

**CONTROL DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN LECHE UHT, PRODUCTOS
LÁCTEOS UHT Y PASTEURIZADOS EN PASTEURIZADORA SANTODOMINGO S.A
SIMIJACA, CUNDINAMARCA.**

MILENA ALEJANDRA BECERRA SUAREZ



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER**

2023

**CONTROL DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN LECHE UHT, PRODUCTOS
LÁCTEOS UHT Y PASTEURIZADOS EN PASTEURIZADORA SANTODOMINGO S.A
SIMIJACA, CUNDINAMARCA.**

MILENA ALEJANDRA BECERRA SUAREZ

**TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL
TÍTULO DE MICROBIÓLOGO**

TUTOR ACADEMICO

JOSÉ FÉLIX ORTIZ LEMUS PHD.

HECTOR EDUARDO SANCHEZ ANTONIO

DIRECTOR DE TRABAJO

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER

2023

NOTA DE ACEPTACIÓN:

Firma Del Jurado

Firma Del Jurado

Pamplona, Agosto 2023.

Agradecimientos

Este trabajo no habría sido posible sin el apoyo incondicional de personas valiosas que han estado a mi lado. En primer lugar, quiero agradecer a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, también expresar mi profundo agradecimiento a mi asesor académico José Félix Ortiz Lemus por su paciencia y guía a lo largo de este trabajo, a todos los miembros de Pasteurizadora Santo Domingo S.A por haberme acogido durante mi período de prácticas profesionales por brindarme la oportunidad de adquirir habilidades y conocimientos.

En especial agradecerle con todo mi corazón a mi madre que, aunque nunca envejecerá me acompañó y creyó en mí. A mi familia por su amor incondicional, constante apoyo y por celebrar conmigo cada pequeño avance. Agradezco a mis amigos, compañeros de clase y a los docentes de la Universidad de Pamplona por contribuir tiempo y dedicación en mi educación y formación profesional.

Tabla de contenido

1.	Introducción	14
2.	Objetivos	17
2.1	Objetivo General	17
2.2	Objetivos Específicos	17
3.	Justificación	18
4.	Marco referencial.....	20
4.1	Leche	20
4.2	Tipos de microorganismos presentes en la leche.....	21
4.2.1	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	22
4.2.2	<i>Bacillus</i>	22
4.2.3	<i>Pseudomonas</i>.....	23
4.2.4	Lactobacilos	23
4.2.5	<i>Micrococcus</i>	24
4.2.6	<i>Yersinia enterocolitica</i>	24
4.2.7	<i>Escherichia coli</i>.....	25
4.2.8	<i>Campylobacter jejuni</i>	25
4.3	Formadores de esporas aeróbicas en la leche.....	26
4.3.1	<i>Bacillus sporothermodurans</i>.....	26

4.3.2 Biopelículas.....	27
4.3.2.1 Formación de biopelículas.....	28
4.4 Control de calidad de la cadena productiva de la leche	31
5. Área de estudio.....	32
6. Bases legales.....	34
6.1 Resoluciones.....	34
6.2 Decretos.....	35
6.3 Normas Técnicas Colombianas.....	35
7. Metodología	36
7.1 Análisis microbiológico de leche cruda	37
7.1.1 Análisis de esporas altamente resistentes al calor (HHRS) en leche cruda ..	37
7.2 Análisis microbiológico de productos UHT	38
7.2.1 Análisis de microbiológico de aerobios mesófilos	40
7.2.2 Esterilidad comercial (10 Días).....	41
7.3 Análisis fisicoquímico de productos UHT.....	42
7.3.1 Determinación de pH.....	42
7.3.2 Determinación de acidez.....	43
7.4 Análisis microbiológicos internos en planta	44
7.4.1 Análisis de agua potable por filtración de membrana.....	44

7.4.2	Análisis de ambientes.....	45
7.4.3	Análisis de manipuladores	46
7.5	Análisis microbiológico de kumis y bebida láctea fermentada	47
8.	Cronograma de actividades.....	49
9.	Resultados y discusión	50
9.1	HHRS en leche cruda.....	50
9.2	Análisis de microbiológico de aerobios mesófilos	53
9.3	Esterilidad comercial (10 días)	54
9.4	Análisis fisicoquímico	55
9.5	Análisis de agua potable por filtración de membrana.....	57
9.6	Análisis de ambientes.....	61
9.7	Análisis de manipuladores	67
9.8	Análisis microbiológico de kumis y bebida láctea fermentada	70
10.	Conclusiones	72
11.	Recomendaciones	74
12.	Glosario	75
13.	Bibliografía	76
14.	Anexos	88
14.1	Cronograma Muestreo Análisis Microbiológicos CC-CR-001	88

Lista de tablas

Tabla 1. Descripción de los análisis realizados en Pasteurizadora SantoDomingo S.A	36
Tabla 2. Parámetros microbiológicos de rutina estipulados por la Norma Técnica Colombiana 4433 de 2006 para esterilidad comercial para crema de leche Ultrapasteurizada (UHT)	39
Tabla 3. Parámetros microbiológicos estipulados por la Norma Técnica Colombiana 5246 de 2004 para bebida láctea con avena UAT (UHT) ultra alta temperatura larga vida.	39
Tabla 4. Requisito microbiológico para la leche UAT (UHT) ultra alta temperatura larga vida establecidos en Norma Técnica Colombiana 3856 de 2004	40
Tabla 5. Requisitos fisicoquímicos de leche UAT (UHT) ultra alta temperatura larga vida establecidos en Norma Técnica Colombiana 3856 de 2004	42
Tabla 6. Áreas de toma de muestra para análisis de aguas	45
Tabla 7. Criterios de aceptación y rechazo en el recuento de aerobios mesófilos y mohos y levaduras en áreas de proceso para análisis de ambientes de acuerdo a controles internos de la empresa.	46
Tabla 8. Parámetros microbiológicos estipulados por la Resolución 1407 de 2022 del Ministerio de Salud y Protección Social para leche fermentada	48
Tabla 9. Muestras analizadas bajo esterilidad comercial durante los meses de enero a mayo	55
Tabla 10. Recuento de coliformes totales, fecales, mohos y levaduras en kumis y bebida láctea fermentada durante abril	70

Lista De Figuras

- Figura 1.** Etapas de desarrollo del biofilm: (1) Aproximación a la superficie/motilidad; (2) Adhesión a la superficie; (3) Adhesión y formación/maduración de la matriz; (4) Formación y liberación equilibrio/dispersión y (5) Inicio de un nuevo ciclo/propagación**29**
- Figura 2.** Instalaciones Pasteurizadora SantoDomingo S.A**32**
- Figura 3.** Ubicación del municipio de Simijaca en el departamento de Cundinamarca.**33**
- Figura 4.** Tinción de Gram y resultados de pruebas bioquímicas. A. Tinción de Gram, bacilos cortos, objetivo 100x. B. Prueba catalasa negativa. C. Prueba catalasa positiva. D. Prueba oxidasa negativa. E. Prueba oxidasa positiva.**51**

Lista de graficas

Grafica 1. Resultados de aerobios mesófilos en las muestras de leche UHT analizadas entre enero y mayo del 2023.....	54
Grafica 2. Análisis fisicoquímico a productos tratados mediante UHT	56
Grafica 3. Recuento de aerobios mesófilos en agua potable en Planta UHT	58
Grafica 4. Recuento de aerobios mesófilos en agua potable en Planta de Lacteos	58
Grafica 5. Recuentos de Mohos y Levaduras en ambientes de Planta UHT.	61
Grafica 6. Recuentos de Aerobios Mesófilos en ambientes de Planta UHT.	62
Grafica 7. Recuentos de Mohos y Levaduras en ambientes de Planta lacteos	62
Grafica 8. Recuentos de Aerobios Mesófilos en ambientes de Planta lacteos	65
Grafica 9. Recuentos de aerobios mesófilos en manipuladores Planta UHT	68
Grafica 10 Recuentos de aerobios mesófilos en manipuladores Planta de lácteos.....	68

Lista de Ecuaciones

Ecuación 1: Acidez expresada como ácido láctico	43
--	-----------

Resumen

La leche es un alimento fundamental en la dieta humana, los tratamientos UHT se han convertido en una técnica ampliamente utilizada para extender la vida útil de la leche y productos lácteos. El objetivo general de este trabajo fue realizar el control de calidad a materia prima, producto semielaborado y productos terminados en Pasteurizadora Santo Domingo S.A - Simijaca, Cundinamarca. Durante enero y mayo se realizaron análisis de esporas altamente resistentes al calor (HHRS) a leche cruda destinada para la línea de producción UHT mediante tinción de Gram y pruebas bioquímicas catalasa y oxidasa, análisis microbiológico de aerobios mesófilos y fisicoquímico pH y acidez a productos tratados mediante UHT bajo los parámetros de la Norma Técnica Colombiana (NTC) 3856 de 2004, crema de leche NTC 4433 de 2006 y bebida con leche y avena según la NTC 5246 de 2004. Se realizaron muestreos en diferentes puntos de la planta de lácteos y planta UHT con el fin de realizar análisis microbiológico de agua potable mediante la técnica de filtración por membrana bajo los requisitos legales de la Resolución 2115 de 2007, análisis microbiológico de ambientes realizando la técnica de sedimentación y análisis a manipuladores por la técnica de frotis de manos teniendo en cuenta los parámetros establecidos en la NTC 5230 de 2003. Por último, el kumis y la bebida láctea fermentada fueron analizados realizando una dilución (10^{-1}) y sembrando en profundidad bajo los requisitos legales de la Resolución 02310 de 1986. Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos indican el cumplimiento con los criterios de calidad requeridos por la normatividad legal vigente y por los estándares internos de la empresa.

Palabras clave: Calidad microbiológica, *Bacillus sporothermodurans*, productos lácteos, Ultra High Temperature

Abstract

Milk is a fundamental food in the human diet, UHT treatments have become a widely used technique to extend the shelf life of milk and dairy products. The general objective of this work was to carry out quality control of raw material, semi-finished products and finished products in Pasteurizadora Santo Domingo S.A - Simijaca, Cundinamarca. During January and May, analyses of highly heat resistant spores (HHRS) were carried out on raw milk destined for the UHT production line by Gram staining and biochemical catalase and oxidase tests, microbiological analysis of mesophilic aerobes and physicochemical pH and acidity of products treated by UHT under the parameters of the Colombian Technical Standard (NTC) 3856 of 2004, milk cream NTC 4433 of 2006 and milk and oat drink according to NTC 5246 of 2004. Sampling was carried out at different points of the dairy plant and UHT plant in order to perform microbiological analysis of drinking water by membrane filtration technique under the legal requirements of Resolution 2115 of 2007, microbiological analysis of environments using the sedimentation technique and analysis of handlers by hand swab technique taking into account the parameters established in the NTC 5230 of 2003. Finally, the kumis and the fermented milk drink were analysed by dilution (10^{-1}) and seeding in depth under the legal requirements of Resolution 02310 of 1986. The results obtained from the microbiological and physicochemical analyses indicate compliance with the quality criteria required by current legal regulations and the company's internal standards.

Keywords: Microbiological quality, *Bacillus sporothermodurans*, dairy products, Ultra High Temperature.

1. Introducción

La leche de mamífero es un fluido biológico complejo producido por las glándulas mamarias. Es el primer alimento natural de los mamíferos y les proporciona toda la energía y los nutrientes necesarios para un crecimiento. La leche de vaca es el tipo de leche más consumida en el mundo tiene una larga tradición en la nutrición humana y es una de las bebidas más consumidas. Muchos países lo incluyen en sus recomendaciones dietéticas debido a su contenido en varios nutrientes importantes que ejercen efectos beneficiosos sobre la salud humana (Cimmino et al., 2023). El acopio formal de leche en Colombia se estima en 9 millones de litros por día, cerca del 47% del total de producción de leche de ganado bovino a nivel nacional. Colombia es el tercer país productor de leche en Suramérica y casi la totalidad de su producción se destina a satisfacer la demanda interna (Usuga R et al., 2021). Entre 1996 y 2018, la tasa de crecimiento de la productividad colombiana fue de 1.6% y no del 0.7% como reporta la FAO, este porcentaje de crecimiento puede ser comparable con la de grandes países productores como Nueva Zelanda y Estados Unidos (Alexander et al., s/f).

El análisis de la calidad higiénico-sanitaria de la leche es de gran importancia para una correcta producción y comercialización de productos lácteos, por lo que deben ser inocuos para esto se deben emplear buenas prácticas de higiene en el transcurso de la cadena láctea. La calidad de la leche en Colombia está asociada principalmente a medir aspectos de calidad vertical, es decir, aspectos que debe cumplir el producto como son la inocuidad y el valor

nutricional. Los factores de inocuidad para la leche cruda se dan bajo el recuento de unidades formadoras de colonias y asegurar que se encuentre libre de enfermedades como Brucelosis y Tuberculosis y en aspectos de valor nutricional (calidad composicional) se cuenta con el contenido de grasa y proteína (Alexander et al., s/f).

En la leche se pueden encontrar una amplia variedad de microorganismos patógenos y sus entornos *Salmonella*, *Escherichia coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus* y *Brucella melitensis*, pueden llegar a la leche desde el medio ambiente o de los animales (FAO, 2023). La detección de bacterias resistentes a altas temperaturas (HHRS- highly heat-resistant spores) impide los requisitos de esterilidad comercial y suscita pérdidas en el sector lácteo además de decomisar y destruir el producto, detectar este microorganismo en productos ultra-pasteurizados nos da un índice de la calidad e inocuidad de la leche (Quigley et al., 2013). Agregando a lo anterior -HHRS- también pueden estar presentes en las etapas del proceso de producción, insuficientes condiciones sanitarias de equipos o de utensilios, durante el transporte los camiones a los que no se les da un mantenimiento correcto o incluso en la planta de producción si no se implementan correctamente las buenas prácticas de manufactura, pueden facilitar su crecimiento.

En Colombia los requisitos que debe cumplir la leche que se importe y exporte para consumo humano están reguladas en el Decreto 616 de 2006; los requerimientos microbiológicos

de leche pasteurizada, ultrapasteurizada y leche en polvo además de las buenas prácticas ganaderas para su fabricación. Al mismo tiempo se menciona que los productos sometidos a tratamientos de ultrapasterización no deben presentar crecimiento microbiano posterior a la incubación a 35°C y 55°C.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Realizar el control de calidad a materia prima, producto semielaborado y productos terminados en la Pasteurizadora SantoDomingo S.A - Simijaca, Cundinamarca.

2.2 Objetivos Específicos

Determinar la presencia de esporas de *Bacillus sporothermodurans* en leche cruda destinada para la línea de producción UHT.

Verificar el cumplimiento de los requisitos microbiológicos y fisicoquímicos de los productos Leche, Crema de Leche y Bebida de Avena, tratados bajo ultra alta temperatura UAT (UHT) de acuerdo con la normatividad vigente.

Comprobar las buenas prácticas de los procedimientos de higiene, limpieza y desinfección de aguas, ambientes y manipuladores en la línea de producción UHT.

Verificar la calidad microbiológica en producto terminado kumis y bebida láctea fermentada.

3. Justificación

Para que un alimento sea inocuo es necesario que acate las exigencias de forma que pueda ser comercialmente apto y saludable para los consumidores y no suponga riesgo a la salud. Es importante tener en cuenta buenas prácticas en el manejo de la leche desde su producción, transporte, procesamiento, envasado y almacenamiento que sean vigilados por organismos del gobierno para que cumplan los requisitos mínimos y asegurar la inocuidad. Alimentos como la leche, presentan un riesgo elevado de contaminación y de deterioro; procesos de higiene, pasteurización y ultrapasteurización permiten a los productos procesados con vida útil prolongada como los lácteos, seguridad para ser consumida por los humanos. Si bien es cierto que con estos tratamientos disminuye la carga microbiana, aun así, algunos microorganismos superan estas barreras y se convierten en un problema para las industrias lácteas.

Se hace necesario comprender que la calidad de la leche UHT se ve afectada directamente por la calidad de la leche cruda, materias primas utilizadas, el procesamiento y las condiciones de almacenamiento. Por lo anterior es de suma importancia para las empresas del sector lácteo, como Pasteurizadora Santo Domingo S.A, vigilar la calidad de la leche cruda desde la recolección ya que no será apta para la producción de leche UHT, la eficiencia y rentabilidad de la maquinaria de procesamiento de la planta e incluso costos adicionales en el mantenimiento de estos. Lo anterior parece confirmar que con el paso del tiempo se hace necesario garantizar la inocuidad de los alimentos y en este caso la calidad de la leche con esto se consiguen productos

confiables para el mercado, por lo anterior se da el planteamiento y desarrollo de este trabajo. Pasteurizadora SantoDomingo S.A realiza controles internos como análisis de esporas altamente resistentes al calor y de mesófilos aerobios (48 horas) para obtener productos confiables y saludables como bebidas lácteas fermentadas, leche ultra alta temperatura UAT (UHT) entera, semidescremada y descremada deslactosada, bebida con leche y avena; productos ideales para todas las personas y de alta calidad, cumpliendo con las medidas establecidas en el Decreto 616 de 2006, mediante análisis microbiológicos, programas de buenas prácticas en el laboratorio y de manufactura, limpieza y desinfección asegurando así las características del producto final.

4. Marco referencial

4.1 Leche

Es el producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos, bufalinos y caprinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños completos, sin ningún tipo de adición, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración posterior. La leche es el alimento más completo por poseer diferentes nutrientes esenciales, es uno de los alimentos más valiosos y consumidos regularmente por millones de personas en todo el mundo (Yenew et al., 2022). La leche de vaca se produce a gran escala (Quigley et al., 2013), en 2022, se generó a nivel mundial alrededor de 544,2 millones de toneladas de leche de vaca (Statista, 2022).

La leche cruda normalmente tiene poca contaminación bacteriana cuando sale de la ubre del animal; sin embargo, a través de una variedad de vías, puede contaminarse con bacterias que se originan en fuentes ambientales, la propia vaca y el contacto con equipos contaminados (Martin et al., 2023). Es una matriz rica que contiene alrededor del 87% de agua, 5% de lactosa, 3,9% de grasa y 3,3% de proteína (Joubrane et al., 2022), La carga microbiana de la leche de vaca está influenciada por el estado de higiene y saneamiento de los ordeñadores, el entorno de ordeño, el proceso de ordeño, los utensilios de almacenamiento y transporte, y el agua utilizada para lavar los utensilios (Yenew et al., 2022). Las bacterias comensales habitan naturalmente en la superficie de la piel y, en consecuencia, en las glándulas intramamarias de la vaca lechera. Además, los microorganismos patógenos pueden atacar a la vaca, creando serios problemas de

inocuidad de los alimentos que podrían conducir en última instancia a la intoxicación alimentaria. Las bacterias patógenas que se encuentran en la leche representan una amenaza crítica para la salud humana y representan el 90 % de todas las enfermedades relacionadas con la leche (Joubrane et al., 2022).

4.2 Tipos de microorganismos presentes en la leche

Los microorganismos que se encuentran en la leche se pueden clasificar en grupos como patógenos y de deterioro, estos últimos son aquellos que deterioran la textura, el color, el olor o el sabor de la leche. También se pueden clasificar en función de sus cualidades naturales, como psicrotrofos, formadores de esporas, termodúricos, etc, incluyen *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, etc.

4.2.1 *Clostridium tyrobutyricum*

Bacilo Gram-positivo, bacteria termodúrica, estrictamente anaerobio (Ivy y Wiedmann, 2014), producen enzimas lipolíticas y proteolíticas estables al calor, pueden ser perjudiciales para la calidad del queso y la carga de estas bacterias en la leche (Skeie, 2010).

4.2.2 *Bacillus*

Los bacilos generalmente forman esporas estables al calor y sobreviven a la pasteurización, producen enzimas similares al cuajo que tienden a coagular la leche. De las muchas especies de *Bacillus* y géneros relacionados, la mayoría no causa enfermedad. Sin embargo, existen algunas especies que generan importantes enfermedades en los humanos. La enfermedad diarreica a menudo se asocia con alimentos ricos en proteínas (carne, verduras, budines y productos lácteos) y se cree que es causado por células vegetativas (ingeridas como células viables o esporas) (Lorenzo et al., 2018).

4.2.3 *Pseudomonas*

Las *Pseudomonas* producen lipasas termoestables, por lo que degradan las grasas y producen rancidez lipolítica. Una de las especies más comúnmente aisladas de la leche es *Pseudomonas fluorescens*. *Pseudomonas putrefaciens* causa deterioro al formar una mancha en la mantequilla.

4.2.4 Lactobacilos

Son un orden de bacterias grampositivas, aeróbicas y anaeróbicas facultativas. *Lactobacillus* es el género más grande dentro del grupo de bacterias del ácido láctico. Se utilizan principalmente en la fabricación de alimentos lácteos fermentados (De Angelis y Gobbetti, 2016). Las dos funciones beneficiosas más obvias de los lactobacilos son como cultivos iniciadores (para producir ácido rápidamente) y como cultivos probióticos. Estas bacterias se encuentran generalmente en productos lácteos, producen ácido láctico como el principal producto metabólico de la fermentación de carbohidratos. Además, el ácido láctico y otros productos metabólicos contribuyen al perfil organoléptico y de textura de un alimento (Lorenzo et al., 2018).

4.2.5 *Micrococcus*

Los micrococos constituyen una parte importante de la flora de la leche cruda; algunos micrococos termodúricos sobreviven a la pasteurización (Bhowmik y Marth, 1990) y tienen tendencia a producir hinchazón en los envases de leche UHT.

4.2.6 *Yersinia enterocolitica*

Es una enterobacteria psicrotrófica gramnegativa de la familia *Enterobacteriaceae* (Ahmed et al., 2019), anaeróbico facultativo y no formador de esporas. *Yersinia enterocolitica* tiene importancia en salud pública por su capacidad de crecer en leche cruda o inadecuadamente procesada y en condiciones térmicas de baja temperatura por largos periodos. En este sentido, los métodos de conservación de productos lácteos comúnmente utilizados como refrigeración no reducen el riesgo de contaminación por esta bacteria. Por su composición química y ausencia de competencia microflora, la contaminación posterior al procesamiento de la leche pasteurizada proporciona un ambiente favorable para el crecimiento de este microorganismo (Raghianti et al., 2018).

4.2.7 *Escherichia coli*

Se caracteriza por ser bacilos anaerobios facultativos, no formadores de esporas y gramnegativos (Lorenzo et al., 2018), es una de las bacterias patógenas más importantes, que es un habitante normal del intestino grueso en humanos y animales de sangre caliente. Por lo tanto, *E. coli* puede transmitirse a la leche cruda y los productos lácteos por contaminación fecal durante el proceso de ordeño junto con prácticas higiénicas deficientes (Chaleshtori et al., 2017). Los cuatro grupos de este microorganismo han sido reconocidos en la leche como; enteropatógeno, enterotoxigénico, enteroinvasivo y colemorrágico, en un entorno de higiene inadecuado, la leche puede contaminarse en el momento del ordeño o el procesamiento de la leche.

4.2.8 *Campylobacter jejuni*

Es una bacteria gramnegativa y no formadora de esporas (Lorenzo et al., 2018), La contaminación de la leche cruda ocurre principalmente durante el proceso de ordeño, más comúnmente a través de la contaminación fecal de las ubres (Kenyon et al., 2020) Mientras que si la pasteurización de la leche no se realiza correctamente promueve la inactivación de las células vegetativas (Lorenzo et al., 2018).

4.3 Formadores de esporas aeróbicas en la leche

De los microorganismos que pueden entrar en la cadena de la leche en las granjas o a través de las líneas de procesamiento de productos lácteos, las bacterias formadoras de esporas son una preocupación particular ya que tienen la capacidad, cuando están en forma de esporas, de resistir condiciones ambientales adversas (Gopal et al., 2015). Uno de los problemas que reducen la vida útil de la leche es la presencia y el crecimiento de *Bacillus* (Hanson et al., 2005), son contaminantes importantes de la leche, debido a su alta resistencia al calor, las esporas de este microorganismo son capaces de sobrevivir al proceso de tratamiento térmico de la leche y provocar el deterioro del producto final (Kmiha et al., 2017), Se sabe que estos microorganismos causan un defecto en la leche llamado cuajado dulce (Hanson et al., 2005) además, aunque los tratamientos térmicos severos, como Ultra Alta Temperatura UAT (UHT) y la esterilización comercial, son eficaces para eliminar hasta el 99,99% de las esporas, estos tratamientos térmicos alteran significativamente el sabor de la leche (Doyle et al., 2015).

4.3.1 *Bacillus sporothermodurans*

B. sporothermodurans es una bacteria Gram positiva, aeróbica, mesófila, y formadora de esporas (Robertson, 2016) capaces de sobrevivir al procesamiento industrial de leche a temperatura ultra alta (UHT) (138-145 °C durante 2-10 s). Sin embargo, un aumento en la

temperatura y el tiempo de mantenimiento en un intento por inactivar las esporas de *B. sporothermodurans* puede afectar las cualidades organolépticas y nutricionales de los productos UHT (Cattani et al., 2013). Sus células vegetativas no son patógenas y no causan deterioro visible, ni de sabor en los productos UHT, pero la presencia de estas es considerada indeseable y no permite el cumplimiento de los requisitos legales establecidos (Castañeda, 2015). Las esporas de *B. sporothermodurans* son más resistentes que las esporas de muchos termófilos, los productos lácteos afectados incluyen la leche UHT entera, desnatada, evaporada o reconstituida, la leche con chocolate y leche en polvo (Lorenzo et al., 2018). Los primeros informes en la literatura sobre *B. sporothermodurans* aislado de leche UHT fueron en 1985 (Italia), 1990 (Austria) y 1995 (Alemania). Sin embargo, pocos estudios demuestran el comportamiento de este microorganismo en biopelículas (Alonso et al., 2022).

4.3.2 Biopelículas

Son comunidades complejas de uno o varios tipos de microorganismos cubiertas por una matriz (principalmente de exopolisacáridos) que les permite adherirse a superficies inertes, incluyen organismos como bacterias, hongos y protistas (Olanbiwoninu & Popoola, 2023). La característica fundamental de las biopelículas bacterianas es su amplia resistencia frente a una variedad de antimicrobianos, la cual es consecuencia de mecanismos distintos a los reportados para la bacteria en estado planctónico (Meneses & Landoni, 2012)

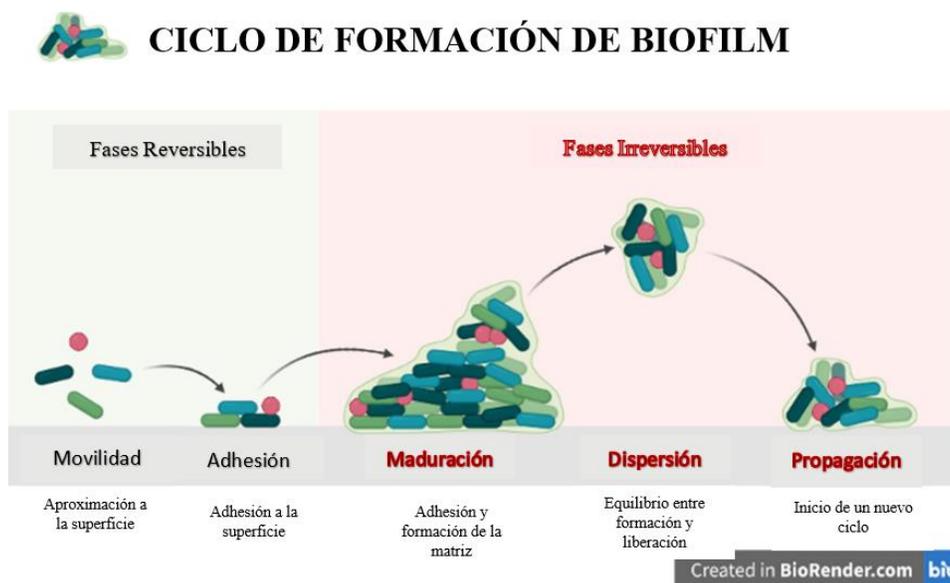
Más del 90% de las bacterias existen en forma de biopelículas y desarrollan biopelículas en superficies bióticas y abióticas, como acero inoxidable, guantes de goma, plástico que se utilizan en toda la industria alimentaria durante el procesamiento de alimentos. La contaminación microbiana relacionada con las biopelículas representa una grave amenaza para la calidad y la seguridad de los alimentos, similar a la corrosión del metal de las tuberías y los tanques, causando la reducción de la eficacia de la transferencia de calor, y el deterioro de la calidad de los alimentos y el acortamiento de la vida útil (Zhu et al., 2022).

4.3.2.1 Formación de biopelículas

Las biopelículas bacterianas suelen adherirse a una interfaz o entre sí y pueden demostrar una gran resistencia a diversos factores de estrés ambiental, como el calor, la acidificación y la cloración (Ban et al., 2023), en la industria alimentaria se suelen utilizar agentes químicos de limpieza junto con técnicas de limpieza *in situ* para eliminar las biopelículas; sin embargo, estos métodos no siempre son eficaces. El uso de enzimas es un enfoque alternativo para destruir las sustancias poliméricas extracelulares, lo que provoca la destrucción de las biopelículas y causa la lisis celular (Yang et al., 2023).

Figura 1.

Etapas de desarrollo del biofilm: (1) Aproximación a la superficie/motilidad; (2) Adhesión a la superficie; (3) Adhesión y formación/maduración de la matriz; (4) Formación y liberación equilibrio/dispersión y (5) Inicio de un nuevo ciclo/propagación.



Nota: la figura representa las etapas de formación de las biopelículas. Tomado de Biofilms and their impact on the food industry. En Saudi Journal of Biological Sciences (Vol. 30, Número 2) por Olanbiwoninu & Popoola, 2023.

1. Los microorganismos planctónicos se acercan inicialmente a una superficie en un medio acuoso para adherirse

2. Adhesión permanente basada en la generación de EPS mediada por microorganismos, ya que los grupos polihidroxi de los EPS colonizan las bacterias a la superficie mediante enlaces de hidrógeno

3. Formación de microcolonias en monocapa sobre la superficie que se fijan como resultado de la replicación por parte de los colonizadores iniciales (Guzmán-Soto et al., 2021) y avance de la biopelícula hacia una disposición tridimensional mediante la fijación de restos del entorno adyacente y la aparición de nuevas bacterias planctónicas

4. Por último, la expansión o dispersión en la que las células sésiles de la biopelícula encerradas en la matriz cambian a bacterias planctónicas que nadan libremente a través de la detección de quórum (QS) o de un mecanismo de señalización de célula a célula mediante procesos activos y pasivos

5.El ciclo comienza de nuevo. (Olanbiwoninu & Popoola, 2023).

4.4 Control de calidad de la cadena productiva de la leche

La leche es un producto altamente perecedero, y su seguridad y calidad se deterioran rápidamente si no se manipula en condiciones higiénicas. La mala calidad de la leche y los riesgos para la inocuidad de los alimentos son un desafío importante en el sector lácteo (Nyokabi et al., 2021), Los riesgos de contaminación y las probabilidades de crecimiento de la microflora contaminante están condicionados por las prácticas de higiene y la manipulación de la leche en las explotaciones, el almacenamiento y el transporte de la leche cruda a las instalaciones de procesamiento, las condiciones de procesamiento, la manipulación y el almacenamiento de los productos procesados (Ntuli et al., 2022).

Los alimentos pueden contaminarse con microorganismos en las fases de la cadena de producción o por los propios manipuladores en los lugares de preparación, almacenamiento, transporte y exposición para la venta de los productos destinados al consumo (Fonseca et al., 2020). Lo que quiere decir que se puede producir una contaminación en cualquier parte de la cadena alimentaria, incluida la venta (Aleksic et al., 2023), una vez que las bacterias acceden a la leche y los productos lácteos, algunas de ellas crecen y producen enzimas que pueden degradar las proteínas, la grasa y otros componentes de la leche, lo que provoca el deterioro de la calidad de la leche (Cattani et al., 2013). En consecuencia, existe un alto riesgo de contaminación de la leche fresca y proliferación de patógenos de enfermedades transmitidas por los alimentos debido a sus componentes nutricionales, pH neutro y alta actividad de agua (Ledo et al., 2020).

5. Área de estudio

Pasteurizadora SantoDomingo S.A esta ubicada en Simijacá – Cundinamarca – Colombia

Figura 2

Instalaciones Pasteurizadora SantoDomingo S.A



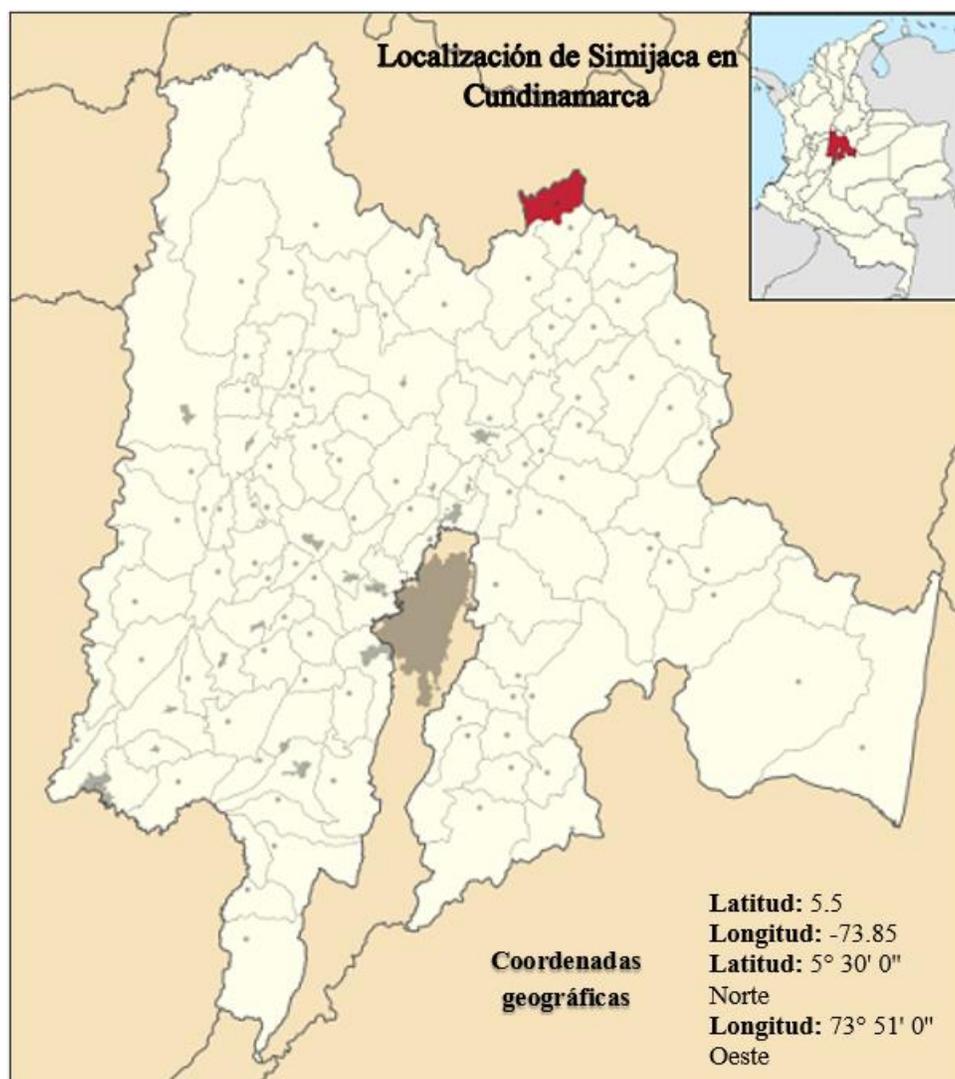
Pasteurizadora SantoDomingo (2023) [imagen] <https://santodomingo.com.co/nosotros/>

Compañía en donde se producen y comercializan alimentos saludables y confiables, con tecnología avanzada, el mejor servicio y un alto sentido de responsabilidad, asegurando el crecimiento sostenible de la organización y contribuyendo con el desarrollo del país

(Santodomingo S.A., 2023)

Figura 3

Ubicación del municipio de Simijaca en el departamento de Cundinamarca.



Nota: la imagen muestra la ubicación y coordenadas geográficas del municipio de Simijaca. Tomado de Galería de mapas por alcaldía municipal de Simijaca, (s.f).

6. Bases legales

6.1 Resoluciones

Resolución 02310 de 1986 del ministerio de salud de Colombia: Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979, en lo referente a procesamiento, composición, requisitos, transporte y comercialización de los Derivados Lácteos.

Resolución 2115 de 2007 del ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial y ministerio de protección social : Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano.

Resolución 1407 de 2022 del ministerio de salud y protección social: Por la cual se establecen los criterios microbiológicos que deben cumplir los alimentos y bebidas destinados para consumo humano.

6.2 Decretos

Decreto 616 de 2006 del ministerio de protección social: Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expendia, importe o exporte en el país.

6.3 Normas Técnicas Colombianas

NTC 3856 de 2004: Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las leches UAT (UHT) ultra alta temperatura larga vida y leche ultrapasteurizada

NTC 5246 de 2004: Esta norma establece los requisitos y ensayos que debe cumplir la bebida láctea con avena obtenida por cualquiera de los medios de higienización que se incluyen en la presente norma.

NTC 5230 de 2003: Microbiología de alimentos y alimento para animales. Método horizontal de técnicas de muestreo de superficies usando cajas de contacto y método de escobillón

NTC 4433 de 2006: Método para evaluar la esterilidad comercial en alimentos

7. Metodología

Los apartados descritos a continuación forman parte de las actividades realizadas durante este tiempo de prácticas bajo lineamientos y metodologías estipuladas por el laboratorio de calidad de Pasteurizadora SantoDomingo S.A. La tabla 1 presenta los tipos de muestras, métodos, así como criterios de aceptación y rechazo e igualmente la normatividad legal vigente.

Tabla 1

Descripción de los análisis realizados en Pasteurizadora SantoDomingo S.A

Muestra	Criterio a medir	Método	Medio	Criterios de aceptación	Criterios de rechazo	Requisitos legales
Leche cruda (ganaderos, rutas externas e internas)	<i>Bacillus sporothermodurans</i>	SPE	Agar Brain-Heart-Infusion (BHI)	UFC		Control de proveedores
Leche ultra alta temperatura UAT (UHT), Avena y Crema de leche	Aerobios mesófilos	RPP RPE	Placa de petrifilm 3M aerobic count (AC)	< 1 UFC/ml	≥ 1 UFC/ml	NTC 3856 de 2004 Resolución 02310 de 1986
	Esterilidad comercial		Agar Brain Heart Infusion (BHI) suplementado con almidón	Ausencia	Presencia	NTC 5246 de 2004
Análisis de agua	Coliformes totales	FM	Plate Count (PC)	<1 UFC/100cm ³	>1 UFC/100cm ³	Resolución 2115 de 2007
	Coliformes fecales y E.coli		Chromocult	Ausencia	Presencia	
	Aerobios mesófilos			<100 UFC/100cm ³	>100 UFC/100cm ³	
Análisis de manipuladores	Aerobios mesófilos	RPP	Plate Count (PC)	≤ 60 UFC/área mano.	> 60 UFC/área mano.	NTC 5230 de 2003
	Coliformes Totales E.coli		Violeta cristal-Rojo neutro-Bilis-Lactosa (VRB)	<1 UFC/área mano.	>1 UFC/área mano.	
Producto terminado Pasteurizado	Coliformes Totales y Fecales	RPP RPE	Violeta cristal-Rojo neutro-Bilis-Lactosa (VRB)	Especificaciones de la ficha técnica estipulada para cada producto		Resolución 02310 de 1986
	Mohos y levaduras		Placa de petrifilm 3M hongos y levaduras			

Nota: - SPE: Siembra por estría. - RPP: Recuento en placa profundidad. – RPE: Recuento petrifilm. – FM: filtración por membrana.

7.1 Análisis microbiológico de leche cruda

Es fundamental establecer parámetros mínimos de recepción de la materia prima siendo apta para el proceso productivo, el control de proveedores reúne ciertos criterios que debe cumplir la leche cruda en la industria láctea para asegurar la inocuidad y calidad del producto final.

7.1.1 Análisis de esporas altamente resistentes al calor (HHRS) en leche cruda

El muestreo se realizó según lo planteado en el plan de muestreo para materia prima leche cruda CC-PL-001, de la siguiente forma, se tomó una muestra de leche cruda (mínimo 100ml) previamente aceptada con pruebas de plataforma para ingreso a proceso productivo; en un tubo de ensayo se agregó 1 ml de polifosfato de sodio y se completó el volumen final del tubo con la muestra de leche, posteriormente se realizó choque térmico por 10 minutos a 80°C, se dejó enfriar a temperatura ambiente y finalmente por un periodo de 2 días a 35°C se incubó.

Pasado el tiempo de incubación se sembró usando la técnica de siembra por estría en placa de agar Brain-Heart-Infusion (BHI) y se incubó por 2 días a 35°C. A partir de las colonias obtenidas se procedió a la caracterización presuntiva de las colonias de *Bacillus sporothermodurans* mediante tinción de Gram y las pruebas bioquímicas de catalasa y oxidasa,

los resultados positivos esperados, son bacilos Gram y reacciones positivas en las dos pruebas bioquímicas, respectivamente

- Tinción Gram: Con un asa se recogió la muestra y se fijó al portaobjeto pasándolo por la llama del mechero. La superficie se cubrió con solución de cristal violeta por 1min, se lavó con agua destilada y posteriormente se colocó lugol por 30s, enseguida se aplicó alcohol-acetona por 15s y se lavó con agua destilada. Finalmente se cubrió con safranina durante 1min, se lavó y dejó secar.
- Test de catalasa: En un portaobjeto con el frotis se agregó una gota de peróxido de hidrógeno, la formación de burbujas indicó un resultado positivo.
- Test de oxidasa: Con un asa se seleccionó una colonia y se extendió en la zona reactiva de la tira, la lectura fue inmediata y se consideró como resultado positivo de la reacción la producción de color azul en la zona.

7.2 Análisis microbiológico de productos UHT

En el presente numeral se describirá según el instructivo de muestreo para el análisis microbiológico y fisicoquímico de producto terminado UAT-UHT, CC-IT-012, el análisis microbiológico de microorganismos mesófilos, CC-TC-013 sección 5.5, que se realiza de forma rutinaria a productos tratados mediante UHT, entre estos, la leche entera, leche semidescremada deslactosada, leche descremada deslactosada conforme a la Norma Técnica Colombiana 3856 de

2004, para la crema de leche bajo Norma Técnica Colombiana 4433 de 2006 y para la bebida con leche y avena según la Norma Técnica Colombiana 5246 de 2004. Además, se practicó análisis fisicoquímicos a las leches líquidas.

Tabla 2

Parámetros microbiológicos de rutina estipulados por la Norma Técnica Colombiana 4433 de 2006 para esterilidad comercial para crema de leche Ultrapasteurizada (UHT)

Crema Entera Ultra Alta Temperatura UAT (UHT)	AEROBIOSIS		ANAEROBIOSIS	
	35°C	55°C	35°C	55°C
	Ausencia		Ausencia	

Tabla 3

Parámetros microbiológicos estipulados por la Norma Técnica Colombiana 5246 de 2004 para bebida láctea con avena UAT (UHT) ultra alta temperatura larga vida.

Requisito	n	m	M	c
Recuento total de microorganismos mesofílicos/0,1 ml	5	<1	-	0
Esporas anaeróbicas/cm ³	5	<10	10	1
Esporas aeróbicas/cm ³	5	<10	10	1

en donde:

n: número de muestras que se van a examinar

c: número de muestras permitidas con resultado entre m y M

m: Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad

M: Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad

7.2.1 Análisis microbiológico de aerobios mesófilos

Una vez termina la producción, los productos seleccionados, tratados mediante UHT, se analizan 48 horas después de su envasado, previa incubación durante 2 días a 35°C. Posteriormente se seleccionó una muestra inicial y una final de cada lote. A las muestras seleccionadas se realizó una desinfección externa de las bolsas con soluciones desinfectantes (Alcohol 70%), se cortaron las bolsas de forma aséptica y se tomó de forma directa 1ml que se depositó en una placa de petrifilm 3M para hacer análisis de aerobios mesófilos por un tiempo de incubación de 2 días a 35°C.

La NTC 3856 de 2004 establece los requisitos que deben cumplir la leche UAT (UHT) ultra alta temperatura larga vida y leche ultrapasteurizada, para esto los requisitos específicos después del tratamiento térmico e inmediatamente después del envasado son

Tabla 4

Requisito microbiológico para la leche UAT (UHT) ultra alta temperatura larga vida establecidos en Norma Técnica Colombiana 3856 de 2004

Requisito	n	m	M	c
Recuento de microorganismos mesófilos, UFC/0,1ml	5	<1	-	0

7.2.2 Esterilidad comercial (10 Días)

El análisis microbiológico se realizó atendiendo a la metodología propuesta por la NTC 4433 de 2006 (Anexo B) para el recuento microbiológico de la esterilidad comercial en alimentos, en el laboratorio de calidad de Pasteurizadora Santo Domingo S.A, siendo adaptado para el uso de cajas de Petri.

El producto se guardó en cuartos de incubación mesófila 35°C y termófila 55°C, las muestras fueron incubadas por 10 días, posteriormente se tomó la unidad inicial y la final de 35°C y 55°C respectivamente, una vez desinfectadas como se explicó anteriormente, se tomó directamente 1ml que se sembró en agar BHI suplementado con almidón. Por 2 días se incubaron 4 cajas en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis a 35°C y 4 cajas en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis a 55°C. Para terminar, las cajas que presentaron crecimiento se realizó morfología mediante tinción de Gram.

7.3 Análisis fisicoquímico de productos UHT

Una vez procesadas las muestras a nivel microbiológico, se realizó análisis fisicoquímico para verificar la estabilidad del producto durante el tiempo de incubación, los parámetros más relevantes para verificar esta condición son los análisis de % acidez y valor de pH, los cuales deben estar de acuerdo con el tipo de producto según la normatividad legal vigente.

Tabla 5

Requisitos fisicoquímicos de leche UAT (UHT) ultra alta temperatura larga vida establecidos en Norma Técnica Colombiana 3856 de 2004

Característica	Entera		Semidescremada deslactosada		Descremada deslactosada	
	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.
Acidez, % <i>m/v</i> de ácido láctico	0,13	0,16	0,13	0,16	0,13	0,17
pH a 20°C	6,60	6,70	6,60	6,70	6,60	6,70

7.3.1 Determinación de pH

Para la determinación de esta variable, se tomaron directamente 9ml de la muestra que constantemente se agitó para asegurar la homogenización, y usando un pH-metro en contacto directo con la muestra se tomaron las lecturas. El valor obtenido se compara con los valores permitidos que se nombran en la tabla 5.

7.3.2 Determinación de acidez

Una vez homogenizada la muestra se tomaron 9 ml de la muestra en un vaso, posteriormente se añadieron 3 gotas de fenolftaleína al 1% y se dejó caer gota a gota hidróxido de sodio (NaOH) al 0.1N, una vez la leche se tornó de un color rosado pálido se realizó la lectura del volumen consumido y su interpretación según la tabla 5. La ecuación 1 establece el porcentaje de acidez en función del ácido láctico en productos lácteos (Gonzales & López, 2021).

Ecuación 1: Acidez expresada como ácido láctico

$$\text{Ácido láctico (\%m/v)} = \frac{V \times N \times Meq}{M} \times 100$$

En donde:

V=gasto de la solución 1.0 de NaOH, en ml

N=normalidad de la solución de NaOH

Meq=valor del ácido en mil-equivalente que es de 0,09

M=peso de la muestra en gramos

7.4 Análisis microbiológicos internos en planta

7.4.1 Análisis de agua potable por filtración de membrana

La técnica de filtración por membrana se realizó siguiendo el instructivo CC-TC-009, el plan de muestreo CC-PL-008 y de acuerdo con el cronograma CC-CR-001. Se conectó el equipo de filtración ya estéril a la bomba de vacío, el filtro de membrana se depositó sobre el portafiltro, se ajustó el embudo sobre la base, así la membrana quedó ubicada entre el embudo y el soporte del filtro. Se depositaron 100ml de la muestra en el embudo identificada según corresponda al lugar de muestreo (tabla 6). Terminada la filtración con pinzas estériles se tomó el filtro de membrana y se ubicó sobre placas de Petri con agar Chromocult, se repitió el mismo procedimiento y el filtro se ubicó sobre placas Petri con agar Plate Count (PC), se incubó por un periodo de 24 horas a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Posteriormente se estableció el recuento microbiano en cada muestra, se realizó el conteo visual de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) bajo los criterios de aceptación y rechazo estipulados en la Resolución 2115 de 2007 (tabla 1).

Tabla 6*Áreas de toma de muestra para análisis de agua potable*

Planta UHT
Subterráneo principal y subterráneo 2
Tanque aéreo
Acueducto
Recibo
Pasteurizador
Retorno maquina 1 y 2
Laboratorio Fisicoquímico
Laboratorio Microbiología
Planta lácteos
Tanque aéreo
Subterráneo principal
Acueducto

7.4.2 Análisis de ambientes

Por medio de la técnica para la realización de ambientes CC-TC-010, siguiendo el plan de muestreo CC-PL-003 y acorde al cronograma CC-CR-001, se expusieron cajas petri con diferentes medios de cultivo, sobre una superficie plana en las diferentes áreas de las plantas, (tabla 7), durante 15 minutos, las cajas de Petri con agar PC para aerobios mesófilos y agar Cloranfenicol (YGC) para mohos y levaduras. Pasado este tiempo se incubaron por 2 días a 35°C y 4 días a temperatura ambiente, respectivamente.

Tabla 7

Criterios de aceptación y rechazo en el recuento de aerobios mesófilos y mohos y levaduras en áreas de proceso para análisis de ambientes de acuerdo con controles internos de la empresa.

Planta UHT	Criterios de aceptación	Criterios de rechazo
Pasteurizador	≤ 8 UFC/15minutos	> 8 UFC/15minutos
Esterilizador 1 y 2	≤ 3 UFC/15minutos	> 3 UFC/15minutos
Maquina UHT	≤ 3 UFC/15minutos	> 3 UFC/15minutos
Cabina UHT 1 y UHT 2	≤ 1 UFC/15minutos	> 1 UFC/15minutos
Área de almacenamiento Producto terminado	≤ 20 UFC/15minutos	> 20 UFC/15minutos
Área de almacenamiento insumos	≤ 20 UFC/15minutos	> 20 UFC/15minutos
Área de almacenamiento de polietileno	≤ 3 UFC/15minutos	> 3 UFC/15minutos
Planta lácteos	Criterios de aceptación	Criterios de rechazo
Área de almacenamiento de polietileno 1 y 2	≤ 5 UFC/15minutos	>5 UFC/15minutos
Área de almacenamiento de insumos	≤ 7 UFC/15minutos	>7 UFC/15minutos
Área de proceso de pasteurización	≤ 7 UFC/15minutos	>7 UFC/15minutos
Maquina vaso	≤ 7 UFC/15minutos	>7 UFC/15minutos
Maquina bolsa	≤ 7 UFC/15minutos	>7 UFC/15minutos
Área de almacenamiento Producto terminado	≤ 5 UFC/15minutos	>5 UFC/15minutos
Área de Tinas	≤ 7 UFC/15minutos	>7 UFC/15minutos

7.4.3 Análisis de manipuladores

El muestreo se realiza mensual siguiendo lo propuesto en el plan de muestreo CC-PL-006, el cronograma CC-CR-001 y normatividad empresarial relacionada con la técnica de superficies sección 5.5.3 frotis de manos en CC-TC-011. Empleando un hisopo estéril,

previamente humedecido, se realizó el frotis de manos (abarcando totalmente la palma y dorso e igualmente, entre los dedos y las uñas) del operario, posteriormente, este se sumerge en un tubo con 9 ml de agua peptona, homogenizándose mediante agitación. A partir de esta solución se procedió a sembrar en placa por profundidad 1 ml del frotis en agar PC para aerobios mesófilos y agar Violeta cristal-Rojo neutro-Bilis-Lactosa (VRB) para Coliformes Totales, llevándose a incubación por 2 días a 35°C.

7.5 Análisis microbiológico de kumis y bebida láctea fermentada

Este apartado presenta la metodología desarrollada en el análisis microbiológico de kumis y bebida láctea fermentada, para esto se siguió lo propuesto en el plan de muestreo para producto terminado pasteurizado y UAT (UHT), CC-PL-002 y son procesados de acuerdo con el instructivo para el análisis de producto terminado pasteurizado CC-IT-019 Como se describe a continuación. Una vez finalizada la desinfección de los empaques se abrió asépticamente, y se procedió a realizar dilución hasta 10^{-1} para esto, se tomó 1ml de cada producto en 9ml de agua peptona, se homogenizó y se sembró por profundidad en agar VRB y en una placa de petrifilm 3M para mohos y levaduras. Por último, se incubó por 2 días a 35°C y 4 días a temperatura ambiente, respectivamente.

Tabla 8

Parámetros microbiológicos estipulados por la Resolución 1407 de 2022 del Ministerio de Salud y Protección Social para leche fermentada

Parámetro	Caso	Muestreo Clase	n	c	m	M
Mohos y levaduras	2	3	5	2	2×10^2 ufc/g o ml	5×10^2 ufc/g
Coliformes	2	3	5	2	10 ufc/ g o ml	2×10^2 ufc/g
<i>Escherichia coli</i>	N/A	3	5	0	<10 ufc/g o ml	--

8. Cronograma de actividades

Semanales / actividades	Enero				Febrero				Mayo				Abril				Mayo				Junio				Julio			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Inducción																												
Verificación rutinaria de equipos																												
Análisis de productos UHT																												
Análisis de producto terminado																												
Análisis de aguas																												
Análisis de manipuladores																												
Análisis de ambientes																												
Análisis de materia prima																												
Revisión bibliográfica																												
Elaboración trabajo de grado																												
Entrega del trabajo																												
Sustentación del trabajo																												

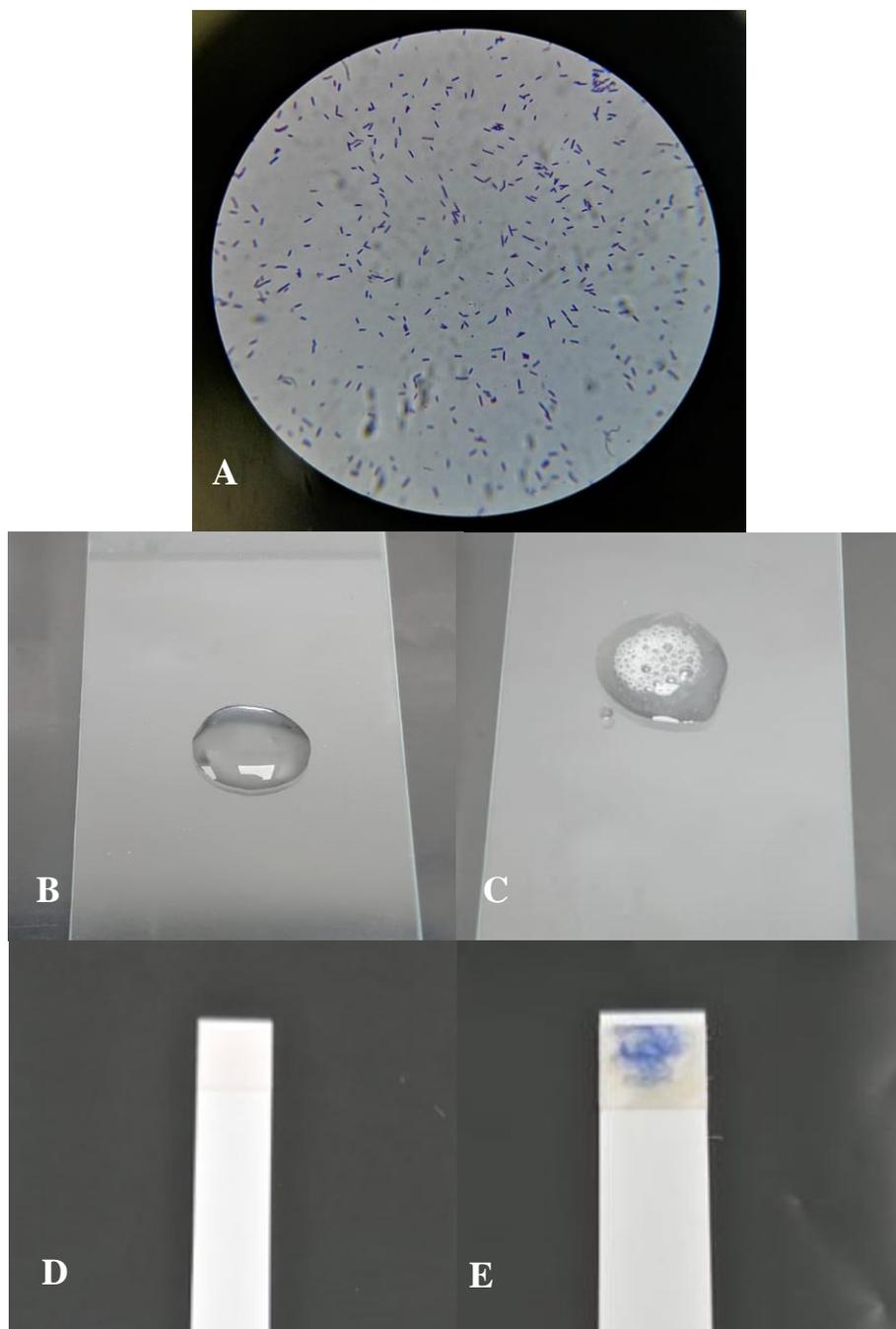
9. Resultados y discusión

9.1 HHRS en leche cruda

Se analizaron en total 482 muestras de leche cruda durante el transcurso de 5 meses. Los resultados obtenidos evidenciaron la ausencia de *Bacillus sporothermodurans* en las muestras de leche cruda que sería destinada a la línea de producción UHT. El análisis microscópico arrojó una morfología y tinción de Gram correspondiente a bacilos cortos Gram positivos, además la reacción de catalasa y oxidasa fue negativa como se observa en la figura 4, de esta forma, los aislados obtenidos a partir de la leche cruda (secciones A, B y D) no fueron caracterizados presuntivamente como *B. sporothermodurans*.

Figura 4

Tinción de Gram y resultados de pruebas bioquímicas. A. Tinción de Gram, bacilos cortos, objetivo 100x. B. Prueba catalasa negativa. C. Prueba catalasa positiva. D. Prueba oxidasa negativa. E. Prueba oxidasa positiva.



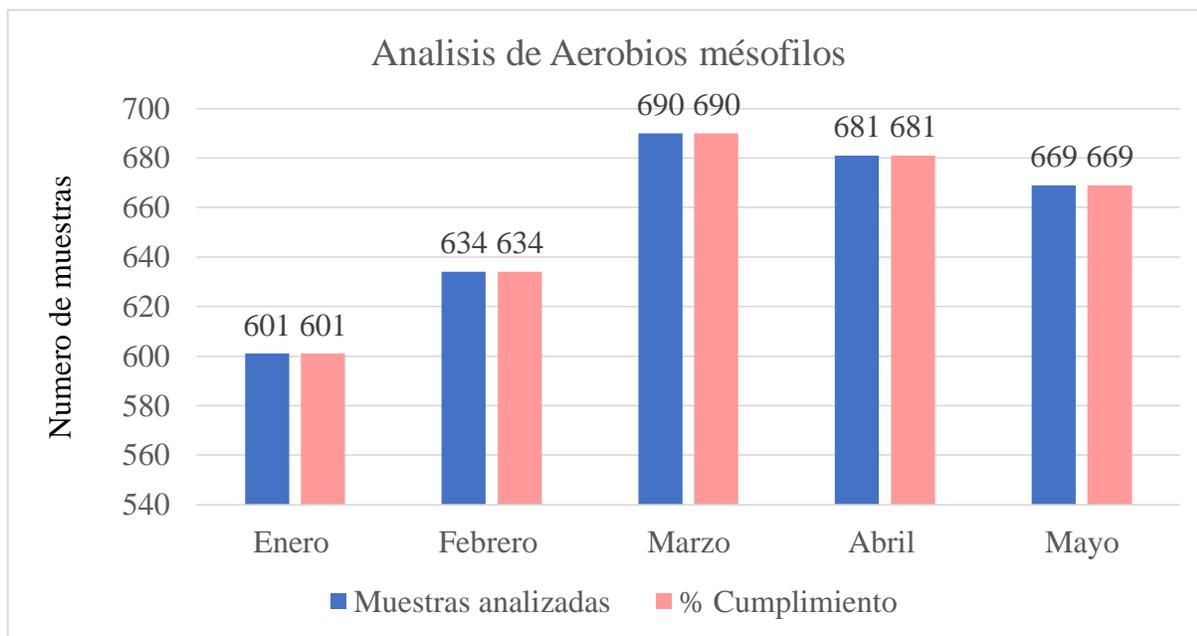
Hasta la fecha los resultados se consideran negativos debido a que las pruebas bioquímicas y las observaciones microscópicas no son propias de *Bacillus sporothermodurans*, en 1996 Pettersson, et al., fue el primero en describir una bacteria perteneciente al género *Bacillus*, ahora conocida como *Bacillus sporothermodurans*. Además, realizó una de las primeras caracterizaciones microscópicas de este microorganismo, bacilos filamentosos largos de aproximadamente 3,4-8,2 μm de largo, células móviles con flagelos peritricos, esporas elipsoidales de 1,7 μm de largo ubicadas en la parte terminal, catalasa y oxidasa positivo, el agar BHI es un medio óptimo de crecimiento, no produce ácido a partir de varios azúcares como fructosa, galactosa, glucosa, entre otros (Montanari et al., 2004) rara vez se pueden observar en un cultivo de laboratorio (Pettersson, et al., 1996). Sin embargo, se debe considerar que puede encontrarse diferencias morfológicas en este microorganismo, como fue reportado por Bernier., et al (2012) “*Bacillus sporothermodurans* anaeróbicos facultativos aislados de leches UHT elaboradas en Colombia” observó dos morfologías diferentes que dependían de las condiciones de aerobiosis y anaerobiosis, la primera bacilos Gram positivos en cadenas largas o en forma de filamentos largos y por el contrario en condiciones de anaerobiosis los bacilos estaban agrupados en cadenas cortas o individuales. Por lo tanto, sería fundamental realizar técnicas soportadas en PCR para determinar con seguridad la presencia o ausencia del microorganismo, de esta forma, metodologías como HRS-PCR son más específicas y se puede usar junto con un pretratamiento químico y térmico, cultivando las esporas en BHI suplementado. (Scheldeman et al., 2006)

9.2 Análisis de microbiológico de aerobios mesófilos

Para el análisis de la vida útil en anaquel de la leche UHT, fueron seleccionadas 3275 muestras que corresponden a la unidad inicial y final de cada lote fabricado entre enero y mayo, siendo incubadas durante 48 h a 35°C. En la gráfica 1 se observa que el 100% de las muestras analizadas cumplen a cabalidad con el recuento de Aerobios Mesófilos, según lo exigido en la NTC 3856 de 2004, los resultados se encuentran conformes, demostrándose que las condiciones de producción y almacenamiento fueron óptimas, permitiendo obtener un producto de excelente calidad. Los anteriores resultados difieren con los obtenidos por Santillán (2021) al determinar la vida útil en anaquel de leche UHT, donde el porcentaje del coeficiente de variación más elevado se presentó en este grupo de bacterias, logrando evidenciar que microorganismos esporulados permanecen presentes, pues no se distribuyen de manera uniforme por lotes y su proliferación dependerá del tratamiento térmico empleado y cantidad de bacterias aerobias mesófilas presentes en la leche cruda.

Grafica 1

Resultados de aerobios mesófilos en las muestras de leche UHT analizadas entre enero y mayo



9.3 Esterilidad comercial (10 días)

En el análisis de vida útil, se analizaron 3152 muestras de leche, crema de leche y bebida con leche y avena, previamente incubadas durante 10 días a 35°C y 55°C. Como se observa en la tabla 9 los resultados de la prueba de esterilidad comercial en leche UHT son conformes y cumplen con la NTC 4433 de 2006 evidenciando la ausencia de crecimiento microbiano tanto a 35°C como a 55°C, por tanto, el cumplimiento de la calidad del producto final es satisfactoria.

Tabla 9

Muestras analizadas bajo esterilidad comercial durante los meses de enero a mayo

Meses	Aerobiosis		Anaerobiosis	
	35°C	55°C	35°C	55°C
Enero	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Febrero	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Marzo	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Abril	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Mayo	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

L

os

resultados demostraron que el tratamiento térmico y la frecuencia con la que se realiza son eficientes y garantizan la calidad del producto, el costo de inversión de la técnica microbiológica es menor ofrece información cuantitativa y cualitativa de la presencia o ausencia del microorganismo, sin embargo, la determinación de los resultados microbiológicos toma un tiempo considerable en la incubación de las muestras (10 días), por tal motivo se han propuesto varias soluciones para reducir el tiempo, utilizando tecnologías alternativas que se basan en la detección del metabolismo celular durante el crecimiento microbiano (mediado por producción de CO₂), el recuento celular por citometría de flujo, monitoreo de la actividad ATP (Gutiérrez., 2022) y el sistema BacT/ALERT® 3D aplicado como un método rápido y sensible para la detección de contaminantes microbianos en productos lácteos como leche UHT (Klotz et al., 2021)

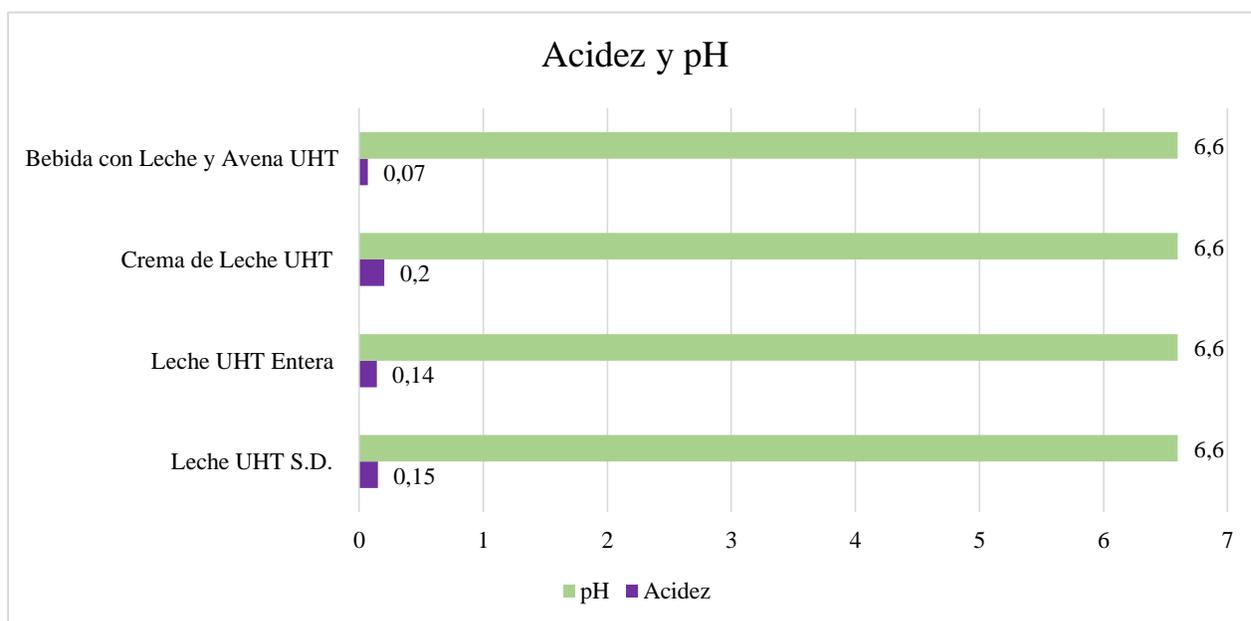
9.4 Análisis fisicoquímico

El análisis fisicoquímico se efectuó a todas las muestras de leche, crema de leche y bebida con leche y avena analizadas en el análisis microbiológico de aerobios mesófilos y de esterilidad comercial. En la gráfica 2 se presentan los resultados de 1265 muestras analizadas en

la determinación del pH y acidez, durante el mes de abril, estos evidenciaron que la totalidad de las muestras cumplen con lo exigido en la NTC 3856 de 2004 para leche UHT con valores de acidez y pH entre 0,13-0,16 y 6,5-6,85, crema de leche acidez Max 0,25 y pH entre 6,6-6,7; bebida con leche y avena 0,07-0,12 y 6,5-6,8 de acidez y pH , respectivamente, dichos rangos la empresa los establece de forma interna verificando los parámetros exigidos en la Resolución 02310 de 1986 y en la NTC 5246 de 2004.

Grafica 2

Análisis fisicoquímico a productos tratados mediante UHT



Nota: S.D: Semi Descremada

Como se evidencia en la anterior grafica el pH y la acidez de las leches tratadas bajo UHT, crema de leche y bebida con leche y avena no presentan variaciones durante el mes de abril, los valores de 0.2 y 0.07 corresponden a valores de acidez expresada como ácido láctico para crema de leche UHT y bebida con leche y avena UHT, sin embargo, en un estudio realizado

por karlsson et al., (2019) observó que pueden existir cambios progresivos y lineales en la estabilidad y la vida útil de la leche UHT almacenada a diferentes temperaturas.

9.5 Análisis de agua potable por filtración de membrana

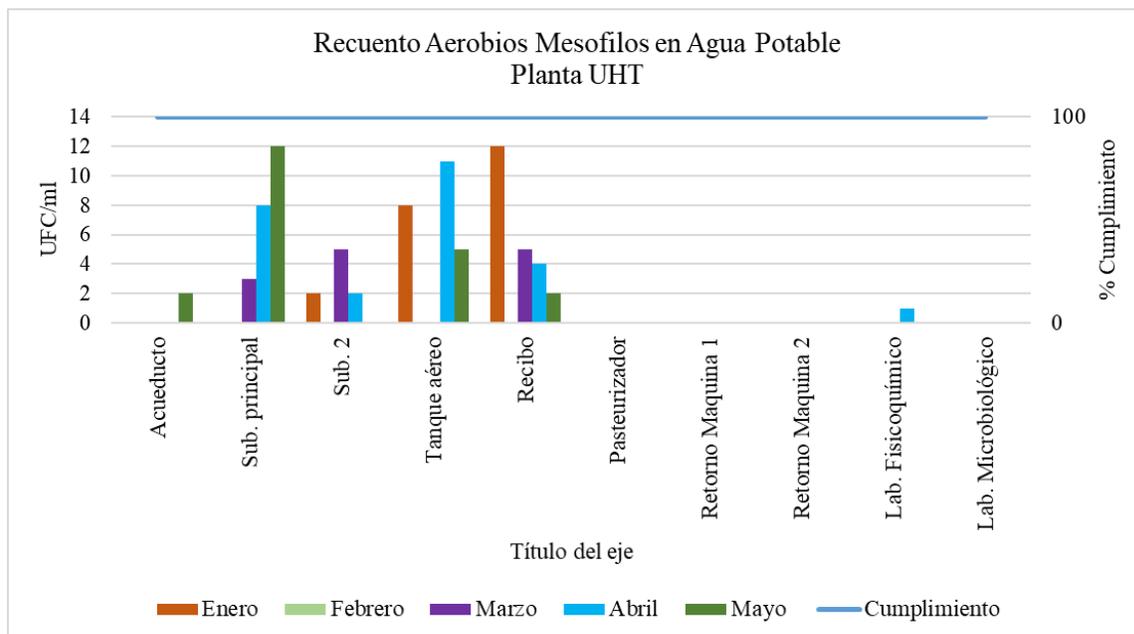
Se realizó el análisis de recuento de Aerobios Mesófilos a 130 muestras de agua potable durante el periodo comprendido de enero a mayo del presente año, estas muestras fueron recolectadas mensualmente, en las áreas de toma de muestra (tabla 6) a lo largo de la línea de producción, en la planta UHT y lacteos.

La grafica 3 corresponde a los resultados obtenidos para aerobios mesófilos en el muestreo de las zonas de agua potable en la planta UHT, se evidencia que la totalidad de las muestras se encuentran en conformidad para el recuento de Aerobios mesófilos según lo establecido en la resolución 2115 de 2007, asegurando la calidad e inocuidad de los productos elaborados en la empresa, puesto que el agua es el principal elemento empleado en los procesos de limpieza diaria y lavado de manos o como un componente más en la elaboración de los productos e igualmente se asegura que los sistemas de abastecimiento de la planta mantienen la calidad microbiológica del agua para este parámetro; sin embargo, su calidad debe ser verificada y controlada porque puede verse afectada por la presencia de microorganismos patógenos o por contaminantes químicos (Silva et al., 2010) pudiendo afectar la inocuidad del producto final.

En la gráfica 3 y 4 se puede observar que los lugares donde se evidencio crecimiento fueron las áreas que abarcan la red de distribución (Subterráneo principal y 2), el área de almacenamiento (tanque aéreo) y el área de suministro (área de recibo) de agua potable

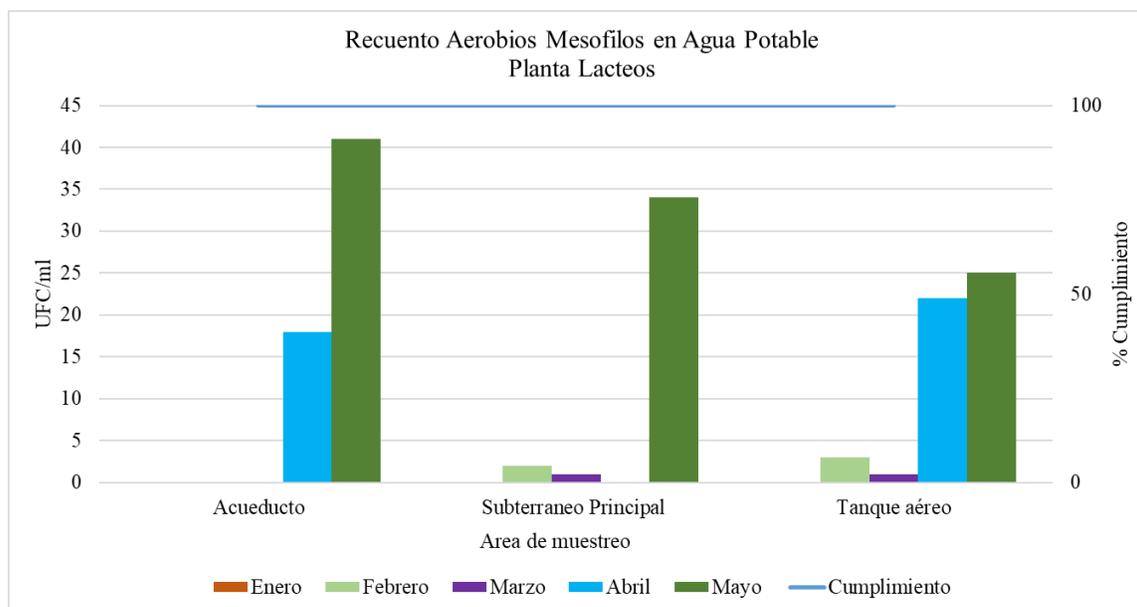
Grafica 3

Recuento de aerobios mesófilos en agua potable en Planta UHT



Grafica 4

Recuento de aerobios mesófilos en agua potable en Planta de Lacteos



En el área de suministro de agua potable los resultados confirmaron la presencia de aerobios mesófilos aun así se cumple con los criterios de aceptación y rechazo (tabla 1). De acuerdo con un estudio en Brasil donde se utilizó la técnica ATP-bioluminiscencia para poder evaluar la calidad microbiológica del suministro de agua los resultados mostraron altos niveles de aerobios mesófilos y coliformes totales por ende las condiciones higiénicas del agua fueron insatisfactorias (Costa et al., 2004). El area de almacenamiento, garantiza el suministro constante de agua potable para las actividades como producción, limpieza y desinfección de equipos, es fundamental para mantener la higiene, calidad y seguridad del agua utilizada en una planta de alimentos. Como se puede observar en la gráfica 3 y 4 los resultados indican que el nivel de cumplimiento es satisfactorio; lo que concuerda con un estudio que evaluó la calidad fisicoquímica y microbiológica del sistema de agua que abastece las queseras de Quimiag-

Riobamba-Ecuador en sus muestras de tanques de almacenamiento los resultados fueron inferiores comparados con los tanques generales, explican que esto se pudo deber a que las muestras no fueron tomadas en el mismo día y que posiblemente las condiciones climáticas fueron diferentes (Andueza et al., 2019). La zona de distribución de agua potable es la fuente del abastecimiento del agua para las instalaciones de la planta, deben cumplir con estándares de calidad y seguridad antes de integrarse a la red interna de la planta.

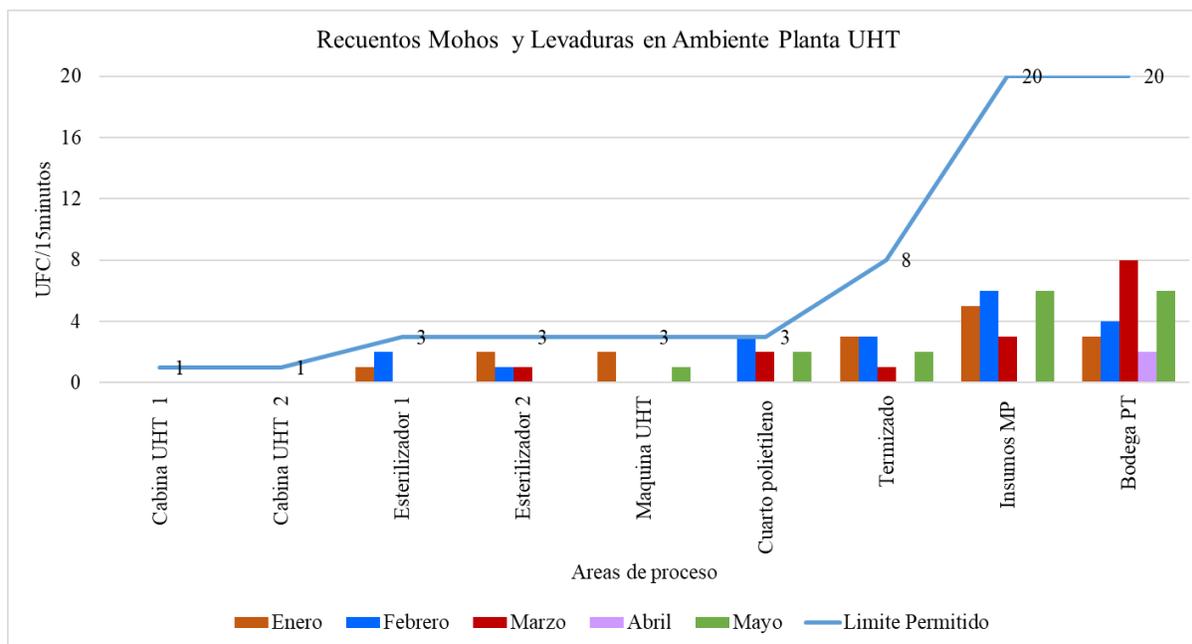
El recuento de coliformes funciona como un indicador fundamental para poder evaluar la presencia y contaminación de patógenos que representaría un riesgo para la salud, durante los meses de enero y mayo no se observó presencia de coliformes totales y fecales en las muestras de agua potable analizadas, estos resultados difieren de los obtenidos por Khan et al., (2016) quienes observaron que la mayor presencia de coliformes en muestras de agua potable eran mayores (22%) en una planta de lácteos en la ciudad de Quetta, Balochistan. La Guía para la calidad del agua potable de la OMS señala que la calidad del agua en producción de alimentos, por lo general, puede tener parámetros similares a los indicados para consumo regular. No obstante, para que se considere potable no debe ser perjudicial para la salud y para esto debe cumplir con límites microbiológicos y fisicoquímicos.

9.6 Análisis de ambientes

Los resultados obtenidos a partir del muestreo de ambientes por sedimentación realizado en la Planta de UHT y en la planta de lácteos se llevó a cabo durante los meses de enero y mayo, analizándose un total de 108 recuentos en cada planta. Las gráficas 5 y 6 corresponden a los resultados de los recuentos obtenidos para aerobios mesófilos, mohos y levaduras, en el muestreo de ambientes de las diferentes zonas de producción de la Planta de productos UHT.

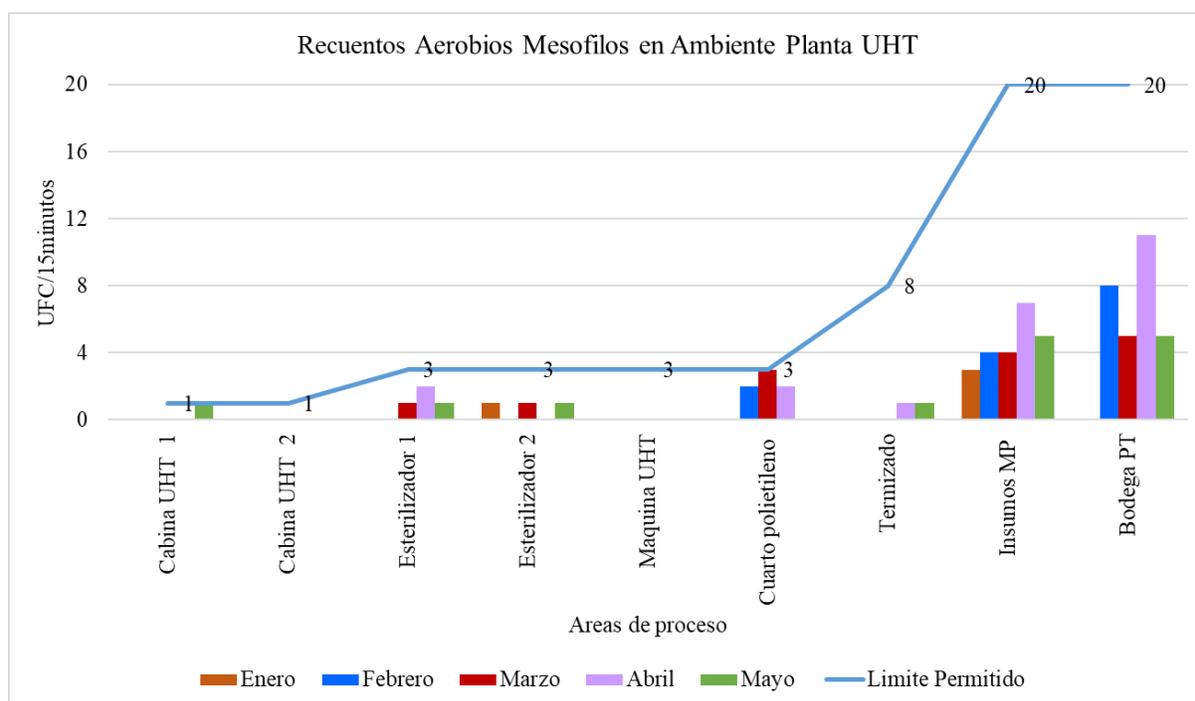
Grafica 5

Recuentos de Mohos y Levaduras en ambientes de Planta UHT.



Grafica 6

Recuentos de Aerobios Mesófilos en ambientes de Planta UHT.



Como se puede observar en las gráficas anteriores (gráfica 5 y 6) los mayores recuentos de aerobios mesófilos, mohos y levaduras se presentaron en las áreas donde se almacena la materia prima (Insumos MP) y la bodega de producto terminado (Bodega PT) durante el transcurso de estos meses, los resultados se encuentran dentro de los rangos aceptables de acuerdo con los controles internos de la empresa demostrando que los sistemas de control proveen una buena calidad del ambiente en las líneas de producción. En estas áreas el límite permitido es 20 UFC/15 minutos, en estudios sobre la calidad del aire realizado por Costa et al., (2003) indica que los trabajadores o manipuladores de alimentos pueden diseminar aproximadamente 20 a 70 microorganismos por minuto, por lo que se explicaría un mayor

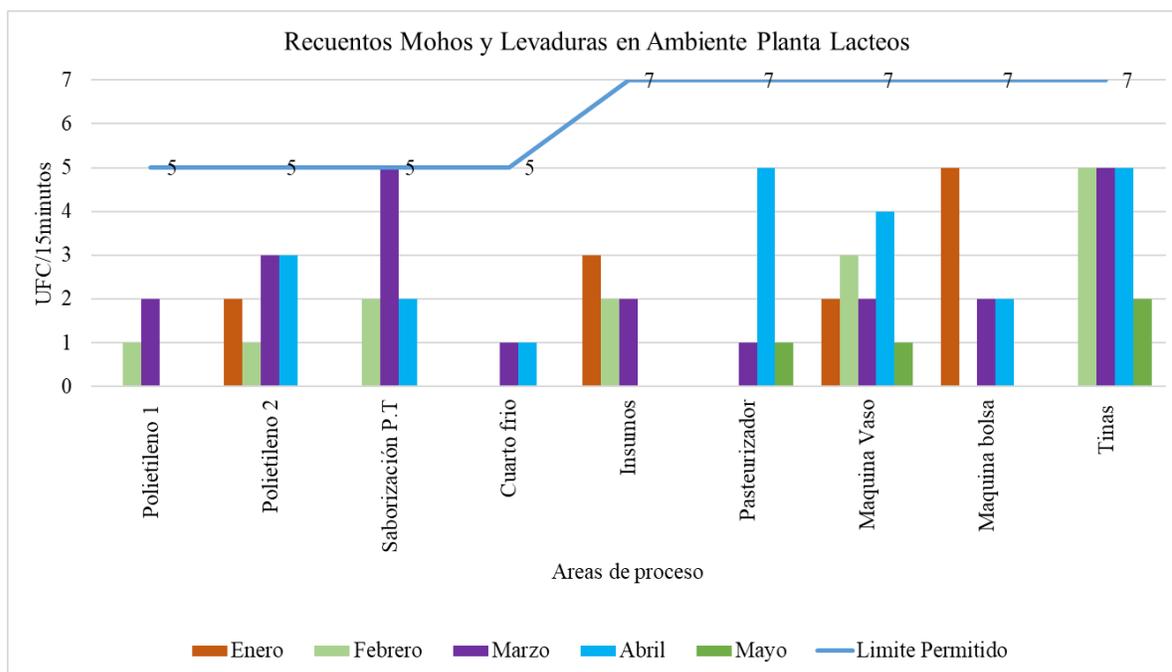
recuento de microorganismos en estas áreas, pues en ellas el flujo de personal es alto son consideradas áreas intermedias, las condiciones ambientales y la carga microbiológica no afectan la calidad e inocuidad del producto terminado.

Las áreas de cabina de envasado UHT y ultrapasteurización (Maquina UHT) deberán mantener recuentos de no más de 1 UFC/15 minutos y 3 UFC/15 minutos, respectivamente, deben ser zonas asépticas, son áreas que requieren minimizar el riesgo de contaminación ambiental y que tienen procesos de sanitización continua, tienen como particularidad poco flujo de personal, entre las fuentes importantes de diseminación de microorganismos por el aire en zonas de empaque y procesamiento de alimentos destacan cinco, (1) desagües en el piso, (2) sistemas de ventilación, (3) trabajadores de la planta y (4) cualquier superficie a la que se puedan adherir las partículas transportadas por el aire (Heldman D., 1967). Además las áreas de envasado UHT y ultrapasteurización requieren niveles de carga microbiológica totalmente ausente dado que son críticos para el proceso, según lo observado en las gráficas 5 y 6 los resultados en estas áreas fueron menores lo que está relacionado con el diseño y la estructura de la planta, pues el sistema de ventilación y los manipuladores en estas áreas son muy pocos, en comparación con Heldman (1969) que en sus resultados indicó contribuciones notables de microorganismos transportados por el aire durante la presencia de desagües y cuando la corriente de aire era constante.

Las gráficas 7 y 8 corresponden a los resultados de los recuentos obtenidos para mohos y levaduras y aerobios mesófilos, respectivamente en el muestreo de ambientes de las diferentes zonas de producción de la Planta de lácteos.

Grafica 7

Recuentos de Mohos y Levaduras en ambientes de Planta lacteos



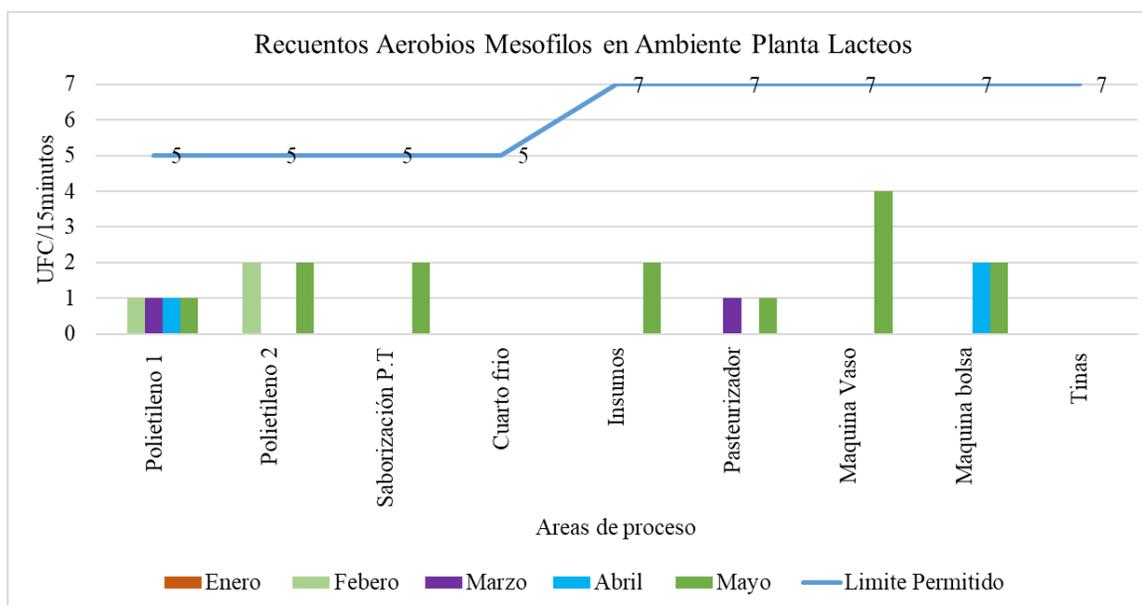
En la gráfica 7 el área donde se almacena el material de empaque (poliuretano 1 y 2) deben garantizar condiciones ambientales seguras con el fin de que el material no se convierta en un factor de contaminación cruzada cuando ingrese a las áreas de proceso. Como se puede observar en la gráfica durante los meses de enero a mayo la distribución de los aislados presentaron recuentos dentro del límite permitido (5 UFC/15 minutos) lo que se puede deber a la forma en que están estructuradas estas áreas, son áreas con puertas y los movimientos generados por ellas pueden resultar en el transporte de microorganismos por el aire de un lugar con altas concentraciones a zonas continuas (Heldman, 1967) La calidad del aire en el área de empaque es un punto crítico de control en el procesamiento de productos lacteos (Kang & Frank, 1989) de

aquí se hace necesario aclarar que los rangos establecidos son de carácter interno y fueron definidos por validaciones y resultados de análisis históricos, así demuestra la importancia de la trazabilidad en los seguimientos del análisis de resultados.

Los resultados de los recuentos en el área de almacenamiento a 4°C (Cuarto frío) en la gráfica 7 estuvieron dentro del límite permitido (5 UFC/15min) mientras que en la gráfica 8 el recuento de aerobios mesófilos fue menor durante los meses de enero a mayo, en un estudio sobre la seguridad microbiológica de la mantequilla se encontraron valores similares para mohos y levaduras de 2 a 7 UFC (Memisi et al., 2019) así demostraron que la mantequilla elaborada era inocua y apta para el consumo humano, es importante mantener una temperatura óptima para el almacenamiento de productos lácteos que sean cercanas a 4°C fundamentalmente para ralentizar el crecimiento de bacterias y microorganismos que pueden descomponer el producto, mantener la calidad nutricional, textura y sabor, entre otros.

Grafica 8

Recuentos de Aerobios Mesófilos en ambientes de Planta lácteos



En la gráfica 8 se puede observar la calidad microbiológica del aire con relación al recuento de aerobios mesófilos en las áreas de la planta de lacteos que comparativamente son menores que en la planta UHT. Es favorecedor mantener bajos recuentos microbianos de aerobios mesófilos en el aire de entornos de producción y procesamiento lo anterior disminuye el riesgo de contaminación cruzada de los productos lacteos e igualmente evita la proliferación de patógenos que afectarían la seguridad del producto final, controlar la presencia de este tipo de microorganismos ayuda a prolongar la vida útil de los productos y mantener su calidad. Como se puede observar en la gráfica la presencia de aerobios mesófilos permaneció constante durante el mes de mayo coincidiendo con la temporada de lluvias y el aumento de la humedad relativa, esto favorece la dispersión de microorganismos a través del aire, en algunos estudios se ha señalado que la temperatura, la presencia de vapor y la humedad relativa afectan la cantidad de microorganismos presentes en el aire por variaciones ambientales en áreas de procesamiento (Radha y Nath, 2014).

La metodología por sedimentación en medios de cultivo permitió la recolección de microorganismos presentes en el aire de las diferentes zonas de las plantas, es una técnica rápida y económica, y que actualmente está clasificada como un método D por la American Public Health Association (APHA) considerándose estándar. Debido a avances tecnológicos fue sustituida por métodos más novedosos como la técnica de impactación (método B) (Costa et al., 2003). En el estudio de Costa et al., (2003) fueron evaluadas las áreas de procesamiento de una planta de lacteos con la diferencia de que sus resultados superaron el límite (30UFC/cm/semana) de aerobios mesófilos, mohos y levaduras. Además, también añaden que el tiempo de análisis es un factor importante de la técnica, haciendo referencia a que el tiempo de exposición de las cajas

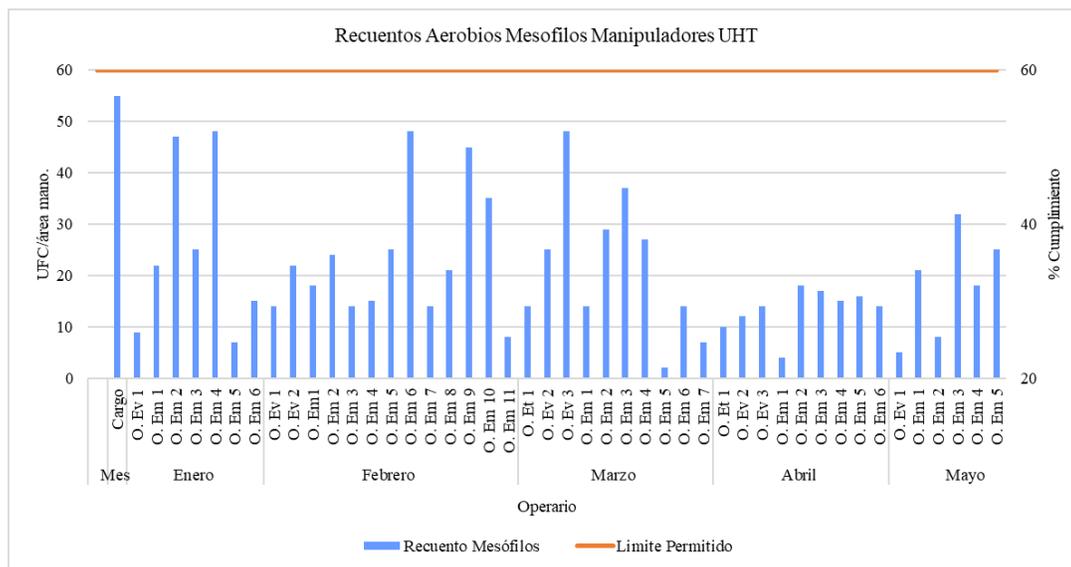
es largo y podría secar la superficie del medio de esta forma minimizar los recuentos (Costa et al., 2003) los resultados de este estudio no corresponden a los resultados obtenidos durante enero a mayo.

9.7 Análisis de manipuladores

Durante enero y mayo fueron analizadas 104 muestras de operarios que de forma directa tenían contacto con el producto terminado o durante alguna etapa de proceso. En la gráfica 9 y 10 se observa que las muestras analizadas cumplieron totalmente con lo exigido en el recuento de Aerobios mesófilos según la NTC 5230 de 2003. A los manipuladores se les realiza periódicamente un seguimiento de las condiciones higiénico-sanitarias que mantienen durante su labor en el proceso productivo en Pasteurizadora SantoDomingo S.A, siendo clasificados en tres grupos, según la etapa en la que se encuentran laborando: esterilizador, envasador y empaque, de tal forma, que sin importar la clasificación, el límite permitido es 60 UFC/área mano de aerobios mesófilos, rango definido en relación a la calidad del agua potable con la que se realizan procesos de limpieza y desinfección de manos, que como lo indica la Resolución 2115 de 2007 no puede ser mayor de 100 UFC/cm³.

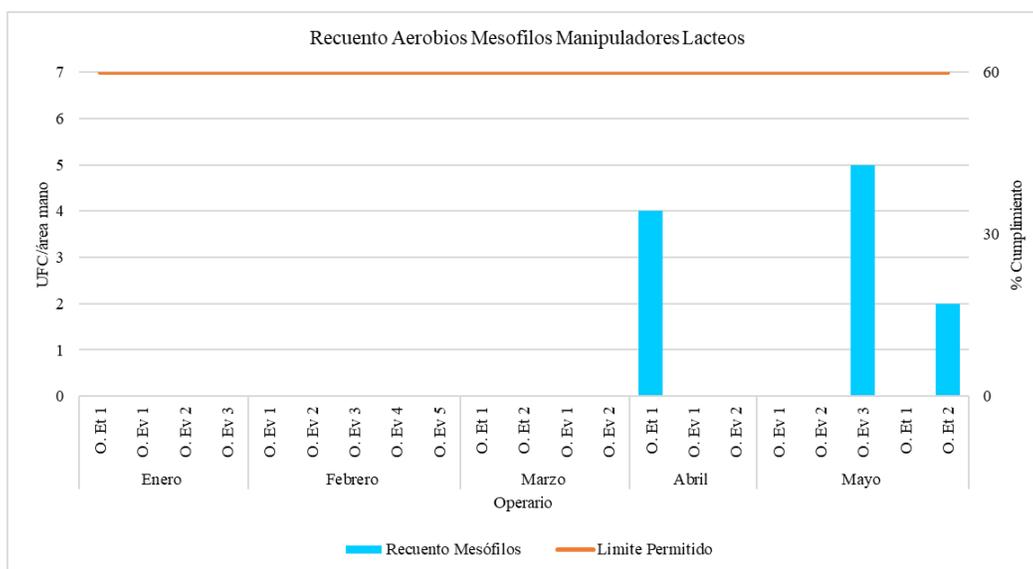
Grafica 9

Recuentos de aerobios mesófilos en manipuladores Planta UHT



Grafica 10

Recuentos de aerobios mesófilos en manipuladores Planta de lácteos



Nota: O. Ev: Operario envasadora; O. Em: Operario empacadora; O. Et: Operario esterilizador

Los resultados obtenidos a partir del recuento periódico de coliformes totales y *E. coli* realizado a los empleados de las líneas de producción de UHT y lácteos durante los meses de enero y mayo, evidenciaron la ausencia de recuentos para estos dos indicadores del proceso de limpieza y de desinfección de manos, siendo correspondientes con el parámetro interno de la empresa de menor a 1 UFC/área mano, garantizándose la calidad e inocuidad de los productos. Los resultados obtenidos concuerdan con lo planteado por Alrabadi (2017) que analizó muestras de manos de manipuladores de alimentos usando metodologías estándares y empleando medios selectivos como VRB para frotis con bastoncillos de seis fábricas de productos en Jordania, observándose un bajo número de aislados. Estudios anteriores han demostrado que la educación de los manipuladores de alimentos y la adquisición de conocimientos sobre la manipulación higiénica de estos, el procesamiento y la distribución son cruciales, Rojas., S (2016) reportó que el 62.5% de manipuladores de alimentos presentaron límites no permisibles en la presencia de coliformes totales. Según lo descrito por Valero et al (2017) la presencia de bacterias mesófilas y *Escherichia coli* en muestras de manipuladores de alimentos procedentes de tres tipos de establecimientos ubicados en Madrid (España) fueron evaluados mediante placas de recuento 3M™ Petrifilm™, las enterobacteriáceas estaban presentes en un 62,1% de las muestras de manipuladores de alimentos y *E. coli* en 7,5%, contrastando con los resultados obtenidos notamos que la desinfección posterior al proceso de lavado permite la reducción de la carga microbiana en las manos como se puede evidenciar en la gráfica 9 y 10, el cumplimiento de este parámetro indica y garantiza la calidad del producto final soportado en el cumplimiento de los estándares de limpieza y desinfección de los operarios al interior de las líneas de producción.

9.8 Análisis microbiológico de kumis y bebida láctea fermentada

Se analizaron en total 34 productos terminados a partir de la línea de producción del Kumis y Bebida Láctea Fermentada, durante el mes de abril, los resultados obtenidos del análisis microbiológico exigidos por la Resolución 1407 de 2022, demostraron que los recuentos de coliformes totales, fecales, hongos y levaduras de los tres sabores de bebidas lácteas fermentadas y de Kumis cumplen cada uno de estos criterios microbiológicos (tabla 10), de esta forma se verifica la inocuidad de la materia prima, las buenas prácticas de manufactura y las excelentes condiciones higiénico sanitaria de los operarios y ambientes en la manipulación de los productos durante el envasado. Los anteriores resultados se correlacionan con los obtenidos por Vallejo y Toro (2002) quienes analizaron 11 muestras de yogurt, no encontraron ningún desarrollo de *Escherichia coli* a las 48 horas de haber sido cultivadas ni tampoco hubo desarrollo de hongos levaduriformes o filamentosos a los siete días de incubación. Con respecto al kumis los antecedentes son bastante limitados, (Jimenez et al., 2022). La calidad higiénica de la leche cruda influye en gran medida en la vida útil del producto terminado, además la calidad también se ve perjudicada por la existencia de microorganismos presentes durante la producción, manipuladores, ambientes, estado del agua potable, deficiencias en los procesos de limpieza, desinfección y demás factores que puede fomentar el desarrollo de microorganismos.

Tabla 10

Recuento de coliformes totales, fecales, mohos y levaduras en kumis y bebida láctea fermentada

	Coliformes totales y fecales	Mohos y levaduras	<i>dura</i>
	UFC/ml	UFC/ml	<i>nte</i>
Bebida Láctea Fermentada melocotón	Ausencia	Ausencia	<i>abril</i>
Bebida Láctea Fermentada mora	Ausencia	Ausencia	
Bebida Láctea Fermentada fresa	Ausencia	Ausencia	
Kumis entero	Ausencia	Ausencia	

10. Conclusiones

El control microbiológico realizado a la materia prima, producto semielaborado y productos terminados en Pasteurizadora SantoDomingo S.A cumple con los criterios de calidad requeridos por la normatividad legal vigente y por los estándares internos de la empresa.

Se determinó la ausencia de esporas de *Bacillus sporothermodurans* en todas las muestras de leche cruda, permitiendo analizar la calidad de la materia prima y verificar proveedores, además de ser un insumo de gran relevancia en el manejo de la leche cruda destinada a la línea de productos UHT.

El control microbiológico y fisicoquímico realizado a los productos tratados bajo ultra alta temperatura UAT (UHT) en Pasteurizadora SantoDomingo S.A demostró el cumplimiento de los criterios de calidad de la normatividad colombiana en la totalidad de las muestras analizadas.

Los resultados obtenidos a partir de los análisis de agua, ambiente, superficies y manipuladores demostraron que la empresa pasteurizadora Santodomingo S.A garantizan la calidad e inocuidad de los productos elaborados a partir del cumplimiento de sus procedimientos estandarizados.

Los productos terminados pasteurizados kumis y bebida láctea fermentada fabricados en Pasteurizadora SantoDomingo S.A cumplen con los requisitos microbiológicos de acuerdo con la legislación vigente garantizando la calidad de los mismos y contribuyendo a la seguridad alimentaria del consumidor.

11. Recomendaciones

Durante el tiempo de pasantía y estando como parte activa en el proceso de control de calidad y contribuyendo en el proceso de aseguramiento de calidad de Pasteurizadora Santodomingo se evidenció que las buenas prácticas de manufacturas aplicadas en cada proceso garantizan la calidad de sus productos, desde la academia se recomienda:

- Tener en cuenta que los microorganismos esporulados aerobios pueden tener un gran impacto sobre la vida útil y calidad de la leche pasteurizada y ultra pasteurizada (Calvo et al., 2018) las pruebas bioquímicas no son suficientes para establecer la presencia o ausencia de *Bacillus sporothermodurans* pues el género *Bacillus* es un grupo taxonómico bastante amplio por lo tanto usar métodos alternativos como técnica de PCR tradicional con base a la identificación del gen 16S ribosomal y posterior secuenciación (Bernier., et al en 2012) permitirá la identificación exacta de mesófilos termorresistentes.
- Implementar el análisis microbiológico a manipuladores para detectar la presencia de *Staphylococcus aureus* es considerado una fuente importante de contaminación cruzada y de igual forma demuestra la eficiencia de higiene de manos en manipuladores

12. Glosario

BMA

Bacterias Mesófilas Aerobias

HHRS

Highly heat-resistant spores (esporas altamente resistentes)

UAT

Ultra alta temperatura

UHT

Ultra High Temperature

13. Bibliografía

- Ahmed, H. A., Tahoun, A. B. M. B., Abou Elez, R. M. M., Abd El-Hamid, M. I., y Abd Ellatif, S. S. (2019). Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in milk and dairy products and the effects of storage temperatures on survival and virulence gene expression. *International Dairy Journal*, 94, 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.02.010>
- Aleksic, B., Djekic, I., Miocinovic, J., Miloradovic, Z., Savic – Radovanovic, R., Zdravkovic, N., y Smigic, N. (2023). The hygienic assessment of dairy products' selling places at open markets. *Food Control*, 148. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109628>
- Alexander, L., Osorio, M., Bernal, G. B., y General, S. (s/f). *FERNANDO RUIZ GÓMEZ ministro de Salud y Protección Social*.
- Alonso, V. P. P., Ferreira, R. C. de C., Cotta, M. A., y Kabuki, D. Y. (2022). Influence of milk proteins on the adhesion and formation of *Bacillus sporothermodurans* biofilms: Implications for dairy industrial processing. *Food Control*, 134. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108743>
- Alrabadi, N. I. (2017). Bacterial Contamination of the Hands of Food Handlers: Evidence from Jordanian Dairy Industries. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(3), 1078–1084. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.603.124>

- Andueza, F., Albuja-Landi, A., Arguello-Hernández, P., Carrillo, L., Escobar-Arrieta, S., & Guananga-Diaz, N. (2019). Evaluación Físico-Química Y Microbiológica Del Sistema De Agua Que Abastece A Las Plantas Procesadoras. *Número, 21*.
- Ban, G. H., Lee, J. I., y Kang, D. H. (2023). Effects of storage temperature on microbiota shifts in raw milk biofilm developed on stainless steel. *Food Microbiology*, 110.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104163>
- Bernier, I., Cárdena F, E., & Piñeros, O. A. (2012). *Bacillus sporothermodurans anaeróbicos facultativos aislados de leches UHT elaboradas en Colombia* (Vol. 21, Número 27).
<http://portal.fedegan.org.co/pls/portal/docs/PA>
- Bhowmik, T., y Marth, E. H. (1990). Rote of Micrococcus and Pediococcus Species in Cheese Ripening: A Review. *Journal of Dairy Science*, 73(4), 859–866.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78740-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78740-1)
- Calvo, M. (2018). Identificación de microorganismos termodúricos provenientes de leche cruda productores de enzimas de deterioro, y evaluación de su actividad en biofilms.
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/21393/1/uy24-19243.pdf>
- Castañeda, L. (2015). Caracterización de la microbiota de leche ultra alta temperatura (UAT, UHT) analizada en Bogotá.
- Cattani, F., Ferreira, C. A. S., y Oliveira, S. D. (2013). The detection of viable vegetative cells of *Bacillus sporothermodurans* using propidium monoazide with semi-nested PCR. *Food Microbiology*, 34(1), 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.12.007>

- Chaleshtori, F. S., Arani, N. M., Aghadavod, E., Naseri, A., y Chaleshtori, R. S. (2017). Molecular characterization of *Escherichia coli* recovered from traditional milk products in Kashan, Iran. *Veterinary World*, 10(10), 1264–1268. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1264-1268>
- Cimmino, F., Catapano, A., Villano, I., Di Maio, G., Petrella, L., Traina, G., Pizzella, A., Tudisco, R., y Cavaliere, G. (2023). Invited review: Human, cow, and donkey milk comparison: Focus on metabolic effects. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22465>
- Costa, P., José De Andrade, N., José, F., Passos, V., César, S., Brandão, C., Gonçalves, C., y Rodrigues, F. (2004). Brazilian Archives Of Biology And Technology ATP-Bioluminescence as a Technique to Evaluate the Microbiological Quality of Water in Food Industry. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47, 399–405.
- Costa, V., Nélio, S. ;, Andrade, J., César, S., Brandão, C., Monteiro, R., Azeredo, C., Aparecida, S., y Lima, K. (2003). Microbiological air quality of processing areas in a dairy plant as evaluated by the sedimentation technique and a one-stage air sampler. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34, 255–259.
- Cuarta Edición Que Incorpora La Primera Adenda Guías para la calidad del agua de consumo humano. (s/f). <http://apps.who.int/>
- De Angelis, M., y Gobbetti, M. (2016). *Lactobacillus SPP.: General Characteristics* . En Reference Module in Food Science. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.00851-9>
- Doyle, C. J., Gleeson, D., Jordan, K., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., y Cotter, P. D. (2015). Anaerobic sporeformers and their significance with respect to milk and dairy

products. En *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 197, pp. 77–87). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.022>

Fonseca, A. N., Marques, S., y Mangiavacchi, B. M. (2020). Occurrence Of *Escherichia Coli* And *Staphylococcus Aureus* In Artisanal Minas Fresh Cheeses Produced In The Rural Area Of The Baixada Fluminense Region, Province Of Rio De Janeiro, Brazil. <https://doi.org/10.20959/wjpps20203-15730>

Gonzales-Malca, J., & Abanto-López, M. (2021). Calidad de los derivados lácteos producidos en la Región Amazonas, Perú. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 5(1). <https://doi.org/10.25127/aps.20211.759>

Gopal, N., Hill, C., Ross, P. R., Beresford, T. P., Fenelon, M. A., y Cotter, P. D. (2015). The prevalence and control of *Bacillus* and related spore-forming bacteria in the dairy industry. En *Frontiers in Microbiology* (Vol. 6, Número DEC). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01418>

Gutiérrez, M. (2022). Propuesta De Gestión De La Prevalencia De Microorganismos Esporulados Termorresistentes En Las Leches Del Departamento De Cundinamarca Colombia Y Su Posible Impacto Sobre La Calidad De La Leche UHT. Universidad Para La Cooperación Internacional (UCI).

Hanson, M. L., Wendorff, W. L., y Houck, K. B. (2005). Effect of Heat Treatment of Milk on Activation of *Bacillus* Spores. En *Journal of Food Protection* (Vol. 68, Número 7). <http://www.cfsan.fda.gov/>

Heldman D. (1967). Significance And Control Of Air-Borne Contamination In Milk And Food Plants. *Journal of Food Protection*, 30(1), 13–17.

Instituto Colombiano De Normas Técnicas Y Certificación [Norma Técnica Colombiana 3856 de 2004] Productos Lácteos. Leche UAT (UHT) Ultra Alta Temperatura Larga Vida Y Leche Ultrapasteurizada. 25 de febrero de 2004

Instituto Colombiano De Normas Técnicas Y Certificación [Norma Técnica Colombiana 4433 de 2006] Método para evaluar la esterilidad comercial en alimentos. 26 de abril de 2006

Instituto Colombiano De Normas Técnicas Y Certificación [Norma Técnica Colombiana 5230 de 2003] Microbiología de alimentos y alimento para animales. Método horizontal de técnicas de muestreo de superficies usando cajas de contacto y método de escobillón. 19 de diciembre de 2003

Instituto Colombiano De Normas Técnicas Y Certificación [Norma Técnica Colombiana 5246 de 2004] Productos Lácteos. Bebida Láctea Con Avena. 25 de febrero de 2004

Ivy, R. A., y Wiedmann, M. (2014). *Clostridium: Clostridium tyrobutyricum*. En *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (pp. 468–473). Elsevier Inc.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00071-9>

Jimenez, M. E., O'Donovan, C. M., Ullivarri, M. F. de, y Cotter, P. D. (2022). Microorganisms present in artisanal fermented food from South America. En *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.941866>

- Joubrane, K., Jammoul, A., Daher, R., Ayoub, S., El Jed, M., Hneino, M., El Hawari, K., Al Iskandarani, M., y Daher, Z. (2022). Microbiological contamination, antimicrobial residues, and antimicrobial resistance in raw bovine milk in Lebanon. *International Dairy Journal*, 134. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105455>
- Kang, Y.-J., & Frank, J. F. (1989). Biological Aerosols: A Review of Airborne Contamination and its Measurement in Dairy Processing Plants. En *Journal of Food Protection* (Vol. 52, Número 7).
- Karlsson, M. A., Langton, M., Innings, F., Malmgren, B., Höjer, A., Wikström, M., y Lundh, Å. (2019). Changes in stability and shelf-life of ultra-high temperature treated milk during long term storage at different temperatures. *Heliyon*, 5(9). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02431>
- Kenyon, J., Inns, T., Aird, H., Swift, C., Astbury, J., Forester, E., y Decraene, V. (2020). Campylobacter outbreak associated with raw drinking milk, North West England, 2016. *Epidemiology and Infection*. <https://doi.org/10.1017/S0950268820000096>
- Khan, M., Hussain, S., Kamran, M., Abro, R., Baloch, H., Rind, R., Rafiq, M., & Tunio, S. (2016). Bacterial contamination of drinking water used at dairy farms in Quetta, Balochistan. *Bolan Society for Pure and Applied Biology*, 5(4), 714–717.
- Klotz, F., Gutierrez, D., & Briñez, M. (2021). Detección rápida de contaminantes microbianos en leche UHT y otros productos lácteos asépticos mediante la aplicación del sistema BacT/ALERT 3D para pruebas de esterilidad comercial. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 29, 55–57.

Kmiha, S., Aouadhi, C., Klibi, A., Jouini, A., Béjaoui, A., Mejri, S., y Maaroufi, A. (2017). Seasonal and regional occurrence of heat-resistant spore-forming bacteria in the course of ultra-high temperature milk production in Tunisia. *Journal of Dairy Science*, 100(8), 6090–6099.

<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11616>

Ledo, J., Hettinga, K. A., y Luning, P. A. (2020). A customized assessment tool to differentiate safety and hygiene control practices in emerging dairy chains. *Food Control*, 111.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107072>

Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., y Franco, D. (2018). Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability: General aspects and overall description. En *Innovative technologies for food preservation: Inactivation of spoilage and pathogenic microorganisms* (pp. 53–107). Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811031-7.00003-0>

Martin, N. H., Evanowski, R. L., y Wiedmann, M. (2023). Invited review: Redefining raw milk quality—Evaluation of raw milk microbiological parameters to ensure high-quality processed dairy products. En *Journal of Dairy Science* (Vol. 106, Número 3, pp. 1502–1517). Elsevier Inc.

<https://doi.org/10.3168/jds.2022-22416>

Memisi, N., Veskovic Moracanin, S., y Milijasevic, M. (2019). The influence of air hygiene on microbiological safety of butter. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*,

333(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/333/1/012076>

Meneses, M., y Landoni, M. (2012). *BIOFILMS BACTERIANOS*. 44–49.

Ministerio De Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial Y Ministerio De Protección Social [Resolución 2115 de 2007] Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. 22 de Junio de 2007

Ministerio De La Protección Social [Decreto 616 de 2006] Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expendi, importe o exporte en el país. 28 de febrero de 2006

Ministerio de Salud [Resolución 02310 de 1986] Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979, en lo referente a procesamiento, composición, requisitos, transporte y comercialización de los Derivados Lácteos. 23 de febrero de 1986

Ministerio De Salud Y Protección Social [Resolución 1407 de 2022] Por la cual se establecen los criterios microbiológicos que deben cumplir los alimentos y bebidas destinados para consumo humano. 5 de agosto de 2022

Montanari, G., Borsari, A., Chiavari, C., Ferri, G., Zambonelli, C., y Grazia, L. (2004).

Morphological and phenotypical characterization of *Bacillus sporothermodurans*. *Journal of Applied Microbiology*, 97(4), 802–809. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02371.x>

Ntuli, V., Sibanda, T., Elegbeleye, J. A., Mugadza, D. T., Seifu, E., y Buys, E. M. (2022). Dairy production: microbial safety of raw milk and processed milk products. En Present Knowledge in Food Safety: A Risk-Based Approach through the Food Chain (pp. 439–454). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819470-6.00076-7>

Nyokabi, S., Luning, P. A., de Boer, I. J. M., Korir, L., Muunda, E., Bebe, B. O., Lindahl, J., Bett, B., y Oosting, S. J. (2021). Milk quality and hygiene: Knowledge, attitudes and practices of smallholder dairy farmers in central Kenya. *Food Control*, 130.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108303>

Olanbiwoninu, A. A., y Popoola, B. M. (2023). Biofilms and their impact on the food industry. En *Saudi Journal of Biological Sciences* (Vol. 30, Número 2). Elsevier B.V.

<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103523>

Pasteurizadora SantoDomingo (s.f) [Google]. Recuperado el 31 de julio de 2023 de

<https://www.google.com/maps/search/pasteurizadora+santo+domingo/@5.5060862,-73.9133987,12z/data=!5m1!1e4>

Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2016). Buenas prácticas de laboratorio análisis microbiológicos técnica para la realización de ambientes CC-TC-010. Versión 3.

Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2016). Buenas prácticas de laboratorio análisis microbiológicos técnica para la realización de superficies TC-CC-011. Versión 3.

Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2016). Buenas prácticas de laboratorio análisis microbiológicos técnica para el recuento de mesófilos aerobios TC-CC-013. Versión 3.

Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2016). Instructivo de muestreo para análisis de microbiológico y fisicoquímico de producto terminado UAT-UHT CC-IT-012. Versión 2.

Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2016). Instructivo de muestreo para análisis de producto terminado pasteurizado CC-IT-019. Versión 1.

- Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2016). Plan de muestreo agua potable CC-PL-008. Versión 3
- Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2017). Buenas prácticas de laboratorio técnica de filtración por membrana para agua TC-CC-009. Versión 3.
- Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2017). Plan de muestreo ambientes instalaciones y áreas CC-PL-003. Versión 4
- Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2017). Plan de muestreo manipuladores CC-PL-006. Versión 4
- Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2017). Plan de muestreo materia prima leche CC-PL-001. Versión 4
- Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2018). Plan de muestreo producto terminado pasteurizado UAT-UHT CC-PL-002. Versión 4
- Pasteurizadora SantoDomingo S.A (2021). Cronograma de muestreo CC-CR-001. Versión 1.
- Pettersson, B., Lembke, F., Hammer, P., Stackebrandt, E., & Priest, F. G. (1996). *Bacillus sporothemodurans*, a New Species Producing Heat-Resistant Endospores Highly. En *International Journal Of Systematic Bacteriology*. International Union of Microbiological Societies.
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., y Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. En *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 37, Número 5, pp. 664–698). <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12030>
- Radha, K., y Nath, L. S. (2014). Studies On The Air Quality In A Dairy Processing Plant. En *J. Vet. & Anim. Sci. Res* (Vol. 43, Número 5).

- Raghianti, F., Alves Dos Santos, E., y Martins, O. A. (2018). Yersinia enterocolitica in milk and dairy products: a review Yersinia enterocolitica em leite e derivados: uma revisão. www.scielo.br.
- Robertson, G. L. (2016). Ultrahigh Temperature Treatment (UHT): Aseptic Packaging. En Reference Module in Food Science. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.00810-6>
- Rojas, C. (2016). Facultad De Medicina Humana Y Ciencias De La Salud Escuela Profesional De Farmacia Y Bioquímica “Evaluación Microbiológica De Manipuladores De Alimentos”.
- Santillán, P. (2021). Determinación de la vida de anaquel de leche ultra pasteurizada basada en parámetros de calidad de la leche cruda. Escuela Agrícola Panamericana.
- Scheldeman, P., Herman, L., Foster, S., & Heyndrickx, M. (2006). Bacillus sporothermodurans and other highly heat-resistant spore formers in milk. Journal of Applied Microbiology, 101(3), 542–555. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02964.x>
- Silva, E., Ortiz, J., Murillo, C., Nava, G., Cárdenas, O., Peralta, A., Paredez, M., Piñeros, K., Otálora, A. (2010) Estudio de caracterización de la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua utilizada en la industria de alimentos, Colombia, 2007. <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v30n3/v30n3a15.pdf>
- Skeie, S. (2010). Milk quality requirements for cheesemaking. En Improving the Safety and Quality of Milk: Improving Quality in Milk Products (pp. 433–453). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1533/9781845699437.3.432>

Usuga R, A. F., Barrios-Hernández, D., Botero-Aguirre, M. C., Lopera-Castaño, M., Olivera-Angel, M., y Palacio-Baena, L. G. (2021). Análisis de la variación de la calidad de leche en Colombia 2008-2019. *Revista MVZ Córdoba*, 26(2), e2005.

<https://doi.org/10.21897/rmvz.2005>

Valero, A., Ortiz, J. C., Fongaro, G., Hernández, M., y Rodríguez-Lázaro, D. (2017). Definition of sampling procedures for collective-eating establishments based on the distribution of environmental microbiological contamination on food handlers, utensils and surfaces. *Food Control*, 77, 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.013>

Vallejo, F., y Toro, M. A. (s/f). Análisis Microbiológico En Yogurt Con Probióticos (Microbiological analysis in yogourt with probiotics).

Yang, S., Wang, Y., Ren, F., Li, Z., y Dong, Q. (2023). Applying enzyme treatments in *Bacillus cereus* biofilm removal. En *LWT* (Vol. 180). Academic Press.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114667>

Yenew, C., Tadele, F., Minuye, B., Sisay, E., Asmamaw, T., Mulatu, S., y Demissie, B. (2022). Raw cow milk nutritional content and microbiological quality predictors of South Gondar zone dairy farmers in Ethiopia, 2020. *Heliyon*, 8(10).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11020>

Zhu, T., Yang, C., Bao, X., Chen, F., & Guo, X. (2022). Strategies for controlling biofilm formation in food industry. En *Grain and Oil Science and Technology* (Vol. 5, Número 4, pp. 179–186). KeAi Communications Co. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2022.06.003>