

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y FÍSICOQUÍMICO DEL AZÚCAR,  
AGUA POTABLE Y AGUA ENVASADA.**

**ESTUDIANTE**

**KEVIN CAMILO SUESCUN GAMBOA**

**C.C: 1.094.282.981**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA  
VALLE DEL CAUCA  
2021**

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y FISICOQUÍMICO DEL AZÚCAR,  
AGUA POTABLE Y AGUA ENVASADA.**

**KEVIN CAMILO SUESCUN GAMBOA**

**TUTOR ACADÉMICO  
JOSÉ FÉLIX ORTIZ**

**GISELA QUIÑONEZ WOLF  
DIRECTORA DEL PROYECTO**

**TRABAJO DE GRADO PRESENTADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO  
DE MICROBIÓLOGO**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA  
PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER  
2021**

**NOTA DE ACEPTACION**

---

---

---

---

---

**PRESIDENTE DEL JURADO**

---

**JURADO**

---

**JURADO**

---

## TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 General.....	3
2.2 Específicos .....	3
3. JUSTIFICACIÓN .....	4
4. MARCO REFERENCIAL .....	5
4.1 Generalidades de la caña de azúcar .....	5
4.2 Sector agroindustrial de la caña en Colombia .....	5
4.3 Proceso de producción del azúcar .....	5
4.3.1 Preparación de la caña.....	5
4.3.2 Molienda.....	6
4.3.3 Sulfitacion-Purificacion .....	6
4.3.4 Encalado .....	6
4.3.5 Clarificación.....	6
4.3.6 Evaporación.....	7
4.3.7 Clarificación de meladura .....	7
4.3.8 Cristalización.....	7
4.3.9 Centrifugación .....	7
4.3.9 Secado y envase .....	8
4.4 Microbiología del azúcar .....	9
4.6 El agua en la industria azucarera .....	9
4.7 Marco legal.....	10
5. METODOLOGÍA .....	11
5.1 Medios de cultivo .....	12
5.2 Reactivos.....	14
5.3 Filtración por membrana para azúcar y agua tratada en la planta ..14	
5.3.1 Muestreo de azúcar.....	15
5.3.2 Muestreo de agua tratada en la planta .....	15
5.3.3 Análisis de coliformes totales y coliformes fecales .....	15
5.3.4 Análisis de bacterias aerobias mesófilas.....	16
5.3.5 Análisis de mohos y levaduras .....	16
5.4 Análisis de superficies y puntos controlados.....	17
5.4.1 Muestreo.....	17

5.4.2	<i>Análisis de bacterias aerobias mesófilas</i> .....	17
5.4.3	<i>Análisis de mohos y levaduras</i> .....	17
5.4.4	<i>Análisis de patógenos</i> .....	18
5.5	Análisis de ambientes.....	19
5.5.1	<i>Muestreo</i> .....	19
5.5.2	<i>Análisis de bacterias aerobias mesófilas, mohos y levaduras</i> ....	19
5.5.3	<i>Análisis de coliformes totales y fecales</i> .....	19
5.6	Análisis fisicoquímicos.....	20
5.7	Controles internos.....	20
5.8	Seguimientos especiales.....	21
6.	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	23
7.	RESULTADOS Y ANALISIS.....	24
7.1	Análisis de azúcar.....	24
7.1.1	<i>Coliformes totales y coliformes fecales</i> .....	26
7.1.2	<i>Bacterias aerobias mesófilas</i> .....	27
7.1.3	<i>Mohos y levaduras</i> .....	27
7.2	Análisis de agua potable.....	29
7.3	Resultados de superficies y ambientes.....	31
7.4	Evaluación de la calidad de agua envasada.....	31
8.	CONCLUSIONES.....	33
9.	RECOMENDACIONES.....	34
11.	BIBLIOGRAFÍA.....	37
12.	ANEXOS.....	40

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Actividades realizadas de acuerdo a los análisis microbiológicos y fisicoquímicos en el laboratorio.....	11
<b>Tabla 2.</b> Medios de cultivo utilizados en el laboratorio de microbiología. ....	13
<b>Tabla 3.</b> Pruebas rápidas Compact Dry utilizadas en el laboratorio de microbiología. ....	13
<b>Tabla 4.</b> Parámetros microbiológicos para el azúcar en sus diferentes versiones.....	14
<b>Tabla 5.</b> Métodos y análisis para los seguimientos especiales ...	22
<b>Tabla 6.</b> Resultados microbiológicos del azúcar durante los meses de abril a octubre.....	24
<b>Tabla 7.</b> Promedio de los resultados microbiológicos del azúcar. ....	25
<b>Tabla 8.</b> Promedio de los resultados obtenidos de los análisis de agua potable en cada área. ....	29
<b>Tabla 9.</b> Parámetros y cumplimiento de los parámetros físico-químicos establecidos por la norma para agua potable y agua potable envasada. ....	30
<b>Tabla 10.</b> Rastreo de los resultados obtenidos a partir del seguimiento microbiológico de las neveras dispensadoras de agua y botellones usados para el almacenamiento del agua. ....	31

## LISTA DE GRÁFICOS.

<b>Grafica 1.</b> Flujo grama del proceso de producción de azúcar. ....	8
<b>Grafica 2.</b> Promedio del recuento microbiano con respecto al tipo de azúcar.....	26
<b>Grafica 3.</b> Recuento de bacteria aerobias mesofilas durante los meses de abril a octubre.....	27
<b>Grafica 4.</b> Recuento de mohos durante los meses de abril a octubre.....	28
<b>Grafica 5.</b> Recuento de levaduras durante cada los meses de abril a octubre.....	28
<b>Grafica 6.</b> Relación de los datos obtenidos provenientes del seguimiento especial de las neveras dispensadoras.....	32

## **LISTA DE ANEXOS**

<b>1. Crecimiento microbiano en medios de cultivo. ....</b>	<b>40</b>
<b>a. Bacterias aerobios mesófilos en agar plate count. ...</b>	<b>40</b>
<b>b. Mohos y levaduras en agar YGC .....</b>	<b>40</b>
<b>c. Coliformes totales y fecales en agar EC .....</b>	<b>40</b>
<b>d. Presencia de coliformes fecales en caldo lauril sulfato .....</b>	<b>41</b>
<b>e. Crecimiento en placas Compact Dry TC/YM .....</b>	<b>41</b>
<b>2. Seguimiento de agua envasada .....</b>	<b>42</b>
<b>a. Rotulado de cada llenado y dispensación del agua envasada.....</b>	<b>42</b>
<b>b. Crecimiento microbiano del seguimiento de agua envasada.....</b>	<b>42</b>
<b>3. Staphylase Test .....</b>	<b>43</b>



## 1. INTRODUCCIÓN

Esta práctica empresarial tiene como principal función emplear y demostrar todos los conocimientos adquiridos por medio de la formación académica en un campo laboral en el que constantemente se encuentran retos y problemáticas que nosotros como profesionales debemos afrontar y resolver con responsabilidad y seriedad en todo momento que se presenten. Es la oportunidad de poner a prueba todo lo adquirido en la universidad, evaluando las capacidades, virtudes y debilidades que se puedan presentar al ejercer el trabajo en el campo laboral.

El trabajo como microbiólogo en la industria azucarera, es un trabajo dinámico y versátil, ya que nada está sobreescrito, este fue uno de los retos más difíciles de afrontar, además el monitoreo constante como ente regulador de la calidad dentro de la empresa involucra mucha experiencia y tiempo, en lo personal ejercer como microbiólogo en un ambiente productivo es una tarea de esfuerzo y dedicación, no solo tienes la responsabilidad de mantener un control de calidad sobre los productos, sino que debes mantener una cultura de calidad e inocuidad dentro de la organización, fundamental para establecer procesos productivos fiables y de calidad.

En primer lugar la industria azucarera en Colombia conforma una de las economías más prosperas y notablemente explotadas los últimos años en el país, dadas las condiciones que han promovido la cosecha y procesamiento de la caña que de la mano con una zona agroclimáticamente estratégica, fácil acceso a los corredores logísticos de comercio exterior y una avanzada organización institucional ha convertido a la agroindustria azucarera en una de las mejores, con estándares de calidad y eficiencia. (*Arango Sanclemente S., Col., 2011*)

La microbiología aplicada en la industria azucarera se basa en las especificaciones de calidad y cumplimiento de normas reglamentarias y solicitudes por parte de los clientes, la evaluación de asepsia durante la producción, el control del proceso que permite evitar pérdidas de sacarosa y producto final, esto sirve como indicador de eficiencia en algunas etapas del proceso (*Rodríguez Salas T., Col.*).

En este trabajo se da a conocer las prácticas microbiológicas enfocadas al análisis de azúcar como producto final, el agua utilizada no solo para la fabricación del producto sino para consumo humano directo, el control de los ambientes y superficies dentro de la empresa que se consideran claves para mantener un proceso productivo ceñido a los estándares de calidad propios de la organización.

Este tipo de prácticas se fundamentan en protocolos establecidos por la organización en los cuales las muestras de azúcar a analizar son pesadas y diluidas en agua peptonada estéril, para posteriormente ser filtradas en su

totalidad y sembradas en agares tanto selectivos como diferenciales para cada grupo de microorganismos a evaluar (Coliformes totales, aerobios mesófilos, mohos y levaduras), en cuanto al agua, dependiendo si se trata de potable o tratada, se analiza de acuerdo a la resolución 2115 del 2007 que establece los parámetros y mecanismos para el análisis de agua potable apta para el consumo humano y la Resolución 12186 de 1991 para el análisis y control del agua envasada destinada al consumo humano directo o envasada.

Las superficies y los ambientes muestreados dependen de cada área en donde principalmente se evalúa la presencia de microorganismos clave, como lo son Aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes totales y fecales, indicadores como *Staphylococcus aureus* y patógenos como *Salmonella*.

Dentro del proceso productivo también se evaluó el aseo y correcta desinfección de las neveras dispensadoras de agua las cuales se abastecen de la planta de tratamiento de agua propia de la empresa, haciendo un seguimiento controlado desde el momento en que se lava la nevera, el proceso de llenado de los frascos con el agua ozonizada lista para el consumo humano y su comportamiento microbiológico a través de los días, estableciendo así un periodo óptimo y límite de aseo evitando que el agua se contamine y pueda producir algún efecto adverso al consumidor.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 General**

Realizar el control de calidad a los productos derivados del azúcar de caña.

### **2.2 Específicos**

Verificar la calidad microbiológica de los diferentes tipos de azúcar, blanca, refinada y familiar.

Verificar la calidad microbiológica del agua potable destinada para el consumo humano y para la producción de azúcar.

Evaluar la calidad fisicoquímica y microbiológica del agua potable para consumo humano y el agua embotellada tratada en el ingenio para consumo directo.

Monitorear las áreas de producción por medio de análisis microbiológicos de ambientes.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente el mercado laboral es un sector altamente competitivo en donde los profesionales, técnicos y tecnólogos cada día son más competentes, estudiados y preparados en las áreas de producción e investigación, por tal razón para sobresalir en este sector productivo se necesita no solo del conocimiento adquirido sino de las competencias intrínsecas de cada persona. Como egresados tenemos mucho camino que recorrer pero la idea de poder desarrollar prácticas empresariales, estimula los deseos de prevalecer en el sector, aportar conocimientos y en su caso ser eje de nuevas estrategias de cambio que beneficien no solo a la organización sino a la comunidad en general.

Asumir la práctica empresarial como una oportunidad de demostrar los conocimientos adquiridos a través de estos años de estudio en la universidad y favorecer al aprendizaje transversal, da pie al desarrollo humano e integral en una sociedad productiva, por esta razón la organización es un pilar fundamental para desarrollar el proyecto de vida laboral y personal.

La importancia de este trabajo se basa principalmente en dar a conocer los diferentes métodos, análisis e importancia de la microbiología en la industria azucarera, en donde los microbiólogos hacemos parte fundamental de la inocuidad alimentaria, de los procesos y productos de calidad pues sabemos que son factores que afectan directamente a todas las partes asociadas no solo con los productos sino con la organización, nuestro trabajo como microbiólogos representa los procesos óptimos, seguros y fiables que generan productos e inocuos para el consumidor.

## **4. MARCO REFERENCIAL**

### **4.1 Generalidades de la caña de azúcar**

La caña de azúcar *Saccharum* de especie *officinarum* está ampliamente distribuida en el continente americano y es la más representativa en los cultivos de caña para la producción de azúcar a partir del jugo del tallo.

Son plantas cespitosas con tallos de hasta 5-6 m x 2-5 cm, con numerosos entrenudos alargados vegetativamente; dulces, jugosos y duros, desnudos abajo. vainas glabras o pelosas, además Diferentes microorganismos asociados a sus raíces y algunos que crecen dentro de los tejidos de la planta (endófitos), como en el tallo y las hojas, pueden fijar el nitrógeno atmosférico, lo que permite su cultivo en muchas zonas sin aporte de abonos nitrogenados. (*NaturaListaCO.*)

### **4.2 Sector agroindustrial de la caña en Colombia**

El sector agroindustrial de la caña se encuentra ubicado en el valle geográfico del río Cauca, que abarca 51 municipios, 6 departamentos (Valle del Cauca, Cauca, Risaralda, Caldas, Quindío y Meta). En esta región hay actualmente 241.205 hectáreas sembradas en caña de azúcar, de las cuales, el 25% corresponde a tierras propias de los ingenios y el restante 75% a más de 2.750 cultivadores de caña. Dichos cultivadores abastecen a 12 ingenios (Carmelita, Incauca, La Cabaña, Manuelita, María Luisa, Mayagüez, Del Occidente, Pichichi, Providencia, Riopaila Castilla, Risaralda y SanCarlos). Desde 2005, cinco de los doce ingenios tienen destilerías anexas para la producción de alcohol carburante (Incauca, Manuelita, Providencia, Mayagüez y Risaralda) y desde 2015, el ingenio Riopaila Castilla. Gracias al clima privilegiado de la región, y al contrario de lo que sucede en el resto del mundo (con excepción de Hawái y el norte de Perú), se puede sembrar y cosechar caña durante todos los meses del año. Esta condición agroclimática, sumada al avance tecnológico impulsado por el Centro de Investigación de la Caña (Cenicaña), que funciona con el aporte de todos los cultivadores e ingenios, ha llevado a que la región se especialice en el cultivo y ostente el liderazgo en productividad a nivel mundial. (*Asocaña., 2021.*)

### **4.3 Proceso de producción del azúcar**

#### **4.3.1 Preparación de la caña**

La caña antes de ingresar al molino pasa por una niveladora y picadoras con el objetivo de prepararla adecuadamente para la extracción de jugo en los molinos, cortan los tallos y los convierten en astillas dándoles un tamaño más uniforme para facilitar así la extracción del jugo en los molinos.

### **4.3.2 Molienda**

La caña que fue transportada desde las picadoras llega a un tándem de molinos que por medio de mazas metálicas y mediante presión extrae el jugo de la caña, al pasar por el primer molino se extrae aproximadamente entre el 70 a 80% de su peso en jugo, para lograr una buena extracción se lava el bagazo con agua o jugo pobre en sacarosa.

En el recorrido de la caña por cada molino se agrega agua caliente y jugo pobre en sacarosa para extraer al máximo la cantidad de sacarosa. El bagazo que sale de la última molienda se conduce a un lugar donde se almacena y parte de este bagazo alimenta las calderas como combustible, produciendo vapor de alta presión que se emplea en las turbinas de los molinos, operaciones de evaporación y cocimiento de los jugos.

### **4.3.3 Sulfitacion-Purificacion**

El objetivo principal de esta etapa es producir anhídrido sulfuroso  $SO_2$ , evitando la sublimación del azufre y mezclarlo con el jugo de caña para eliminar materiales colorantes y transformar a las sales férricas que se forman en tanques y tuberías en compuestos ferrosos incoloros

### **4.3.4 Encalado**

En este proceso se eliminan los ácidos orgánicos del jugo y permite elevar el pH a un valor aproximado entre 5.1 a 5.5 con el objetivo de minimizar las posibles pérdidas de sacarosa.

Para la obtención del jugo encalado se debe mezclar en un tanque, jugo sulfitado con lechada de cal (cal con agua) y dejar que el agitador mecánico que se encuentra en parte interior del tanque remueva las dos sustancias para formar sales insolubles, coagular a las materias albuminoides y eliminar una parte de los materiales pépticos y materiales colorantes.

### **4.3.5 Clarificación**

El objetivo de este proceso es obtener un jugo claro de color amarillo brillante, transparente y sedimentar todos los precipitados (cachaza) formados en el encalado para producir un jugo cristalino

Al llegar a una temperatura de 92-100°C el jugo encalado se mezcla con un compuesto preparado denominado floculante al clarificador, por un tiempo de 1 a 3 horas de retención.

#### **4.3.6 Evaporación**

El objetivo de este proceso va ser concentrar el jugo claro proveniente de la etapa anterior hasta obtener un jarabe entre 60 a 65°Brix de concentración. El jugo clarificado se recibe en los evaporadores con un contenido de sólidos de aproximadamente 15 °Brix y se concentra por evaporación de múltiple efecto, este jugo concentrado se denomina jarabe o meladura.

#### **4.5.7 Clarificación de meladura**

La meladura que sale de los evaporadores sufre un nuevo proceso de purificación en un clarificador por flotación donde se sulfita, se mezcla con ácido fosfórico, cal y floculante, con el objeto de remover impurezas, para asegurar que en el producto final no haya presencia de sólidos extraños.

#### **4.3.7 Cristalización**

La cristalización se realiza en los tachos que son recipientes al vacío, el material resultante que contiene miel y cristales de azúcar se denomina masa cocida, el proceso logra la mayor concentración de sacarosa. La cristalización tiene como objetivo “almacenar las masas cocidas y pasar con la consistencia debida a centrifugación y controlar agotamiento de masas”.

#### **4.3.8 Centrifugación**

La centrífuga permite separar la sacarosa cristalizada de la miel, la masa pasa por las centrífugas, máquinas giratorias en las cuales los cristales se separan del licor madre por medio de una masa centrífuga aplicada a tambores rotatorios que contienen mallas interiores, durante el proceso de centrifugado, el azúcar se lava con agua caliente para eliminar la película de miel que recubre los cristales residuos de miel.

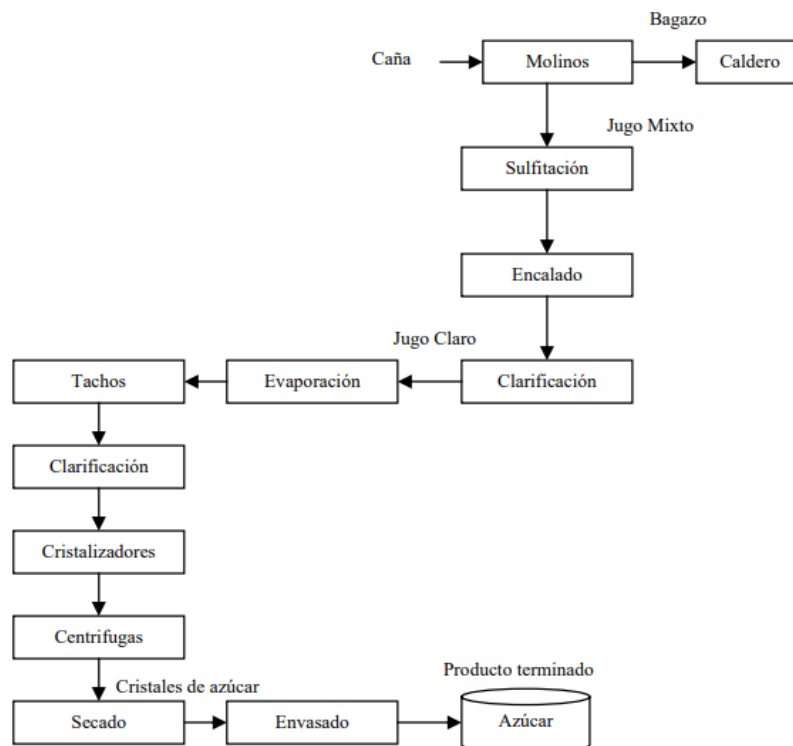
Cuando se está produciendo azúcar doblemente cristalizado, el azúcar obtenido en las centrífugas se disuelve con agua caliente en un disolutor de azúcar, para luego ser enviado al proceso de evapo-cristalización en los tachos con el objeto de remover color y obtener un producto con valores adecuados para producir azúcar.

#### 4.3.9 Secado y envase

El azúcar húmedo se transporta por elevadores y bandas para alimentar las secadoras que son elevadores rotatorios en los cuales el azúcar se coloca en contacto con el aire caliente que entra en contracorriente. El azúcar debe tener baja humedad, aproximadamente 0,05%, para evitar la formación de terrones.

El azúcar se seca con temperatura cercana a 60°C, se pasa por los enfriadores rotatorios inclinados que llevan el aire frío en contracorriente, en donde se disminuye su temperatura hasta aproximadamente 40-45°C para conducir al envasado. El azúcar seca y fría se empaqueta en sacos de diferentes pesos y presentaciones dependiendo del mercado y se despacha a la bodega de producto terminado para su posterior venta y comercio. (Universidad de Guadalajara).

**Grafica 1.** Flujo grama del proceso de producción de azúcar.





#### 4.4 Microbiología del azúcar

Pese a que muchos organismos hacen parte de las etapas iniciales del proceso, el producto terminado no queda exento de ser contaminado por microorganismos, el jugo de caña es un excelente medio de cultivo que contiene microorganismos que al no ser controlados posiblemente terminen con pérdidas de sacarosa y tal razón del producto final destinado a ser comercializado. (Guerrero Gómez L.S., 2018).

La sacarosa por su parte es un disacárido compuesto por una molécula de glucosa (dextrosa) y una de fructosa (levulosa). Debido a que la alta producción de sacarosa es en forma cristalina, lo hace un sustrato interesante para el desarrollo de nuevas tecnologías químicas y microbiológicas. (Aguilar Rivera N., Col. 2012)

Los jugos de bajo Brix se degradan fácilmente por la acción microbiana. A temperatura ambiente un amplio rango de organismos denominados mesófilos (Coliformes, aerobios m mesófilos, mohos y levaduras) pueden fermentar los jugos de azúcar. Probablemente la actividad microbiana más evidente es causada por el *Leuconostoc* sp, que es una bacteria formadora de limo o babaza.

Los microorganismos más representativos y que generalmente se evalúan en el azúcar de cualquier tipo son bacterias aerobias mesófilos, coliformes totales, *E. coli*, mohos y levaduras, son microorganismos que pueden provocar un daño al consumidor pero que principalmente afectan al producto final en sus características fisicoquímicas y organolépticas (Rodríguez Salas T., Col.).

Las levaduras y los mohos poseen la capacidad de crecer en una amplia variedad de sustratos, incluidos azúcares simples y polisacáridos, el jugo de caña puede servir como un medio ideal para la supervivencia de las levaduras. Las condiciones a las cuales la caña se encuentra expuesta determinan en gran medida si el producto residual del deterioro serán dextranas o etanol. La producción de etanol y ácidos orgánicos es característico por el consumo de sacarosa de levaduras que se encuentren bajo condiciones de poca humedad. La velocidad con la cual estos organismos metabolizan la sacarosa también depende en gran medida de la temperatura, debido a esto, su actividad se reduce considerablemente en clima frío. (Guerrero Gómez L.S., 2018)

#### 4.6 El agua en la industria azucarera

Los usos del agua en la industria alimentaria son muy variados y específicos, estos van desde los procesos de limpieza diaria y lavado de manos, hasta su uso como ingrediente principal en algunos productos. (Muñoz Lucas S., Sánchez García R., 2016).

La función principal para este tipo de industrias es la obtención de azúcar a partir de la caña de azúcar, estas industrias empelan grandes cantidades de agua que

toman normalmente de ríos pozos u otras fuentes naturales y que tras los tratamientos de adecuación es utilizada en los distintos procesos en la fábrica (*Muñoz Lucas S., Sánchez García R., 2016*) ya sea como ingrediente, limpieza, lavado de manos y en algunos casos consumo humano directo después de procesos de potabilización y esterilización.

#### **4.7 Marco legal**

Ya que en Colombia no se encuentra vigente una norma que regule las condiciones microbiológicas, físicas y químicas del azúcar como producto final en todas sus presentaciones y subproductos, es necesario adoptar normas extranjeras las cuales son NTC 3905 que corresponde al análisis de bacterias coliformes de azúcares y melazas con el método de filtración por membrana de 1996, NTC 3906 para el recuento de bacterias mesófilos aerobias de azúcares y melazas por el método de filtración por membrana de 1996 y la NTC 3907 para el recuento de mohos y levaduras de azúcares y melazas por el método de filtración por membrana de 1996, de igual manera se establecen los rangos microbiológicos para el azúcar como producto terminado. (*González Palomino B. E., 2008*)

## 5. METODOLOGÍA

La metodología abordada se basa en la planeación previa de las actividades a desarrollar durante el tiempo requerido, se determinan las frecuencias de cada actividad, los materiales que se consideren necesarios además del tiempo empleado para cada muestreo y análisis de acuerdo a los cronogramas establecidos así como los valores de referencia empleados por la normatividad vigente, en este caso la NTC 3905, 3906 y 3907 que establece los límites microbiológicos para el control de calidad del azúcar y sus presentaciones. La resolución 2115 del 2007 para el sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano, la Resolución 12186 de 1991 estableciendo las condiciones para los procesos de obtención, envasado y comercialización de agua potable tratada con destino al consumo humano.

Los análisis fisicoquímicos, como el manual de preparación de soluciones químicas, las fichas técnicas para el azúcar, mieles y demás protocolos internos del laboratorio, son extraídas a partir del libro de métodos analíticos ICUMSA (International Commission of Unified Methods of Sugar Analysis) Methods Book, 2005.

Los requisitos generales y directrices para análisis microbiológicos son extraídos de la norma NTC 4092 (Norma técnica colombiana 4092, Microbiología de alimentos y producto para alimentación animal) ICONTEC, 2009.

Con la NTC ISO/EIC 17025 nacen los POES o manuales patrón proceso operativos como son los métodos de muestreo, calibración o ensayos los cuales llevan códigos internos como F-I-FIEL-000-0 orientados a la organización y certificación del laboratorio.

De acuerdo a los cronogramas y objetivos propuestos a desarrollar se plantean las siguientes actividades.

**Tabla 1.** Actividades realizadas de acuerdo a los análisis microbiológicos y fisicoquímicos en el laboratorio.

<b>Análisis microbiológicos</b>		
<b>Actividad</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Microorganismos evaluados</b>
<b>Análisis de azúcar</b>	Filtración por membrana	<ul style="list-style-type: none"><li>• Coliformes totales</li><li>• Coliformes fecales</li><li>• Bacterias aerobias mesófilas</li><li>• Mohos y levaduras</li><li>• <i>E. coli</i></li></ul>
<b>Análisis de agua potable</b>	Filtración por membrana	<ul style="list-style-type: none"><li>• Coliformes totales</li><li>• Coliformes fecales</li><li>• Bacterias aerobias mesófilas</li></ul>

<b>Análisis de ambientes</b>	Recuento en placa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>E. coli</i></li> <li>• Coliformes totales</li> <li>• Coliformes fecales</li> <li>• Bacterias aerobias mesófilas</li> <li>• Mohos y levaduras</li> <li>• <i>E. coli</i></li> </ul>
<b>Controles internos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Limpieza y desinfección de áreas y equipos</li> <li>• Esterilización de materiales y áreas</li> <li>• Seguimiento del proceso de autoclavado</li> <li>• Control de medios de cultivo y membranas de filtración</li> <li>• Manejo de desechos</li> </ul>	
<b>Seguimientos especiales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Filtración por membrana</li> <li>• Recuento en placa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coliformes totales</li> <li>• Coliformes fecales</li> <li>• Bacterias aerobias mesófilas</li> <li>• Mohos y levaduras</li> <li>• <i>E. coli</i></li> </ul>
<b>Análisis fisicoquímicos</b>		
<b>Análisis</b>	<b>Método</b>	
Determinación de la concentración del cloro en agua	Colorimétrico con el kit de cloro	
Determinación de pH en agua	Electroquímico (insertando en electrodo en la muestra)	
Determinación de la conductividad en agua	Electroquímico (insertando en electrodo en la muestra)	
Determinación de la dureza en agua	Titulación	

### 5.1 Medios de cultivo

Los medios de cultivo se preparan de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Los agares son esterilizados en autoclave durante 20 min a 121°C y de 15-2 libras de presión, en dado caso que el fabricante establezca que el medio de cultivo no se puede autoclavar, solo se autoclava el agua destilada, se homogeniza por medio de calor evitando el sobrecalentamiento.

Los medios de cultivo usados en el laboratorio son:

**Tabla 2.** Medios de cultivo utilizados en el laboratorio de microbiología.

<b>Medio de cultivo</b>	<b>Método de siembra</b>	<b>Microorganismos blanco</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>
<b>Agar Plante Count</b>	Filtración por membrana / Precipitación	Bacterias aerobias mesófilas	30°C	24-48h
<b>Agar YGC (Extracto de levadura – Glucosa – Cloranfenicol)</b>	Filtración por membrana / Precipitación	Mohos y levaduras	30°C	48-72h
<b>Agar Chromocult ES</b>	Filtración por membrana	Coliformes totales y coliformes fecales	35°C	24-48h
<b>Agar Chromocult</b>	Precipitación	Coliformes totales y coliformes fecales	35°C	24-48h
<b>Caldo Lauril sulfato</b>	Presencia / Ausencia	Coliformes fecales	45°C	24h

El laboratorio de microbiología posee algunas pruebas rápidas para la determinación de microorganismos llamadas Compact Dry que se basa en un medio de cultivo deshidratado, cromogénico y el cual se encuentra estéril. Cada placa es específica para grupos de microorganismos o especie microbiana en esencia, como por ejemplo:

**Tabla 3.** Pruebas rápidas Compact Dry utilizadas en el laboratorio de microbiología.

<b>Medio de cultivo</b>	<b>Método de siembra</b>	<b>Microorganismos blanco</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>
<b>Compact Dry TC</b>	Recuento en placa	Bacterias aerobias mesófilas	35°C	24-48h
<b>Compact Dry YM</b>	Recuento en placa	Mohos y levaduras	30°C	48-72h
<b>Compact Dry EC</b>	Recuento en placa	Coliformes totales y coliformes fecales	35°C	24-48h
<b>Compact Dry XSA</b>	Presencia / Ausencia	<i>Staphylococcus aureus</i>	35°C	24-48h
<b>Compact Dry SA</b>	Presencia / Ausencia	<i>Salmonella</i>	45°C	24-48h

El agua peptonada también es ampliamente utilizada en el laboratorio, por esta razón su preparación se basa en pesar en la balanza 8,5 g de NaCl con 1 g de

peptona por cada litro de agua destilada, se homogeniza y posteriormente se esteriliza en el autoclave durante 20 min a 121°C y de 15-20 libras de presión.

## 5.2 Reactivos

- Tiosulfato de sodio: indispensable para el muestreo de agua potable y agua envasada proveniente de la planta de tratamiento de agua potable del ingenio. Su preparación consiste en pesar 1 g de Tiosulfato de sodio y disolverlo en 100 ml de agua destilada, se somete a esterilización durante 15 min a 121°C y de 15-20 libras de presión, finalmente se lleva a 4°C para su almacenamiento.
- Reactivo de Kovac's: usado para la detección de indol microbiano y eventualmente la identificación de *E. coli* en el medio de cultivo lauril sulfato.
- Staphylase Test: es un kit para la identificación de *Staphylococcus aureus* por medio de la detección del factor de aglutinación, usa como reactivo principal glóbulos de oveja sensibilizados con fibrinógeno de conejo y un control negativo.
- Solución salina: utilizada para la detección de *Salmonella* en las placas de Compact Dry, esta se prepara a una concentración del 0,8% de NaCl en el cual se pesa en una balanza 0,8 g de NaCl y se homogeniza en 100 ml de agua destilada, la solución se esteriliza durante 20 min a 121°C y de 15-20 libras de presión.

## 5.3 Filtración por membrana para azúcar y agua tratada en la planta

Los resultados que provienen del análisis de azúcar cumplen en su mayoría con la norma NTC 3905, 3906 y 3907 adoptada por los ingenios azucareros, que se encuentra en proceso de validación, de acuerdo con la norma NTC estos son los rangos de cumplimiento para tipo de azúcar como producto final.

**Tabla 4.** Parámetros microbiológicos para el azúcar en sus diferentes versiones.

AZÚCAR	MÉTODO	COLIFORMES	E. coli	BMA	MOHOS	LEVADURAS
REFINADA	UFC/10g	50 Máx.	0	130 Máx.	10 Máx.	30 Máx.
BLANCO ESP	UFC/10g	50 Máx.	0	550 Máx.	15 Máx.	150 Máx.
BLANCO	UFC/10g	50 Máx.	0	550 Máx.	15 Máx.	300 Máx.
CRUDO	UFC/10g	50 Máx.	0	600 Máx.	15 Máx.	300 Máx.
TODAS	UFC/g	10 Máx.	---	60 Máx.	40 Máx.	40 Máx.

### **5.3.1 Muestreo de azúcar**

El muestreo de azúcar se realiza por medio de bolsas estériles que posteriormente se someten a luz UV por 30 minutos junto con los medios de cultivo en el cuarto de siembra, son depositadas en una caja plástica junto a los elementos y materiales necesarios para el muestreo. En el empacadero se toma la muestra directamente de los sacos de azúcar industrial en sus diferentes presentaciones, son llevadas al laboratorio en donde se hacen los análisis microbiológicos pertinentes.

### **5.3.2 Muestreo de agua tratada en la planta**

Para estos muestreos se usan envases rotulados de plástico previamente esterilizados que contengan 0,3 ml de tiosulfato de sodio, en el caso del agua potable, en cada punto de muestreo se hace la limpieza y desinfección de la llave, así se busca asegurar que el resultado no se vea afectado por factores externos como el aseo de la llave, seguidamente se toma la muestra dejando correr el agua unos segundos. Con el muestreo del agua tratada envasada, se sigue el mismo procedimiento pero directamente de la nevera dispensadora de agua. Después de que las muestras son llevadas al laboratorio, se siembran de acuerdo a lo establecido por la norma.

### **5.3.3 Análisis de coliformes totales y coliformes fecales**

Se dispone a pesar 10 g de la muestra de azúcar en el recipiente que contiene 90 ml de agua peptonada estéril, se homogeniza cuidadosamente evitando estrés en las células y posteriormente manteniendo las condiciones asépticas se lleva a la cabina de flujo laminar para la filtración.

En la cabina se prepara el sistema de filtración y con una pinza estéril se toma el filtro de 0,45 micras de diámetro compuesto de celulosa en el sistema, se añade la solución con la muestra y se filtra, después de la filtración y con ayuda de otra pinza estéril se toma el filtro y se coloca cuidadosamente en el medio Chromocult ES. Las cajas son incubadas durante 24-48h a 35°C.

En el caso de que la muestra sea agua ya sea potable o envasada se filtran 100 ml de la muestra siguiendo el mismo procedimiento.

Pasado el tiempo de incubación, se cuentan las colonias representativas que se presentan de color rojo o rosado brillante para coliformes totales y azul-verdoso brillantes para coliformes fecales, se reporta como unidades formadoras de colonia sobre 10 g o 100 ml de la muestra (UFC/10 o UFC/100ml).

#### **5.3.4 Análisis de bacterias aerobias mesófilas**

Se dispone a pesar 10 g de la muestra de azúcar en condiciones asépticas en el recipiente que contiene 90 ml de agua peptonada estéril, se homogeniza y se lleva a la cabina de flujo laminar para la filtración.

En la cabina se sigue el mismo procedimiento anterior, usando las pinzas estériles para manejar el filtro de celulosa de 0,45 micras de diámetro y se siembra en el agar Plante count suministrado con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) para facilitar la lectura de colonias el cual se incubara a 30°C durante 24-48h.

Si la muestra es agua potable se filtra 100 ml de la muestra realizando el mismo procedimiento, en el caso de que sea agua envasada se toma con ayuda de una micropipeta directamente del recipiente 1 ml de la muestra y se inocula en una placa Compact Dry TC, se sella y se lleva a incubación.

Pasado el tiempo de incubación, contar las colonias que serán reportadas como unidades formadoras de colonia sobre 10 g o 100 ml de la muestra (UFC/10g o UFC/100ml) y unidades formadoras de colonia sobre ml en el caso de agua envasada (UFC/mL). Las colonias representativas en el medio de cultivo Plante count se presentan de color rojo brillante gracias a la asimilación del TTC como lo muestran las fotos del **anexo 1 (a)** y rojas pequeñas opacas en las placas de Compact Dry TC como se muestran en el **anexo 1 (e)**.

#### **5.3.5 Análisis de mohos y levaduras**

Se dispone a pesar 10 g de la muestra de azúcar en condiciones asépticas en el recipiente que contiene 90 ml de agua peptonada estéril, se homogeniza y se lleva a la cabina de flujo laminar para la filtración.

En la cabina se sigue el mismo procedimiento anterior, usando las pinzas estériles para manejar el filtro de celulosa de 0,45 micras de diámetro y se siembra en el agar YGC y se incubara a 30°C durante 72h.

Pasado el tiempo de incubación, contar las colonias que serán reportadas como unidades formadoras de colonia sobre 10 g de la muestra (UFC/10g).

El crecimiento representativo para cada grupo de microorganismos esta evidenciado en el **anexo 1 (b)** donde las levaduras crecen de color blanco y cremoso, en cambio las colonias de los mohos son algodonosas.



## **5.4 Análisis de superficies y puntos controlados.**

### **5.4.1 Muestreo**

Dependiendo de la superficie y como interactúa con el producto se establecen los peligros microbiológicos a muestrear y evaluar.

Para este muestreo se toma un tubo de ensayo plástico con 10 ml de agua peptonada estéril y se hace el frotis en la superficie de aproximadamente 10cmX10cm con un hisopo igualmente estéril, se introduce en el tubo de ensayo y se lleva al laboratorio. Todas las prácticas se deben hacer en condiciones de asepsia, usando los elementos de bioseguridad y evitando dejar rastros en la zona muestreada que pueda afectar el producto.

### **5.4.2 Análisis de bacterias aerobias mesófilas**

Homogenizado el contenido del tubo de ensayo con la muestra se procede a sembrarlo en la cabina de flujo laminar. Para esto se toma con ayuda de una micropipeta 1 ml de la muestra y se lleva a una placa Compact Dry TC, esperamos que se humedezca completamente, sellamos y llevamos a incubación durante 24-48h a 30°C.

Las colonias representativas deben presentarse de color rojo, pequeñas y opacas, estas se reportan como unidades formadoras de colonia por centímetro cuadrado de la superficie (UFC/cm<sup>2</sup>).

Si existen diferentes muestras es necesario cambiar de punta por cada pase.

Si la concentración de microorganismos es alta, se procede a hacer diluciones seriadas, diluyendo 1 ml de la muestra en un tubo de ensayo que contiene 9 ml de agua peptonada estéril.

### **5.4.3 Análisis de mohos y levaduras**

A partir de mismo tubo de ensayo con la muestra ya homogenizada y en la cabina de flujo laminar se realiza el mismo procedimiento anterior, se toma con ayuda de una micropipeta 1ml de la muestra y se adiciona a una placa Compact Dry YM en este caso, se deja humedecer, se sella y se incuba por 48-72h a 30°C.

Las colonias se presentan de color azul-verdoso y se reportan como unidades formadoras de colonia por centímetro cuadrado de la superficie (UFC/cm<sup>2</sup>).

Si existen diferentes muestras es necesario cambiar de punta por cada pase.

#### 5.4.4 Análisis de patógenos

Dependiendo de la superficie el análisis de patógenos puede variar. El procedimiento es similar para cada patógeno, en donde a partir del tubo de ensayo con la muestra homogenizada y en la cabina de flujo laminar se toma con ayuda de una micropipeta 1ml de la muestra y se siembra en la Placa Compact Dry correspondiente, ya sea para evaluar *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella*.

En el caso de *E. coli*, el medio también puede diferenciar entre coliformes totales y coliformes fecales, donde después de la incubación a 35°C durante 24-48h las coliformes totales se presentan de color morado oscuro y opaco, en cambio Coliformes fecales como *E. coli* crecen de color azul brillante, en caso de que haya crecimiento de coliformes totales se registran como unidades formadoras de colonia por centímetro cuadrado (UFC/cm<sup>2</sup>), en caso de que haya crecimiento presuntivo de coliformes fecales, se hace un pase de la colonia representativa con ayuda de un aza estéril en condiciones aséptica a caldo Lauril sulfato con campana de Durham, el cual se incuba a 45°C durante 24h. Después de la incubación se procede a hacer la lectura y se revela la presencia de Indol con reactivo de Kovac's. La prueba será positiva para *E. coli* si hay turbidez en el tubo, presencia de gas dentro de la campana de Durham e indol positivo. **(Anexo 1 (d))** Las colonias se reportan como presencia o ausencia de *E. coli* en la superficie.

*S. aureus* se presenta con colonias azules, pequeñas y brillantes, en caso de que haya presencia de colonias presuntivas se confirma por medio del kit Staphylase Test, en donde se añade en la plantilla una gota del reactivo junto a una gota del control negativo, con ayuda de un aza estéril en condiciones asépticas y con la ayuda de un mechero, se toma una colonia representativa y se frota sobre el reactivo, en caso de que haya aglutinación en la sangre, se determina como positivo para *S. aureus* coagulasa positiva, de lo contrario no se reporta. **(Anexo 3)** Los resultados se registran como presencia o ausencia de *S. aureus* en la superficie.

Para *Salmonella*, se deja incubar el tubo de ensayo con la muestra durante 24h como método de enriquecimiento, pasadas las 24h se lleva a la cabina de flujo laminar y en condiciones asépticas se toma 1 ml de solución salina y se añade en una esquina de la placa Compact Dry SL, se deja humedecer y posteriormente se toma con ayuda de una micropipeta 0,1 ml de la muestra y se añade al otro extremo paralelo donde añadimos la solución salina, se sella y se incuba durante 24h a 45°C. De acuerdo al método las colonias positivas deben tener presencia de ácido sulfídrico (H<sub>2</sub>S), descarboxilación de lisina tornándose de color morado el medio y evidencia de movilidad. Los resultados se reportan como presencia o ausencia de *Salmonella* en la superficie.

## **5.5 Análisis de ambientes**

### **5.5.1 Muestreo**

El muestreo se realiza manteniendo en lo posible las condiciones de asepsia y seguridad, usando los elementos de protección personal y evitando espacios de alto riesgo. Para cada ambiente a analizar se utiliza el muestreador de ambientes MAS-100 Eco de marca Merck, en cada ambiente se recolectan 50 litros por cada grupo de microorganismos a examinar, mohos y levaduras para el cual se usa agar YGC, bacterias aerobias mesófilas en agar Plate count suministrado con TTC al 1% y coliformes en agar Chromocult, después de cada cambio de área y antes de iniciar el muestreo se desinfecta el equipo.

### **5.5.2 Análisis de bacterias aerobias mesófilas, mohos y levaduras.**

En el momento que se hace el muestreo las cajas se sellan y se transportan hasta el laboratorio, las cajas de bacterias aerobias mesófilas y mohos y levaduras se separan y se incuban de manera invertida a 30°C, durante 24-48h y 72h respectivamente. Las colonias de bacterias aerobias mesófilas en agar Plate count con TTC al 1% se presentan de color rojo oscuro, brillante.

Después de la incubación se procede a hacer la lectura en donde los resultados se reportan como unidades formadoras de colonia por los litros muestreados (UFC/50L).

### **5.5.3 Análisis de coliformes totales y fecales**

Al llegar al laboratorio se separan las cajas de Chromocult y se incuban a 35°C durante 24-48h. Pasado el tiempo de incubación se hace el conteo de colonias, las colonias de bacterias coliformes totales se presentan de color morado y brillantes, en cambio las colonias de bacterias coliformes fecales se presentan de color azul, pequeñas y brillantes, en el caso de que haya este tipo de crecimiento se hace la confirmación por medio de caldo lauril sulfato con campana de Durham el cual se incuba a 45°C durante 24h, pasadas las 24h se hace la lectura y se considera positivo para *E. coli* si presenta turbidez en el medio, producción de gas contenida en la campana de Durham y presencia de Indol revelado con el reactivo de Kovac's.

Los resultados se reportan como unidades formadoras de colonia sobre los litros muestreados (UFC/50L) en el caso de coliformes totales y presencia/ausencia para *E. coli*.

## 5.6 Análisis fisicoquímicos

- Concentración de cloro: para esto es necesario un kit de cloro que contenga sobres con polvo reactivo para la determinación del cloro, de acuerdo a la coloración se mide la concentración de cloro en ppm, esto se realiza en puntos estratégicos en toda la fábrica, su principal objetivo es llevar un control de la concentración del cloro para ofrecer un agua de calidad libre de microorganismos.

Existen cuatro tipos diferentes de agua, las cuales se considera necesario evaluar y llevar un control continuo para verificar la calidad del agua potable y envasada suministrada por la planta de tratamiento del ingenio, en este caso se dispone de agua cruda, agua suavizada, agua potable y agua ozonizada.

El agua cruda proviene de un pozo subterráneo en donde se extrae por medio de bombas, el agua suavizada es el resultado del proceso de filtración en los trenes de purificación de agua, el agua potable es el resultado de tratamiento completo, en este tipo de agua ya hay cloro administrado y por último el agua ozonizada, es el producto de un tratamiento profundo por medio filtros, ozono y luz UV para del agua potable para que sea envasada y apta para el consumo humano directo, a cada tipo de agua se le realizan los siguientes análisis:

- Medición de pH: con ayuda de un pH-metro se introduce el electrodo previamente limpio y se contabiliza unos minutos hasta que señale el valor marcado.
- Medición de conductividad: se limpia el electrodo del conductímetro y se introduce en el agua hasta que arroje el valor de medición.
- Determinación de dureza: en este caso se toma 50 ml del agua a determinar y se le añade 2ml de Buffer pH10 y 3 gotas de negro de ericromo y se titula con EDTA al 0,001%. Este procedimiento no es necesario hacerlo con el agua cruda.

## 5.7 Controles internos

En el área de microbiología se llevan una serie de controles internos que van desde:

- La desinfección diaria de las superficies de los equipos, mesones, suelo y paredes: cada día se limpia y desinfecta las áreas del laboratorio de microbiología antes de empezar la jornada laboral, se usa una solución de hipoclorito de calcio al 1% y con ayuda de un paño limpio se desinfecta los mesones, equipos y paredes en general.
- Limpieza y desinfección de los equipos: se usa una solución de desinfectante comercial TRON al 2%, en este caso las incubadoras y neveras necesitan apagarse, y se procede a administrar el producto con un paño limpio, se deja secar y se disipa alcohol al 95%, en el momento que se evapore por completo se vuelve a prender el equipo.

- Esterilización del cuarto de siembra: todos los días antes de iniciar la desinfección general, se desinfecta el cuarto de siembra, para esto se usa una solución de hipoclorito al 1% para limpiar la cabina de flujo laminar, los mesones, las paredes y el suelo, después de secado se prende la luz UV de la cabina y se deja actuar durante 30 min, en este caso para volver a entrar al cuarto es necesario dejar transcurrir 30 min después de apagada la luz UV.
- Control de temperaturas de cada equipo: cada equipo funciona a una temperatura determinada por tal razón y con ayuda de un formato se diligencia en la mañana y la tarde la temperatura marcada por un termómetro adaptado y calibrado, en el caso de que la temperatura sobrepase los límites máximos se da a conocer con el jefe inmediato.
- Control del proceso de esterilización del autoclave: se usa una ampolla bioindicadora de la marca Merck llamada Sterikon® plus Bioindicator contiene un caldo de nutrientes, azúcar, un indicador de pH y esporas de un organismo no patógeno, *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 (optimizado para la esporulación) y se introduce en el autoclave durante 15 min a 121°C y de 15-20 libras de presión, después del proceso, se incuba a 60°C, después del tiempo de incubación se hace la lectura.
- Control de los medios de cultivo preparados: después de servir cada medio de cultivo en las cajas de Petri o en los tubos de ensayo, se incuban a 30°C/35°C/45°C durante 24-48-72h.
- Control de las membranas de filtración: en la cabina de flujo laminar se toma con ayuda de un aza estéril y en debidas condiciones asépticas un filtro de membrana de 0,45 micras y se coloca sobre una placa de Petri que contenga el medio Plate count, se sella e incuba durante 48h a 35°C
- Manejo de desechos: cada semana se descartan los desecho biológicos producidos por el laboratorio, para este proceso se introduce en una cubeta metálica los desechos y se lleva al autoclave donde se mantendrá durante 30 min a 121°C y de 15-20 libras de presión, después de terminar se deposita en otra bolsa para ser descartado en la caneca de basura correspondiente, después de este proceso el autoclave pasa por un ciclo en limpio de 15 min a 121°C y 15-20 libras de presión estando vacío.

## 5.8 Seguimientos especiales

De acuerdo al cronograma se establecen muestreos y seguimientos en áreas diferentes a las habituales, visitas al casino para determinar la calidad microbiana de los recipientes en donde se sirven los alimentos, calidad del ambiente, análisis microbiológico de mieles, que son productos secundarios en proceso de elaboración de azúcar además de un seguimiento especial para determinar el tiempo óptimo de limpieza y desinfección de las neveras dispensadoras de agua, con el fin de mantener un control microbiológico tanto en la fábrica, comedor y toda la organización en general, son procesos y áreas que no necesitan una constante supervisión pero si un control y evaluación.

**Tabla 5. Métodos y análisis para los seguimientos especiales**

<b>Análisis</b>	<b>Método</b>
<b>Visitas al casino o puntos especiales de muestreo</b>	Determinación de patógenos (ausencia/presencia)
<b>Análisis microbiológico de mieles</b>	Conteo en placa
<b>Análisis de agua potable y agua envasada.</b>	Filtración por membrana
	Medición de la concentración de cloro (kit de cloro)
	Medición del pH y conductividad (Electrodos)
	Determinación de la dureza (Titulación)

## 6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Frecuencia		
	Diario	Quincenal	Mensual
Limpieza y desinfección del área de trabajo			
Preparación y esterilización del material de trabajo			
Lecturas de las siembras correspondientes			
Muestreo de azúcar como producto final			
Toma de la concentración de cloro en cada punto establecido dentro de la fabrica			
Análisis fisicoquímico de aguas			
Muestreo y siembra del agua potable en los puntos establecidos			
Muestreo y siembra de la neveras dispensadoras de agua ozonizada			
Siembra de muestras de azúcar			
Muestreo de ambientes			
Muestreo y siembra de superficies en fabrica			
Muestreo y siembra de manos			
Muestreo y siembra de uniformes			
Evaluación de la asepsia en el área de molinos			
Evaluación de la calidad de agua ozonizada en la PTAP			
Monitoreo de los medios de cultivo			
Monitoreo de los filtros para filtración por membrana			
Monitorio del proceso de autoclavado			
Descarte de desechos biológicos			
Seguimientos especiales			

## 7. RESULTADOS Y ANALISIS

### 7.1 Análisis de azúcar

Los resultados mostrados a continuación son hipotéticos debido a la política de confidencialidad ejercida por la empresa en donde desarrolle mis prácticas empresariales.

A partir del método de filtración por membrana se recoge un promedio de los resultados microbiológicos, obtenidos entre los meses de abril a octubre del presente año para cada tipo de azúcar analizado y comparado con la norma NTC 3905, 3906 y 3907 que establece los rangos microbiológicos en cada tipo de azúcar.

La función de este análisis se basa en evaluar que los productos de la caña de azúcar sean de la mejor calidad microbiológica, donde la inocuidad haga parte de todo el proceso productivo y los factores de riesgo en el producto se vean disminuidos, evitando pérdidas y reduciendo costos, los productos que no son evaluados, posiblemente no conserven el rendimiento y características esperadas para el uso tanto industrial como doméstico.

**Tabla 6.** Resultados microbiológicos del azúcar durante los meses de abril a octubre.

<b>Fecha: abril del 2021</b>					
Azúcar	Coliformes fecales	Coliformes totales	Aerobios mesófilos	Mohos	Levaduras
Blanca	0	0	78	9	22
Refinada	0	0	25	5	16
Blanco especial	0	0	38	8	30
<b>Fecha: junio del 2021</b>					
Azúcar	Coliformes fecales	Coliformes totales	Aerobios mesófilos	Mohos	Levaduras
Blanca	0	0	30	4	44
Refinada	0	0	30	2	12
Blanco especial	0	0	42	4	32
<b>Fecha: julio 2021</b>					
Azúcar	Coliformes fecales	Coliformes totales	Aerobios mesófilos	Mohos	Levaduras
Blanca	0	0	79	6	40
Refinada	0	0	43	4	20
Blanco especial	0	0	50	4	25
<b>Fecha: agosto 2021</b>					
Azúcar	Coliformes fecales	Coliformes totales	Aerobios mesófilos	Mohos	Levaduras
Blanca	0	0	94	9	78



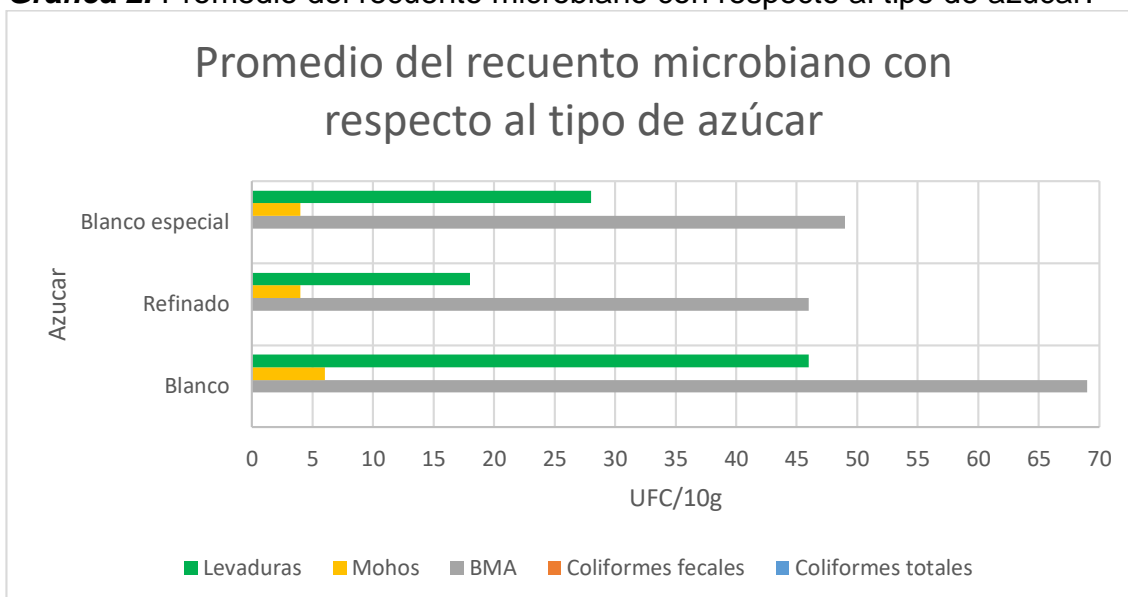
Refinada	0	0	71	8	26
Blanco especial	0	0	60	8	27
<b>Fecha: septiembre 2021</b>					
Azúcar	Coliformes fecales	Coliformes totales	Aerobios mesófilos	Mohos	Levaduras
Blanca	0	0	88	6	56
Refinada	0	0	80	5	21
Blanco especial	0	0	74	2	34
<b>Fecha: octubre 2021</b>					
Azúcar	Coliformes fecales	Coliformes totales	Aerobios mesófilos	Mohos	Levaduras
Blanca	0	0	47	4	39
Refinada	0	0	32	2	14
Blanco especial	0	0	30	2	25
<b>Valores de referencia según la NTC 3905, 3906 y 3907</b>					
Azúcar	Coliformes fecales	Coliformes totales	Aerobios mesófilos	Mohos	Levaduras
Blanca	50 Max.	0	550 Max.	15 Max.	300 Max.
Refinada	50 Max.	0	130 Max.	10 Max.	30 Max.
Blanco especial	50 Max.	0	550 Max.	15 Max.	150 Max.

Por tal razón fue necesario promediar los datos obtenidos cada mes y así determinar la tendencia para ser comparada con los valores de referencia de la norma NTC.

**Tabla 7.** Promedio de los resultados microbiológicos del azúcar.

<b>Azúcar</b>	<b>Blanco</b>	<b>Refinado</b>	<b>Blanco especial</b>
<b>Coliformes totales</b>	0	0	0
<b>Coliformes fecales</b>	0	0	0
<b>BMA</b>	69	46	49
<b>Mohos</b>	6	4	4
<b>Levaduras</b>	46	18	28

**Grafica 2.** Promedio del recuento microbiano con respecto al tipo de azúcar.



De acuerdo con la gráfica anterior, los promedios establecidos se encontraron dentro del rango permitido por la norma técnica colombiana adoptada por los ingenios azucareros, (NTC 3905, 3906, 3907) de igual manera y durante cada mes los valores se encontraron dentro del rango máximo permisible.

La cantidad de microorganismos que hacen parte del azúcar como producto final es muy baja debido a factores como la poca humedad, baja cantidad de agua disponible (*aw*) y deficiencia de nutrientes (*Marin Mosquera S., 2014*), además de que el proceso favorece a la disminución de la carga microbiana, no está diseñado para tal fin y las condiciones fisicoquímicas que se manejan como pH y temperatura están implícitas en procesos como clarificación, calentamiento, evaporación, secado, el seguimiento se hace principalmente a las etapas del proceso que puedan desencadenar una alta contaminación o donde las condiciones sean favorables para la multiplicación de microorganismos.

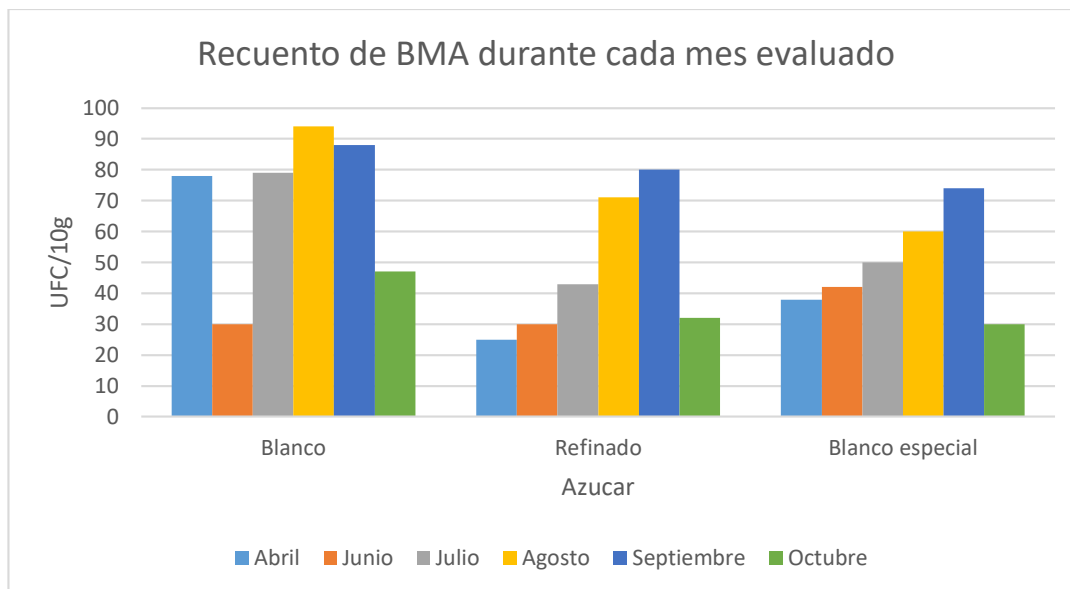
Por tal razón aunque los recuentos de microorganismos sean altos, más que los aceptados por otros alimentos, en el azúcar se tiene la ventaja que al pasar el tiempo estos recuentos bajan a tal punto que no sean un problema ni para el consumidor ni para la calidad del producto. (*Marin Mosquera S., 2014*).

### **7.1.1 Coliformes totales y coliformes fecales**

De acuerdo a los resultados obtenidos, los valores de los recuentos para coliformes totales y fecales son menores a 1, lo que evidencia la ausencia de estos microorganismos, posiblemente al procesos de la producción de azúcar, en donde las temperaturas, pH y condiciones son desfavorables para los microorganismos, en especial las bacterias coliformes que son tan sensibles a cambios ambientales bruscos. (*Fuccz Gamboa J., Colb., 2007*)

### 7.1.2 Bacterias aerobias mesófilas

**Grafica 3.** Recuento de bacteria aerobias mesófilas durante los meses de abril a octubre.



Todos los tipos de azúcar presentaron ligeros incrementos en los recuentos de BMA (**gráfica 3**), en especial durante el periodo comprendido entre julio a septiembre las bacterias aerobias mesófilas son microorganismos ampliamente difundidos (*RENALOA – Grupo técnico de microbiología., 2014*) Los microorganismos mesófilos al ser tan variados son considerados como indicadores de las condiciones de sanidad del proceso pero más importante aún es la capacidad de degradar el azúcar, invertirla y generar pérdidas de sacarosa. (*Dr. Maurice Raimbault., 1992-1993*).

Los incrementos pueden ser causa de deficiencias y/o problemas en el área de empaquetado o materia prima, ya que existe la posibilidad de encontrar microorganismos termófilos o termorresistentes que sobrevivan al proceso de evaporación o calentamiento. (*González Palomino B. E., 2008*)

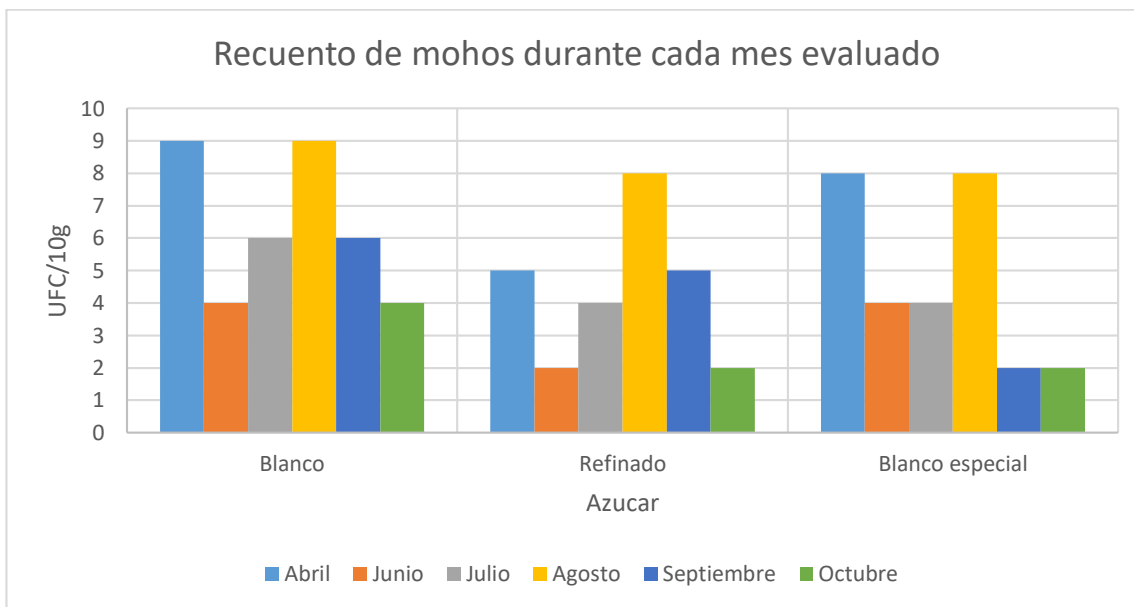
Los procesos productivos para la generación de azúcar eliminan la mayor cantidad de microorganismos, por ende la contaminación del azúcar con alguna fuente microbiana resulta post-proceso. (*Marín Mosquera S., 2014*) Sin embargo los presentes resultados comparados bajo la normatividad descrita no demuestran un riesgo para la salud ni para el producto final.

### 7.1.3 Mohos y levaduras

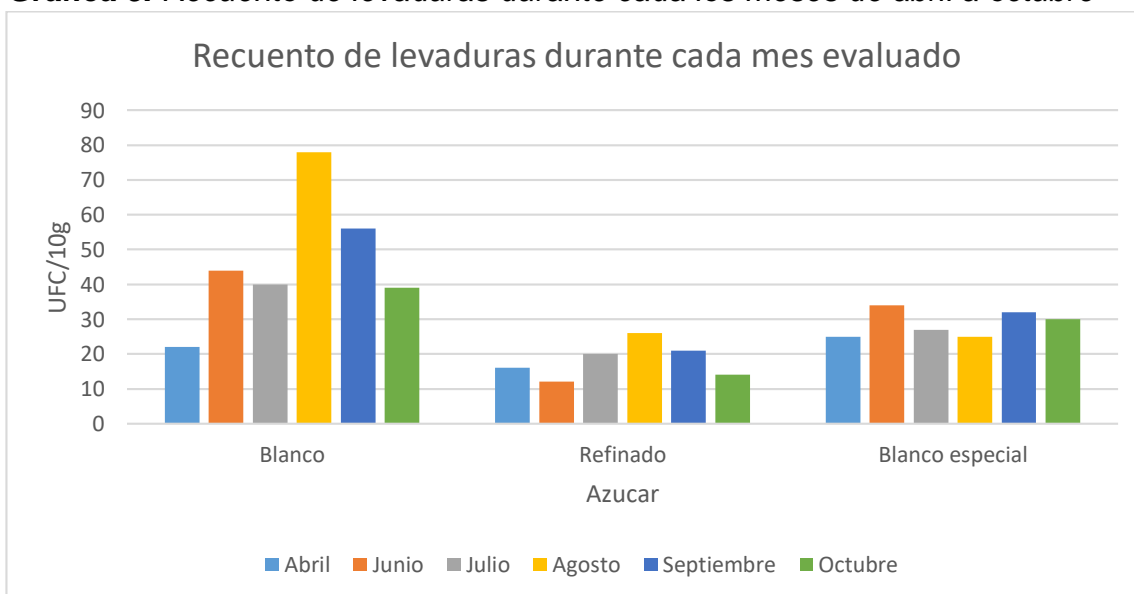
De acuerdo a las gráficas presentadas hay una incidencia entre los meses de agosto y septiembre, con un rango entre 9-2 UFC/10g de azúcar para mohos y

de 78-12 UFC/10g de azúcar para levaduras, el aumento de estos microorganismos puede deberse a la temporada de lluvias en el valle del cauca donde la humedad del ambiente aumenta, por tal razón la limpieza y desinfección de las zonas de producción resulta fundamental para controlar el crecimiento de los mohos y las levaduras. A pesar del aumento en estos meses los valores no se exceden de los límites permitidos por la norma. Por tal razón no afectan el producto y su composición.

**Grafica 4.** Recuento de mohos durante los meses de abril a octubre



**Grafica 5.** Recuento de levaduras durante cada los meses de abril a octubre



Los mohos y las levaduras son de los microorganismos que más producen alteraciones en el azúcar, degradan el azúcar, producen inversiones y generan pérdidas de sacarosa por fermentación de igual manera que las bacterias mesófilas aerobias, esto debido al incremento de la humedad que promueve el

desarrollo de estos microorganismos durante el almacenamiento del azúcar favoreciendo al deterioro del producto. (González Palomino B. E., 2008)

## 7.2 Análisis de agua potable

A partir del método de filtración por membrana se recoge un promedio de los siguientes resultados en los 6 meses, evaluando en los diferentes puntos de muestreo los recuentos para coliformes totales, fecales y BMA según lo establecido por la resolución 2115 del 2007 para agua potable.

Microorganismos como *Cryptosporidium*, *Giardia* y *Pseudomonas aeruginosa* (en el caso de agua envasada) son evaluados por laboratorios externos, donde la empresa envía las muestras según el tiempo establecido por la norma.

**Tabla 8.** Promedio de los resultados obtenidos de los análisis de agua potable en cada área.

Área	Empacadero	Almacén de empaques	Laboratorios	Salida de la Planta de tratamiento de agua potable (PTAP)
<b>Cloro (ppm)</b>	1.2	0.5	1.3	0.8
<b>Coliformes (UFC/100ml)</b>	0	0	0	0
<b><i>E. coli</i></b>	0	0	0	0
<b>BMA (UFC/100ml)</b>	34	26	12	10

Los resultados corresponden a los 6 meses de evaluación, no se encontró evidencia de crecimiento de coliformes ni fecales ni totales, demostrando la calidad del proceso de tratamiento. Por otra parte las bacterias aerobias mesófilas presentan un bajo recuento disminuyendo la probabilidad de generar efectos adverso tanto al consumidor como a la calidad del agua, gracias a la concentración de cloro es posible mantener este control en los microorganismos, en el almacén de empaques existe un calentador de agua que disminuye a concentración de cloro y elimina microorganismos que lograsen sobrevivir a la cloración. Se evidencia que en los demás puntos como empacadero y laboratorios la concentración es más alta que en la salida de la planta de tratamiento, esto se debe a que en la PTAP el agua se mantiene en un flujo constante por ende la concentración no puede estabilizarse como en los puntos de uso que al contrario no se mantiene constante el gasto de agua.

A continuación se hace un resumen de los análisis correspondientes y su cumplimiento de acuerdo a la normatividad

**Tabla 9.** Parámetros y cumplimiento de los parámetros físico-químicos establecidos por la norma para agua potable y agua potable envasada.

<b>Resolución 2115 del 2007. Sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano.</b>			<b>Resolución 12186 de 1991. Condiciones para los procesos de obtención, envasado y comercialización de agua potable tratada con destino al consumo humano.</b>		
<b>Parámetro</b>	<b>Valor establecido</b>	<b>Cumple Si/No</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Valor establecido</b>	<b>Cumple Si/No</b>
<b>Coliformes totales</b>	0 UFC / 100 ml	Si	<b>Coliformes totales</b>	0 UFC / 100 ml	Si
<b>Coliformes fecales</b>	0 UFC / 100 ml	Si	<b>Coliformes fecales</b>	0 UFC / 100 ml	Si
<b>Aerobios mesófilos</b>	100 UFC / 100 ml	Si	<b>Aerobios mesófilos</b>	<100 UFC/ml	Si
<b>pH</b>	6.5 - 9.0	Si	<b>pH</b>	6.5 - 9.0	Si
<b>Cloro total</b>	0.3-2.0 mg/L	Si	<b>Cloro total</b>	>0.5 ppm	Si

Generalmente el grupo de microorganismos que más hace presencia son las bacterias aerobias mesófilas, al ser un grupo de bacterias ampliamente variado es difícil establecer su origen exacto dentro del agua potable, aun así podemos deducir los factores que permiten la aparición de estas (*Silva J., Colb., Enero 2004*)

- Cantidad de cloro inadecuada: al momento de ser filtrada el agua, se almacena dentro de unos tanques para la distribución, en ese momento se añade el cloro para eliminar la mayor cantidad de microorganismos que queden del proceso de filtración, cuando la cantidad de cloro es baja no logra llegar a los puntos de uso con el cloro necesario para mantener el agua en óptimas condiciones microbiológicas, es importante tener en cuenta que el cloro se evapora, por esta razón la cantidad suministrada en los tanques debe ser mayor.
- Deterioro de tuberías: dependiendo si las tuberías llevan muchos años en uso, estas se van desgastando, favoreciendo a la proliferación de microorganismos, aunque el agua contenga una cantidad de cloro optima, la cantidad de microorganismos puede ser tal que sobrevivan, esto desencadena un condición insegura que no depende de la calidad de agua suministrada si no de las instalaciones que suministran el agua.
- Ambiente: es fundamental la calidad del aire y la contaminación del ambiente ya sea la llave de agua, si el lugar está expuesto o si el ambiente presenta una alta carga de microorganismos, estos factores influyen directamente en el agua y de igual manera no depende de la planta de tratamiento de agua potable.

### 7.3 Resultados de superficies y ambientes

Los resultados para las superficies y ambientes cumplen con los criterios establecidos por el área de microbiología usando como referencia una normatividad interna para las áreas de producción, por lo cual no existe un riesgo evidente en el proceso productivo ni el producto final, debido a protocolos de confidencialidad por parte de la empresa no es posible compartir datos ni rangos establecidos por el laboratorio para las áreas evaluadas.

### 7.4 Evaluación de la calidad de agua envasada

Durante un mes se realizó un seguimiento especial el cual buscaba evaluar la calidad del agua ozonizada que es suministrada por la PTAP en botellones de 20 litros y depositada en las neveras dispensadoras como se evidencia en el **anexo 2 (a)** y **2 (b)** donde se evidencia el crecimiento microbiano en las placas de cultivo.

El tiempo estimado para la limpieza y desinfección de las neveras es de 15 días, debiéndose desmontar la nevera dispensadora, lavarla y desinfectarla, el presente estudio busco realizar un seguimiento para determinar el tiempo óptimo para el lavado de estas neveras dispensadoras e igualmente los botellones de almacenamiento del agua de acuerdo a la carga microbiana, de esta forma podemos observar que los recuentos para coliformes totales, coliformes fecales y BMA (**grafica 6**) establecidos a partir de los muestreos realizados cada tres días a lo largo de este periodo muestran:

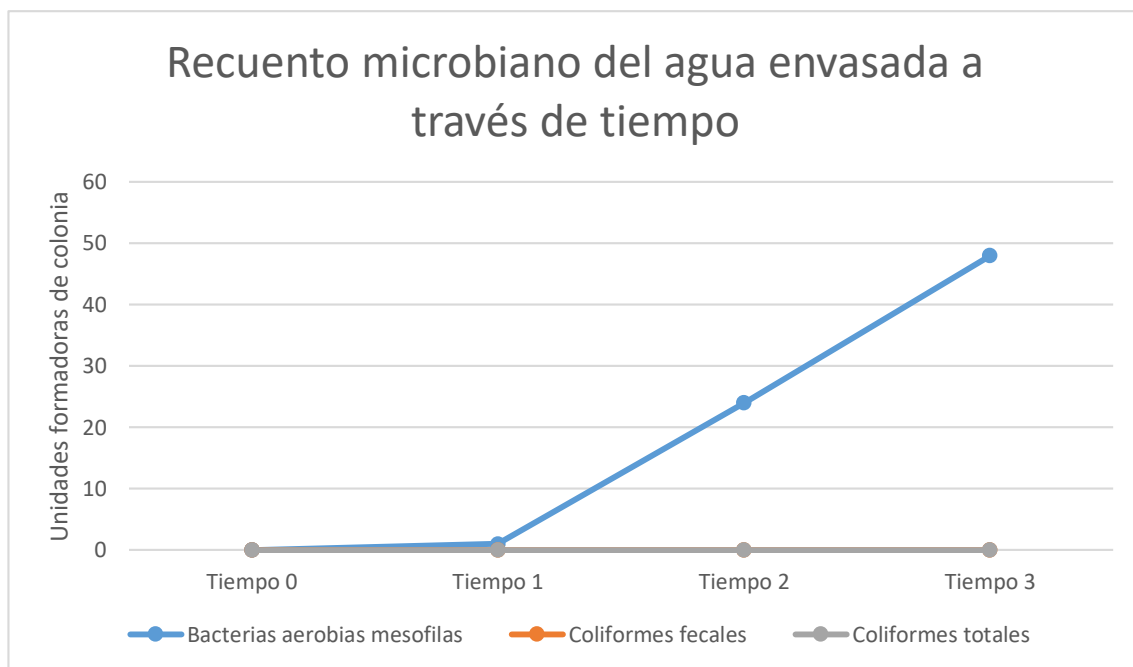
Los datos obtenidos a partir de los análisis microbiológicos se representan en la siguiente tabla:

**Tabla 10.** Rastreo de los resultados obtenidos a partir del seguimiento microbiológico de las neveras dispensadoras de agua y botellones usados para el almacenamiento del agua.

Muestra	Tiempo	Coliformes totales	Coliformes fecales	Bacterias aerobias mesófilas
Nevera dispensadora	0	0	0	0
Nevera dispensadora	1	0	0	1
Nevera dispensadora	2	0	0	24
Nevera dispensadora	3	0	0	48

Muestra	Tiempo	Coliformes totales	Coliformes fecales	Bacterias aerobias mesófilas	S. aureus	Mohos y levaduras
Botellón	1	0	0	15	0	0
Botellón	2	0	0	0	0	0

**Grafica 6.** Relación de los datos obtenidos provenientes del seguimiento especial de las neveras dispensadoras.



El agua envasada por sus características es más susceptible a la contaminación por microorganismos, debido a los procesos de desinfección, se elimina el cloro, se considera inocua al momento de envasarla pero no se garantiza su calidad después de ser montada en la nevera dispensadora, por tal razón, el seguimiento que se realizó con las neveras determino que a los 15 días la calidad del agua había disminuido al punto que no cumplía las condiciones establecidas por la normatividad vigente, esto no dependía del agua suministrada, dependía del aseo de la nevera, la acumulación de suciedad promovía el aumento de microorganismos, en la **gráfica 6** se evidencia el crecimiento constante de bacterias aerobias mesófilas a medida del tiempo, si se hubiese mantenido el ensayo es probable que la población bacteriana hubiese incrementado y favoreciendo a la proliferación de coliformes.

Cabe aclarar que son 15 días en condiciones de relativo control como el área de laboratorios, diferente a otros puntos de uso donde la temperatura es ideal para la proliferación de microorganismos, no hay control de personal y no se mantiene un correcto aseo diariamente, 15 días se consideran los máximos permitidos para el aseo de las neveras.



## **8. CONCLUSIONES**

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados a los diferentes tipos de azúcar por el método de filtración por membrana cumplen los parámetros establecidos por la normativa técnica colombiana adoptada por el ingenio (3905,3906 y 3907), indicando una buena calidad del producto terminal.

El agua potable tratada por la planta de tratamiento del ingenio, cumple con los parámetros microbiológicos determinados por la Resolución 2115 del 2007.

Los resultados físico-químicos obtenidos permiten establecer que el tratamiento del agua cumple con los parámetros establecidos por la Resolución 2115 del 2007 y por los parámetros adoptados en el laboratorio, e igualmente el agua envasada cumple con la Resolución 12186 de 1991, haciendo esta apta para el consumo humano.

Los análisis microbiológicos de ambientes, superficies y los diferentes controles internos relejan el control de la calidad establecidos por el laboratorio, asegurando la inocuidad del producto y procesos.

## **9. RECOMENDACIONES**

Utilizar cepas patrón para hacer el control de medios de cultivo, de esta manera se verifica la viabilidad del medio antes los microorganismo blanco que se van a evaluar.

Hacer una validación sistemática de los métodos y medios utilizados para los diferentes análisis así como verificar si los medios de cultivo siguen siendo aptos de acuerdo a la normatividad vigente para los análisis.

## 10. GLOSARIO

**Actividad de agua (aw):** Es la humedad en equilibrio de un producto, determinada por la presión parcial del vapor de agua en su superficie.

**Autoclave:** Un autoclave es un recipiente de presión metálico de paredes gruesas con un cierre hermético que permite trabajar a alta presión para realizar una reacción industrial, una cocción o una esterilización con vapor de agua.

**Azúcar:** El azúcar es un endulzante de origen natural, sólido, cristalizado, constituido esencialmente por cristales sueltos de sacarosa, obtenidos a partir de la caña.

**Azúcar refinada:** El azúcar refinado es el extracto puro de azúcar, es decir, sacarosa. Un disacárido compuesto de dos moléculas, una de glucosa y otra de fructosa, procedente de la caña de azúcar o de la remolacha.

**Azúcar blanco:** Se consigue tras un proceso industrial en el que se elimina la melaza que contiene.

**Bacterias aerobias mesófilas (BMA):** son aquellas que tienen su mayor velocidad de crecimiento a temperaturas comprendidas entre 25 y 40° C. esta clase comprende la mayor parte de los organismos que tienen como huésped el hombre y otros animales de sangre caliente.

**Calidad:** la calidad es el conjunto de propiedades y características de un producto, de un proceso o de un servicio que le confieren su capacidad de satisfacer necesidades implícitas o explícitas.

**Coliformes fecales:** Los coliformes fecales se definen como el grupo de organismos coliformes que pueden fermentar la lactosa a 44-45 °C.

**Coliformes totales:** Las bacterias Coliformes, un grupo de bacterias estrechamente relacionadas al suelo, el agua y el tracto intestinal de los animales, se han utilizado como indicadores de condiciones insalubres en la producción de alimentos y bebidas durante más de un siglo. Hoy en día, el recuento de Coliformes es un indicador higiénico frecuente en varias industrias de alimentos y bebidas.

**Conductividad:** La conductividad se define como la capacidad del agua para conducir una corriente eléctrica a través de los iones disueltos.

**Conteo en placa:** El recuento en placa es uno de los métodos más utilizados para determinar cuál es el número de microorganismos viables en un medio líquido. Cuando la concentración es baja se procede a filtrar la muestra a través de una membrana que será pasada al medio de cultivo, en una placa de Petri.

**Dilución:** Es un proceso en el cual siempre se parte de una disolución concentrada a la cual se le adiciona mayor volumen de disolvente, esto ocasiona que se modifiquen la concentración y el volumen de la disolución

resultante, pero que permanezca igual la cantidad de soluto empleada para preparar la disolución inicial.

**Dureza:** Se denomina dureza del agua a la concentración de compuestos minerales que hay en una determinada cantidad de agua, en particular sales de magnesio y calcio.

**Filtración por membrana:** La filtración por membrana es un método de separación física que permite separar moléculas de diferentes tamaños y características. La fuerza impulsora es la diferencia de presión entre los dos lados de una membrana especial.

**Inocuidad:** De acuerdo a lo establecido por el Codex Alimentarius es la garantía de que un alimento no causará daño al consumidor cuando el mismo sea preparado o ingerido de acuerdo con el uso a que se destine.

**Medio de cultivo:** Los medios de cultivo son una mezcla de nutrientes que, en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas, permiten el crecimiento de los microorganismos.

**Organización:** Una organización, es un grupo social compuesto por personas naturales, tareas y administraciones que forman una estructura sistemática de relaciones de interacción, tendientes a producir bienes, servicios o normativas para satisfacer las necesidades de una comunidad dentro de un entorno, y así poder lograr el propósito.

**Patógeno:** Los patógenos son agentes infecciosos que pueden provocar enfermedades a su huésped. Este término se emplea normalmente para describir microorganismos como los virus, bacterias y hongos, entre otros.

**pH:** Medida del grado de acidez o alcalinidad de una sustancia o una solución. El pH se mide en una escala de 0 a 14.

**pH-metro:** El pH-metro es un sensor utilizado en el método electroquímico para medir el pH de una disolución.

**Planta de tratamiento de agua potable (PTAP):** Es un conjunto de sistemas y procesos de ingeniería en las que se trata el agua de manera que se vuelva apta para el consumo humano.

**Sacarosa:** Azúcar que se encuentra en el jugo de muchas plantas y se extrae especialmente de la caña dulce y de la remolacha; se emplea en alimentación como edulcorante nutritivo y sus ésteres como aditivos.

**Unidades formadoras de colonia (UFC):** es una unidad de medida que se emplea para la cuantificación de microorganismos, es decir, para contabilizar el número de bacterias o células fúngicas viables en una muestra líquida o sólida.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

Aguilar Rivera N., Rodríguez D., Castillo Moran A., Herrera Solano A., 11 de abril de 2012., Sucroquímica, alternativa de diversificación de la agroindustria de la caña de azúcar., Extraído de: <https://www.redalyc.org/pdf/904/90423275002.pdf>

Arango Sanclemente S., Yoshioka Vargas A. M., Gutierrez Rincon V., Noviembre de 2011., Análisis del ambiente competitivo del Cluster Bioindustrial del Azúcar en el valle geográfico del río Cauca., Extraído de: <http://vitela.javerianacali.edu.co/bitstream/handle/11522/3452/LibroCluster.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Asocaña., 2021., Sector Agroindustrial De La Caña., Extraído de: <https://www.asocana.org/publico/info.aspx?Cid=215>

Departamento de microbiología., Universidad de Pamplona., Instructivo para la presentación de informes de pasantías., 17 de abril del 2008., Versión 04., Modulo 001., DM-CTG-I001., Extraído de: [file:///C:/Users/User/Downloads/InstructivoDM-CTG-I001\\_PresentacionInformeFinaldePasantia.pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/InstructivoDM-CTG-I001_PresentacionInformeFinaldePasantia.pdf)

Dr. Félix Andueza., Octubre 2014., Microbiología del agua., Extraído de: [https://www.cff.org.br/userfiles/file/Pasta%20-%20Costa%20Rica/ XVI%20Congreso%20Farmac%C3%A9utico%20Nacional%20%20\(PDF\) /Clase%201%20M%C3%A9todos%20físicoqu%C3%ADmicos%20y%20microbiol%C3%B3gicos%20para%20garantizar%20la%20calidad%20del%20agua.pdf](https://www.cff.org.br/userfiles/file/Pasta%20-%20Costa%20Rica/ XVI%20Congreso%20Farmac%C3%A9utico%20Nacional%20%20(PDF) /Clase%201%20M%C3%A9todos%20físicoqu%C3%ADmicos%20y%20microbiol%C3%B3gicos%20para%20garantizar%20la%20calidad%20del%20agua.pdf)

Dr. Maurice Raimbault., 1992-1993., Asocaña-Orstom., Impacto de la microbiología en la fabricación del azúcar., Extraído de: [https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/doc34-01/41706.pdf](https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/doc34-01/41706.pdf)

Fuccz Gamboa J., Gómez Moreno R., Cárdenas Guzmán M., Campos pinilla C., 2007., Comportamiento de coliformes fecales como indicadores bacterianos de contaminación fecal en diferentes mezclas de biosólido y estériles utilizados para la restauración ecológica de la cantera soratama, Bogotá., Extraído de: <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4894/3772>

González Palomino B. E., 2008., Análisis microbiológico y físico-químico al proceso de elaboración de azúcar, sus productos y alcohol en Riopaila Castilla S.A., Extraído de: <https://bdigital.uniquindio.edu.co/bitstream/handle/001/5965/PRESENTACI%C3%92N%20DE%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Guerrero Gómez L.S., 2018., Identificación y evaluación de la actividad metabólica de microorganismos contaminantes representativos de la etapa de elaboración de azúcar., Extraído de: <https://repositorio.udes.edu.co/bitstream/001/4346/1/Identificaci%C3%B3n%20y>

[%20evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20actividad%20metab%C3%B3lica%20de%20microorganismos%20contaminantes%20representativos%20de%20la%20etapa%20de%20elaboraci%C3%B3n%20de%20az%C3%BAcar..pdf](#)

Marin Mosquera S., Mayo 2014., Caracterización microbiológica de productos en proceso generado durante la elaboración de azúcar de caña en el ingenio Risaralda S.A., Extraído de: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/4535/664.001579M337.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Merck., Sterikon® Plus Bioindicator., Producto comercial., Extraído de: [https://www.sigmaaldrich.com/CO/es/product/mm/110274?qclid=Cj0KCQiA15yNBhDTARIsAGnwe0Xz9IoQcbL3G6WLsoGCPC-kS-UWtwFT1LzClkHDggCM6nZqGz9FxtsaAvv9EALw\\_wcB](https://www.sigmaaldrich.com/CO/es/product/mm/110274?qclid=Cj0KCQiA15yNBhDTARIsAGnwe0Xz9IoQcbL3G6WLsoGCPC-kS-UWtwFT1LzClkHDggCM6nZqGz9FxtsaAvv9EALw_wcB)

Muñoz Lucas S., Sánchez García R., 15 de julio de 2016., El agua en la industria alimentaria., Extraído de: [http://hidromed.org/hm/images/pdf/BSEHM%202018\\_33\(2\)157-171\\_Mu%C3%B1oz-S.pdf](http://hidromed.org/hm/images/pdf/BSEHM%202018_33(2)157-171_Mu%C3%B1oz-S.pdf)

NaturalistaCO., Caña de Azúcar (*Saccharum officinarum*)., Extraído de: <https://colombia.inaturalist.org/taxa/128270-Saccharum-officinarum>

Resolución Número 2115 de 2007., Ministerio de la protección social, ministerio del ambiente, vivienda y desarrollo territorial., 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.

Resolución 12186 de 1991., Ministerio de Salud., Por la cual se fijan las condiciones para los procesos de obtención, envasado y comercialización de agua potable tratada con destino al consumo humano. 20 de septiembre de 1991.

Universidad de Guadalajara., Procesos – Proceso de la industria azucarera., Capitulo III., Extraído de: <http://repositorio.utn.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/1092/2/04%20ISC%2065%20Procesos.pdf>

RENALOA – Grupo técnico de microbiología., Noviembre del 2014., Análisis microbiológico de los alimentos., MICROORGANISMOS INDICADORES., Volumen 3., Extraído de: [http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis\\_microbiologico\\_de\\_los\\_alimentos\\_vol\\_iii.pdf](http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf)

Rodríguez Salas T., Hernández Quirós A., Microbiología en la industria azucarera., Extraído de: <https://servicios.laica.co.cr/laica-cv-biblioteca/index.php/Library/download/IyfOfTtowRcobEcZQAZhvdqVqjFRwnVy>

Silva J., Ramírez L., Alfieri A., Rivas G., Sánchez M., Enero 2004., Determinación e microorganismo indicadores de calidad sanitaria. Coliformes totales, coliformes fecales y aerobios mesófilos en agua potable envasada y distribuida en San Diego, estado Carabobo, Venezuela., Extraído de:

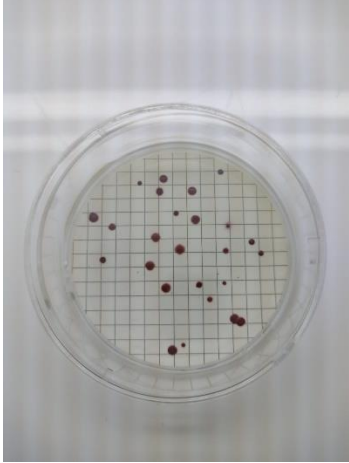
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562004000100008](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562004000100008)

ThermoFisher Scientific., Prueba de Staphylase <sup>TM</sup>., Número de catálogo DR0595A., Producto comercial. Extraído de:  
<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/DR0595A>

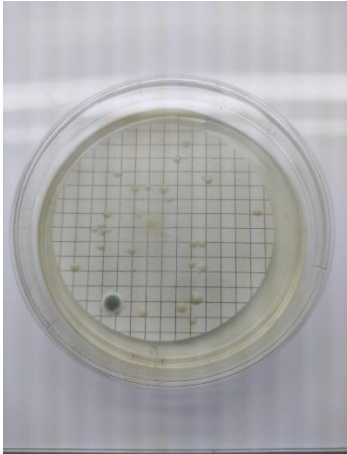
## 12. ANEXOS

### 1. Crecimiento microbiano en medios de cultivo.

#### a. Bacterias aerobios mesófilos en agar plate count.

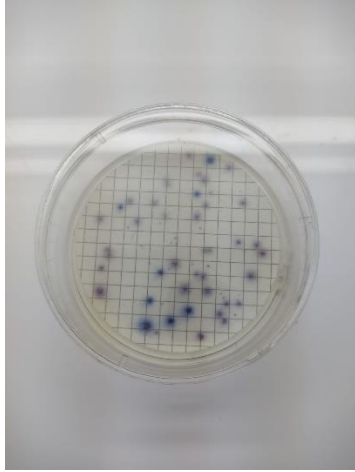


#### b. Mohos y levaduras en agar YGC

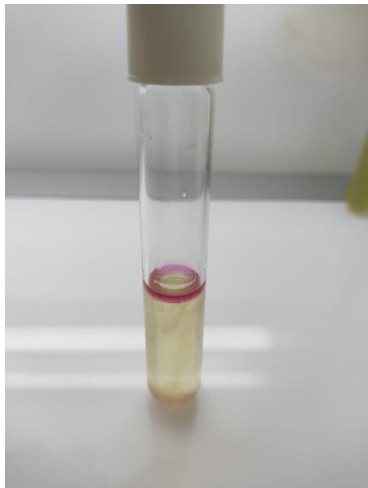


#### c. Coliformes totales y fecales en agar chromocult ES





**d. Presencia de coliformes fecales en caldo lauril sulfato**



**e. Crecimiento en placas Compact Dry TC/YM**

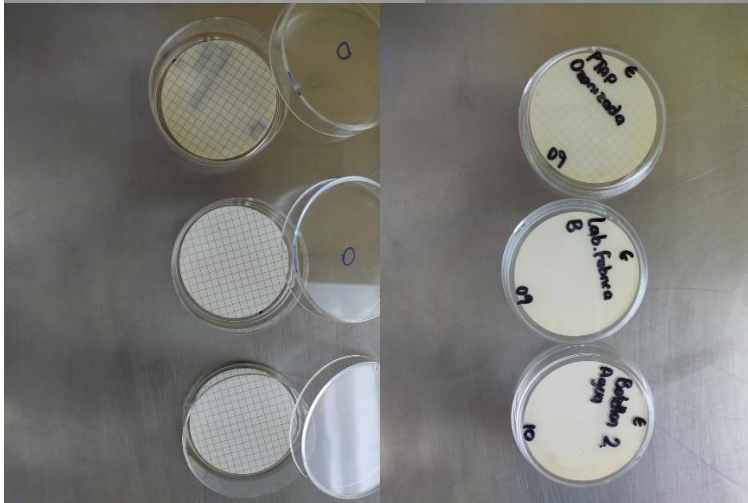
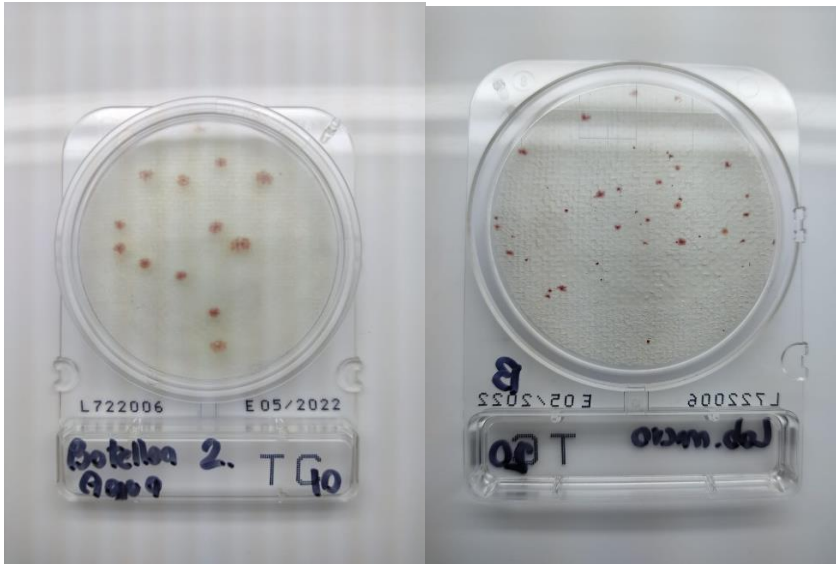


## 2. Seguimiento de agua envasada

### a. Rotulado de cada llenado y dispensación del agua envasada.



### b. Crecimiento microbiano del seguimiento de agua envasada



### 3. Staphylase Test

