alii* (Eds.). Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity. London, Ac. Press. p.: 87–95.
- SOKAL, R.R. and ROHLF, F.J. 1969. Biometry, the principles and practices of statistics in biological research. San Francisco, W.H., Freeman. 776 p.

STADHOUDERS, J. 1981. Cooling and thermization as a mean to extend the keeping quality of raw milk. En: Symposium on Bacteriological Quality of Raw Milk. FIL-IDF. Kiel, 8-10 Sept. de 1981. p.: 19-28.

TATINI, S.R., DABBAH, R., and OLSON, J.C. 1965. Interrelationships among some bacteriological methods used for the examination of farm bulk tank milk supplies. J. Milk Food Technol. 28 (12): 368-371.

THOMAS, S.B. 1958. Psychrophilic microorganisms in milk and dairy products. Part I. Dairy Sci. Abs. 20 (5): 357-370.

THOMAS, S.B. and DRUCE, R.G. 1971. Bacteriological quality of alternate day collected farm bulk tank milk. Dairy Sci. Abs. 33 (5): 339-342.

CORRECCIONES AL VOL. 49, N° 3 — 1989

Página 237, columna derecha, párrafo cuatro: Los últimos términos de las fórmulas deben llevar una t, quedando como sigue:

$$e^{-0,027096t} \text{ y } e^{-0,03073t}$$

Páginas 238 y 239: Las figuras 3 y 4 aparecen intercambiadas

Página 255, columna derecha, párrafo siete:

Dice: $\gamma_{ij} = \mu T_i + B_j + E_{ij}$; Debe decir: $\gamma_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}$

Dice: E_{iJ} ; Debe decir: E_{ij}