

CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN LA FABRICACIÓN DE LEVADURA
SECA Y BETA-GLUCAN EN LA COMPAÑÍA LEVAPAN S.A.

EDGAR JESÚS ARGÜELLO MENDOZA

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER
FEBRERO DE 2024

CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN LA FABRICACIÓN DE LEVADURA
SECA Y BETA-GLUCAN EN LA COMPAÑÍA LEVAPAN S.A.

EDGAR JESÚS ARGÜELLO MENDOZA

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE MICROBIÓLOGO

TUTOR ACADÉMICO

FRANCISCO RODRÍGUEZ RINCÓN Ph.D., PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO
DE MICROBIOLOGÍA

TUTOR EMPRESARIAL

LORENA BECERRA OBANDO, MICROBIÓLOGA, COORDINADORA DEL
LABORATORIO DE CALIDAD Y MICROBIOLOGÍA DE LA COMPAÑÍA LEVAPAN S.A.

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER

FEBRERO DE 2024

AGRADECIMIENTOS

Al culminar con este trabajo tan arduo sólo me quedan expresar unas palabras que no pueden medir la enorme gratitud que siento hacia todas aquellas personas que, a lo largo de mi paso por la universidad, lograron entregarme un poco de sí mismos para nutrir el camino de aprendizaje para llegar hasta esta meta anhelada.

En primer lugar, debo dar ``*Honor a quien honor merece*" (José Martí), por tal motivo doy infinitas gracias a mis padres Fabiola Mendoza García y Edgar Gabriel Argüello Beltrán quienes con inimaginable esfuerzo, amor, sacrificio y esmero lograron alentarme para seguir siempre adelante y no desfallecer en esta titánica meta.

En segundo lugar, debo agradecer a mis hermanos (Danilo José y María Jimena Argüello Mendoza) y familia que gracias a su cariño y ánimo siempre estuvieron expectantes de cada uno de mis pasos y logros durante este gratificante viaje.

En tercer lugar, quiero agradecer a mi pareja Ingrid Solórzano Ramírez por ser mi apoyo incondicional, consejera y principal ayuda en momentos cruciales de mi carrera profesional y formar parte de mi vida.

De igual forma quiero expresar mi profundo agradecimiento a la Universidad de Pamplona por brindarme la oportunidad de embarcarme en este viaje académico, estoy agradecido por haber formado parte de esta institución académica de renombre. Asimismo, exalto el compromiso y dedicación del cuerpo docente por su dedicación, sabiduría y pasión por la enseñanza han dejado una huella indeleble en mi caminar, sus enseñanzas perduraran más allá de estas líneas.

Quisiera también hacer mención especial a la Compañía Nacional de Levaduras (Levapan S.A) por brindarme esta maravillosa oportunidad de realizar mis prácticas profesionales en tan

prestigiosa empresa conformada por una gran cantidad y calidad de seres humanos que me brindaron con total abnegación sus enormes conocimientos y experiencia para adquirir las bases profesionales para desempeñarme como un microbiólogo del más alto nivel; en especial a mi jefe Lorena Becerra Obando y mis compañeras por permitirme hacer parte del laboratorio de calidad, orientarme en todo el transcurso de mis pasantías y robustecer mi conocimiento como profesional; por lo cual siempre tendrán un lugar muy especial en mi memoria.

Para finalizar también debo reconocer el valor de todos mis compañeros y personas que hicieron parte de mi instancia en la ciudad Pamplona, ya que sus valiosos aportes han contribuido para lograr llegar a cumplir este objetivo y ser la persona que soy en la actualidad.

Mencionar en un listado a todas las personas que colaboraron en mi formación sería demasiado extenso, por lo cual mi gratitud siempre estará presente para todos aquellos que decidieron compartir alegrías, esfuerzos, sufrimientos y demás emociones en esta inigualable experiencia.

DEDICATORIA

Esta tesis de grado se encuentra dedicada a la memoria de mi nona María Graciela Beltrán, la cual anhelaba poder ver a su nieto convertido en un profesional que llenara de orgullo y satisfacción a la familia que con tanto esfuerzo me apoyo con arduo esfuerzo en este camino.

Quiero que estas palabras, aunque ya no se las pueda decir, resuenen en la mente de aquellas personas que lean este trabajo y no quede duda que antes que cualquier título profesional; el tiempo invertido en la universidad ha logrado preparar un ser humano del cuál mi nona pueda sentirse orgullosa en el lugar que se encuentre y así pueda saber que siempre la tendré presente a donde quiera que vaya y en todos los logros que alcance en esta vida.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	3
DEDICATORIA	5
ÍNDICE DE CONTENIDO	6
ÍNDICE DE TABLAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	12
ÍNDICE DE ANEXOS	16
RESUMEN	18
INTRODUCCIÓN	22
1. OBJETIVOS.....	24
1.1. OBJETIVO GENERAL	24
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
2. JUSTIFICACIÓN.....	25
3. MARCO TEÓRICO	27
3.1. Compañía Nacional de Levaduras-Levapan S.A.	27
3.1.1. Levaduras Core:.....	28
3.1.2. Proteínas Rich:	28
3.1.3. Bioactivos	29
3.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	29
3.2.1. Levadura activa seca.....	31

3.2.2.	Beta-glucan de levadura	32
3.2.3.	Proceso general de producción de líquidos usados para elaboración de productos	
	35	
3.2.3.1.	Recepción de materias primas	35
3.2.3.2.	Etapas de precultivo	35
3.2.3.3.	Etapas de crecimiento	36
3.2.3.4.	Etapas de crecimiento final	36
3.2.3.5.	Tratamiento de biomasa y autólisis	36
3.3.	Elaboración de levadura seca	36
3.4.	Elaboración de beta-glucan	37
3.5.	Metodologías utilizadas para el recuento y detección de microorganismos	39
3.5.1.	Metodología tradicional (recuento en placa)	39
3.5.2.	Métodos de recuento automatizado	40
3.6.	Equipos usados en las líneas de producción	41
3.6.1.	Tanques fermentadores	41
3.6.2.	FRV	42
3.6.3.	Tolva	42
3.6.4.	Secadores por atomización convencional	42
3.7.	Fuentes de contaminación de matrices alimenticias	43
3.7.1.	Contaminación de materias primas	44

3.7.2.	Contaminación por manipulación	44
3.7.3.	Contaminación de ambientes y superficies	45
3.7.4.	Presencia de microorganismos alterantes y patógenos.....	45
4.	MARCO NORMATIVO	47
5.	METODOLOGÍA.....	49
5.1.	Inspección de medios de cultivo	49
5.1.1.	Uso de aditivos	50
5.1.2.	Verificación de pH	51
5.2.	Control microbiológico de materias primas	53
5.2.1.	Análisis microbiológico de mieles	53
5.2.2.	Análisis microbiológico de aguas	54
5.3.	Control microbiológico de factores externos implicados en el proceso de elaboración.....	55
5.3.1.	Análisis microbiológico de ambientes en la planta de levaduras y proteínas..	55
5.3.2.	Análisis microbiológico de superficies y utensilios	56
5.3.3.	Análisis microbiológico de manipuladores	58
5.4.	Control microbiológico de producto terminado (levadura seca activa y beta-glucan)	
	59	
5.4.1.	Análisis microbiológico de levadura seca activa	59
5.4.2.	Análisis microbiológico de beta-glucan de levadura	66

6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	87
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	88
7.4. Control microbiológico de materias primas	88
7.5. Control microbiológico de factores externos implicados en el proceso de elaboración	90
7.5.1. Análisis microbiológico de ambientes en la planta de levaduras y proteínas..	90
7.5.2. Análisis microbiológico de superficies y utensilios	91
7.5.3. Análisis microbiológico de manipuladores	93
7.6. Control microbiológico de producto terminado (levadura seca activa y beta-glucan	
de levadura)	95
7.6.1. Análisis microbiológico de levadura seca activa	102
7.6.2. Análisis microbiológico de beta-glucan de levadura.....	106
8. CONCLUSIONES	111
9. SUGERENCIAS.....	112
10. GLOSARIO	113
REFERENCIAS.....	119
ANEXOS	127

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Normatividad de obligatorio cumplimiento para la producción y comercialización de alimentos hechos a base de levadura	47
Tabla 2. Medios de cultivo empleados para los análisis de levadura seca y beta-glucan.	49
Tabla 3. Aditivos usados en los diferentes medios de cultivo empleados en los análisis de levadura seca y beta-glucan.	51
Tabla 4. Medios de cultivo usados en los análisis de levadura seca y beta-glucan de la Compañía Nacional de Levaduras, Levapan S.A.	52
Tabla 5. Etapas y análisis microbiológicos realizados a las muestras del proceso de producción correspondientes a la planta #1 (Planta de levaduras) de la Compañía Nacional de Levaduras. .	60
Tabla 6. Etapas y análisis microbiológicos realizados a las muestras correspondientes a la planta #2 (Planta de proteínas) de la Compañía Nacional de Levaduras.	67
Tabla 7. Análisis microbiológicos realizados a las muestras de producto seco de beta-glucan (Planta de proteínas) de la Compañía Nacional de Levaduras.	76
Tabla 8. Resultados microbiológicos de materias primas utilizadas en la Compañía Nacional de Levaduras para el proceso de elaboración de levadura seca y beta-glucan de levadura.....	88
Tabla 9. Resultados microbiológicos de los análisis realizados a los ambientes en las plantas de producción de la compañía.	90
Tabla 10. Resultados microbiológicos de los análisis realizados a las superficies que se encuentran en contacto con el producto terminado en las plantas de producción de la compañía.....	91
Tabla 11. Resultados microbiológicos de los análisis realizados a los manipuladores en las plantas de producción de la compañía.....	93

Tabla 12. Resultados de las muestras de levadura seca y beta-glucan que se encuentran dentro de los límites de aceptabilidad y rechazo durante las 16 semanas de los análisis realizados en la Compañía Nacional de Levaduras. 96

Tabla 13. Resultados correspondientes a las muestras analizadas en el laboratorio de microbiología y calidad de la Compañía Nacional de Levaduras durante el proceso de elaboración de levadura seca. 102

Tabla 14. Resultados correspondientes a las muestras analizadas en el laboratorio de microbiología y calidad de la Compañía Nacional de Levaduras correspondientes a beta-glucan de levadura. 106

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características celulares de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30
Figura 2. Levadura seca activa producida por la Compañía Nacional de Levaduras (presentación de 500 gramos).....	31
Figura 3. Estructura química del (1-3) β -D-glucan de levadura	33
Figura 4. Esquema de elaboración de levadura seca y beta-glucan ejecutado por la Compañía Nacional de Levaduras.....	39
Figura 5. Esquema de funcionamiento de secado por atomización o pulverización convencional	43
Figura 6. Esquema metodológico de análisis microbiológico de mieles realizado en la Compañía Nacional de Levaduras.....	53
Figura 7. Esquema metodológico de análisis microbiológico de las aguas usadas en proceso de fabricación en la Compañía Nacional de Levaduras.....	54
Figura 8. Esquema metodológico de análisis microbiológico de ambientes realizado en la planta de levadura seca y de proteínas de la Compañía Nacional de Levaduras.....	56
Figura 9. Esquema metodológico de análisis microbiológico de superficies realizado en la planta de levadura seca y proteínas de la Compañía Nacional de Levaduras.	57
Figura 10. Esquema metodológico de análisis microbiológico de manipuladores realizado en la planta de levadura seca y proteínas de la Compañía Nacional de Levaduras.....	58
Figura 11. Esquema metodológico de análisis microbiológico de bacterias aerobias mesófilas realizado a muestras de levadura seca en la Compañía Nacional de Levaduras.	61

Figura 12. Esquema metodológico de análisis microbiológico de coliformes fecales y totales realizado a muestras de levadura seca en la Compañía Nacional de Levaduras.	63
Figura 13. Esquema metodológico de análisis microbiológico de mohos y levaduras realizado a distintas muestras en la Compañía Nacional de Levaduras.	64
Figura 14. Esquema metodológico de recuento directo de células vivas realizado a muestras de levadura seca en la Compañía Nacional de Levaduras.	65
Figura 15. Esquema metodológico de análisis microbiológico de bacterias aerobias mesófilas realizado a líquido esterilizado de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	67
Figura 16. Esquema metodológico de análisis microbiológico de coliformes fecales y totales realizado a líquido esterilizado de beta-glucan de levadura en la Compañía Nacional de Levaduras.	69
Figura 17. Esquema metodológico de detección de <i>Bacillus cereus</i> (mediante tecnología automatizada TEMPO) realizado a líquido esterilizado de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	70
Figura 18. Esquema metodológico de análisis de esporas realizado a líquido esterilizado de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	71
Figura 19. Esquema metodológico de análisis microbiológico de bacterias aerobias mesófilas realizado a líquido final de proceso de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	72
Figura 20. Esquema metodológico de análisis microbiológico de coliformes fecales y totales realizado a líquido final de proceso de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	73
Figura 21. Esquema metodológico pesado y separación de muestras de beta-glucan para posteriores análisis realizados en la Compañía Nacional de Levaduras.	75

Figura 22. Esquema metodológico de análisis y detección de <i>Cronobacter sakazakii</i> realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	77
Figura 23. Esquema metodológico de detección de <i>Salmonella</i> spp. (usando sistema automatizado). realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	78
Figura 24. Esquema metodológico de análisis de enterobacterias realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	79
Figura 25. Esquema metodológico de recuento de bacterias aerobias mesófilas y <i>Staphylococcus aureus</i> (mediante tecnología automatizada TEMPO) realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	81
Figura 26. Esquema metodológico de detección de <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> , Coliformes totales y Enterobacterias (mediante tecnología automatizada TEMPO) realizado producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	83
Figura 27. Esquema metodológico de análisis de esporas realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	84
Figura 28. Esquema metodológico de análisis de mohos y levaduras realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.	85
Figura 29. Cantidad de muestras aceptables de levadura seca en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre de 2023.	97
Figura 30. Cantidad de muestras No aceptables de levadura seca en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre de 2023.	97
Figura 31. Cantidad de muestras aceptables de beta-glucan levadura en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre de 2023.	98

Figura 32. Cantidad de muestras No aceptables de beta-glucan de levadura en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre.	99
Figura 33. Cantidad de muestras de levadura seca analizadas.	103
Figura 34. Porcentaje de aceptabilidad y porcentaje de No aceptabilidad de muestras de levadura seca analizadas.	104
Figura 35. Cantidad de muestras de beta-glucan de levadura analizadas durante los meses de septiembre a diciembre de 2023.	108
Figura 36. Porcentaje de aceptabilidad y porcentaje de No aceptabilidad correspondientes a muestras de beta-glucan de levadura analizadas.	108

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Registro fotográfico de implementos y materiales usados para el análisis de ambientes efectuado en la Compañía Nacional de levaduras.	127
Anexo 2. Registro fotográfico de los resultados de análisis de manipuladores efectuado en la Compañía Nacional de Levaduras.	128
Anexo 3. Registro fotográfico de los resultados de análisis de superficies efectuado en la Compañía Nacional de Levaduras.....	128
Anexo 4. Registro fotográfico de formato usado para la medición de pH de los medios de cultivo por la Compañía Nacional de Levaduras para los análisis microbiológicos.	129
Anexo 5. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para los análisis microbiológicos de ambientes.....	130
Anexo 6. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para los análisis microbiológicos de manipuladores.	131
Anexo 7. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para la verificación de prácticas higiénicas de los manipuladores.	132
Anexo 8. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para análisis de superficies.	133
Anexo 9. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para el registro de muestras de laboratorio para su análisis.....	134
Anexo 10. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para análisis de materias primas.	135
Anexo 11. Registro fotográfico de conteo células vivas realizado a una muestra de levadura seca de la Compañía Nacional de Levaduras.....	135

Anexo 12. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levadura para el análisis de conteo de células vivas.....	136
--	-----

RESUMEN

El control de calidad microbiológico en las plantas de producción de alimentos, es fundamental para garantizar los estándares de calidad de obligatorio cumplimiento por normas establecidas para su comercialización sin suponer un riesgo para la salud de las personas. En ese sentido, la Compañía Nacional de Levaduras-Levapan S.A. produce actualmente una amplia variedad de productos destinados al consumo humano; por tal motivo se llevó a cabo el análisis de materias primas, ambientes, superficies, manipuladores y producto terminado en el proceso de elaboración de levadura seca y beta-glucan en la planta de la compañía ubicada en el municipio de Tuluá, Valle del Cauca-Colombia.

Se ejecutaron análisis microbiológicos tradicionales (recuento en placa) y automatizados (TEMPO y Mini-VIDAS) según las directrices y metodología establecidas por la compañía para la evaluación de microorganismos contaminantes (indicadores microbiológicos: bacterias aerobias mesófilas, coliformes fecales y totales, hongos y levaduras, enterobacterias, *Staphylococcus aureus*) y descartar la presencia de patógenos (*Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Cronobacter Sakazakii*, entre otros) que pueden estar presentes durante el proceso de producción.

Los resultados de los análisis ejecutados a las materias primas; factores externos (ambientes, superficies y manipuladores); proceso de elaboración y producto terminado durante los meses de seguimiento, estableció el cumplimiento de los parámetros microbiológicos exigidos por el gobierno nacional para la comercialización de dichos productos; permitiendo de esta manera crear acciones preventivas en consideración en los futuros procesos de elaboración en las líneas de producción, y siguiendo el exhaustivo control de los posibles riesgos relacionados a la presencia

de microorganismos causantes de ETA's (enfermedades transmitidas por los alimentos) y su rol sobre la salud de las personas.

Palabras clave: análisis microbiológicos, patógenos, parámetros, calidad microbiológica, parámetros microbiológicos, acciones preventivas, ETA's.

ABSTRACT

Microbiological quality control in food production plants is essential to guarantee the quality standards required by the standards established for marketing without posing a risk to people's health. In that sense, Compañía Nacional de Levaduras-Levapán S.A. currently produces a wide variety of products for human consumption; For this reason, the analysis of raw materials, environments, surfaces, handlers and finished product was carried out in the process of producing dry yeast and beta-glucan in the company's plant located in the municipality of Tuluá, Valle del Cauca. Colombia.

Traditional (plate count) and automated (TEMPO and Mini-VIDAS) microbiological analyzes were carried out according to the guidelines and methodologies established by the company for the evaluation of contaminating microorganisms (microbiological indicators: mesophilic aerobic bacteria, fecal and total coliforms, fungi and yeasts), enterobacteria, *Staphylococcus aureus*) and rule out the presence of pathogens (*Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Cronobacter Sakazakii*, among others) that may be present during the production process.

The results of the analyzes carried out on the raw materials; external factors (environments, surfaces and manipulators); manufacturing process and finished product during the months of monitoring, developed compliance with the microbiological parameters required by the national government for the commercialization of said products, thus allowing the creation of preventive actions taken into consideration in future manufacturing processes in the production lines. production; and following the exhaustive control of the possible risks related to the presence of microorganisms that cause ETA (foodborne diseases) and their role on people's health.

Key words: microbiological analysis, pathogens, parameters, microbiological quality, microbiological parameters, preventive actions, ETA's.

INTRODUCCIÓN

La Compañía Nacional de Levaduras-Levapan S.A, es una compañía multilatinamericana reconocida por su compromiso con la excelencia en la producción de gran cantidad de materias primas a partir del uso de levaduras; entre los cuales se encuentran la levadura seca y beta-glucan, dos componentes esenciales en la industria alimentaria por su aporte como base de innumerables productos que se comercializan en el mercado nacional. La calidad de estos productos es de vital importancia tanto para la satisfacción de los clientes como para la seguridad alimentaria. En este contexto, la evaluación de la calidad microbiológica en las líneas de producción adquiere una relevancia crítica.

El mantenimiento de la calidad e inocuidad de los productos finales podría verse comprometido por la existencia de microorganismos, como bacterias patógenas, levaduras y hongos contaminantes. Las aplicaciones específicas requieren que los productos tengan la cantidad necesaria de beta-glucan de levadura para ser efectivos; por lo tanto, un régimen exhaustivo de pruebas microbiológicas es crucial para mantener los estándares de calidad durante todo el proceso de producción.

La garantía de calidad microbiológica es un compromiso de la empresa con la excelencia y la satisfacción del cliente, y también contribuye a cumplir con los estándares regulatorios y las expectativas de la industria; este análisis permitirá a la Compañía Nacional de Levadura-Levapan S.A. seguir siendo líder en la producción de materias primas y productos destinados al consumo masivo (como lo son la levadura seca y beta-glucan) que aportan un valor elevado en la alimentación de las personas que los consumen.

El control de calidad microbiológica en las líneas de producción de levadura seca y beta-glucan de levadura en la planta ubicada en el municipio de Tuluá-Valle del Cauca de la empresa Levapan

S.A. En este contexto, el presente informe se enfocará en definir los objetivos específicos, los procedimientos de muestreo y análisis, así como las acciones correctivas necesarias para mantener la integridad y seguridad de los productos.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Analizar la calidad microbiológica en los procesos de fabricación y producto terminado de levadura seca y beta-glucan elaborados por la Compañía Nacional de levaduras-Levaplan S.A. en la planta de producción ubicada en el municipio de Tuluá, Valle del Cauca-Colombia.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar la calidad de las materias primas empleadas para la fabricación de levadura seca y beta-glucan de levadura mediante el uso de análisis microbiológicos tradicionales.
- Monitorear los factores externos (ambientes, superficies, manipuladores) que se encuentran en contacto con el producto, ocasionando su contaminación y pérdida de atributos nutricionales.
- Evaluar la presencia de microorganismos contaminantes y/o patógenos mediante diferentes pruebas de detección, en el producto terminado (levadura seca y beta-glucan en la compañía Levaplan S.A).

2. JUSTIFICACIÓN

El análisis de calidad microbiológica en las líneas de producción de levadura seca y beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras-Levapan S.A, planta Tuluá, se basa en varios aspectos críticos que impactan tanto en la calidad de los productos como en la seguridad alimentaria y la reputación de la empresa. Es por este motivo que la compañía efectúa constantes análisis para lograr comercializar sus productos con los más altos estándares de calidad, convirtiéndose en un referente en Colombia con respecto al tema de comercialización de materias primas relacionadas a la producción de *Saccharomyces cerevisiae*.

La levadura seca y beta-glucan de levaduras, son productos que generan una gran utilidad en ganancias en la compañía debido a su uso como materias primas en panaderías o como base para la fabricación de fórmulas lácteas; los cuales se encuentran sujetos a específicos estándares de calidad que deben ser cumplidos para su comercialización y no representar un posible riesgo para la salud de los consumidores. Las características fisicoquímicas, calidad microbiológica, análisis sensorial, entre otras; son parámetros que deben evaluarse constantemente en la industria alimentaria para evitar problemas relacionados a microorganismo contaminantes y patógenos capaces de generar ETA's (Enfermedades transmitidas por alimentos) y que se deben a falencias o deficiencias inadecuados procesos de limpieza, manipulación de materias o productos, ambientes o desinfección y sanitización de instrumentos, maquinaria y equipos presentes en los procesos de fabricación; incidiendo directamente en la disminución de la vida útil de dichos productos.

La verificación de indicadores microbiológicos en los entornos de fabricación, constituye una medida de contención y prevención de bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales y fecales, enterobacterias, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* principales microorganismos que deterioran las características fisicoquímicas, organolépticas y sensoriales de

los productos; además de realizar un estricto seguimiento a los patógenos (*Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Listeria* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus cereus*, entre otros) mediante técnicas clásicas y modernas técnicas de detección, recuento y control de éstos para minimizar la posibilidad de generar un riesgo en la salud de las personas al ser consumidos en los alimentos.

La realización de un análisis de calidad microbiológica en las líneas de producción de la compañía Levapan S.A. en la cuales se fabrica levadura seca y beta-glucan de levadura en la planta ubicada en el municipio de Tuluá es esencial para garantizar la seguridad alimentaria, cumplir con las regulaciones, mantener la satisfacción del cliente y preservar la calidad de los productos. Es por esta razón que el laboratorio de calidad de la compañía, es el principal responsable de realizar el respectivo control relacionado a la prevención, identificación, solución y corrección de las causas relacionadas a la alteración de las materias primas y productos que se fabrican en la Compañía Nacional de Levaduras y de este modo cumplir con los requerimientos establecidos por el gobierno nacional, contribuyendo en la mejora continua y la competitividad de la empresa en el mercado.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Compañía Nacional de Levaduras-Levapan S.A.

La compañía Nacional de Levaduras-Levapan S.A. surge en Colombia en 1952 como adquisición de Guillermo Ponce de León al intercambiar su estación de servicio de combustible por una fábrica de levadura en Fontibón. Posterior a este suceso, se construye una segunda planta de levadura ubicada en el municipio de Tuluá, Valle del Cauca; aumentando de esta manera el catálogo de productos distribuidos hasta el momento y permitiendo expandir sus estructuras en varios departamentos de Colombia (Levapan , 2017).

En la actualidad Levapan S.A. es una compañía centrada en la producción y comercio de gran cantidad de productos enfocados en satisfacer la demanda de materias primas en la industria alimentaria, gastronómica, agroindustrial y nutrición animal y vegetal. Con 70 años en el mercado nacional e internacional, Levapan S.A. cuenta con la presencia en varios países del continente (Ecuador, Perú, República Dominicana, Panamá) y en Colombia posee 4 fábricas de producción (Levapan S.A. ubicada en el municipio de Tuluá; Panal S.A.S en Rionegro-Antioquia; Levacolsas en la localidad de Fontibón en Bogotá y Nutritec en Yumbo, Valle del Cauca) haciendo de esta una empresa con gran potencial económico enfocada en la innovación de manera eficiente, responsable e incluyente que tiene como visión la generación de valor social y económico a las distintas personas que hacen parte o se relacionan directamente con la empresa (Levapan, 2017).

La empresa posee un amplio portafolio de productos que no sólo suple la necesidad de materias primas para la industria alimentaria (levadura seca, levadura fresca, fermentos, ingredientes de panadería, pastelería y repostería; extractos y potenciadores de sabores, entre otros); pues cuenta además con productos enfocados a la nutrición animal, fertilizantes orgánicos y gran variedad de

insumos encargados de proteger y aumentar la salud de sus clientes. El desarrollo de estos productos ha sido posible gracias a la constante investigación, desarrollo y ejecución de proceso, técnicas y metodologías diseñadas en el uso eficiente de microorganismos como pilar base en la transformación continua de los insumos y productos que comercializan.

La constante búsqueda y evolución en los procesos establecidos por la compañía; ha hecho posible la implementación de atributos característicos que han elevado la calidad de los productos destinados a mejorar la salud de los consumidores; es por esta razón que en la actualidad dispone de ciertos componentes o bioingredientes enfocados en la adaptación para suplir directamente las necesidades en salud, al servir de estimulantes en los seres humanos, animales y plantas (como se presenta a continuación) (Levapan, 2018).

3.1.1. Levaduras Core: línea conformada por microorganismos unicelulares (levaduras) que se producen en forma de materias primas en estado activo e inactivo para ser usado en industria alimentaria (panadería) y que se obtienen de procesos fermentativos al usar especies de *Saccharomyces cerevisiae*, enriquecidas con determinados compuestos (glutación, vitaminas, minerales, entre otros) que permiten ofrecer altas tasas de viabilidad celular (Levapan, 2022).

3.1.2. Proteínas Rich: línea compuesta por extractos de proteínas vegetales hidrolizadas (PVH) y extractos de levadura obtenidos a partir de cultivos axénicos de *Saccharomyces cerevisiae*, los cuales han sido sometidos a procesos de autólisis; y por lo tanto presentan un alto contenido de aminoácidos, proteínas, vitaminas, entre otras; permitiendo hacer parte en la industria de nutrición vegetal animal, cuidado personal, alimentaria y belleza (Levapan, 2022).

3.1.3. Bioactivos Plus: línea obtenida a partir de procesos de autólisis de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, lo que permite su separación y concentración en extractos, paredes celulares y beta-glucan (1,3 y 1,6 de levadura) a través de específicos procesos biotecnológicos (Levapan, 2022).

Para el desarrollo y producción de la máxima cantidad de productos en la planta de Tuluá, Valle del Cauca; es necesario llevar un estricto control de los parámetros evaluados para cumplir con la normatividad colombiana relacionada al análisis de la calidad microbiológica de materias primas, producto terminado, ambientes, superficies, manipuladores, máquina, herramientas, entre otros; que garanticen la minimización de riesgos relacionados a factores físicos (infraestructura, iluminación, limpieza de áreas de trabajo, etc.), químicos (productos de limpieza), microbiológicos (Bacterias aerobias mesófilas, coliformes fecales y totales, mohos y levaduras, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., entre otros) desencadenantes de alteración del producto en cada una de las etapas o fases en las cuales debe seguir para poder obtener un producto final en óptimas condiciones para su comercialización.

3.2. *Saccharomyces cerevisiae*

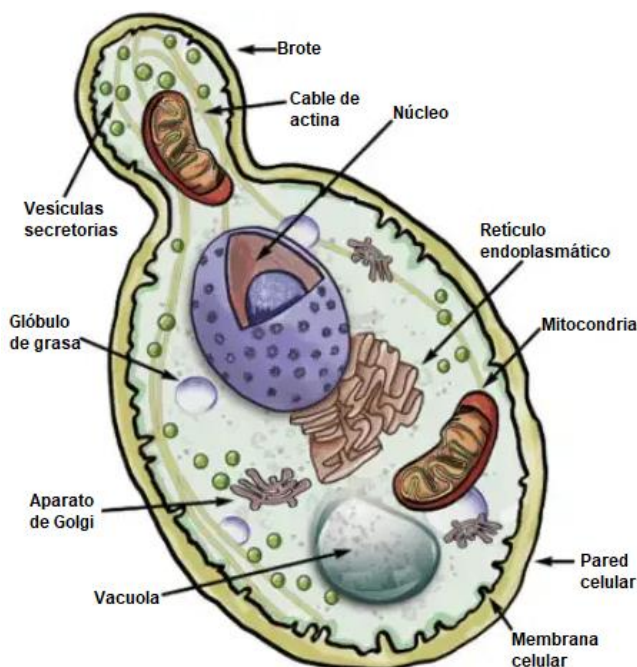
Es un microorganismo unicelular eucariota conocido como “levadura”, el cual es clasificado como GRAS (Generalmente reconocido como seguro) por la FDA convirtiéndolo en un microorganismo de uso seguro dentro de diferentes industrias y el cuál no representa un riesgo o peligro para su consumo. Es uno de los microorganismos modelos usados como herramienta para investigación, además de poseer un sin número de aplicaciones industriales que le otorgan un gran interés económico para su uso.

Dentro de la industria alimentaria, *Saccharomyces cerevisiae* “realiza, acumula y consume” lo que permite producción de gran cantidad de metabolitos y sustancias usadas (alcohol, biomasa, beta-

glucan, etc.) como materia prima en gran cantidad de procesos biotecnológicos (Parapouli *et al.*, 2020).

Para la producción de biomasa por parte de esta levadura, es necesario su crecimiento bajo un proceso de fermentación de etapas múltiples y mediante la implementación de un metabolismo aeróbico (batch alimentado); además del control de las condiciones de crecimiento (temperaturas entre 28-30 °C, pH 4.5-5.0, tasas de oxigenación menores a 140 mM/L), uso de melazas de caña o remolacha (con 65-75 % p/p de fuente de carbono) y así permitir su propagación celular en biorreactores con un crecimiento aproximado de 4.5 gramos de biomasa sólida (Pereira *et al.*, 2021).

Figura 1. Características celulares de *Saccharomyces cerevisiae*.



Fuente: (Walker & Graham, 2016)

Nota: En la **figura 1** se observa la estructura celular de *Saccharomyces cerevisiae* (eucariota unicelular); por lo cual posee una serie de orgánulos en su interior (mitocondrias, pared celular, núcleo, vacuola, membrana celular, retículo endoplasmático, aparato de Golgi, entre otros) y una forma elipsoide de aproximadamente 5 a 10 μm .

3.2.1. Levadura activa seca

La levadura activa seca o liofilizada, es una materia prima indispensable en industrias alimentarias ya que posee la capacidad de esponjar el pan al hacer uso de los azúcares de la harina y descomponerlos en unidades más simples produciendo CO₂ y otros compuestos aromáticos que dotan de características agradables al ser humano. Este tipo de levadura (LSA) presenta un porcentaje de humedad cercano al 9 % y debe poseer una viabilidad superior al 65 % para cumplir con los estándares establecidos por la Norma Técnica Colombiana 1807 para las levaduras destinadas para los procesos de panificación (Portilla *et al.*, 2021). Esta levadura presenta una mayor vida útil a diferencia de la levadura fresca, pudiendo conservarse más de 6 meses bajo las correctas condiciones de almacenamiento (Temperatura entre 15-25 °C) (Levapan, 2015).

Figura 2. *Levadura seca activa producida por la Compañía Nacional de Levaduras (presentación de 500 gramos)*



Fuente: (Levapan, 2015)

La levadura activa seca no presenta riesgos relacionados a patógenos durante su proceso de producción; sin embargo, el riesgo de contaminación microbiana está presente y a continuación se mencionan los principales contaminantes que pueden llegar a afectar la vida útil del producto:

-Coliformes totales y fecales

Este grupo de especies bacterianas perteneciente a la familia enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., etc.), es un indicador microbiológico de calidad sanitaria que se evalúa de manera regular en la mayoría de matrices alimentarias para corroborar que se encuentre dentro de parámetros permisibles evitando así la disminución de la vida útil y propiedades del producto (Abd El-Salam M.H, 2003).

-Microorganismos aerobios mesófilos

Estos microorganismos son indicadores de contaminación ambiental en entornos de fabricación; su elevada presencia en alimentos produce alteraciones que ocasionan cambios en las características específicas y disminución de la vida, además de indicar idoneidad de los controles de limpieza y saneamiento durante todo el proceso de elaboración de alimentos (Herrera, A.G., 2001).

-Mohos y levaduras

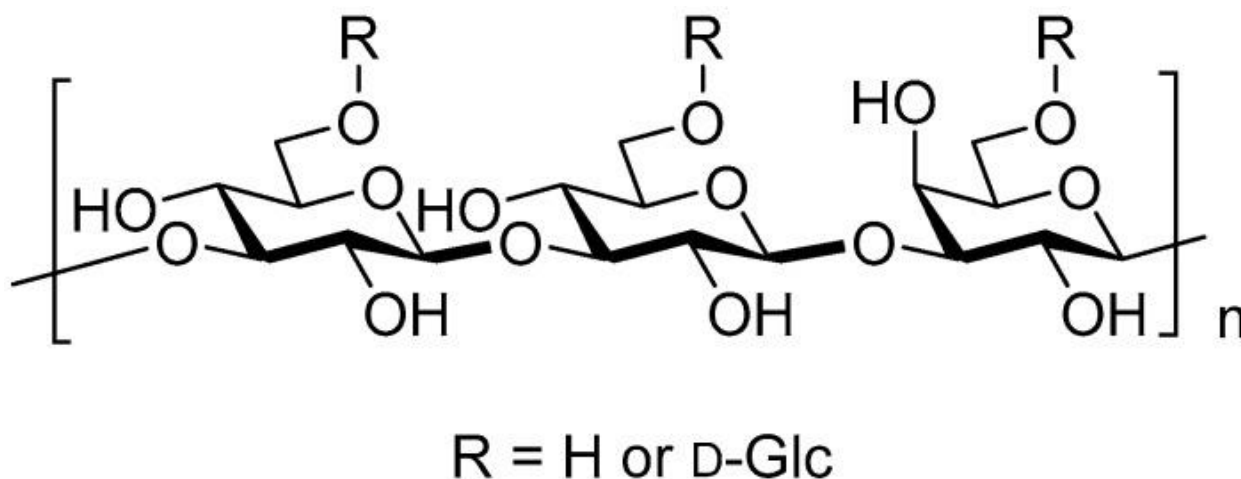
Debido al estricto control dentro de las instalaciones de fabricación de alimentos, es poco probable la contaminación con mohos y levaduras en los entornos de fabricación; no obstante, existe la posibilidad de contaminación relacionada a este tipo de microorganismos (cepas de mohos y levadura salvaje de *Saccharomyces cerevisiae* diferentes a las utilizadas por Levapan S.A.) que pueden inducir cambios significativos en el producto final, disminuyendo de manera considerable las propiedades fermentativas de *S. cerevisiae* o aparición de metabolitos indeseados (Hernández et al., 2018).

3.2.2. Beta-glucan de levadura

Este homopolisacárido de glucosa se encuentra de manera común en la naturaleza con una amplia distribución en plantas, hongos y bacterias; existen dos tipos de glucanos diferenciables gracias al

estereoisómero del enlace glicosídico que les otorga su nombre como α -glucan y β -glucan. *Saccharomyces cerevisiae* posee en su estructura interna de la pared celular (1-3 y 1-6) β -glucan (tal como se observa la **figura 3**) de gran importancia biológica y de un gran interés económico al ser usada como materia prima en diversos suplementos o productos fortificados a base de este componente estructural presente en este tipo de hongos (debido a sus características y aporte nutricional). Dentro de las funciones fisiológicas se encuentra su papel en el mejoramiento del sistema inmunológico (producción de mayor cantidad de IgM), regulación metabólica, eliminador de radicales libres, reducción de la absorción de niveles de lípidos sanguíneos, anticancerígeno, entre muchas otras (Zhong *et al.*, 2023).

Figura 3. Estructura química del (1-3) β -D-glucan de levadura



Fuente: (Zhong *et al.*, 2023)

El beta-glucan de levadura es un producto alimenticio que presenta bajo porcentaje de humedad, lo cual lo convierte en la “fuente ideal” para resguardar un sin número de patógenos. A continuación, se nombran algunos de los patógenos de mayor relevancia en salud, que pueden contaminar este producto seco:

-*Cronobacter sakazakii*

Es un microorganismo Gram-negativo oportunista perteneciente a la familia enterobacteriaceae, el cual presenta una gran capacidad para sobrevivir en alimentos con bajo contenido de humedad durante largos períodos de tiempo (manteniendo intacta su viabilidad celular); convirtiéndolo en un riesgo para aquellas matrices alimenticias que tienen una vida útil prolongada. El beta-glucan por sus características (extracto seco), puede presentar contaminación con este patógeno y ser un riesgo para los consumidores (en su mayoría niños menores a 3 años), desencadenando complicaciones relacionadas a ETA's debido a su alta tasa de mortalidad (50-70 %) (FDA , 2022).

-*Salmonella* spp.

Este bacilo Gram-negativo, se encuentra dentro de los patógeno que con mayor facilidad pueden estar presente en gran cantidad de alimentos. En el caso de productos con bajo porcentaje de humedad (como beta-glucan), desarrolla estrategias de resistencia frente a factores de estrés que le permiten mantenerse viable durante extensos períodos de tiempo y lo constituyen dentro de los patógenos que más ETA's produce alrededor del mundo (FDA , 2023).

-*Clostridium* spp. sulfito reductor

Existe una gran diversidad de especies de microorganismos capaces de desarrollar formas para sobrevivir a los métodos convencionales de destrucción microbiana. Dentro del género *Clostridium* spp. existen especies denominadas como "sulfito-reductoras"; las cuales pueden inducir la formación de esporas para su supervivencia; este tipo de estructuras dificulta la destrucción del patógeno debido a que se deben alcanzar temperaturas muy elevadas (superiores a 100 ° C), cambiando de este modo las propiedades nutricionales de las matrices alimenticias que contamina y generando graves pérdidas económicas (Doyle *et al.*, 2018).

-*Bacillus cereus*

Al igual que las especies de *Clostridium* spp., *Bacillus cereus* tiene la capacidad para inducir la producción de esporas y otros mecanismos que le permiten sobrevivir a factores de estrés externos. Aunque este microorganismo posee una baja tasa de mortalidad, su peligrosidad radica en la facilidad con la cuenta para formar biofilms (comunidad bacteriana envuelta por una matriz extracelular polimérica) que protege sin importar el tipo de microorganismo que se encuentre en su interior; albergando durante largos períodos de tiempo microorganismos de mayor patogenicidad que pueden producir mayor cantidad de complicaciones en personas que consuman alimentos contaminados con este tipo de patógenos (Minyeong *et al.*, 2017).

3.2.3. Proceso general de producción de líquidos usados para elaboración de productos

3.2.3.1. Recepción de materias primas

Las melazas de caña de azúcar (conocida como miel de caña) son recibidas de distintos ingenios azucareros de la región (Riopaila-Castilla, Carmelita, entre otros) en tanques de almacenamiento a los cuales se les debe realizar distintos análisis microbiológicos y fisicoquímicos, para corroborar las características que deben poseer éstas, y así puedan servir como fuente de nutrición para *Saccharomyces cerevisiae* y se obtenga el rendimiento establecido por la compañía.

3.2.3.2. Etapa de precultivo

En esta etapa se realiza el proceso de selección de las cepas de levaduras axénicas (*Saccharomyces cerevisiae*) conservadas en el cepario de la Compañía Nacional de Levaduras para realizar la respectiva reproducción en medios de cultivo esterilizados, presentando en su composición nutricional melazas de caña de azúcar para su alimentación (extrayendo los elementos necesarios para su crecimiento) bajo específicas condiciones de pH (2.5-5.0); temperatura (25-38° C), tiempo

(20-24 horas), fuente de carbono y nitrógeno, entre otras (obtención de biomasa del 5-15 % de la fuente de carbono).

3.2.3.3. Etapa de crecimiento

Ocurre la inoculación del precultivo (que ha consumido todos los nutrientes del alimento) en el cepario a un tanque fermentador que presenta las condiciones de crecimiento requeridas para su desarrollo de crecimiento a gran escala (pH 2.5-5.0, temperatura 25-38° C durante un intervalo de tiempo de 20 a 30 horas). Seguidamente se administrarán nuevamente compuestos nutritivos de manera controlada para su transformación en crema de levadura (obtención de biomasa del 20-30 % de la fuente de carbono) mediante la aplicación de métodos automatizados.

3.2.3.4. Etapa de crecimiento final

Se produce el traslado de la producción de la etapa de crecimiento (maximización de la maduración de la levadura) a un tanque de almacenamiento, donde serán separadas las cremas de levadura (mediante centrífuga de separación) que presentan un contenido de agua entre el 68-70 %; para su posterior traslado (mediante tuberías) al área donde se encuentra el filtro rotatorio al vacío (FRV) (si se trata de líquido para levadura fresca y seca) o bombeo directo a la planta de proteínas para para ser enviado a diferentes líneas de producción.

3.2.3.5. Tratamiento de biomasa y autólisis

La biomasa o extracto de levadura se recolecta mediante el uso de centrifugación y se lava en repetidas ocasiones para obtener una biomasa limpia denominada “crema de levadura” que será sometida a un proceso de autólisis bajo condiciones específicas, separando los restos celulares en fracciones soluble e insoluble (Zapata & Meza, 2006).

3.3. Elaboración de levadura seca

3.3.1. Crema PM

Esta crema de tipo extracto (preparada para obtener niveles altos de proteínas mediante un proceso fermentativo) se somete a autólisis para realizar un proceso de tratamiento con ácido sulfúrico (obteniendo un líquido soluble que será separado) en una cava de almacenamiento (5° C), para después ser filtrada y lavada por un sistema de tambor al vacío denominado como filtro rotatorio al vacío (FRV) mediante un proceso de extrusión; obteniendo así un producto enriquecido en sólidos (20 %) (Llanos & Capera, 2019).

3.3.2. Levadura seca liofilizada

La obtención de las cremas PM (usadas en producción de levadura fresca y seca), se generan de líquidos denominados como “finales de fermentación” que se introducen en centrífugas para la separación de la mezcla en crema de levadura y residuos; luego se procede a llevar la crema a secadores de tipo aspersor y así generar la obtención de levadura granulada seca (gracias a proceso de congelación y deshidratación) que se empaca bajo condiciones de esterilidad, almacenamiento en cuartos fríos y posterior transporte a diferentes industrias alimentarias (Martínez & Gómez, 2020)

3.4. Elaboración de beta-glucan

3.4.1. Crema EQ

Las cremas EQ (usadas para el proceso de obtención de extractos de proteínas), son sometidas a procesos de autólisis (con la finalidad de degradar los principales constituyentes de la levadura) y así separar sus componentes (pared celular, extracto, etc.) mediante el aumento de la temperatura (90° C).

3.4.2. Líquido esterilizado

Debido a que las células de levadura han sido destruidas, el precipitado de la crema EQ se encuentra lleno de sustancias que serán sometidas a procesos de bioseparación mediante el uso de filtro rotatorio al vacío (FRV) (están compuestos de varias capas de mallas con pequeñas aberturas de tamaño variable entre 20 a 500 micrómetros que permiten filtrar los sólidos suspendidos en mezclas para su eliminación y así obtener un líquido que contiene células muertas de levadura) (Jiménez, 2016).

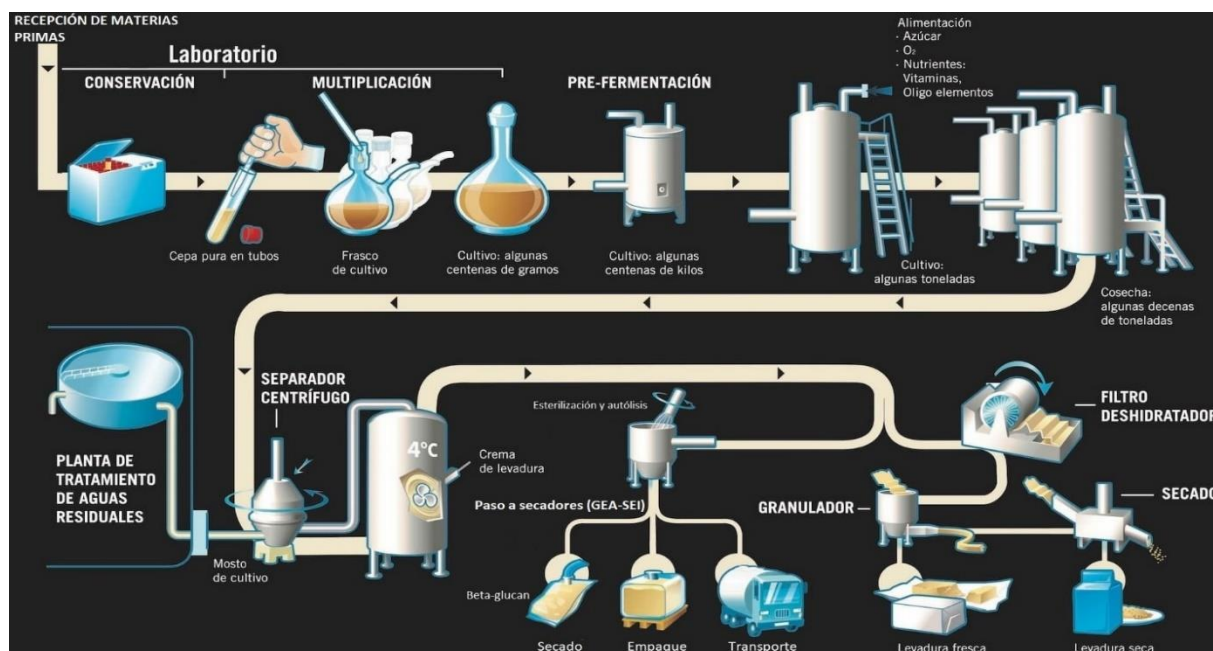
3.4.3. Líquido final de proceso

El líquido obtenido después del proceso de esterilizado se usa para su pulverización en los secadores de atomización convencional NIRO (utiliza aire de secado a velocidades y presiones muy altas, lo que genera la evaporación inmediata del producto y transformándolo en pequeñas partículas en forma de polvo que pasan a la cámara de secado) (Gea Group, 2023).

3.4.4. Secado y empaque

El líquido final del proceso, es secado en secadores de atomización convencional NIRO (denominados GEA y SEI que separan el soluto en polvo fino sólido y el solvente en vapor que es liberado); obteniendo así el producto seco beta-glucan de levadura que será empacado en bolsas estériles y guardado en cajas para su posterior transporte (Zapata & Meza, 2006). A continuación, en la **figura 4** se esquematiza el proceso de elaboración de levadura seca y beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.

Figura 4. Esquema de elaboración de levadura seca y beta-glucan ejecutado por la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: (Lesaffre Ibérica, 2021)

Nota. El esquema anterior es una descripción gráfica del proceso ejecutado por la Compañía Nacional de Levaduras para la elaboración de los productos levadura seca y beta-glucan.

3.5. Metodologías utilizadas para el recuento y detección de microorganismos

3.5.1. Metodología tradicional (recuento en placa)

Este tipo de metodología es un estándar que ha estado presente desde el inicio mismo de la microbiología, para la determinación de la cantidad de microorganismos viables en distintos matrices al ser mezcladas en medios líquidos para su posterior siembra en cajas de Petri (mediante preparación de diluciones); y así permitir el posterior desarrollo de colonias para su cuantificación. En la actualidad se usa en gran cantidad de análisis en las distintas industrias debido a su fiabilidad, costo y practicidad; presentando dos variaciones:

3.5.1.1. Recuento en placa por siembra en profundidad: en esta variación se adiciona una cantidad de volumen específico sobre una caja de Petri para posteriormente añadir el medio de cultivo y realizar la homogenización de este para su incubación y posterior recuento de colonias.

3.5.1.2. Recuento en placa siembra en superficie: se trata de la siembra de un volumen determinado de una dilución que contiene la muestra analizar sobre la superficie del medio de cultivo para su posterior incubación y recuento (Ramírez *et al.*, 2017).

3.5.2. Métodos de recuento automatizado

3.5.2.1. Muestreador de aire

Este dispositivo de alta tecnología utiliza caudales de aire de 100 litros por minuto (principio de impactación) en los cuales se disponen de cajas de Petri con diferentes medios de cultivo específicos para cada ambiente (dependiendo de las necesidades) en la parte superior del dispositivo; para determinar el nivel de contaminación de los ambientes cerrados en las distintas áreas de la fábrica (al depositarse partículas en la superficie de los medios de cultivo que darán un recuento), cumpliendo de esta manera con las exigencias del control de aire establecidas por el gobierno nacional (Merck, 2015).

3.5.2.2 Sistema automatizado para recuento de microorganismos TEMPO®

El sistema TEMPO tiene como objetivo el análisis de indicadores microbiológicos de calidad en distintas matrices alimenticias, ajustándose a la enumeración de microorganismos para la confirmación de calidad según las exigencias normativas. Este sistema basa su funcionamiento en el principio de NMP (Número Más Probable miniaturizado), lo que le permite ser un sistema más eficiente (sobre la metodología tradicional de recuento en placa) a la hora de dar resultados sobre el recuento de diferentes microorganismos (aerobios mesófilos, *Bacillus cereus*, bacterias acido-

lácticas, coliformes totales, *Escherichia coli*, Enterobacterias, entre otros), en menor tiempo y de manera más robusta (Biomérieux, 2023).

3.5.2.3 Sistema de inmunoensayo de sobremesa automatizado para la detección de patógenos VIDAS[®]

El sistema de inmunoensayo Mini VIDAS combina los métodos de detección ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción) con la lectura de fluorescencia ligada a la proteína recombinante de fagos, permitiendo la detección de patógenos (*Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Campylobacter* spp., entre otros) en diferentes muestras individuales de matrices alimentarias; siendo una alternativa confiable y robusta a los métodos tradicionales de detección que requieren de un mayor tiempo y esfuerzo para la detección y confirmación de este tipo de microorganismos (Biomérieux, 2023).

3.6. Equipos usados en las líneas de producción

En la industria alimentaria es necesario el uso de gran cantidad de equipos e instrumentos indispensables para realizar el proceso en las líneas de producción hasta la obtención del producto terminado (final). En la Compañía Nacional de Levaduras se hace uso de gran cantidad de este tipo de instrumentos para obtener los distintos productos comercializados por la compañía.

3.6.1. Tanques fermentadores

Son depósitos metálicos (acero inoxidable) en los cuales se mantiene un estricto control de parámetros (luz, temperatura, pH, etc.) para permitir el paso y almacenamiento de líquidos y o cremas usadas para el proceso de obtención de levadura seca y beta-glucan en la compañía; al propiciar el desarrollo y procesos fermentativos de *Saccharomyces cerevisiae* que da lugar a la transformación de las sustancias almacenadas en su interior.

3.6.2. FRV

Un filtro rotatorio de vacío automático es un tambor rotatorio de mallas con aberturas de tamaño específico, que permiten el paso de caudales de agua filtrándola y permitiendo la obtención de sólidos suspendidos filtrados que serán usados en las siguientes etapas del proceso de producción.

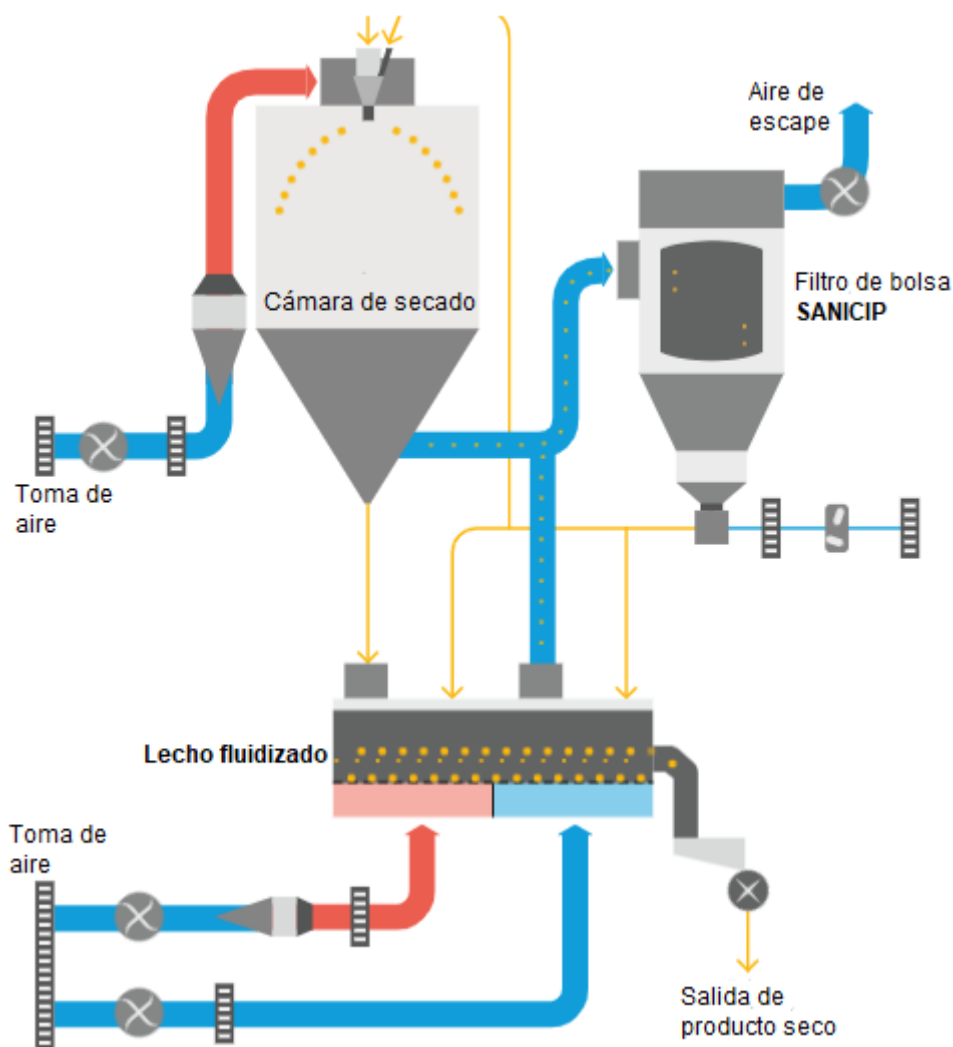
3.6.3. Tolva

Son conductos de acero inoxidable que presentan una forma triangular o piramidal (embudo) y permiten la canalización y traslados de sustancias a través de éstas hacia diferentes equipos de la línea de producción, que continuarán con el proceso de obtención de productos.

3.6.4. Secadores por atomización convencional

Este tipo de secadores industriales, pulveriza suspensiones mediante la aplicación de corrientes de aire a altas temperaturas (150-170 °C); permitiendo la deshidratación y obtención del producto en partículas de polvo con bajo contenido de agua para su posterior proceso de empaque en condiciones de esterilidad e inocuidad (Gea Group, 2023). En la Compañía Nacional de Levaduras se usan dos tipos de secadores: SEI y GEA.

Figura 5. Esquema de funcionamiento de secado por atomización o pulverización convencional



Fuente: GEA Group, 2023.

Nota. En la **figura 5**, se observa el proceso de funcionamiento de secado por pulverización convencional ejecutado por un secador del GEA Group. Producto , aire frío , aire caliente , atomizador rotativo , ventilador , filtro de aire , calentador de aire , válvula de soplado , válvula rotatoria , soplador .

3.7. Fuentes de contaminación de matrices alimenticias

Existen determinadas fuentes de contaminación que pueden alterar la calidad microbiológica de los productos elaborados en un entorno controlado dentro de diferentes procesos de producción (líneas de producción); por lo cual se hace necesario abordar los principales problemas que pueden afectar directamente la integridad y vida útil de materias primas y productos finales (terminados), desencadenando así la proliferación y presencia de contaminantes o patógenos que pueden ocasionar riesgos o problemas de salud en los consumidores.

3.7.1. Contaminación de materias primas

La presencia de gran cantidad de microorganismos en las materias primas, es uno de los principales problemas que afecta la calidad microbiológica de los productos; en la industria alimentaria esto se traduce en alteraciones que afectan directamente el rendimiento establecido para cada producto específico; lo que hace necesario realizar procesos de disminución de carga microbiana, destruyendo o alterando propiedades iniciales (color, olor, sabor, nutrientes, etc.) al someter las materias a reprocesos como aumentos de temperatura, modificación de pH, radiación ultravioleta, ozonización. Las principales materias primas utilizadas para el proceso de producción de levadura seca y beta-glucan son: agua, melaza (miel de caña de azúcar) y almidón; las cuales deben ser analizadas para corroborar el cumplimiento de calidad según los parámetros establecidos para la presencia de microorganismos contaminantes.

3.7.2. Contaminación por manipulación

Los operarios encargados de manipular y estar en contacto con el producto; se encuentran generalmente en la etapa final del proceso de producción; es por esta razón que se debe hacer un riguroso control semanal de las medidas de limpieza (lavado de manos, uniformes limpios, uñas cortas, ausencia de joyas, etc.) implementadas por la compañía para la adecuada manipulación del

producto; además de corroborar el correcto uso de los EPP-Elementos de protección personal (tapabocas, gafas, casco, guantes, uniforme limpio, zapatos cerrados, protectores para los oídos, etc.), permitiendo de este modo la correcta aplicación de medidas preventivas para garantizar los parámetros de calidad nacional y disminuyendo la corrección de actividades que ocasionan riesgo de contaminación en las líneas de producción.

3.7.3. Contaminación de ambientes y superficies

Los ambientes al ser espacios cerrados y controlados, deben garantizar la correcta limpieza, sanitización y desinfección (al igual que las superficies) de estos sitios. La correcta rotación de químicos desinfectantes en los lugares e implementos operativos de la planta de producción, control de focos de contaminación, control sobre los niveles de temperatura, humedad, correcto mantenimiento y funcionamiento de la maquinaria; son algunas de las medidas a tener en cuenta durante los proceso de revisión para corroborar el cumplimiento de las normas de bioseguridad establecidas y destinadas para cumplir con los requisitos de seguridad alimentaria exigidos por el gobierno nacional (Nandar, 2022).

3.7.4. Presencia de microorganismos alterantes y patógenos

La contaminación proveniente del aire es uno de los principales problemas relacionados a la disminución de calidad en la industria de alimento; dentro de este tipo de los elemento relacionados a la contaminación se encuentran: las partículas suspendidas en el aire (esporas de hongos, células de bacterias, virus, residuos, materia orgánica, entre otros; de un tamaño comprendido entre 1 a 20 μm) capaces de causar modificaciones considerables al acumularse y servir de fuente orgánica para propiciar la proliferación de microorganismos patógenos (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Cronobacter*

sakazakii, entre otros.) capaces de desarrollar estrategias de supervivencia como biofilms, encapsulación o exosporas que dificultan su proceso de remoción y destrucción (Zand *et al.*, 2022).

Cuando existe un bajo porcentaje de microorganismos en ambientes, superficies, instrumentos, equipos y manipuladores, es indicativo de un correcto seguimiento de medidas preventivas que aseguran la calidad alimentaria de los productos generados en cualquier empresa.

4. MARCO NORMATIVO

Debido a las características de los productos y su empleo como materias primas en la fabricación de alimentos para seres humanos, es necesario abordar las bases legales (determinadas por el gobierno nacional) en la cuales se establecen ciertos requisitos o parámetros a tener en cuenta para el pleno cumplimiento de los procesos de recepción de materias primas, fabricación, manipulación, empaque, almacenamiento y distribución de los productos; y los cuales deben ser de exhaustivo cumplimiento para evitar riesgos o peligros asociados al consumo de alimentos según lo estipulado a continuación en la **tabla 1**, que contiene las principales normas vigentes en Colombia y a nivel internacional para los requisitos o parámetros básicos necesarios para la producción, análisis y recuentos relacionados a la elaboración de productos alimenticios como la levadura seca y beta-glucan de levadura.

Tabla 1. *Normatividad de obligatorio cumplimiento para la producción y comercialización de alimentos hechos a base de levadura*

Norma	Ente regulador	Decreta
Decreto 3075 de 1997	Ministerio de Salud y Protección Social	Decreta la salud como bien de interés público y la regulación de las actividades que puedan afectarla generadas por el consumo de alimentos. Aplicación de buenas prácticas de manufactura en las actividades relacionadas a la producción, almacenamiento, transporte, entre otras; relacionadas con los alimentos (Ministerio de Salud y Protección Social, 2008).
Resolución 2115 de 2007	Ministerio de Salud y Protección Social	Señalamiento de las características, instrumentos y el sistema de control y vigilancia para analizar la calidad del agua destinada para el consumo de las personas (esto incluye los análisis y límites permitidos para la presencia de ciertos microorganismos en el agua) (Ministerio de Salud y Protección Social, 2007).
Resolución 2674 del 2013	Ministerio de Salud y Protección Social	Establecimiento de requisitos sanitarios necesarios para los procesos relacionados a la producción de alimentos (procesamiento, preparación, envase, transporte, etc.), además de los requisitos que necesitan las personas para

		obtener una notificación, permiso o registro sanitario de alimentos (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013).
Decreto 60 de 2002	Ministerio de Salud y Protección Social	Aplicación y reglamentación de la certificación de un sistema HACCP (Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico) en las empresas dedicadas a la producción de alimentos (Ministerio de Salud y Protección Social, 2008).
Resolución 1407 de 2022	Ministerio de Salud y Protección Social	Criterios microbiológicos a cumplir para el consumo de alimentos y bebidas (Ministerio de Salud y Protección Social, 2022)
ISO 22000	International Organization for Standardization (ISO)	Establecimiento de un sistema de seguridad alimentaria enfocado en el ciclo PHVA (Planificar, Hacer, Verificar, Actuar) (International Organization for Standardization, 2018)
FDA-BAM 2001	Food and Drug Administration (FDA)	Procedimientos para análisis microbiológicos en alimentos del Manual de análisis bacteriológico de la FDA; así como las distintos métodos y validación de estos usados para el recuento de distintos microorganismos (<i>Escherichia coli</i> y coliformes totales, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , mohos y levaduras, <i>Cronobacter</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> spp, aerobios mesófilos, muestreo y preparación de muestras, etc.) (Food and Drug Administration, 2023)
AOAC Official Method 2014.05	3M-AOAC International	Método utilizado para el recuento rápido de mohos y levaduras en placas de Petrifilm™ en matrices alimenticias (AOAC, 2015).
USP 62	Food and Drug Administration (FDA)	Pruebas específicas para la detección (presencia o ausencia) de microorganismos específicos (<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Clostridium</i> spp., Bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis y <i>Candida albicans</i> (United States Pharmacopeia, 2016).

Fuente: Autor

Nota. Las normas presentadas en la **tabla 1**, engloban las principales guías establecidas a nivel nacional e internacional para el análisis, recuento, detección y control de productos y materias primas destinados a la fabricación de alimentos para consumo humano.

5. METODOLOGÍA

El análisis de la calidad microbiológica de los productos levadura seca y beta-glucan de la Compañía Nacional de Levaduras-Levaplan S.A., se llevó a cabo en la planta #1 (Planta de levaduras) ubicada en el laboratorio de bacteriología y calidad. Este laboratorio, es el encargado de la ejecución de los análisis concernientes a materias primas, líneas de producción y producto terminado según lo establecido por la compañía en su normatividad interna que se guía y ajusta según los parámetros vigentes en el país y solicitados por los clientes. A continuación, se abordan los diferentes análisis a realizar correspondientes a los productos (levadura seca y beta-glucan).

5.1. Inspección de medios de cultivo

El análisis de diferentes bacterias inicia desde la preparación de los diversos medios de cultivo empleados para el crecimiento y aislamiento de estos microorganismos; teniendo como criterio base el instructivo establecido por el fabricante para el adecuado uso de los parámetros indicados en sus productos (temperatura de esterilización, cantidad de agua y medio necesario para la preparación, control de tiempo, entre otros). A continuación, en la **tabla 2** se mencionan los principales medios empleados en el laboratorio de calidad de la Compañía Nacional de Levaduras necesarios para llevar a cabo los análisis de levadura seca y beta-glucan:

Tabla 2. Medios de cultivo empleados para los análisis de levadura seca y beta-glucan.

Medio de cultivo	Prefijo	Uso	Temperatura de incubación	Tiempo de incubación	Características de crecimiento de las colonias
Plate Count Agar (PCA)	S	Asilamiento de microorganismos aerobios mesófilos	37 °C	24 horas	Colonias rojas brillantes debido a la adición de TTC al medio de cultivo
Agar papa dextrosa (PDA)	P	Aislamiento de hongos y levaduras	30 °C	72 horas	Colonias de color blanco y

					consistencia cremosa
Agar Bilis y Rojo Violeta con glucosa	VRBG	Aislamiento de enterobacterias	37 °C	24 horas	Colonias rojas o púrpuras con presencia de un halo rojizo alrededor de estas
Agar para coliformes (Chromocult)	CHR	Aislamiento de coliformes fecales y totales	37 °C	24 horas	Colonias rojas o rosadas brillantes (coliformes totales) y colonias azules (coliformes fecales)
Agar Baird-Parker	BP	Aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>	37 °C	24 horas	Colonias grises o negras brillantes con un halo transparente alrededor de éstas
Agar Sulfito Polimixina Sulfadiazina	SPS	Aislamiento de bacterias ácido lácticas	37 °C (anaerobiosis)	24/48 horas	Colonias negras
Agar de Man, Rogosa y Sharpe	MRS	Aislamiento de <i>Clostridium perfringens</i>	30 °C (anaerobiosis)	48 horas	Colonias azules debido a la adición de azul de anilina al medio de cultivo
CHROMagar Cronobacter	SK	Aislamiento de <i>Cronobacter sakazakii</i>	41.5 °C	24 horas	Colonias de color azul o verde intenso

Fuente: Autor

5.1.1. Uso de aditivos

Debido a la presencia de *Saccharomyces cerevisiae* en las líneas de producción de la Compañía Nacional de Levaduras-Levapan S.A., los diferentes medios se deben aditivar con distintos componentes o reactivos que cumplen funciones específicas y permiten su modificación al mejorar la identificación de colonias de *Saccharomyces cerevisiae* y diferenciarlas de microorganismos contaminantes o patógenos que pueden estar presentes en las líneas de producción; por lo cual se mencionan a continuación en la **tabla 3**:

Tabla 3. Aditivos usados en los diferentes medios de cultivo empleados en los análisis de levadura seca y beta-glucan.

Medio de cultivo	Prefijo	Aditivo	Función del aditivo
Plate Count Agar (PCA)	S	TTC	Aceptor de electrones que otorga una pigmentación roja a las colonias de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
		Actidione al 0.02 %	Inhibidor del crecimiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> presente en la líneas de producción
Agar papa dextrosa (PDA)	P	Ácido tartárico	Inhibidor del crecimiento bacteriano
		Actidione al 0.1 %	Inhibidor del crecimiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> presente en la líneas de producción
Agar Bilis y Rojo Violeta con glucosa	VRBG	No aplica	No aplica
Agar para coliformes (Chromocult)	CHR	No aplica	No aplica
Agar Baird-Parker	BP	Emulsión de yema de huevo	Identificación de actividad lecitinásica de especies de bacterias del género <i>Staphylococcus</i> spp.
Agar Sulfito Polimixina Sulfadiazina	SPS	No aplica	No aplica
Agar de Man, Rogosa y Sharpe	MRS	Azul de anilina	Pigmento que da coloración azul a las colonias de bacterias ácido lácticas (BAL)
		Actidione al 1%	Inhibidor del crecimiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> presente en la líneas de producción
CHROMagar Cronobacter	SK	No aplica	No aplica

Fuente: Autor

5.1.2. Verificación de pH

Uno de los factores externos más importantes a tener en cuenta en el momento de realizar la preparación de los medios de cultivo es la cantidad o concentración de los iones de hidrógeno presentes en cada uno de éstos; pues la variación significativa de estos valores, es crucial y afecta directamente el crecimiento y comportamientos de los microorganismos para los cuales han sido

las fórmulas específicas. En la **tabla 4** se presentan los valores de pH a los cuales debe estar preparado cada medio de cultivo (según las especificaciones del fabricante), para no alterar o inhibir el crecimiento de los microorganismos para los cuales han sido diseñados cada medio específico:

Tabla 4. Medios de cultivo usados en los análisis de levadura seca y beta-glucan de la Compañía Nacional de Levaduras, Levapan S.A.

Medio de cultivo	Prefijo	Valor de pH	Especificaciones
Plate Count Agar (PCA)	S	7.0 ± 0.2	Autoclavar a 121 °C x 15-30 minutos
Agar papa dextrosa (PDA)	P	5.6 ± 0.2	Autoclavar a 121 °C x 15-30 minutos
Agar Bilis y Rojo Violeta con glucosa	VRBG	7.4 ± 0.2	No se autoclava
Agar para coliformes (Chromocult)	CHR	6.8 ± 0.2	No se autoclava
Agar Baird-Parker	BP	7.2 ± 0.2	Autoclavar a 121 °C x 15-30 minutos
Agar Sulfito Polimixina Sulfadiazina	SPS	7.0 ± 0.2	Autoclavar a 121 °C x 15-30 minutos
Agar de Man, Rogosa y Sharpe	MRS	6.2 ± 0.2	Autoclavar a 121 °C x 15-30 minutos
CHROMagar <i>Cronobacter</i>	SK	7.3 ± 0.2	Autoclavar a 121 °C x 15-30 minutos

Fuente: Autor

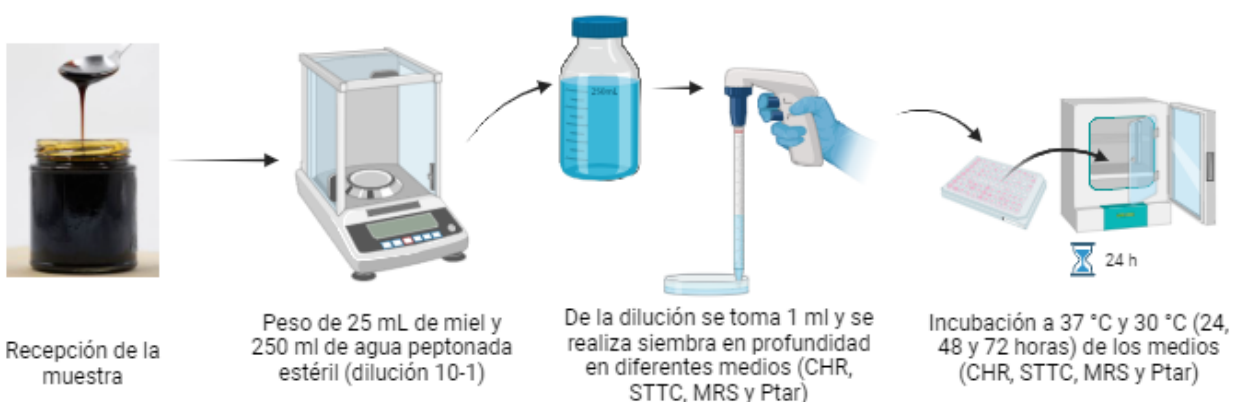
Nota. El pH de los diferentes medios de cultivo nombrados en la **tabla 4**, se controlan a diario mediante la medición del potencial de hidrogeniones por medio de un pH-metro y sus valores se anotan y se les realiza su respectivo seguimiento en un formato específico suministrado por la Compañía Nacional de Levaduras.

5.2. Control microbiológico de materias primas

5.2.1. Análisis microbiológico de mieles

Esta materia prima es suministrada semanalmente por los proveedores (ingenios azucareros del sector) encargados del transporte del líquido hasta la planta de la Compañía Nacional de Levaduras sede Tuluá, y que es suministrado al laboratorio de calidad para realizar los análisis de recuento en placa mediante siembra en profundidad a diferentes grupos de microorganismos (en específico a coliformes totales y fecales, aerobios mesófilos, bacterias ácido lácticas (BAL) y mohos y levaduras), como se describe a continuación y se observa en el esquema:

Figura 6. Esquema metodológico de análisis microbiológico de mieles realizado en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

- De la muestra suministrada por los ingenios azucareros, se toman 25 ml de ésta y se adicionan a 225 ml de agua peptonada estéril (dilución 10^1).
- De la dilución se toma 1 ml y se realiza siembra en profundidad en medios de cultivo como Chromocult (CHR), Plate Count Agar (S con aditivo de 5 ml de TTC-STTC), MRS y PDA (P con aditivo de 5 ml de ácido tartárico-PTar).

- Las placas se incubaron a 37 °C (los medios CHR y STTC) durante 24 horas, 30 °C (medio MRS) por 48 horas en anaerobiosis y 30° C durante 72 horas.

5.2.2. Análisis microbiológico de aguas

El agua de los tanques de fermentación debe ser de la más alta calidad; por lo cual se le realizan semanalmente los análisis microbiológicos relacionados a coliformes (CHR), aerobios mesófilos (Plate Count Agar-STodo con adición de 5 ml de actidione al 0.02 % y 5 ml de TTC) y hongos y levaduras (Agar PDA-PTodo con adición de 5 ml de actidione al 0.1 % y 5 ml ácido tartárico) como se observa a continuación en el esquema:

Figura 7. Esquema metodológico de análisis microbiológico de las aguas usadas en proceso de fabricación en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

- La recolección de la muestra es realizada por un operario de la planta de levaduras, transportada e ingresada a los registros de muestras para su análisis en el laboratorio de calidad de la compañía.
- Se realizan los análisis microbiológicos de coliformes totales y fecales, aerobios mesófilos y hongos y levaduras mediante la metodología de recuento en placa por siembra en profundidad.

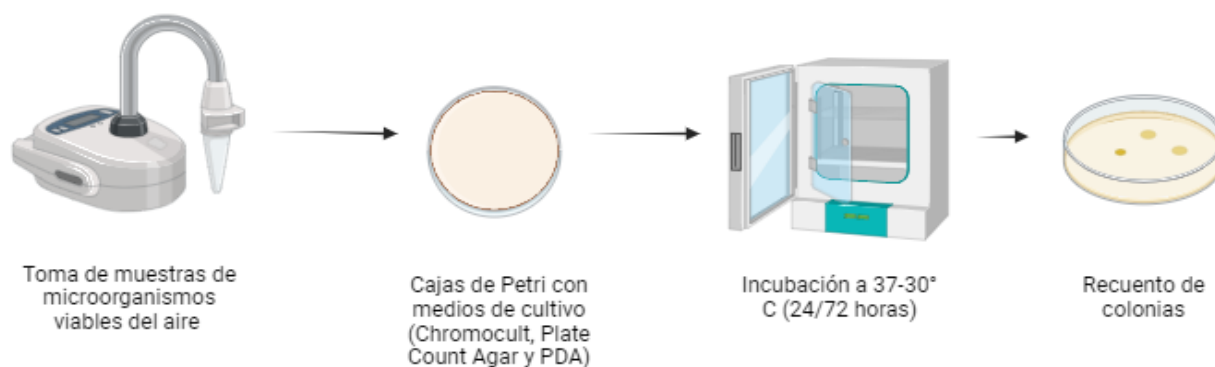
- Se toma 1 ml de la muestra y se siembra en placas de Petri diferentes para posteriormente agregar los respectivos medios de cultivo (Chromocult, Plate Count Agar con aditivo de 5 ml de TTC y 5 ml de actidione al 0.02 % y PDA con adición de 5 ml de ácido tartárico y 5 ml de actidione al 0.1 %).
- Posterior a la incubación de las placas de Petri a 37° C (CHR y STodo) durante 24 horas y 30° C (PTodo) durante 72 horas, se realiza el recuento siguiendo los parámetros establecidos por el gobierno nacional de Colombia en la resolución 2115 de 2007.

5.3. Control microbiológico de factores externos implicados en el proceso de elaboración.

5.3.1. Análisis microbiológico de ambientes en la planta de levaduras y proteínas

El ambiente dentro de la planta de levaduras y proteínas debe ser analizado con frecuencia, para así garantizar la calidad microbiológica de los productos elaborados; es por esta razón que la Compañía Nacional de Levaduras ha establecido unas directrices a seguir para los análisis semanales que buscan determinar la presencia de microorganismos contaminantes en las líneas de producción. En el siguiente esquema se describe este procedimiento que se realiza tanto en la planta de levaduras como en proteínas:

Figura 8. Esquema metodológico de análisis microbiológico de ambientes realizado en la planta de levadura seca y de proteínas de la Compañía Nacional de Levaduras.



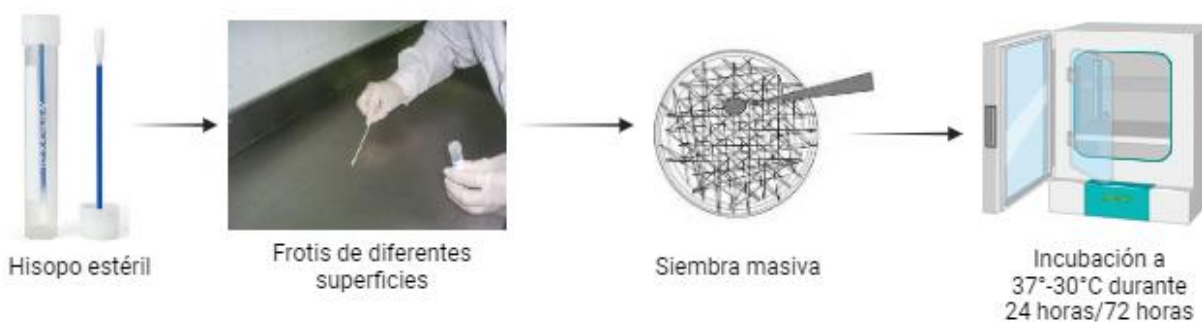
Fuente: Autor

- Mediante el uso de un muestreador de microorganismos viables del aire a un volumen determinado (1000 litros en grandes espacios), se dispusieron cajas de Petri con tres diferentes medios de cultivo: Chromocult, Plate Count Agar (suplementado con 5 ml de actidione al 0.02 % y 5 ml de TTC) y PDA (suplementado con 5 ml de actidione al 0.1 % y 5 ml de ácido tartárico) dentro de este instrumento (en el área de producción) para después ser incubados a 37° C (Chromocult y STodo) durante 24 horas y 30° C (PTodo) durante 72 horas.
- Posterior al tiempo de incubación, se realizó el respectivo conteo de colonias para su informe en los formatos establecidos por la compañía para este tipo de análisis.
- **Nota:** Para la planta de proteínas se realizó el mismo procedimiento, pero se usaron los medios de cultivo VRBG, Plate Count Agar (aditivado con 5 ml de TTC) y PDA (aditivado 5 ml de ácido tartárico).

5.3.2. Análisis microbiológico de superficies y utensilios

Los análisis de superficies se realizan con la finalidad de establecer la rigurosidad y periodicidad con la cual se limpian y desinfectan las distintas superficies, equipos, utensilios y demás objetos que se encuentran en contacto durante el proceso de fabricación de levadura seca y beta-glucan; para así evitar la contaminación cruzada y presencia de microorganismos alterantes que puedan generar cambios significativos (deterioro) en los productos.

Figura 9. Esquema metodológico de análisis microbiológico de superficies realizado en la planta de levadura seca y proteínas de la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

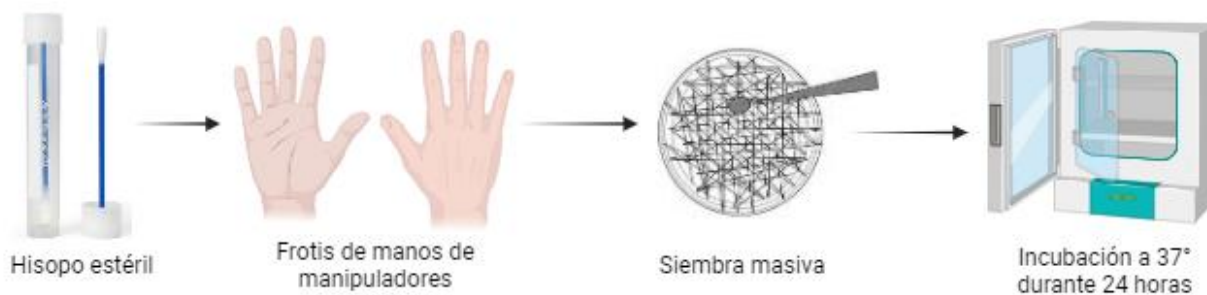
- Semanalmente se tomaron muestras de diferentes superficies (según las directrices establecidas en los formatos de la compañía) mediante el frotis de un hisopo estéril sumergido en caldo triptona sobre estas.
- Seguidamente se realizó siembra masiva de la muestra tomada en cajas de Petri con medios de cultivo: Chromocult, Plate Count Agar (suplementado con 5 ml de actidione al 0.02 % y 5 ml de TTC) y PDA (suplementado con 5 ml de actidione al 0.1 % y 5 ml de ácido tartárico) para planta de levadura seca.
- Después se incubaron las cajas de Petri a 37° C durante 24 horas y 30° C durante 72 horas (respectivamente).

- Posterior al tiempo de incubación, se realizó el respectivo conteo de colonias para ser informado en los formatos establecidos por la compañía (Levapan, 2023).
- **Nota:** En la planta de proteínas se realizó el mismo procedimiento con ligeras modificaciones en el uso de medios de cultivo: siembra masiva en los medios de cultivo Chromocult, Plate Count Agar (aditivado con 5 ml de TTC) y PDA (aditivado con 5 ml de ácido tartárico).

5.3.3. Análisis microbiológico de manipuladores

Los manipuladores u operarios presentan un rol importante en todo el proceso de fabricación; es por este motivo que se hace necesario un análisis riguroso y constante de los implementos (cofia, tapabocas, gafas, etc.) de los cuales hacen uso para la manipulación de los productos; motivo por el cual se realizan análisis periódicos semanales para analizar el correcto lavado de manos y medidas de higiene que eviten posibles riesgos de contaminación durante todo el proceso de fabricación. El análisis realizado a los manipuladores es el mismo en ambas plantas de producción (levaduras y proteínas); por este motivo se describe el procedimiento seguidamente:

Figura 10. Esquema metodológico de análisis microbiológico de manipuladores realizado en la planta de levadura seca y proteínas de la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

- A cada operario se le realiza un hisopado de la superficie de sus manos (incluyendo pliegues de piel, espacio entre dedos y uñas) para seguidamente realizar una siembra masiva en cajas de Petri con diferentes medios de cultivo (VRBG, Chromocult y Baird-Parker).
- Las cajas se incuban a 37° C durante 24 horas; posteriormente se realiza su análisis (conteo de colonias) e informe en el formato correspondiente al registro de manipuladores (diligenciado con su respectivo nombre, área a la que pertenece y medidas higiénicas cumplidas por el operario) suministrado por la Compañía Nacional de Levaduras (Levapan, 2023).

5.4. Control microbiológico de producto terminado (levadura seca activa y beta-glucan)

5.4.1. Análisis microbiológico de levadura seca activa

Los análisis y labores dirigidas a controlar todo el proceso de elaboración de levadura seca en la planta de levaduras (Planta #1), es ejecutado por los analistas del laboratorio de microbiología y calidad de la Compañía Nacional de Levaduras.

El muestreo se realiza diariamente en cada una de las etapas del proceso de producción de la levadura seca por un operario de la planta de levadura. Esta persona se encarga de la recolección de las muestras en los distintos ciclos y el transporte al laboratorio de microbiología y calidad de la compañía para su ingreso al sistema (conforme a las directrices establecidas por la empresa), y posterior análisis microbiológico (dependiendo de la fase de producción en la cual se encuentre el producto); a continuación, se detalla este tipo de procedimiento en la **tabla 5**:

Tabla 5. Etapas y análisis microbiológicos realizados a las muestras del proceso de producción correspondientes a la planta #1 (Planta de levaduras) de la Compañía Nacional de Levaduras.

Muestra	Análisis microbiológico	Medio de cultivo usado	Aditivos empleados en medios de cultivo	Dilución	Reporte
Fermentación inicial	Aerobios mesófilos	Plate Count Agar	Actidione (0.02 %)	10^0	UFC/ml
			TTC (Cloruro de trifeniltetrazoilo)		
	Coliformes fecales y totales	Chromocult	No aplica	10^0	UFC/ml
	Hongos y levaduras	PDA	Actidione (0.1 %)	10^0	UFC/ml
			Ácido tartárico		
Mosto stock y generación	Hongos y levaduras	PDA	Actidione (0.1 %)	10^0	UFC/ml
			Ácido tartárico		
Crema stock y generación	Aerobios mesófilos	Plate Count Agar	Actidione (0.02 %)	$10^0 - 10^2$	UFC/ml
			TTC (Cloruro de trifeniltetrazoilo)		
	Coliformes fecales y totales	Chromocult	No aplica	10^0	UFC/ml
	Hongos y levaduras	PDA	Actidione (0.1 %)	10^0	UFC/ml
			Ácido tartárico		
Final de fermentación	Coliformes fecales y totales	Chromocult	No aplica	$10^0 - 10^2$	UFC/ml
			Actidione (0.1 %)		
	Hongos y levaduras	PDA	Ácido tartárico	10^2	UFC/ml
Crema PM	Coliformes fecales y totales	Chromocult	No aplica	10^1 X DUPLICADO	UFC/ml
			Actidione (0.1 %)		
	Hongos y levaduras	PDA	Ácido tartárico	10^2	UFC/ml
Levadura seca	Aerobios mesófilos	Plate Count Agar	Actidione (0.02 %)	$10^2 - 10^3$	UFC/g
			TTC (Cloruro de trifeniltetrazoilo)		
	Coliformes fecales y totales	Chromocult	No aplica	10^1 X DUPLICADO	UFC/g
			Actidione (0.1 %)		
	Hongos y levaduras	PDA	Ácido tartárico	10^2	UFC/g
			Ácido tartárico		

Fuente: Autor

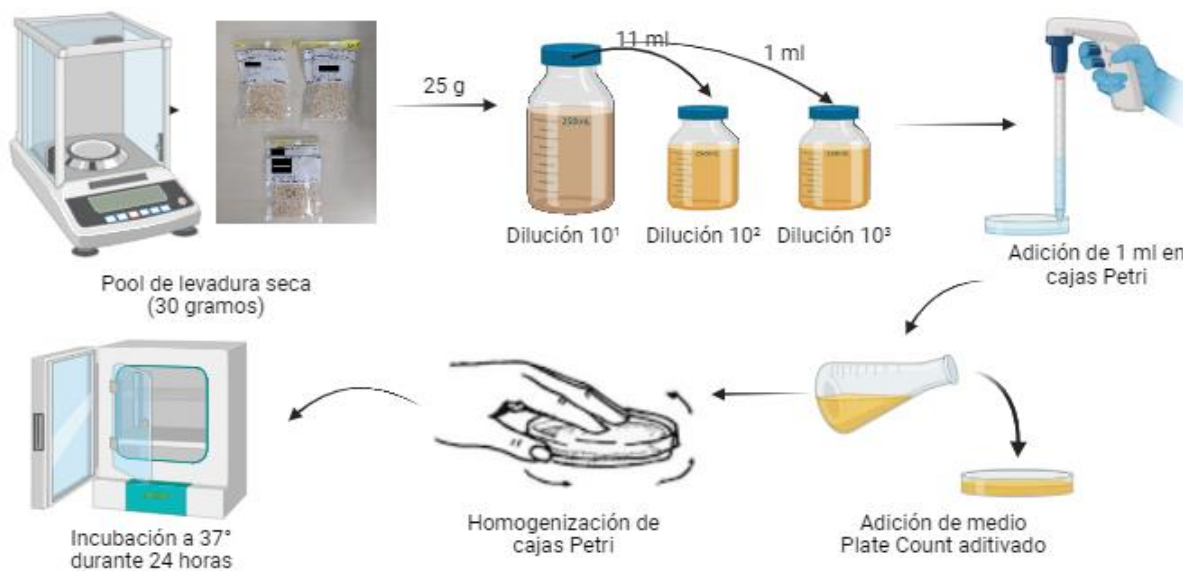
Nota. La **tabla 5** presenta la información relacionada a las muestras, los análisis microbiológicos realizados a éstas, medios de cultivo y aditivos empleados (usados en cada etapa del proceso),

diluciones realizadas y el reporte del crecimiento de los microorganismos según los criterios establecidos por la Compañía Nacional de Levaduras en sus guías de procedimientos.

5.4.1.1. Análisis de aerobios mesófilos mediante metodología de recuento Total de Bacterias-RTB en placa (siembra en profundidad)

Los análisis de bacterias aerobias mesófilas sirven para determinar la cantidad de microorganismos ambientales presentes en la muestra, los cuales son indicadores de la calidad microbiológica o sanitaria en un producto. En el siguiente esquema se detalla el procedimiento para su análisis:

Figura 11. Esquema metodológico de análisis microbiológico de bacterias aerobias mesófilas realizado a muestras de levadura seca en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

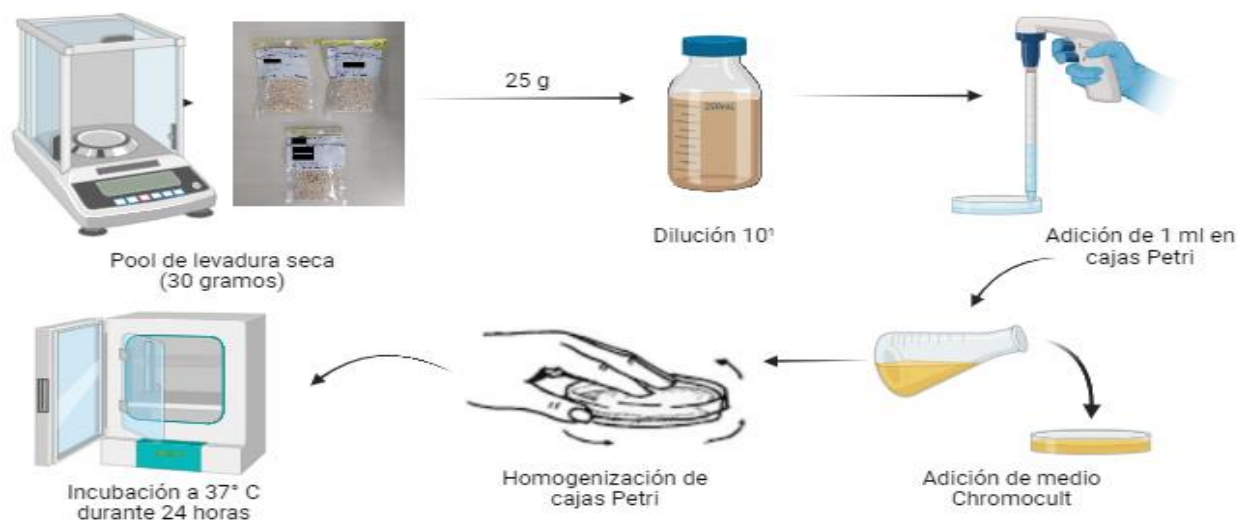
- Se forma una mezcla de 2 muestras (*pool*) de levadura seca en una bolsa estéril (que contenga 30 gramos de cada bolsa)
- Se pesan 25 gramos de muestra y se agregan a 225 ml de agua peptona estéril, la cual debe homogenizarse vigorosamente.

- De la dilución 10^1 se toman 11 ml y se agregan en 99 ml de agua peptonada estéril y se homogeniza (dilución 10^2).
- De cada dilución se toma 1 ml y se adiciona en cajas de Petri para seguidamente agregar medio Plate Count aditivado con 5 ml de actidione (0.02 %) y 5 ml de TTC.
- Se homogeniza las muestras presentes en las cajas de Petri, se dejan solidificar y se incuban a 37°C durante 24 horas (Levapan, 2023).

5.4.1.2. Análisis de coliformes fecales y totales mediante metodología de recuento en placa (siembra en profundidad)

Los análisis correspondientes a coliformes fecales y totales que se aplican a los productos, son para medir la cantidad de éste tipo de microorganismos que pueden causar problemas y un indicador claro de la disminución de la calidad del producto, relacionado a contaminación de los trabajadores que tienen contacto en las líneas de producción de la levadura seca o una pobre limpieza y desinfección de los equipos por los cuales se transporta el producto; por lo cual a continuación se detalla el proceso de su análisis en el siguiente esquema.

Figura 12. Esquema metodológico de análisis microbiológico de coliformes fecales y totales realizado a muestras de levadura seca en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

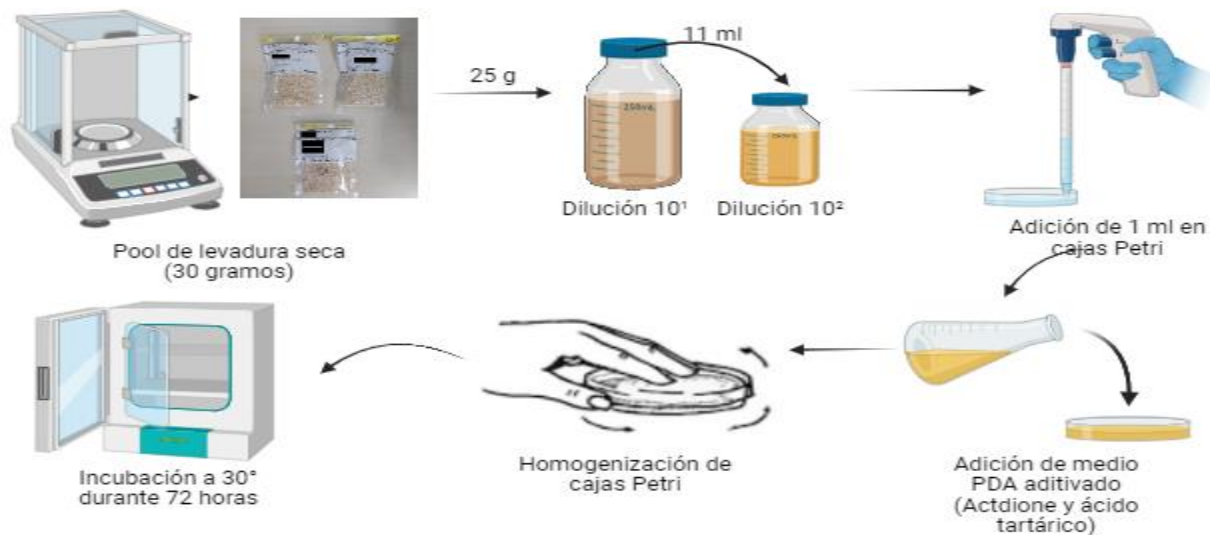
- Se toman 25 gramos de la muestra inicial para realizar dilución 10¹ en agua peptonada estéril (según la muestra a analizar).
- Tomar 2 ml del frasco con la dilución y se procede a agregar en dos cajas de Petri (siembra en profundidad por duplicado).
- Se agrega el medio de cultivo Chromocult a cada una de las cajas de Petri y se homogeniza para distribuir de manera uniforme la muestra y así evitar que esta se compacte.
- Finalmente, las cajas de Petri se incuban a 37° C durante 24 horas para realizar su posterior lectura o conteo de colonias (Levapan, 2023).

5.4.1.3. Análisis de mohos y levaduras mediante metodología de recuento en placa (siembra en profundidad)

Los mohos y levaduras son microorganismos presentes en gran cantidad de ambientes; sin embargo, debido a que *Saccharomyces cerevisiae* es la levadura a partir de la cual se obtienen materias primas para distintos productos, debe haber un estricto control de otras especies salvajes

dentro la planta de la Compañía Nacional de Levaduras que pueden alterar su correcto desarrollo; es por esta razón que a continuación se detalla el análisis de este tipo de microorganismos:

Figura 13. Esquema metodológico de análisis microbiológico de mohos y levaduras realizado a distintas muestras en la Compañía Nacional de Levaduras.



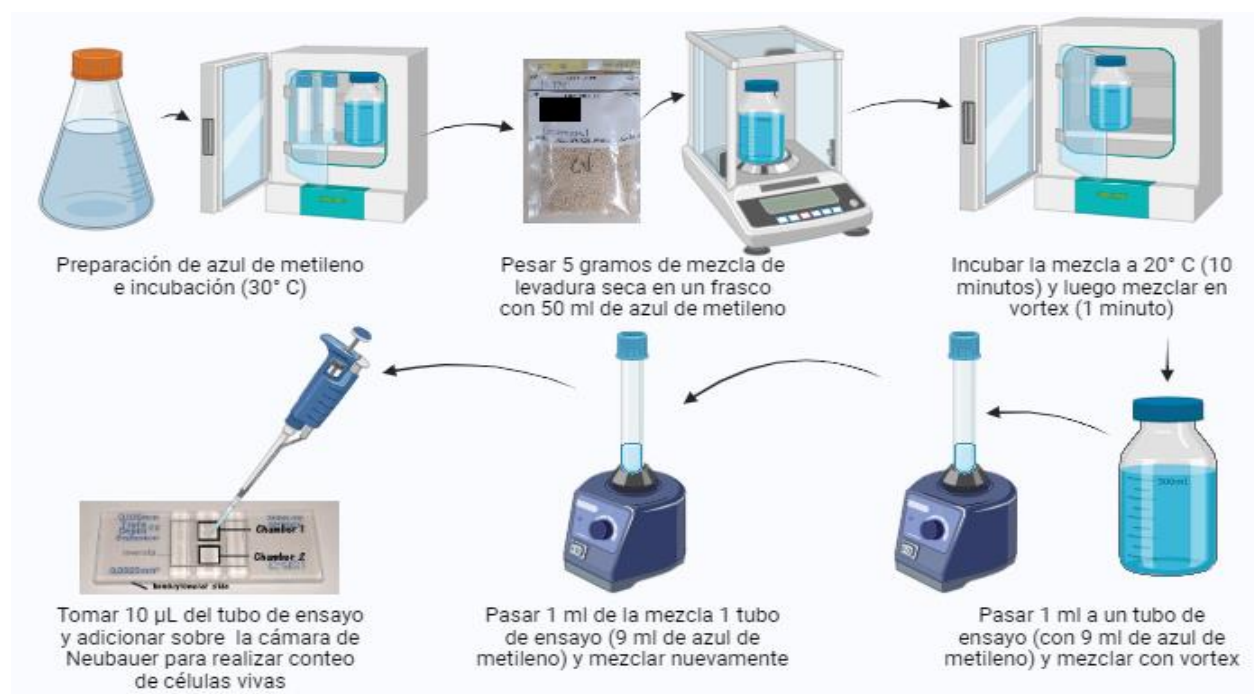
Fuente: Autor

- Se toman 30 gramos de la muestra inicial para realizar las diluciones 10^1 y 10^2 en agua peptonada estéril y 25 gramos de levadura seca cuando es producto terminado.
- Para la dilución 10^1 se toman 25 ml de muestra y se agregan a 225 ml de agua peptona estéril, la cual debe homogenizarse vigorosamente.
- Para la dilución 10^2 se toman 11 ml de la dilución 10^1 y se agregan en 99 ml de agua peptonada estéril y se homogeniza.
- Se toma 1 ml de la dilución 10^2 y se vierte sobre una caja de Petri para agregar agar PDA aditivado con 5 ml de actidione (0.1 %) y 5 ml ácido tartárico; se homogeniza y se deja solidificar el medio de cultivo.
- La caja de Petri se incuba a 30° C durante 72 horas para realizar el posterior conteo de colonias.

5.4.1.4. Recuento directo de células vivas en cámara de Neubauer

Debido a que la levadura seca ha sido sometida a procesos de liofilización es necesario asegurar la viabilidad celular del producto, por lo cual se somete a un análisis mediante recuento de células vivas en cámara de Neubauer y así asegurar la calidad de células de levadura vivas y funcionales en ésta. A continuación, se describe el procedimiento para realizar este análisis:

Figura 14. Esquema metodológico de recuento directo de células vivas realizado a muestras de levadura seca en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

- Se debe preparar el azul de metileno pesando 0,1 gramo de éste en 500 ml de agua destilada estéril.
- En otro frasco se pesan 13.56 gramos de potasio de hidrógeno y 0.032 gramos de hidrógeno fosfato disódico en 500 ml de agua destilada estéril.

- Se agitan ambas soluciones y se mezclan en un Erlenmeyer de 1000 ml, después se agregan 50 ml de la solución en frascos de vidrio estériles y 9 ml en tubos de ensayo estériles que se dejarán incubados (30° C) para su posterior uso en células vivas.
- Para hacer células vivas se deben pesar 5 gramos de la mezcla de levadura seca en un frasco en el cual se encuentra 50 ml de azul de metileno e incubar la solución a 30° C durante 10 minutos.
- Tomar el frasco con la solución y mezclar usando vórtex durante 1 minuto, pasar 1 ml a un tubo de ensayo (con 9 ml de azul de metileno) y mezclar con vórtex; del tubo de ensayo sacar nuevamente 1 ml y pasar a otro tubo de ensayo (9 ml) (este proceso disminuye la concentración de las células).
- Finalmente, se toman 10 µL del tubo de ensayo mezclado con vórtex (final) y agregar sobre la cámara de Neubauer (la muestra subirá por capilaridad); para realizar conteo de células vivas y muertas sobre microscopio en aumento de 100 X (Levapan, 2023).

5.4.2. Análisis microbiológico de beta-glucan de levadura

El procedimiento de análisis que se realiza en la planta #2 correspondiente a producción de proteínas, se lleva a cabo en las distintas etapas del proceso para elaboración de beta-glucan hasta el líquido final obtenido en el proceso que se convertirá en muestra sólida (Levapan, 2023).

Al igual que las muestras de levaduras, las muestras para análisis de calidad microbiológica de proteínas son obtenidas y transportadas por un operario del área hasta el laboratorio de microbiología y calidad de la Compañía Nacional de Levaduras (ubicado en la planta #1), y así realizar los respectivos análisis establecidos por las directrices del grupo Levapan S.A.; en la **tabla 5** se describen los análisis realizados en cada una de las etapas del proceso de elaboración:

Tabla 6. *Etapas y análisis microbiológicos realizados a las muestras correspondientes a la planta #2 (Planta de proteínas) de la Compañía Nacional de Levaduras.*

Muestra	Análisis	Medio de cultivo usado	Aditivos empleados en medios de cultivo	Dilución	Reporte
Líquido esterilizado	Aerobios mesófilos	Plate Count Agar	TTC (Cloruro de trifeniltetrazoilo)	$10^1 - 10^2$	UFC/ml
	Coliformes fecales y totales	Chromocult	No aplica	10^1	UFC/ml
	<i>Bacillus cereus</i>	Metodología TEMPO	Metodología TEMPO	Metodología TEMPO	Metodología TEMPO
	Esporas de <i>Clostridium</i> spp. sulfito reductor	SPS	No aplica	10^1	UFC/ml
Líquido final del proceso	Aerobios mesófilos	Plate Count Agar	TTC (Cloruro de trifeniltetrazoilo)	$10^1 - 10^2$	UFC/ml
	Coliformes fecales y totales	Chromocult	No aplica	10^1	UFC/ml

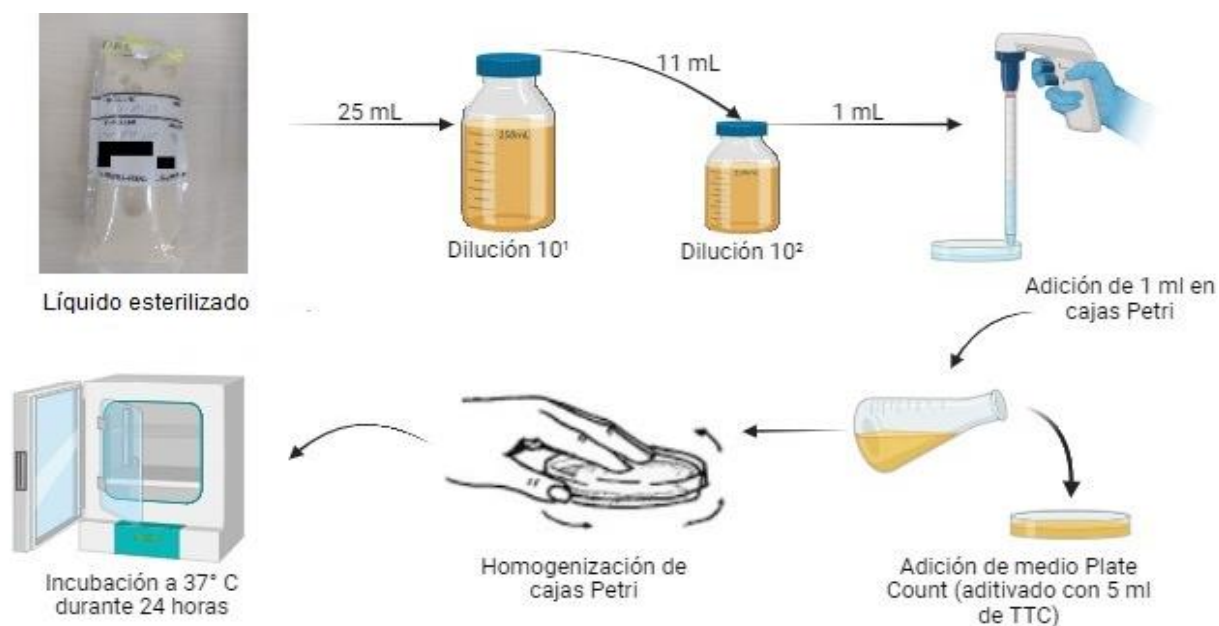
Fuente: Autor

5.4.2.1. Líquido esterilizado

5.4.2.1.1. Análisis de aerobios mesófilos mediante metodología de recuento Total de Bacterias RTB en placa (siembra en profundidad)

En el siguiente esquema se detalla el procedimiento para el análisis de bacterias aerobias mesófilas en la planta de proteínas de la Compañía Nacional de Levaduras:

Figura 15. *Esquema metodológico de análisis microbiológico de bacterias aerobias mesófilas realizado a líquido esterilizado de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.*



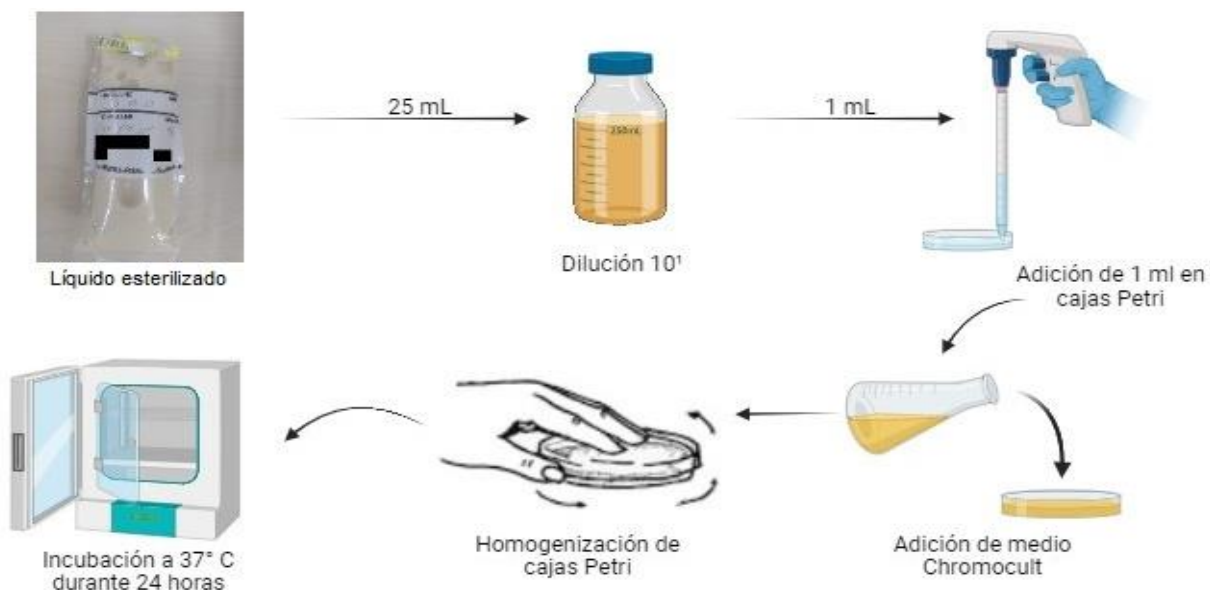
Fuente: Autor

- Se toman 25 ml de muestra y se agregan a 225 ml de agua peptona estéril, la cual debe homogenizarse vigorosamente.
- De la dilución 10¹ se toman 11 ml y se agregan en 99 ml de agua peptonada estéril y se homogeniza (dilución 10²).
- De cada dilución se toma 1 ml y se adiciona en cajas de Petri para seguidamente agregar medio Plate Count aditivado con 5 ml de TTC.
- Se homogeniza las muestras presentes en las cajas de Petri, se dejan solidificar y se incuban a 37° C durante 24 horas (Levapan, 2023).

5.4.2.1.2. Análisis de coliformes fecales y totales mediante metodología de recuento en placa (siembra en profundidad)

En el siguiente esquema se detalla el procedimiento para el análisis de bacterias coliformes fecales y totales en la planta de proteínas de la Compañía Nacional de Levaduras:

Figura 16. Esquema metodológico de análisis microbiológico de coliformes fecales y totales realizado a líquido esterilizado de beta-glucan de levadura en la Compañía Nacional de Levaduras.



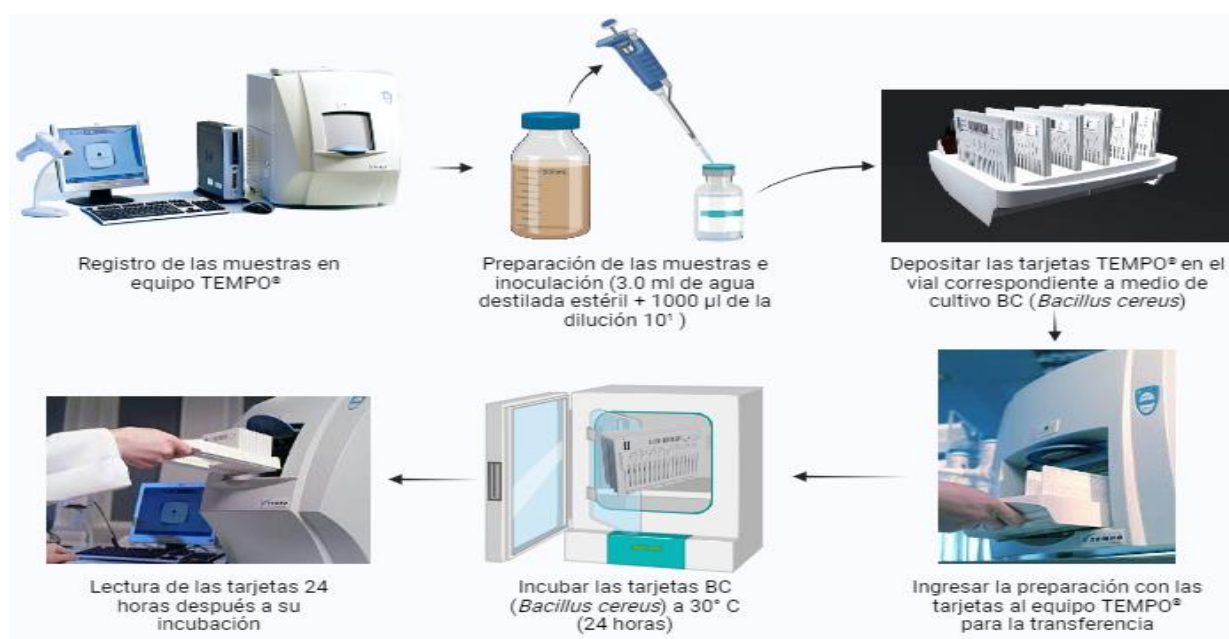
Fuente: Autor

- Se toman 25 ml de beta-glucan para realizar la dilución 10^1 en 225 ml de agua peptonada estéril.
- Se homogeniza, se toma 1 ml de cada una de estas y se procede a agregar en cajas de Petri (siembra en profundidad).
- Se agrega el medio de cultivo Chromocult a la caja de Petri y se homogeniza para distribuir de manera uniforme la muestra y así evitar que esta se compacte.
- Esta caja se incuba a 37°C durante 24 horas para realizar el conteo de colonias (Levapan, 2023).

5.4.2.1.3. Recuento de *Bacillus cereus* mediante uso de tecnología automatizada TEMPO

Debido a las características y ventajas que ofrece la automatización de los recuentos microbiológicos sobre las técnicas tradicionales, se usan estos análisis de los indicadores de calidad para distintos productos en una menor cantidad de tiempo y con efectividad mayor a la realizada por un analista humano (propenso a cometer ciertos errores relacionados a las características propias del ser humano); optimizando los resultados analizados que se ajustan con los parámetros establecidos con la política de calidad de la compañía. En el esquema a continuación, se profundiza dicho análisis por esta metodología automatizada:

Figura 17. Esquema metodológico de detección de *Bacillus cereus* (mediante tecnología automatizada TEMPO) realizado a líquido esterilizado de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.



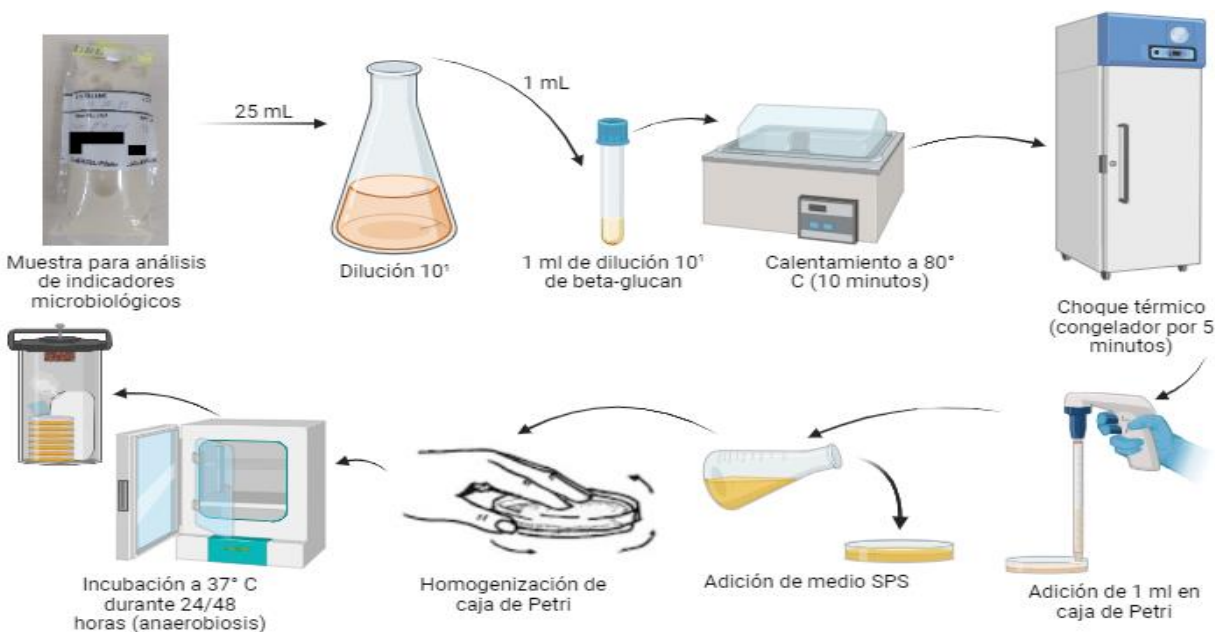
Fuente: Autor

Del frasco con la dilución 10^1 de muestra de beta-glucan disuelto, se toma una cantidad de muestra para realizar su análisis:

- Se registran las muestras en el equipo TEMPO[®], se agregan 4.0 ml de agua destilada estéril a cada vial con el medio de cultivo correspondiente a BC (*Bacillus cereus*) para su hidratación; cada vial inocula con 1000 µl de la dilución 10¹ que contiene la muestra de beta-glucan y se agita en vórtex para su correcta mezcla (proporción 1/40).
- Se deposita la tarjeta de lectura TEMPO[®] en el vial correspondiente a BC (*Bacillus cereus*), y se ingresa en la máquina para que esta realice la transferencia de la mezcla a cada tarjeta.
- Finalizada la transferencia, se procede a llevar la tarjeta de lectura TEMPO[®] a incubación a 30° C durante 24 horas para su posterior análisis y lectura según las directrices de la compañía en el equipo TEMPO Reader.

5.4.2.1.4. Análisis de esporas de *Clostridium* spp. sulfito reductor mediante metodología de recuento en placa (siembra en profundidad)

Figura 18. Esquema metodológico de análisis de esporas realizado a líquido esterilizado de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

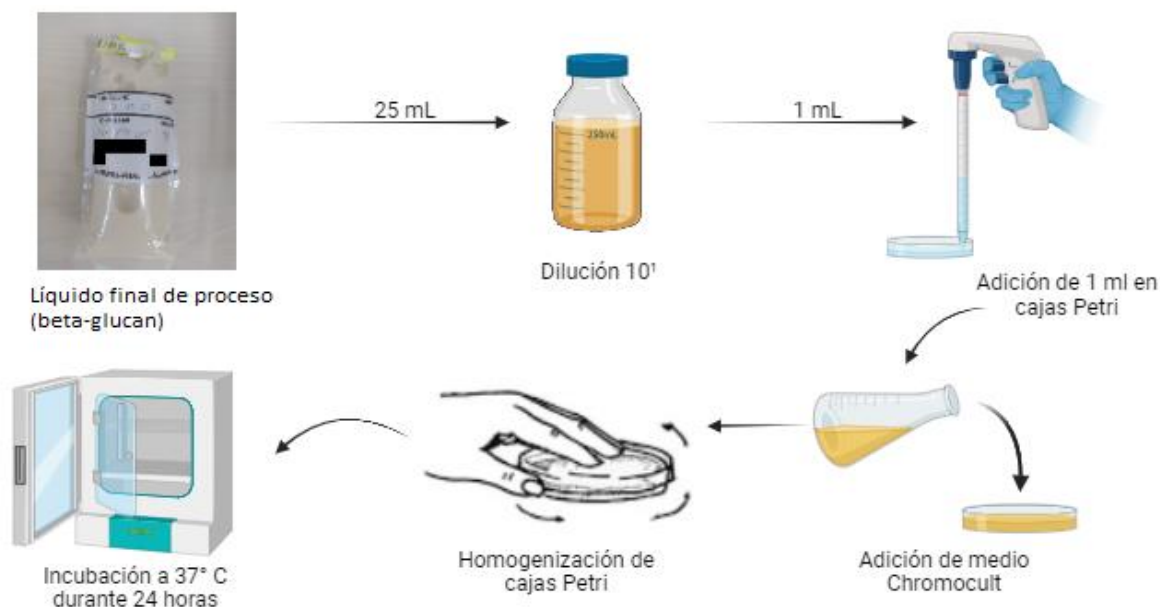
- Se toma 1 ml de la muestra inicial donde se encuentra la muestra de beta-glucan mezclada y se añade a un tubo de ensayo estéril.
- Este tubo de ensayo se lleva a un calentamiento de 80 °C en baño serológico durante 10 minutos, para luego disminuir abruptamente su temperatura (inferior a 0° C-choque térmico) en el congelador durante 5 minutos.
- El ml del tubo de ensayo se agrega a una caja de Petri para adicionar seguidamente medio SPS, se agita vigorosamente (evitar compactación de la muestra); se deja solidificar y se incuba en caja de anaerobiosis a 37° C durante 24/48 horas para posterior realizar el recuento de colonias de la caja según las especificaciones de la compañía (Levapan , 2023).

5.4.2.2. Líquido final del proceso

5.4.2.2.1. Análisis de aerobios mesófilos mediante metodología de recuento Total de Bacterias RTB en placa (siembra en profundidad)

En el siguiente esquema se detalla el procedimiento para el recuento de bacterias mesófilas en el líquido final usado para la producción de beta-glucan:

Figura 19. *Esquema metodológico de análisis microbiológico de bacterias aerobias mesófilas realizado a líquido final de proceso de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.*

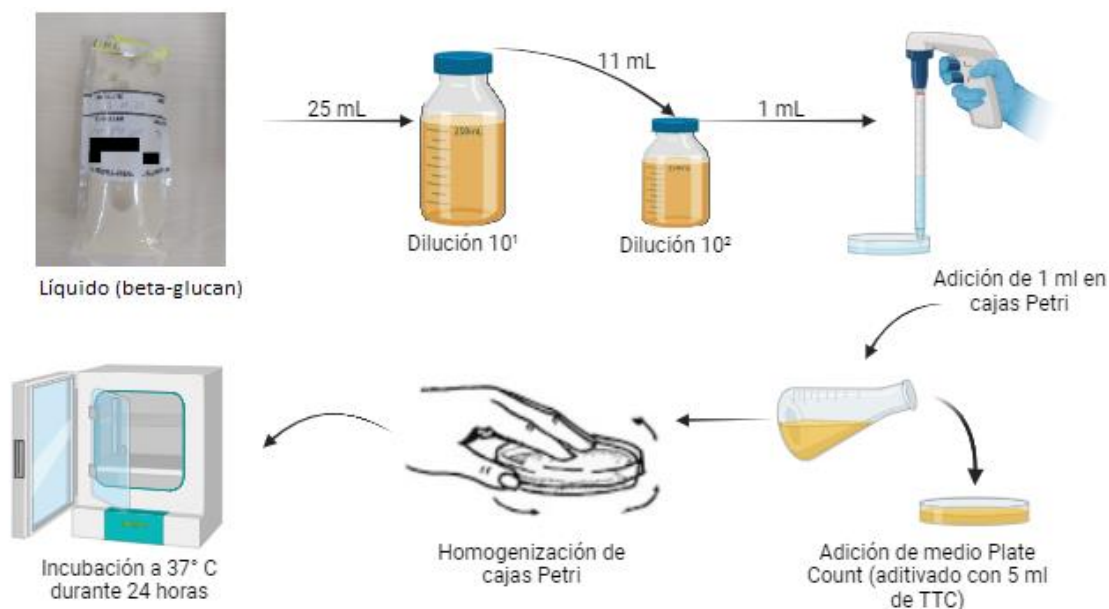


Fuente: Autor

- Se toman 25 ml de muestra y se agregan a 225 ml de agua peptona estéril (agitar fuertemente la mezcla) (dilución 10^1).
- De la dilución 10^1 se toman 11 ml y se agregan en 99 ml de agua peptonada estéril y se homogeniza (dilución 10^2).
- De cada dilución se toma 1 ml y se adiciona en cajas de Petri para seguidamente agregar medio Plate Count aditivado con 5 ml de TTC.
- Se homogeniza las muestras presentes en las cajas de Petri, se dejan solidificar y se incuban a 37° C durante 24 horas (Levapan, 2023).

5.4.2.2.2. Análisis de coliformes fecales y totales mediante metodología de recuento en placa (siembra en profundidad)

Figura 20. Esquema metodológico de análisis microbiológico de coliformes fecales y totales realizado a líquido final de proceso de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

- Se toman 25 ml de beta-glucan para realizar la dilución 10¹ en 225 ml de agua peptonada estéril.
- Se homogeniza, se toma 1 ml de la dilución y se procede a agregar en una caja de Petri (siembra en profundidad).
- Se agrega el medio de cultivo Chromocult a la caja de Petri y se homogeniza para distribuir de manera uniforme la muestra y así evitar que esta se compacte.
- La caja de Petri se incuba a 37° C durante 24 horas para realizar su posterior lectura y conteo de colonias (Levapan, 2023).

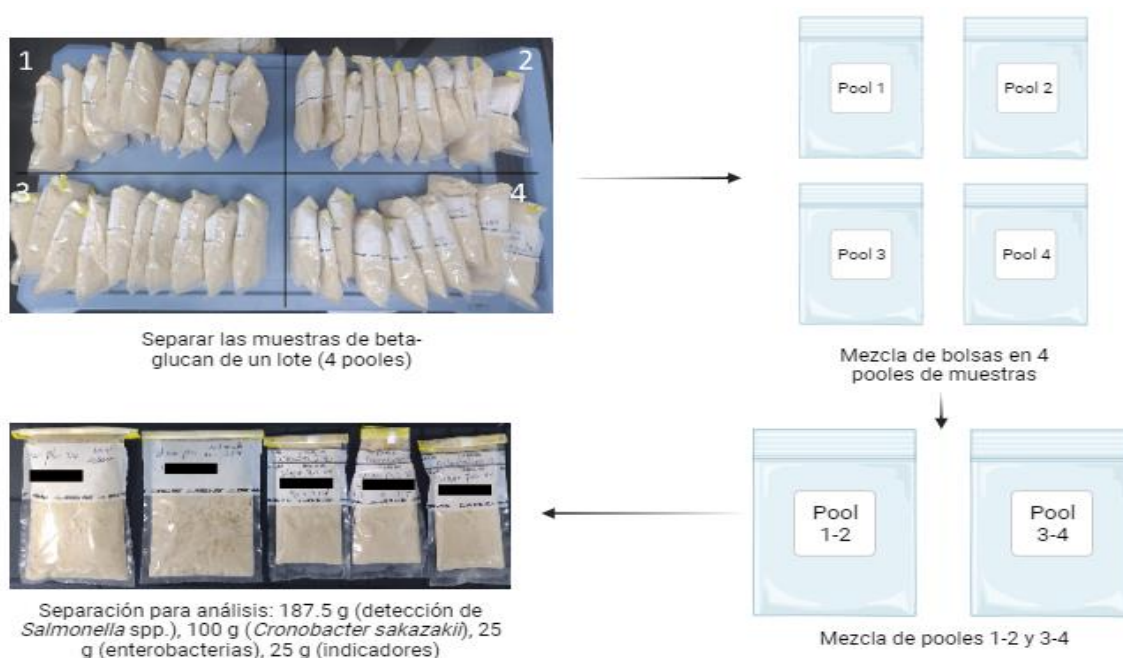
5.4.2.3. Producto seco (extracto de beta-glucan de levadura)

Beta-glucan de levadura hace parte de los productos pertenecientes a la línea Biolev (Bioactivos de levadura) de la Compañía Nacional de Levaduras; por lo cual se extrae de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* y se concentra mediante el diseño y la implementación de específicos procesos biotecnológicos que permiten hacer de este producto uno de los más valiosos

desarrollados fabricados por el grupo Levapan S.A.; es por este motivo que se deben realizar una serie de análisis que permitan garantizar la calidad microbiológica, fisicoquímica, nutricional, entre otras; debido a su uso como materia prima en distintos alimentos que presentan características específicas (Levapan, 2023).

A continuación, se describen los análisis realizados a este producto en específico:

Figura 21. Esquema metodológico pesado y separación de muestras de beta-glucan para posteriores análisis realizados en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

- Se pesan las muestras de beta-glucan, de manera que se separe el producto en 4 *pools* (mezcla de muestras de un mismo lote en una sola muestra) que contengan 9 o 10 bolsas con muestras en cada pool (alrededor de 40 bolsas por lote).
- Cada uno de los cuatro pools de muestras, contendrá 50 gramos de cada bolsa de muestra (aproximadamente entre 400 a 500 gramos será el peso de cada *pool*); de esas 4 mezclas

(*pooles*) se homogenizaron la mezcla 1 con la 2 (*pool* 1 y 2) y la mezcla 3 con la 4 (*pool* 3 y 4), para así poder tener 2 bolsas finales (de 25 gramos cada una) con una cantidad representativa de la totalidad de las muestras (12.5 gramos de *pool* 1-2 y 12.5 gramos de *pool* 3-4) para realizar los respectivos análisis al producto.

- De cada *pool* se sacan 187.5 gramos (46,875 gramos de cada *pool*), 100 gramos (25 gramos de cada *pool*), 25 gramos (6.25 gramos de cada *pool*) y 6.25 gramos en bolsas de muestreo estériles para los análisis de detección de *Salmonella* spp., *Cronobacter sakazakii*, enterobacterias, indicadores microbiológicos, entre otros (Levapan, 2023).
- Debido a las características de este producto seco (beta-glucan); se le realizaron los análisis microbiológicos que se resumen a continuación en la **tabla 7**:

Tabla 7. Análisis microbiológicos realizados a las muestras de producto seco de beta-glucan (Planta de proteínas) de la Compañía Nacional de Levaduras.

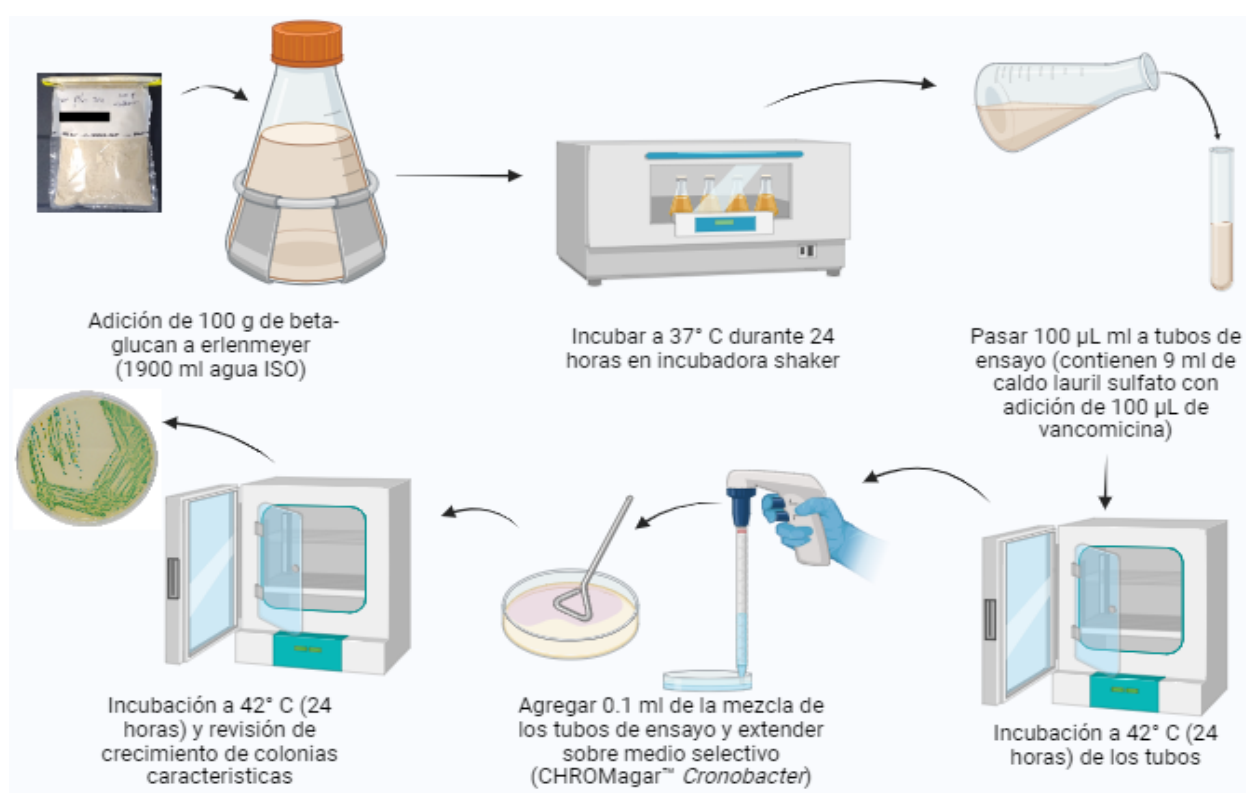
Muestra	Análisis	Medio de cultivo usado	Aditivos empleados en medios de cultivo	Metodología	Reporte
Producto seco	<i>Cronobacter sakazakii</i>	CHROMagar™ <i>Cronobacter</i>	No aplica	Recuento en placa	UFC/ml
	<i>Salmonella</i> spp.	No aplica	No aplica	Detección automatizada Mini-vidas	Detección automatizada Mini-vidas
	Enterobacterias	VRBG	No aplica	Recuento en placa	UFC/ml
	Recuento automatizado de indicadores de calidad (FA, SA, BC, EC, EB, TC)	No aplica	No aplica	Metodología TEMPO	Metodología TEMPO
	Esporas de <i>Clostridium</i> spp. sulfito reductor	SPS	No aplica	Recuento en placa	UFC/ml

	Mohos y levaduras	PDA	Ácido tartárico	Recuento en placa	UFC/ml
--	-------------------	-----	-----------------	-------------------	--------

Fuente: Autor

5.4.2.3.1. Análisis y detección de *Cronobacter sakazakii* mediante metodología de recuento en placa (siembra en superficie)

Figura 22. Esquema metodológico de análisis y detección de *Cronobacter sakazakii* realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.



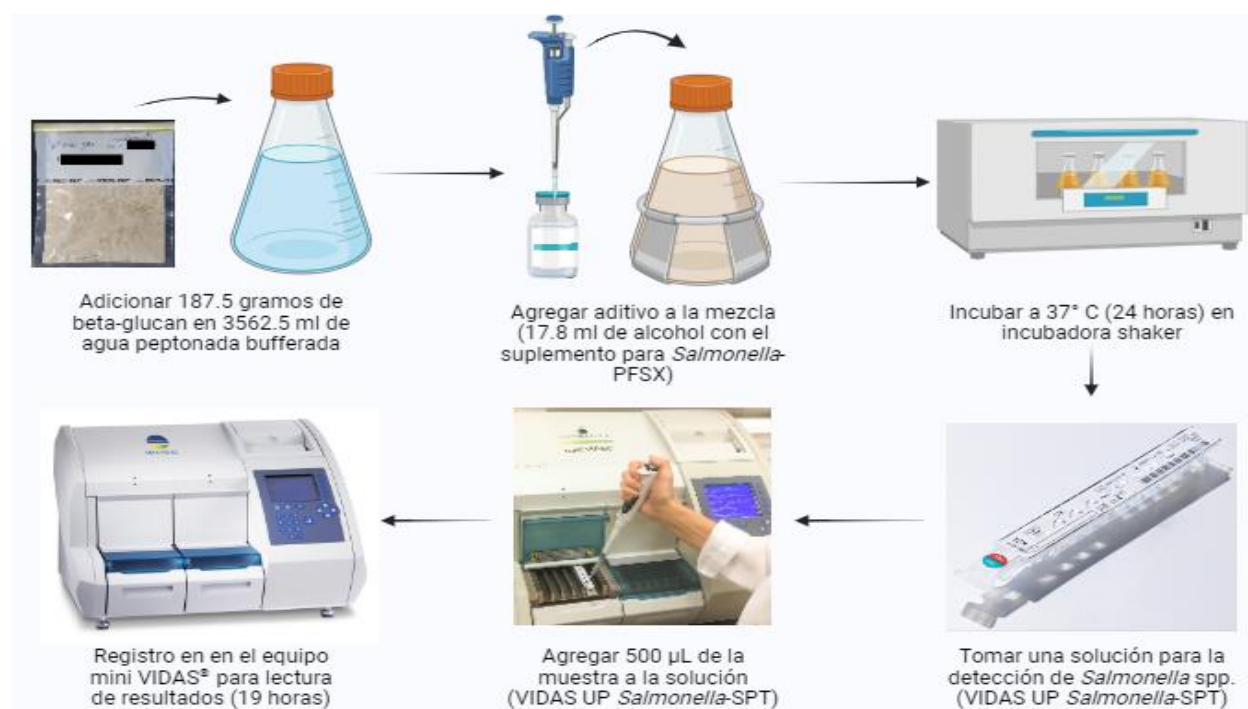
Fuente: Autor

- Después de haber pesado el producto; se adicionan 100 gramos de beta-glucan en un erlenmeyer con 1900 ml de agua ISO (peptonada bufferada) para dejar incubando a 37° C por 24 horas en incubadora con agitación (se debe hacer una solución blanco e incubar a 37°C durante 24 horas) (190 ml de agua ISO para solución blanco e incubar igualmente).

- Pasar 100 μ L de la mezcla y solución blanco a tubos de ensayo con 9 ml de caldo lauril sulfato (previamente preparados con adición de 100 μ L de vancomicina) cada uno, para incubar a 42° C durante 24 horas.
- Extender con asa de Drigalsky 100 μ L (0.1 ml) de la mezcla de los tubos de ensayo a dos cajas de Petri con agar selectivo (siembra en superficie por duplicado) para aislamiento y crecimiento de *Cronobacter sakazakii* (CHROMagar™ *Cronobacter*).
- Finalmente se incuban a 42° C durante 24 horas y se realiza posterior revisión de crecimiento de colonias características de *Cronobacter sakazakii*.

5.4.2.3.2. Detección de *Salmonella* spp. usando sistema automatizado de detección de patógenos alimentarios Mini VIDAS®

Figura 23. Esquema metodológico de detección de *Salmonella* spp. (usando sistema automatizado). realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.

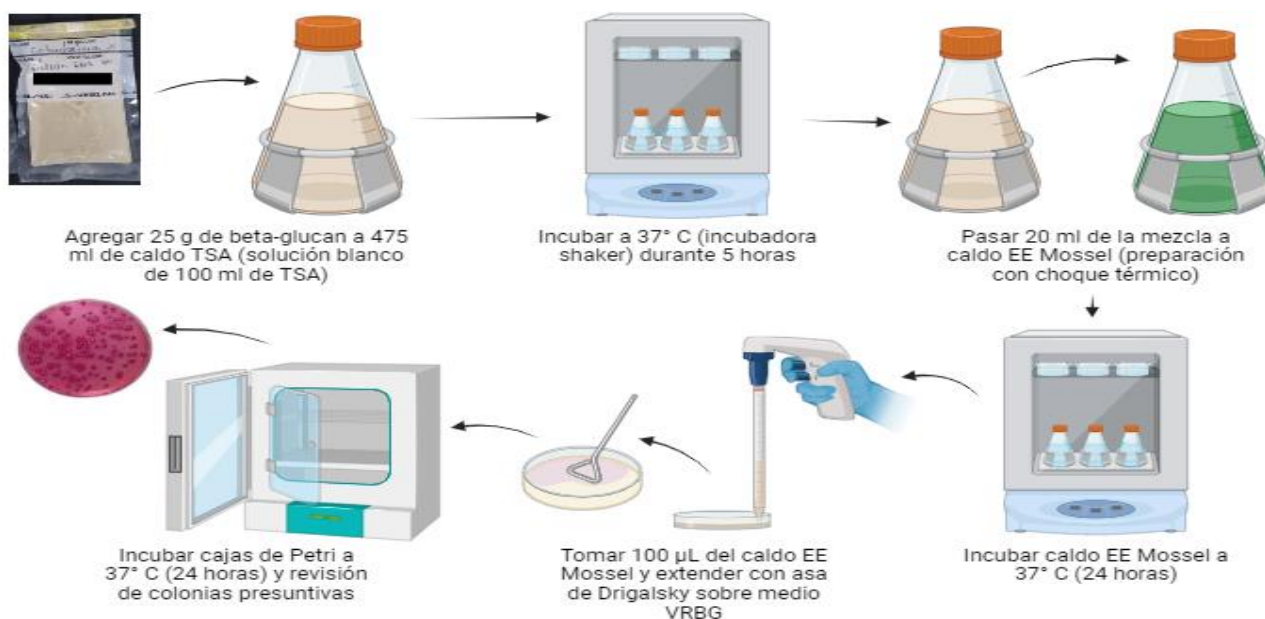


Fuente: Autor

- De cada uno de las 4 mezclas (*pooles* de muestra), se deben pesar 46.87.5 gramos (debido a su consistencia pastosa única) para dar un total de 187.5 gramos total de muestra para el análisis.
- En un erlenmeyer de 5000 ml, se adicionan los 187.5 gramos de muestra de las 4 mezclas (*pooles*) en 3562.5 ml de agua ISO (peptonada bufferada) y se adiciona la mezcla de aditivo (17.8 ml de alcohol con el suplemento para *Salmonella*-PFSX).
- Cada erlenmeyer se incuba a 37° C durante 24 horas en agitación para su posterior análisis mediante el uso del sistema automatizado de detección de patógenos alimentarios Mini VIDAS®.
- Se toma una solución para la detección de *Salmonella* spp. (VIDAS UP *Salmonella*-SPT), en la cual se le adicionan 500 µL de la muestra, se registra en el equipo mini VIDAS® para el análisis automático posterior a 19 horas (Levapan, 2023).

5.4.2.3.3. Análisis de enterobacterias mediante metodología de recuento en placa (siembra en profundidad)

Figura 24. Esquema metodológico de análisis de enterobacterias realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.



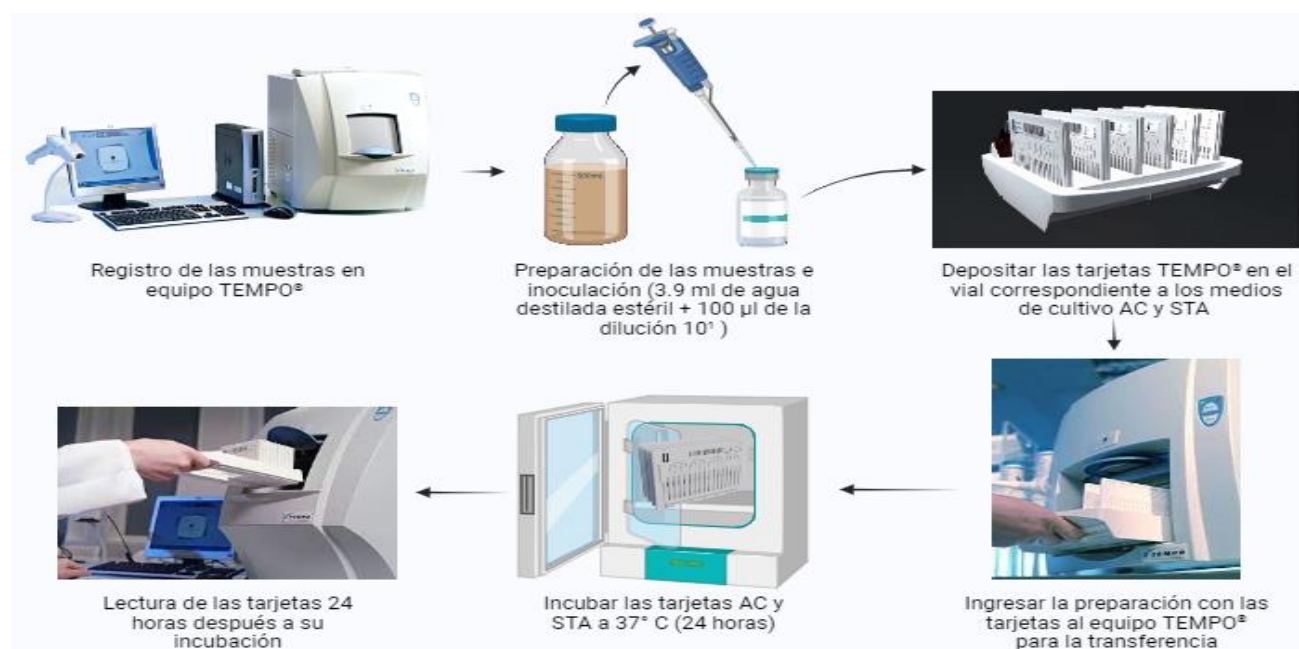
Fuente: Autor

- A partir de los 4 *pooles* de muestras pesadas con anterioridad, se toman 25 gramos (6.25 g de cada *pool*); se adicionan a 475 ml de caldo TSA (tripticasa de soya) (la solución blanco es de 100 ml de caldo TSA).
- La mezcla se incuba a 37° C (en incubadora con agitación) durante 5 horas y se pasa de la muestra en caldo TSA, 20 ml a caldo EE (caldo de enriquecimiento de bacterias o caldo EE Mossel (previamente preparado con choque térmico, y el mismo procedimiento se repite con la muestra de la solución blanco).
- La muestra en caldo EE y la solución blanco en caldo E, se incuban a 37° C durante 24 horas, para después de transcurrido el tiempo de incubación tomar 100 µL del caldo para adicionar y extender (con asa de Drigalsky) sobre 2 cajas de medio VRBG (siembra en superficie por duplicado).
- Se incuban las cajas de Petri de medio VRBG a 37° C durante 24 horas y se realiza el conteo y lectura de colonias presuntivas para enterobacterias.

5.4.2.3.4. Recuento automatizado de indicadores de calidad a producto seco de beta-glucan, mediante tecnología automatizada TEMPO

-Recuento Total de Bacterias RTB (aerobias mesófilas totales) y *Staphylococcus aureus* (STA) por tecnología automatizada TEMPO

Figura 25. Esquema metodológico de recuento de bacterias aerobias mesófilas y *Staphylococcus aureus* (mediante tecnología automatizada TEMPO) realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

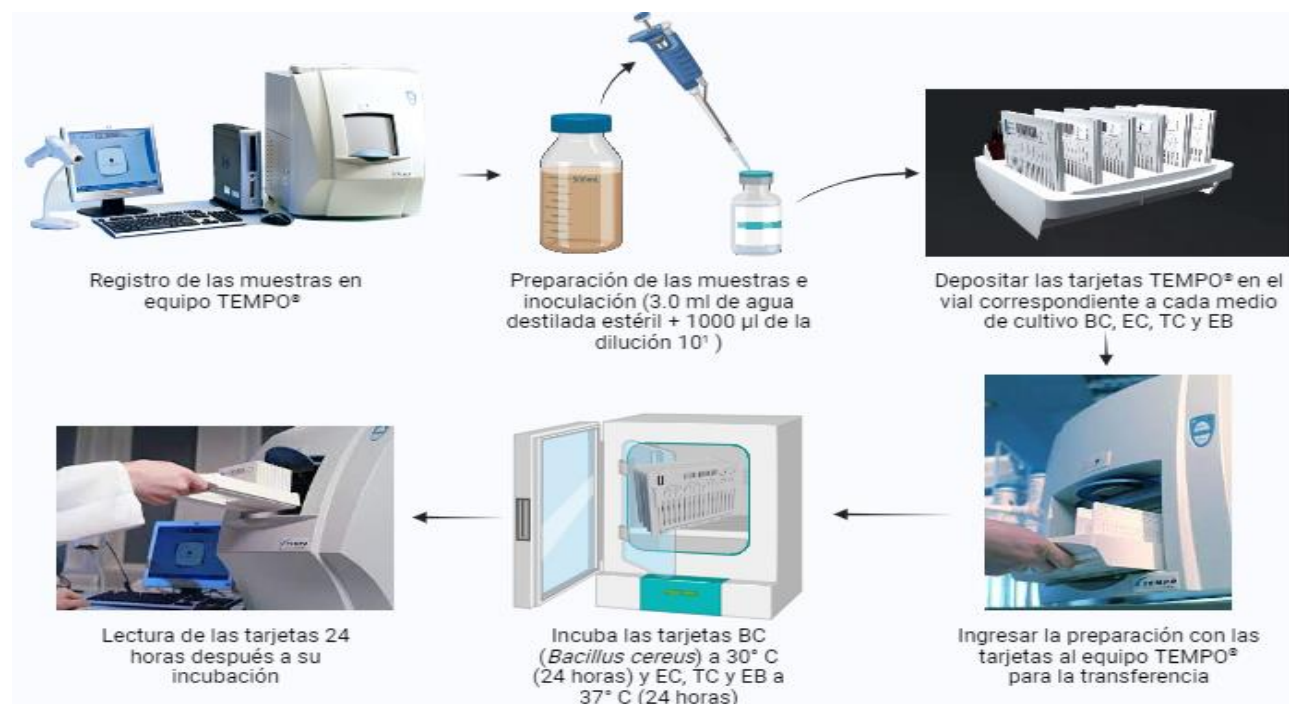
- De la muestra se toman 12.5 gramos de la mezcla #1 (*pool 1*) y 12.5 gramos de la mezcla #2 (*pool 2*) para su homogenización (se repite el mismo procedimiento para el *pool 3* y 4), para lograr la obtención de 2 bolsas de 25 gramos que se adicionan en un erlenmeyer con 475 ml de agua peptonada estéril (dilución 10^1).

- Se agitan vigorosamente el erlenmeyer para disolver completamente la muestra y a partir de este, analizar los respectivos indicadores microbiológicos de calidad mediante tecnología automatizada TEMPO.
- Se registran las muestras en el equipo TEMPO[®], se agregan 3.9 ml de agua destilada estéril a un vial con el medio de cultivo AC (Flora mesófila aerobia total) y STA (*Staphylococcus aureus*) para su hidratación; a cada vial se le adicionan 100 µl de la dilución 10¹ que contiene la muestra de glucan y se agitan en vórtex para su correcta mezcla (proporción 1/400).
- Se deposita la tarjeta de lectura TEMPO[®] en el medio de cultivo correspondiente a AC (Flora mesófila aerobia total) y STA (*Staphylococcus aureus*) y se proceden a ingresar en la máquina para que esta realice la transferencia de la solución en cada tarjeta.
- Finalizada la transferencia, se procede a llevar la tarjeta de lectura TEMPO[®] a incubación a 37° C durante 24 horas para su posterior análisis y lectura según las directrices de la compañía en el equipo TEMPO Reader.

-Recuento y detección de *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, Coliformes totales y Enterobacterias por tecnología automatizada TEMPO

Al igual que el recuento automatizado para AC (Flora mesófila aerobia total), se sigue la misma metodología sólo con la variación del uso de viales específicos para el recuento de *Bacillus cereus* (BC), *Escherichia coli* (EC), Coliformes totales (TC) y Enterobacterias (EB); como se observa a continuación:

Figura 26. Esquema metodológico de detección de *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, Coliformes totales y *Enterobacterias* (mediante tecnología automatizada TEMPO) realizado producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

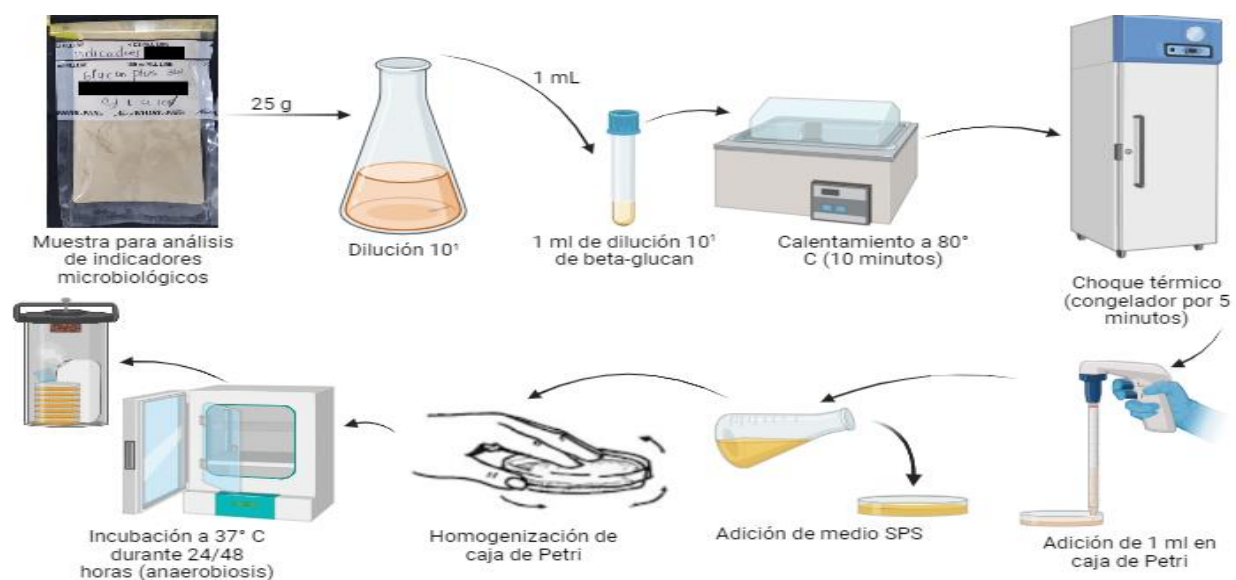
Del erlenmeyer con las respectivas mezclas de muestras de beta glucan disueltas, se toma una cantidad de muestra para realizar su análisis:

- Se registran las muestras en el equipo TEMPO®, se agregan 4.0 ml de agua destilada estéril a cada vial con el medio de cultivo correspondiente a BC (*Bacillus cereus*), EC (*Escherichia coli*), TC (Coliformes totales) y EB (*Enterobacterias*) para su hidratación; a cada vial se le adicionan 1000 µl de la dilución 10¹ que contiene la muestra de glucan y se agita en vórtex para su correcta mezcla (proporción 1/40).

- Se deposita la tarjeta de lectura TEMPO® en el medio de cultivo correspondiente a BC (*Bacillus cereus*), EC (*Escherichia coli*), TC (Coliformes totales) y EB (Enterobacterias); y se ingresa en la máquina para que esta realice la transferencia de la solución a cada tarjeta.
- Finalizada la transferencia, se procede a llevar la tarjeta de lectura TEMPO® a incubación a 30° C durante 24 horas correspondiente a BC y a 37° C durante 24 horas las tarjetas de EC, TC y EB para su posterior análisis y lectura según las directrices de la compañía en el equipo TEMPO Reader.

5.4.2.3.5. Análisis de esporas de *Clostridium* spp. sulfito reductor mediante metodología de recuento en placa (siembra en profundidad)

Figura 27. Esquema metodológico de análisis de esporas realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

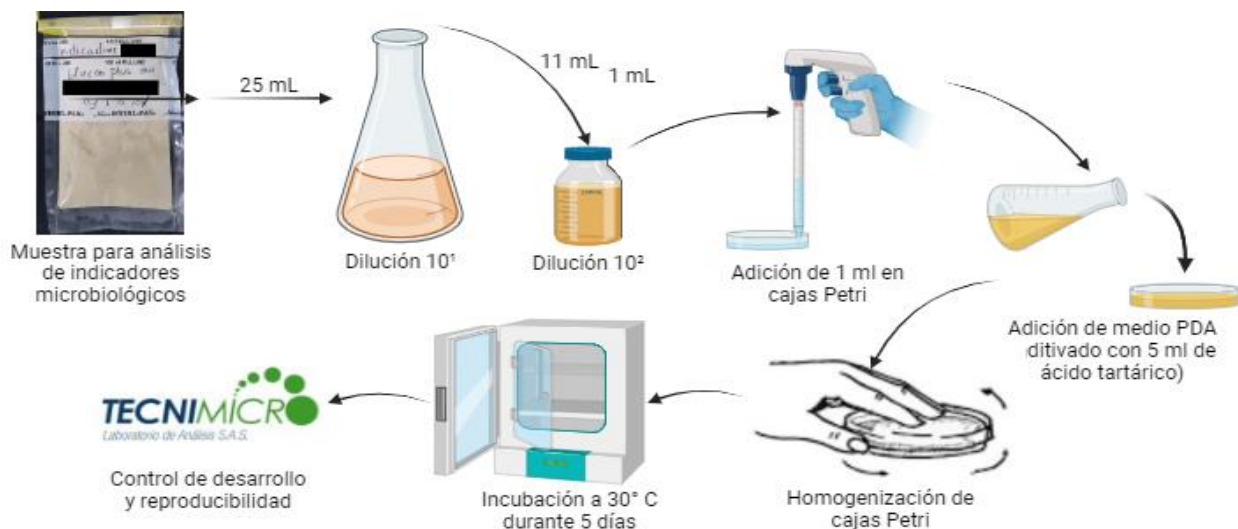
Se toma 1 ml de la muestra inicial donde se encuentra la muestra de beta-glucan mezclada y se añade a un tubo de ensayo estéril.

- Este tubo de ensayo se lleva a un calentamiento de 80 °C en baño serológico durante 10 minutos, para luego disminuir abruptamente su temperatura (inferior a 0° C) en el congelador durante 5 minutos.
- Ese ml del tubo de ensayo se agrega a una caja de Petri para adicionar seguidamente medio SPS, se agita vigorosamente para que no exista compactación de la muestra; se deja solidificar y se incuba en caja de anaerobiosis a 37° C durante 24/48 horas para posterior realizar el recuento de colonias de la caja según las especificaciones de la compañía (Levapan , 2023).

5.4.2.3.6. Análisis de mohos y levaduras mediante metodología de recuento en placa (siembra en profundidad)

El análisis de mohos y levaduras realizado a las muestras de producto seco de beta-glucan es similar al realizado a las muestras de levadura seca activa; sin embargo, se presentan ligeros cambios en los aditivos añadidos al medio de cultivo y los tiempos de incubación que se deben tener en cuenta al momento de su análisis (tal como se aprecia en seguida):

Figura 28. Esquema metodológico de análisis de mohos y levaduras realizado a producto seco de beta-glucan en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

- Del erlenmeyer con las respectivas mezclas de muestras de beta-glucan disuelto, se toma una cantidad de muestra para realizar la dilución 10^2 en agua peptonada estéril.
- De esta dilución (10^2) se toma 1 ml y se vierte sobre 2 cajas de Petri para agregar agar PDA aditivado con 5 ml ácido tartárico (PTar); se homogeniza y se deja solidificar el medio de cultivo.
- Las cajas de Petri se incuban invertidas a 30° C durante 5 días para realizar el posterior conteo de colonias.
- Se realiza control de desarrollo y reproducibilidad al medio PDA aditivado con ácido tartárico (PTar); mediante el envío a un laboratorio externo de 8 cajas con este medio (envueltas con papel parafilm) y corroborar las especificaciones y características que debe presentar el medio.

6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	Mes															
	Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre			
	Semana															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Actividades																
Inducción y capacitación																
Instrucción en toma de muestras (etapas de producción y ambientales)																
Instrucción del procesamiento de las muestras																
Análisis de pH a medios de cultivo																
Toma de muestras de manipuladores y superficies																
Toma de muestra de ambientes																
Procesamiento de muestras																
Verificación de resultados																
Análisis de muestras de materias primas y producto terminado																
Análisis de resultados																

 Instrucción y acompañamiento en el proceso

 Acompañamiento y supervisión en el proceso

 Trabajo independiente

Hongos y levaduras		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
--------------------	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Fuente: Autor

Nota. Las materias primas empleadas para la elaboración de cualquier producto (agua y mieles), son analizadas regularmente una vez por semana en el laboratorio de calidad y microbiología de la compañía.

Es de suma importancia que las mieles (melazas de caña) y aguas utilizadas para el proceso de elaboración de los productos de la Compañía Nacional de Levaduras, presenten la más alta calidad y cumplan con los requisitos necesarios para hacer uso de estos. Como se observa en la **tabla 8**, ambas materias primas cumplen con la calidad microbiológica al no existir presencia de microorganismos indicadores que puedan deteriorar o causar alteraciones que se evidencien en las futuras etapas en los procesos de elaboración. Si las mieles incumplen los requisitos mínimos necesarios para su aceptación en la planta; se dispone su devolución a los proveedores para que estos realicen las respectivas medidas correctivas que permiten la disminución de la carga microbiana presente en la materia prima, y así poder asegurar la calidad inicial del proceso de elaboración y prevenir complicaciones relacionadas a la no eliminación de microorganismos o sustancias contaminantes (sólidos totales, material articulado, néctar, sustancias adulterantes, entre otros) que inciden sobre los demás procesos que se derivan de este momento inicial.

El agua usada en las diferentes líneas de los procesos de elaboración, se analiza según son los estándares establecidos en la normatividad colombiana (Resolución 2115 de 2007) para dar cumplimiento a los valores necesarios para ser usada en los procesos de elaboración de alimentos. Con respecto al análisis de microorganismos (aerobios mesófilos, coliformes fecales y totales y hongos y levaduras), no se evidenció presencia; esto debido a que la compañía cuenta con una PTAP (Planta de Tratamiento de Agua Potable) y PTAR (Planta de Tratamiento de Aguas

Hongos y levaduras	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16
Muestras semanales	9	6	9	6	9	6	9	6	9	6	9	6	9	6	9	120

Fuente: Autor

Nota. En la **tabla 9**, se pueden observar los datos correspondientes a los análisis realizados a los ambientes en la planta de levadura seca y beta-glucan de la Compañía Nacional de Levaduras durante 16 semanas.

Los análisis realizados a los ambientes de la empresa, cumplieron en su totalidad con los límites de aceptabilidad, presentando instalaciones óptimas, estériles, limpias y herméticas; que sumado a las correctas medidas de limpieza y sanitización ejecutadas en las áreas de contacto con el producto, permiten el correcto desarrollo de los procesos de elaboración de los mismos sin ningún tipo de riesgo de contaminación externa.

7.5.2. Análisis microbiológico de superficies y utensilios

Las superficies y utensilios usados en la industria alimentaria, deben presentar ciertas características (ser de materiales fáciles de limpiar y esterilizar, ser resistentes al contacto con sustancias químicas, entre otras.) ideales para su correcto uso y asegurar en todo momento la calidad del producto, permitiendo su fácil limpieza y desinfección; así como el hecho de evitar la acumulación de biofilms, esporas, toxinas u otras sustancias que puedan comprometer la estabilidad y vida útil del producto (representado un peligro para la salud). En la **tabla 10** se presentan los resultados de los análisis realizados a las superficies determinantes durante el proceso de elaboración.

Tabla 10. Resultados microbiológicos de los análisis realizados a las superficies que se encuentran en contacto con el producto terminado en las plantas de producción de la compañía.

Superficies planta de levadura seca																	
Análisis	UFC																Muestras analizadas
	Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				
Aerobios mesófilos	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	48
Coliformes totales	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	48
Hongos y levaduras	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	48
Muestras semanales	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	144
Superficies planta de proteínas																	
Análisis	UFC																Muestras analizadas
	Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				
Aerobios mesófilos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	116
Enterobacterias	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	116
Hongos y levaduras	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	116
Muestras semanales	8	6	8	7	8	6	8	7	8	6	8	7	8	6	8	7	348

Fuente: Autor

Nota. En la **tabla 10**, se pueden observar los datos correspondientes a los análisis realizados a los ambientes en la planta de levadura seca y beta-glucan de la Compañía Nacional de Levaduras durante 16 semanas.

Las superficies (mesas, palas de pesaje, balanzas, puertas, ventanas, paredes, entre otros), cumplieron con los requisitos establecidos por la compañía para su uso en los procesos de elaboración. Las tareas de limpieza y desinfección de este tipo de utensilios, instrumentos e infraestructura establecidos en el POES (Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento) de la empresa, son un indicador de la rigurosidad y efectividad de los desinfectantes usados para asegurar el cumplimiento de los límites aceptables establecidos al interior de la empresa; es por este motivo que la cantidad de indicadores de contaminación aislados de las

Coliformes fecales	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	160
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	2	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	160
Muestras semanales	11	9	11	9	11	9	11	9	11	9	11	9	11	9	11	9	480

Fuente: Autor

Nota. En la **tabla 11**, se pueden observar los datos correspondientes a los análisis realizados a los manipuladores en la planta de levadura seca y beta-glucan de la Compañía Nacional de Levaduras durante 16 semanas.

Los análisis realizados a los distintos empleados en las áreas de producción, mostró conformidad con respecto a los requisitos exigidos por la empresa sobre la valoración y presencia de la carga microbiana presente en las manos de los manipuladores (operarios) durante el tiempo en contacto con el producto; indicando correctas prácticas de manufactura (riguroso y constante lavado de manos, uso de cofias, guantes y gafas; y uso de desinfectante ocasionalmente en el área de trabajo de cada operario), disminuyendo así los riesgos de contaminación y asegurando correctos procesos de manufactura en el interior de las áreas productivas de la compañía.

Conforme a lo establecido en la normativa interna de la empresa, es necesario realizar medidas correctivas que logren la destrucción de microorganismos en las diferentes áreas del proceso productivo, disminuyendo y controlando las etapas productivas conforme a los rangos de aceptación seguidos para cumplir con las especificaciones de cada producto. Los distintos análisis realizados durante el tiempo del seguimiento en el interior de las instalaciones de la compañía, mostró el cumplimiento efectivo de las medidas establecidas para proporcionar productos de altos estándares de calidad, corrigiendo de este modo de manera inmediata posibles focos de contaminación y haciendo uso de medidas preventivas que aseguran la inocuidad y correcta

estandarización de metodologías en los procesos (limpieza, desinfección, sanitización, manipulación, muestreo, empaçado, distribución, entre otros); ejecutados al interior de la empresa.

7.6. Control microbiológico de producto terminado (levadura seca activa y beta-glucan de levadura)

Las muestras analizadas durante la realización de los análisis microbiológicos en los procesos de fabricación fueron de 1510 correspondientes a levadura seca y 952 de beta-glucan de levadura (para un total de 2462 muestras analizadas) referentes a las distintas etapas de los procesos de elaboración (recepción de materias primas, líquido esterilizado, líquido rico, producto terminado, entre otras) a las cuales se les realizó los respectivos análisis microbiológicos establecidos por la compañía para la determinación de su calidad (recuento de aerobios mesófilos, recuento de coliformes fecales y totales, recuento de hongos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, detección de patógenos como: *Salmonella* spp. *Listeria monocytogenes*, *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus cereus*).

La presencia de microorganismos indicadores en los productos analizados (levadura seca y beta-glucan), son indispensables para determinar su papel y relación directa sobre la alteración y disminución de las características fisicoquímicas necesarias para la obtención de rendimientos ideales establecidos por la Compañía Nacional de Levaduras; logrando de este modo lograr niveles de producción estable que no impliquen pérdidas para la empresa y ajustándose según los requisitos establecidos por el gobierno nacional (con respecto al deterioro y riesgos relacionados a la presencia de microorganismos que repercuten sobre la calidad microbiológica de los productos destinados al consumo humano).

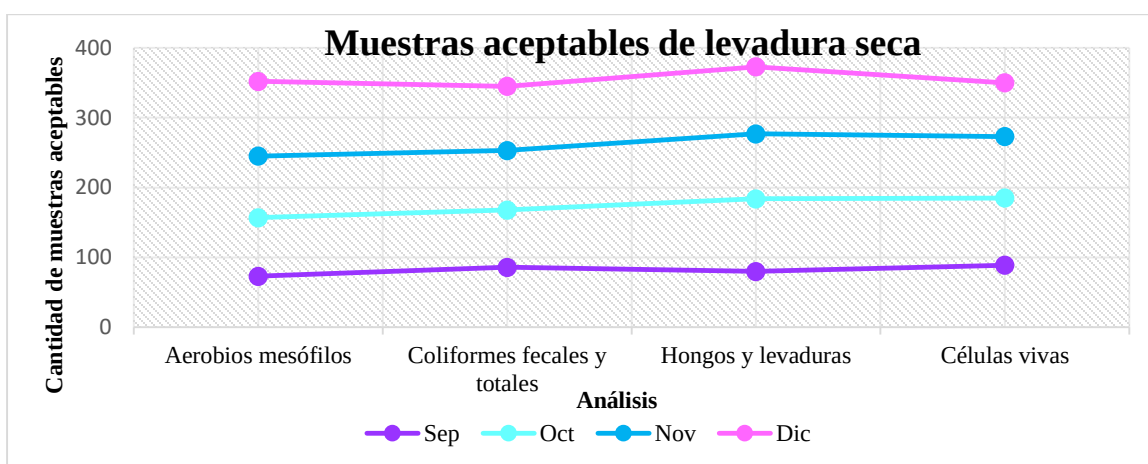
Tabla 12. Resultados de las muestras de levadura seca y beta-glucan que se encuentran dentro de los límites de aceptabilidad y rechazo durante las 16 semanas de los análisis realizados en la Compañía Nacional de Levaduras.

Levadura seca													
	Cantidad de muestras mensuales aceptables				Cantidad de muestras mensuales no aceptables				Muestras analizadas mensualmente				Límite de aceptabilidad
Análisis	Sep	Oct	Nov	Dic	Sep	Oct	Nov	Dic	Sep	Oct	Nov	Dic	
Aerobios mesófilos	73	84	88	107	8	7	6	11	81	91	94	118	50 UFC/mL
Coliformes fecales y totales	86	82	85	92	9	6	4	8	95	88	89	100	100 UFC/mL
Hongos y levaduras	80	104	93	96	5	7	1	6	85	111	94	102	100 UFC/mL
Células vivas	89	96	88	77	3	1	5	3	92	97	93	80	>65 %
Totales	328	366	354	372	25	21	16	28	353	387	370	400	
Beta-glucan de levadura													
	Cantidad de muestras mensuales aceptables				Cantidad de muestras mensuales NO aceptables				Muestras analizadas mensualmente				Límite de aceptabilidad
Análisis	Sep	Oct	Nov	Dic	Sep	Oct	Nov	Dic	Sep	Oct	Nov	Dic	
Recuento automatizado de indicadores de calidad	60	52	73	57	0	3	1	4	60	55	74	61	FA/SA <100 UFC/g EC/TC/EB <10 UFC/g
Esporas de <i>Clostridium</i> spp. sulfito reductor	33	27	23	44	2	0	1	0	35	27	24	44	<10 UFC/g
Hongos y levaduras	52	58	54	30	2	0	1	1	54	58	55	31	<10 UFC/g
Enterobacterias	55	53	47	39	2	1	2	3	57	54	49	42	<10 UFC/g
<i>Salmonella</i> spp.	15	11	20	44	1	1	0	2	16	12	20	46	Presencia-Ausencia
<i>Cronobacter sakazakii</i>	18	18	14	26	1	1	0	0	19	19	14	26	Presencia-Ausencia
Totales	233	219	231	240	8	6	5	10	241	225	236	250	

Fuente: (Levapan, 2023)

Nota. En la **tabla 12** se encuentran planteados los datos correspondientes a la cantidad de muestras aceptables y no aceptables teniendo en cuenta el límite de aceptabilidad establecido en la Compañía Nacional de Levaduras para los análisis microbiológicos correspondientes a levadura seca y beta-glucan de levadura (AOAC, 2015 ; Food and Drug Administration, 2023).

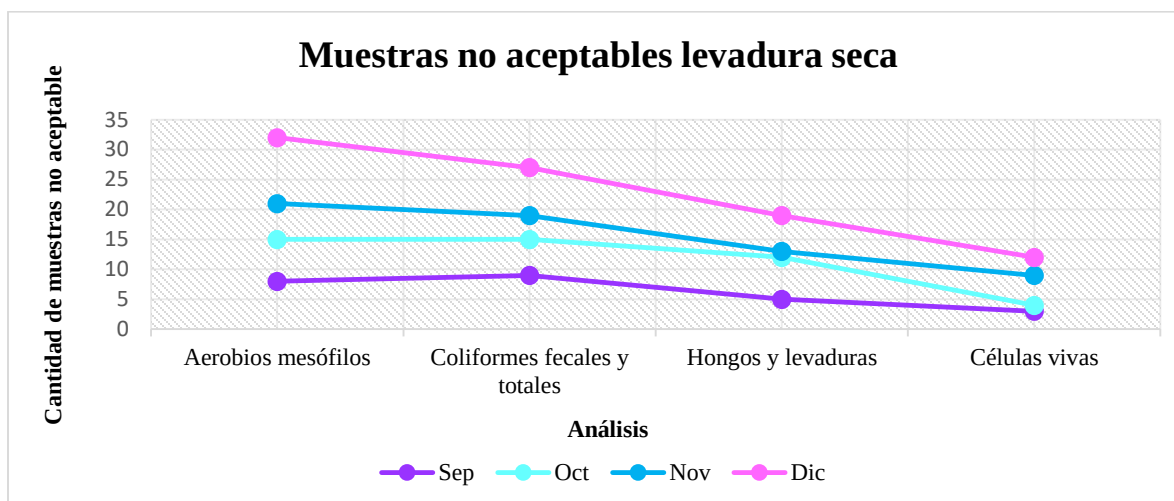
Figura 29. Cantidad de muestras aceptables de levadura seca en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre de 2023.



Fuente: Autor

Nota. La **Figura 29** muestra la cantidad de muestras aceptables correspondientes a la levadura seca que cumplieron con la evaluación de indicadores microbiológicos necesarios para la obtención de un producto conforme a las especificaciones.

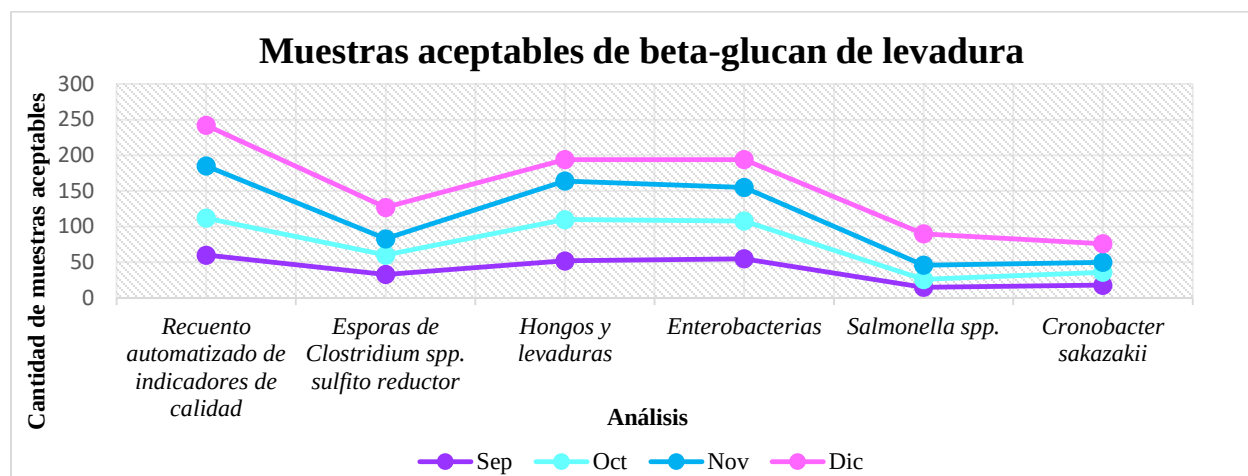
Figura 30. Cantidad de muestras no aceptables de levadura seca en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre de 2023.



Fuente: Autor

El incumplimiento de indicadores microbiológicos en los análisis realizados a las muestras de levadura seca, se produjo debido a la inadecuada recolección de la misma; por lo cual se refuerzan e implementan las charlas relacionadas con BPM (Buenas prácticas de manufactura) y correcta toma de muestras por parte del personal encargado; así mismo, los análisis relacionados a porcentajes de células vivas son necesarios para garantizar la correcta función de *Saccharomyces cerevisiae* en los procesos relacionados a fermentación lenta (necesarios para la industria de panadería), los cuales no presentaron alteraciones ni muestras con resultados inferiores a 65 % de células vivas y 1.2×10^{10} de células vivas por gramo al momento de su activación y recuento en cámara de Neubauer en el laboratorio; cumpliendo de esta manera con los requisitos de calidad del establecidos en los límites de aceptabilidad que debe cumplir el producto.

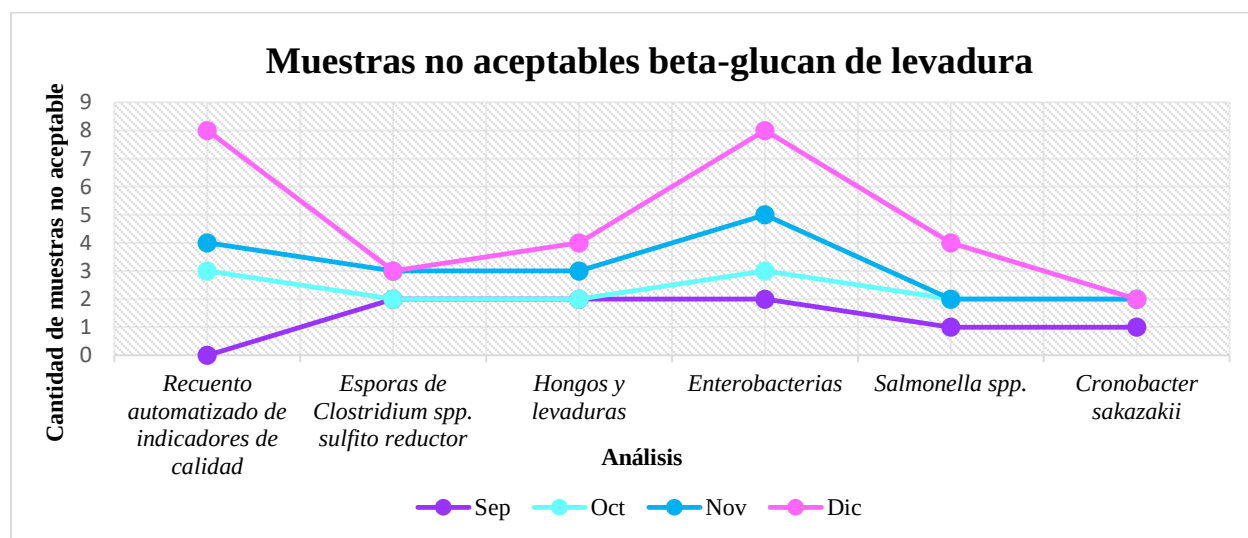
Figura 31. Cantidad de muestras aceptables de beta-glucan levadura en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre de 2023.



Fuente: Autor

Nota. En la **figura 31**, se presentan los resultados establecidos para el número de muestras correspondientes a beta-glucan que cumplieron con los valores de aceptabilidad establecidos en la evaluación de indicadores microbiológicos.

Figura 32. Cantidad de muestras no aceptables de beta-glucan de levadura en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre.



Fuente: Autor

Debido a las características del producto (beta-glucan), es necesario la realización de análisis de patógenos de gran importancia relacionado a la mortalidad que pueden llegar a ocasionar por su consumo en alimentos; por tal motivo debe existir ausencia de UFC de microorganismos como *Salmonella* spp. y *Cronobacter sakazakii*, los cuales pueden crecer y permanecer inactivos durante largos períodos de tiempo en alimentos que presentan bajos niveles de A_w . Los indicadores de calidad que representan un riesgo menor de mortalidad, permiten establecer límites más flexibles con respecto a su presencia en el producto.

Durante el seguimiento realizado a las muestras de este producto, no se evidenció la presencia de microorganismos patógenos ni incumplimiento de los límites aceptables referentes a los indicadores de calidad y otros análisis. En las muestras no aceptables se realizó el procedimiento de remuestreo, para así descartar errores en toma de muestras por parte de los operarios en cada uno de los procesos de fabricación y su posterior análisis por triplicado, determinando de esta manera el incumplimiento de estas muestras ocasionado por inadecuadas prácticas de recolección que se solucionan al momento de realizar esta actividad por parte del analista encargado.

La aceptabilidad es un indicador sumamente importante en cualquier empresa, pues permite llevar una trazabilidad de los productos de una manera sólida al poder estimar de manera concreta la concentración de indicadores microbiológicos dentro de los procesos de producción ejecutados por la compañía en cada uno de los análisis ejecutados relacionado a los procesos de elaboración; y así establecer las medidas necesarias para mantener una relación inversamente proporcional entre el promedio de muestras aceptables y no aceptables (como se observa en la **tabla 10**), permitiendo así el cumplimiento de los límites establecidos por la empresa para generar productos aptos para la comercialización según las especificaciones de los entes reguladores.

En la actualidad existe una gran preocupación debido a la presencia de patógenos que pueden crecer en alimentos de baja humedad (LMF); ocasionando un riesgo latente en la industria alimentaria por su mayor resistencia a los procesos de destrucción celular (radiación ultravioleta, desinfectantes, ionización, etc.) que los microorganismos contaminantes (Bourdichon *et al.*, 2021).

Dentro de los principales microorganismos que crecen en alimentos con baja humedad (<0.85) se encuentran *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Cronobacter sakazakii* y *Escherichia coli* productora de toxina Shiga; los cuales son capaces de afectar la salud de personas sensibles como los ancianos al crear factores de virulencia que les permiten mantenerse viables en este tipo de matrices alimenticias durante largos periodos de tiempo; y así cuando las condiciones propicien su desarrollo nuevamente, provocar infecciones fatales en las personas (Shuxiang *et al.*, 2022).

Existe un riesgo relacionado a la presencia de patógenos como *Salmonella* spp., *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus cereus*, entre otros; en matrices alimentarias que cuentan con bajo porcentaje de humedad disponible para su crecimiento; sin embargo, el hecho que estos patógenos permanezcan viables en este tipo de alimentos (levadura seca y beta-glucan) lo convierte en una preocupación mayor para el análisis del potencial patogénico de estos géneros que pueden desarrollar mecanismos de supervivencia para permanecer presentes en los alimentos durante años (sin afectar su patogenicidad) y seguir presentando dosis de infecciones muy bajas, y así causar enfermedades transmitidas por lo alimentos en los consumidores.

En los últimos años los brotes alimentarios relacionados en productos con bajo contenido de humedad se han relacionado al género de *Salmonella* spp.; pues el estrés osmótico que sufre la célula ante la desecación, genera modificaciones en los componentes estructurales de la membrana celular (fosfolípidos y ácidos grasos) permitiéndole entrar en estado viable no cultivable y así

mantener su viabilidad intacta (aun cuando su desarrollo celular no es posible) (Martins *et al.*, 2021).

Debido a estas características que presentan este tipo de alimentos, se vuelve una necesidad la evaluación de estos microorganismos en los productos fabricados en la compañía (levadura activa seca y beta-glucan) y así demostrar la calidad en los procesos de elaboración y manufactura al contar con estrictos parámetros (elevadas temperaturas) para asegurar la destrucción de estos resistentes patógenos.

7.6.1. Análisis microbiológico de levadura seca activa

Tabla 13. Resultados correspondientes a las muestras analizadas en el laboratorio de microbiología y calidad de la Compañía Nacional de Levaduras correspondientes a levadura seca.

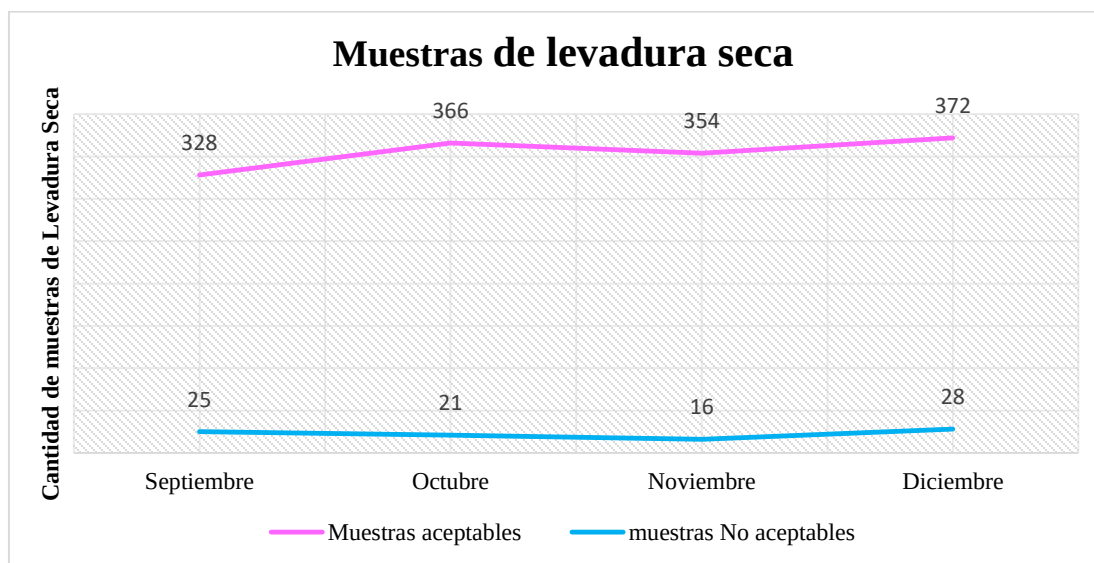
Muestras de levadura seca																
Mes																
	Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre			
Semana																
Análisis	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Aerobios mesófilos	19	17	16	21	23	15	19	27	24	26	18	20	23	25	30	29
Coliformes fecales y totales	23	20	25	18	25	17	14	26	17	19	24	25	18	23	27	24
Hongos y levaduras	24	19	16	21	29	28	22	25	28	14	19	32	21	25	23	27
Células vivas	23	26	18	22	28	21	30	17	22	30	21	15	22	20	17	18
Muestras aceptables semanales	89	82	75	82	105	81	85	95	91	89	82	92	84	93	97	98
Muestras no aceptables semanales	7	8	4	6	3	9	5	4	2	1	3	10	9	4	5	10

Porcentaje de aceptabilidad semanal	92.7 %	91.1 %	94.93 %	93.18 %	97.22 %	90 %	94.4 %	95.95 %	97.84 %	98.88 %	96.47 %	90.19 %	90.32 %	95.87 %	95.09 %	90.74 %
Porcentaje de no aceptabilidad semanal	7.29 %	8.88 %	6.32 %	6.81 %	2.77 %	10 %	5.55 %	4.04 %	2.15 %	1.11 %	3.52 %	90.80 %	9.67 %	4.12 %	4.90 %	9.25 %
Muestras aceptables mensuales	328				366				354				372			
Muestras no aceptables mensuales	25				21				16				28			
Porcentaje de aceptabilidad mensual	92.91 %				94.57 %				95.67 %				93 %			
Porcentaje de no aceptabilidad mensual	7.08 %				5.42 %				4.32 %				7.0 %			
Porcentaje promedio de aceptabilidad	94.03 %															
Porcentaje promedio de no aceptabilidad	5.95 %															
Muestras totales	353				387				370				400			

Fuente: Autor

Nota. En la **tabla 13** se presentan el número de muestras de levadura seca, promedio total de muestras aceptables y no aceptables, entre otros parámetros analizados durante 16 semanas en el laboratorio de microbiología y calidad de la Compañía Nacional de Levaduras.

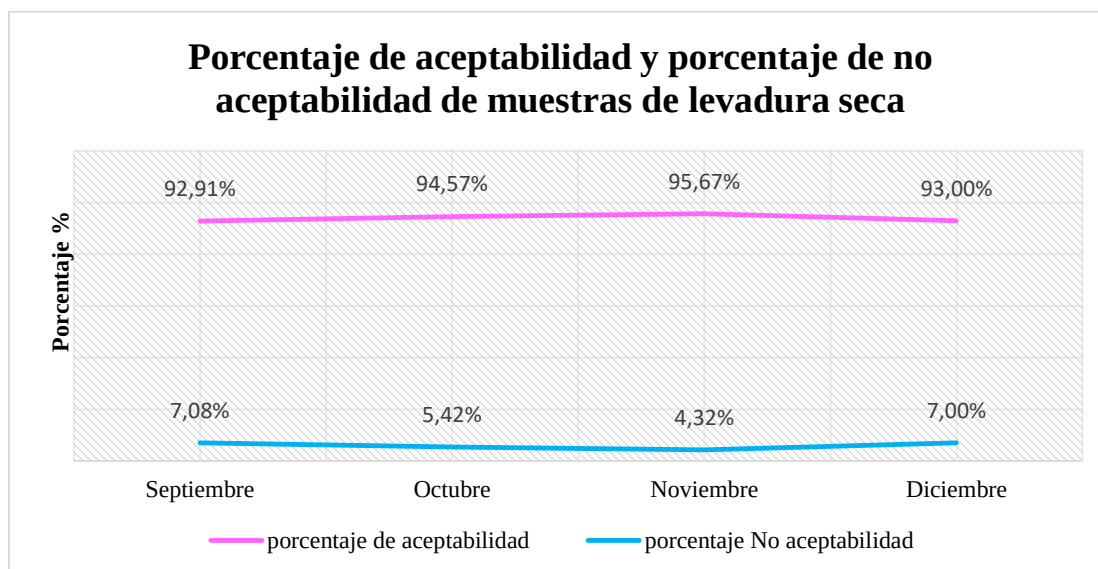
Figura 33. Cantidad de muestras de levadura seca analizadas durante los meses de septiembre a diciembre de 2023.



Fuente: Autor

La **figura 33**, presenta las cantidades de muestras de levadura seca analizadas en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre de 2023, presentando un promedio de 355 muestras aceptables y 22.5 muestras no aceptables analizadas; indicativo de un flujo de trabajo constante en la producción desarrollada por la compañía (ligero aumento en el mes de diciembre debido al aumento del consumo por parte de la población).

Figura 34. *Porcentaje de aceptabilidad y porcentaje de no aceptabilidad de muestras de levadura seca analizadas.*



Fuente: Autor

En la **figura 34**, se puede observar los porcentajes de aceptabilidad y no aceptabilidad de las muestras analizadas de levadura seca de cada mes (septiembre a diciembre); obteniendo de esta manera un porcentaje promedio de aceptabilidad (en los 4 meses de los análisis) correspondiente al 94.03 %, mientras que el promedio de no aceptabilidad para las muestras analizadas durante este tiempo correspondió al 5.95 %, presentando de esta manera porcentajes similares en los meses de seguimiento que se encuentran dentro de los parámetros de aceptabilidad de la compañía para este tipo de producto.

Los microorganismos contaminantes son la principal causa del deterioro y degradación de las características originales de la levadura seca activa, y aunque *Saccharomyces cerevisiae* es capaz de producir ciertos metabolitos secundarios que ocasionan la inhibición del crecimiento de algunas bacterias; es indispensable su erradicación para evitar la disminución de su vida útil y propiedades de fermentación que presenta normalmente (impactando negativamente la sostenibilidad y seguridad alimentaria que proyecta la compañía) (Karanth *et al.*, 2023).

7.6.2. Análisis microbiológico de beta-glucan de levadura

Tabla 14. Resultados correspondientes a las muestras analizadas en el laboratorio de microbiología y calidad de la Compañía Nacional de Levaduras correspondientes a beta-glucan de levadura.

Muestras de beta-glucan de levadura																
Mes																
	Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre			
Semana																
Análisis	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Recuento automatizado de indicadores de calidad	13	15	15	17	11	16	12	13	19	22	17	15	11	15	17	14
Esporas de <i>Clostridium</i> spp. sulfito reductor	6	9	8	10	7	5	4	11	4	9	3	7	9	12	13	10
Hongos y levaduras	11	13	16	12	14	19	10	15	8	15	12	19	7	6	8	9
Enterobacterias	14	10	15	13	14	11	19	9	6	13	16	12	13	10	9	7
<i>Salmonella</i> spp.	4	2	5	6	2	4	3	2	7	4	3	6	12	10	14	8
<i>Cronobacter sakazakii</i>	5	6	3	5	1	2	7	8	6	1	5	2	8	9	4	5
Muestras aceptables semanales	53	55	62	63	49	57	55	58	50	64	56	61	60	62	65	53
Muestras no aceptables semanales	2	5	1	0	0	3	1	2	0	3	1	1	0	3	2	5
Porcentaje de aceptabilidad semanal	96.36 %	91.66 %	98.4 %	100 %	100 %	95 %	98.21 %	96.66 %	100 %	95.52 %	98.24 %	98.38 %	100 %	95.38 %	97.01 %	91.37 %
Porcentaje de no aceptabilidad semanal	3.63 %	8.33 %	1.58 %	0 %	0 %	5 %	1.78 %	3.33 %	0 %	4.47 %	1.75 %	1.61 %	0 %	4.61 %	2.98 %	8.62 %
Muestras aceptables mensuales	233				219				231				240			
Muestras no aceptables mensuales	8				6				5				10			

Porcentaje de aceptabilidad mensual	96.68 %	97.33 %	97.88 %	96 %
Porcentaje de no aceptabilidad mensual	3.31 %	2.66 %	2.11 %	4.0 %
Porcentaje promedio de aceptabilidad	96.97 %			
Porcentaje promedio de no aceptabilidad	3.02 %			
Muestras totales	241	225	236	250

Fuente: Autor

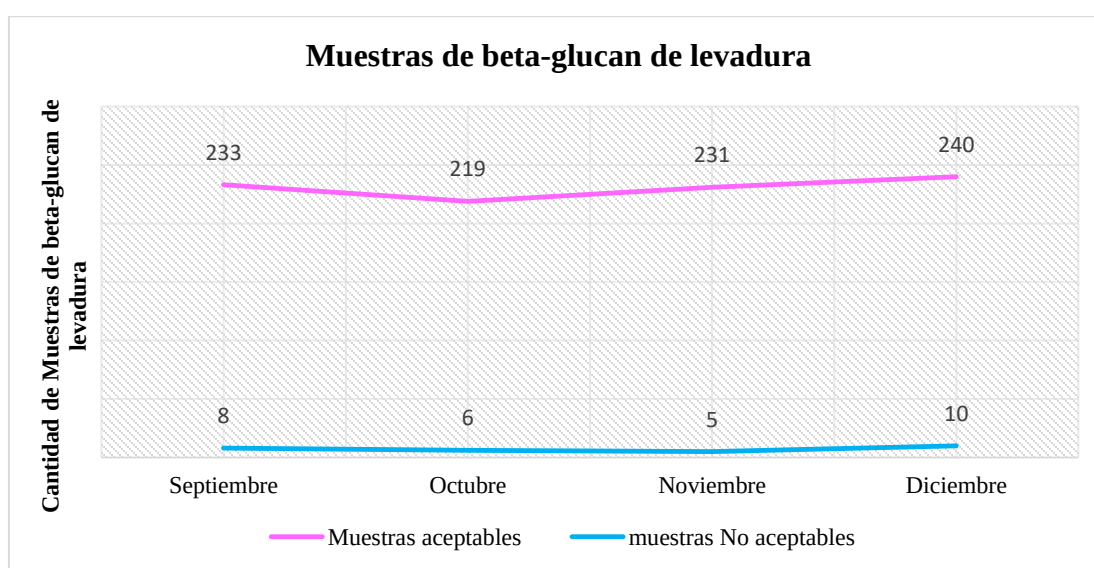
Nota. En la **tabla 14** se presentan el número de muestras de beta-glucan de levadura; promedio total de muestras aceptables y no aceptables, entre otros parámetros analizados durante 16 semanas en el laboratorio de microbiología y calidad de la Compañía Nacional de Levaduras.

Los datos de la **tabla 14**, corresponden a los análisis realizados a las muestras de beta-glucan de levadura durante un período de 16 semanas correspondientes al seguimiento del análisis de calidad de ambos productos. Los resultados compilados permiten mostrar el nivel de microorganismos presentes en cada fase correspondiente al proceso de elaboración del producto (indicadores de calidad); y su posterior análisis para poder determinar el porcentaje de aceptabilidad de las muestras que cumplen con los requisitos solicitados por el marco normativo en el país.

Durante los meses de septiembre y diciembre de 2023, se realizó la recopilación de información correspondiente a los datos de seguimiento y análisis de la calidad microbiológica de estos dos productos; permitiendo de esta manera establecer el cumplimiento de los requisitos necesarios en los procesos referentes en cada fase de las líneas de producción. Gracias a los datos recopilados en la **tabla 13 y 14**, se realizaron gráficas similares que muestran el número de muestras analizadas y resultados referentes a este análisis (muestras aceptables y no aceptables, promedio de

aceptabilidad, entre otros) en las etapas de producción durante los meses de seguimiento (septiembre a diciembre de 2023); permitiendo de esta forma la aplicación de acciones correctivas y preventivas que permitieron asegurar la calidad microbiológica de los productos finales destinados para consumo humano.

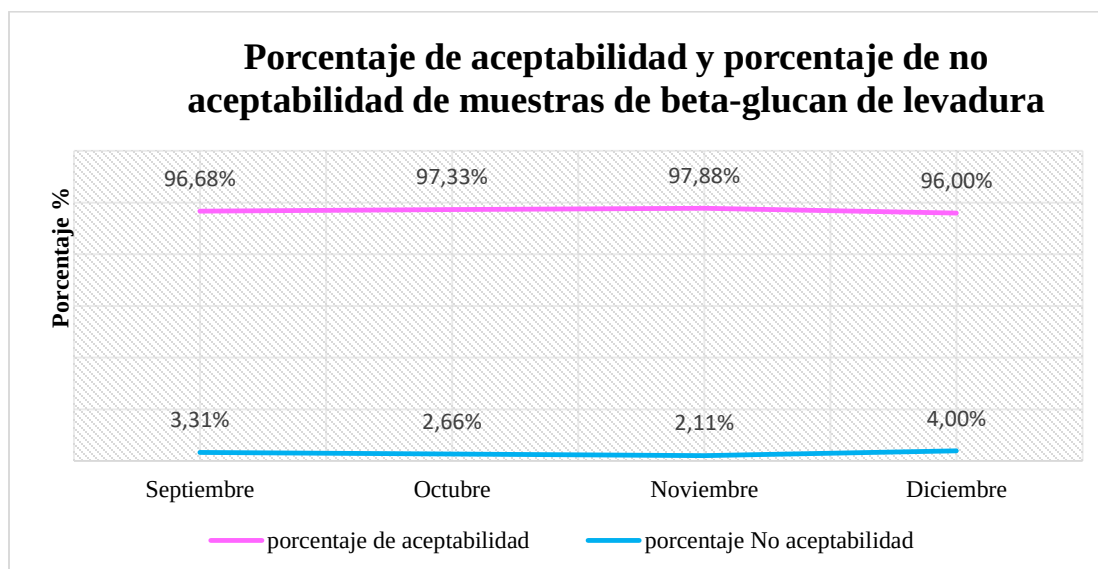
Figura 35. Cantidad de muestras de beta-glucan de levadura analizadas durante los meses de septiembre a diciembre de 2023.



Fuente: Autor

Nota. En la **figura 35**, se observan las cantidades de muestras de beta-glucan de levadura analizadas en la línea de producción durante los meses de septiembre a diciembre de 2023, presentando un promedio de 230.75 muestras aceptables y 7.25 de muestras no aceptables analizadas.

Figura 36. Porcentaje de aceptabilidad y porcentaje de no aceptabilidad correspondientes a muestras de beta-glucan de levadura analizadas.



Fuente: Autor

En la **figura 36**, se puede observar los porcentajes de cada mes (septiembre a diciembre) correspondientes a los análisis de muestras de beta-glucan de levaduras, en la cual se evidencia un promedio de aceptabilidad del 97.97 % y de no aceptabilidad correspondiente al 2.02 %; cumpliendo los parámetros de aceptabilidad necesarios para liberación de los productos y su comercialización, con respecto a la normatividad vigente.

El beta-glucan de levadura al ser usado como materia prima en el enriquecimiento de fórmulas lácteas infantiles, debe estar libre de microorganismos como *Salmonella* spp. y *Cronobacter sakazakii* (los cuales no sobreviven a los procesos térmicos ejecutados por la compañía), que pueden estar presentes debido a la contaminación ocasionada durante la cadena de producción (manteniendo su viabilidad intacta y esperando el suministro de medios necesarios para su reactivación) (Lang & Sant'Ana, 2021).

El control de este tipo de patógenos requiere de análisis rigurosos por parte de la compañía, buscando garantizar que el producto se convierta en un riesgo de salud pública latente al ocasionar brotes relacionados a las fórmulas infantiles de dudosa calidad.

8. CONCLUSIONES

Los resultados de los análisis realizados a las materias primas reflejaron el cumplimiento de los requisitos microbiológicos exigidos por la compañía para su uso en la fabricación de un producto final dentro de los estándares de la más alta calidad.

Los análisis microbiológicos correspondientes a los ambientes, superficies, utensilios y equipos empleados durante la fabricación de levadura seca y beta-glucan, permiten la estimación del alto nivel de rigurosidad que la compañía desempeña sobre la aplicación de medidas enfocadas a la correcta implementación de BPM (Buenas Prácticas de manufactura), limpieza, desinfección y sanitización de los componentes implicados durante las etapas de los procesos.

La presencia de microorganismos contaminantes y ausencia de patógenos en el proceso de fabricación, se mantuvo de acuerdo a los parámetros de aceptabilidad y evitando así la alteración y/o pérdida de los atributos mediante el control de los parámetros propios de la producción (temperatura, pH, nutrientes, entre otros) necesarios para la obtención de rendimientos conforme a los rangos de productividad de la empresa.

Finalmente, los resultados correspondientes al análisis de contaminantes y patógenos del producto terminado de levadura seca y beta-glucan de levadura; estuvieron dentro de los rangos establecidos por el laboratorio de la compañía para la obtención de altos estándares de calidad y aportes nutricionales específicos en los productos comercializados.

9. SUGERENCIAS

- Dar continuidad a los procesos de seguimiento y control de la calidad microbiológica de los productos (levadura seca y beta-glucan) realizados por la Compañía Nacional de Levaduras en las distintas plantas de producción (planta de levaduras y proteínas) para seguir cumpliendo con los parámetros solicitados por el gobierno nacional, lo que hace posible contar con planes para disminuir, mitigar y prevenir el impacto de posibles eventualidades relacionados a la presencia de gran cantidad de microorganismos indicadores de calidad y patógenos que pueden alterar el producto final y comprometer de esta manera su calidad.
- Informar y realizar las respectivas capacitaciones al personal de la compañía para estar a la vanguardia de las modificaciones o actualizaciones relacionadas a los procesos que inciden directamente sobre la calidad y su control (limpieza, desinfección, sanitización, rotación de productos químicos, entre otros.) al ser indispensables para cada etapa del proceso de elaboración e incidir sobre estos.
- Establecer planes que se enfoquen mayoritariamente en la prevención de eventualidades sobre la ejecución de medidas correctivas en las diferentes etapas de los procesos de elaboración; robusteciendo de esta manera los planes establecidos por la Compañía Nacional de Levaduras-Levaplan S.A. para el seguimiento de estos procesos y generando un impacto positivo que ayudaría en la reducción de gastos económicos, tiempo y esfuerzo de los distintos laboratorios de la empresa (no se hace necesario procedimientos adicionales para corregir errores durante el proceso de elaboración).

10. GLOSARIO

- **Aceptabilidad:** en calidad se conoce con este término al conjunto de parámetros que permiten medir el grado de cumplimiento de determinados requisitos exigidos por la ley, emitiendo de esta forma un dictamen de cumplimiento o rechazo para su distribución y comercialización.
- **Aceptor de electrones:** en química se conoce así a una sustancia que acepta los electrones transferidos por otro compuesto (donador) en una reacción química.
- **Actidione:** antibiótico antifúngico (conocido también como cicloheximida) producido por bacterias del género *Streptomyces griseus* que actúa como inhibidor de la síntesis de proteínas de organismos eucariotas; lo que evita su crecimiento.
- **Anaerobiosis:** condición en la cual ciertos microorganismos (anaerobios) crecen sin la presencia de oxígeno; utilizando otro elemento químico como aceptor de electrones para su crecimiento (NO_3^- , Fe^{3+} , y SO_4^{2-}).
- **Análisis sensorial:** evaluación objetiva de los alimentos; a través del uso de los sentidos para determinar o dar una característica atribuible de sus propiedades organolépticas (color, sabor, olor, textura, entre otras.).
- **Axénico:** característica de un cultivo microbiano o colonia; en la cual sólo existe un tipo de cepa o especie de este (por esta razón se dice que es un cultivo puro).
- **Azul de anilina:** compuesto químico que tiene como función la tinción de células en hongos; logrando de esta manera diferenciar las células vivas de las muertas (las células vivas son transparentes porque no se tiñen y las células muertas presentan coloración azul).
- **Biofilms:** acumulación o formación de colonias de microorganismos que se adhieren a distintas superficies u objetos a través de la secreción de exopolisacáridos que las hace

resistir a procesos de limpieza y desinfección (se forman por la deficiencia en los procesos de limpieza).

- **Calidad microbiológica:** criterio que permite para determinar la cantidad de microorganismos presentes en una muestra (alimentos, agua, materias primas, entre otras), generando de esta manera un dictamen de rechazo o aceptación al producto.
- **Colonia:** conformación de bacterias que se multiplican en un medio hasta adquirir el suficiente número de células para ser visible.
- **Desinfección:** proceso físico mediante el cual se emplean diferentes sustancias químicas para la eliminación de microorganismos de diferentes medios (superficies, ambientes, objetos, entre otros).
- **Dilución:** proceso mediante el cual se reduce la concentración inicial de una sustancia al usar adicionar una cantidad específica de soluto en un determinado solvente (agua estéril) y así obtener una menor cantidad de soluto por unidad de volumen.
- **Elementos de protección personal (EPP):** son todos aquellos equipos relacionados a la indumentaria o dotación de trabajo (cofia, guantes, tapabocas, gafas, bata, etc.) que disminuye el riesgo de exposición de sustancias que representan un peligro para los trabajadores.
- **Encapsulación:** proceso o técnica por la cual se protege un componente activo dentro de una cubierta que protege su interior del contacto externo para conservar sus propiedades específicas.
- **Esterilización:** proceso mediante el cual se hace uso de variables controladas (temperatura, humedad, pH, A_w , entre otras) para la destrucción de microorganismos viables presentes en diferentes medios.

- **Extrusión:** proceso físico usado en la industria alimentaria mediante el cual se obtienen gránulos de cierto tamaño que presentan ciertas características como resistencia a las condiciones normales a las que se encuentra expuesto un alimento, al aplicar ciertas características específicas para su transformación (presión, temperatura, entre otras) al producto.
- **GRAS:** designación usada para determinar aquellos microorganismos considerados seguros para su uso en la elaboración y consumo de alimentos que adquieren características deseables a partir de su interacción con estos.
- **Hidrólisis proteica:** rompimiento de los enlaces peptídicos presentes en las proteínas de un producto, para así obtener moléculas de menor tamaño y fácil asimilación biológica.
- **Inocuidad:** característica atribuible a un alimento al considerarlo como seguro y apto para el consumo humano (lo cual no supone un riesgo o daño por su consumo).
- **Líneas de producción:** espacios físicos en una empresa o planta de procesos, en los cuales se realizan operaciones que contribuyen en la creación de un producto final para su comercialización posterior.
- **Lote:** conjunto de productos que se agrupan y presentan características similares entre sí.
- **Método de Número Más Probable (NMP):** es una metodología o técnica mediante la cual se puede determinar la densidad microbiana, a partir de la inoculación de la muestra en tubos con agua destilada para así determinar el grado de contaminación de ésta.
- **Muestra:** cantidad de una sustancia en específica que se recolecta de un producto con el fin de realizar análisis para determinar el cumplimiento de los parámetros necesarios para su comercialización.

- **Muestreo:** actividad que busca la recolección de cierta cantidad de sustancia de un lote (muestras) para su posterior análisis y obtención de resultados conforme a los establecido en una norma.
- **Patógenos:** son todos aquellos microorganismos (hongos, mohos, bacterias, virus, protozoos, etc.) que pueden llegar a causar enfermedad en el ser vivo que ingresan.
- **Petrifilm:** método de recuento que hace uso de placas con medio de cultivo liofilizado, que permiten la inoculación de muestras para analizar el número de microorganismos presentes en éstas (presentan mayor confiabilidad en menores lapsos de tiempo que los métodos tradicionales de recuento en placa).
- **pH:** El potencial de hidrógeno es una medida usada en amplias áreas de las ciencias para medir la concentración de iones (acidez o alcalinidad) de este elemento que presentan las sustancias.
- **Pool de muestras:** mezcla en un recipiente hermético y estéril, usado para abarcar un análisis más rápido y menos extenso de las muestras de un producto.
- **Productos hidrolizados:** alimentos que han sido sometidos a un proceso de hidrólisis, de tal forma que la proteína o moléculas presentes en estos se han dividido para ser usado con distintas finalidades.
- **Prueba ELISA:** técnica de detección basada en el análisis de antígenos presentes en patógenos para lograr su detección en diferentes muestras.
- **Pulverización:** proceso mecánico en el cual se usan presiones controladas y un caudal determinado de aire (a cierta temperatura) para generar gran cantidad de sólidos suspendidos (partículas) de menor tamaño.

- **Remuestreo:** proceso que se lleva acabo cuando los resultados obtenidos de un lote de muestras no han cumplido con los estándares microbiológicos requeridos para su liberación; y por ende, no cumple con los requisitos establecidos por la normatividad para su aceptación y comercialización.
- **Sanitización:** proceso mediante el cual se hace uso de factores físicos para destruir la mayoría de microorganismos hasta cierta cantidad que no represente un peligro para la salud de las personas.
- **Sistema HACCP:** es un método creado para el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control en alimentos y elementos relacionados a estos (materias primas, procesos, comercialización, entre otros) para prevenir la contaminación alimentaria de microorganismos y de este modo asegurar su inocuidad.
- **Suspensión:** en química se determina así a la mezcla heterogénea entre un líquido y un sólido, en el cual este último no se disuelve por completo en el solvente.
- **Trazabilidad:** seguimiento realizado a cada una de las etapas del proceso de elaboración de un producto (desde la recepción de materias primas hasta la comercialización a los clientes) con la finalidad de llevar un registro detallado de los datos que pueden incidir directamente sobre la calidad final de los productos.
- **Unidades formadoras de colonia (UFC):** medida usada en microbiología para establecer el número de células de viables que presenta una muestra.
- **Viabilidad:** característica que presenta una población de microorganismo para su reproducción, lo que permite su multiplicación para generar colonia que son observables a la vista.

- **TTC:** sustancia química que se usa como aditivo en medios de cultivo, debido a que permite facilitar la visualización de microorganismos al transformarse en un pigmento que otorga una coloración roja a las colonias.

REFERENCIAS

- Abd El-Salam M.H. (2003). *Coliform Bacteria*. Retrieved from Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition): <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/coliform-bacteria>
- AOAC. (2015). *Official Method Enumeration of Yeast and Mold in Food 3M™ Petrifilm™ Rapid Yeast and Mold Count Plate First Action 2014*. Retrieved from <https://multimedia.3m.com/mws/media/1029612O/3m-petrifilm-rapid-yeast-and-mold>
- Biomérieux. (2023). *mini VIDAS®*. Retrieved from <https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/mini-vidasr>
- Biomérieux. (2023). *TEMPO®*. Retrieved from <https://www.biomerieux-industry.com/es/products/indicadores-de-calidad-de-los-alimentos-tempo>
- Bourdichon F, Betts R, Dufour C, Fanning S, Farber J, McClure P, Stavropoulou D, Wemmenhove E, Zwietering M, Winkler A. (2021). *Processing environment monitoring in low moisture food production facilities: Are we looking for the right microorganisms?* Retrieved from International Journal of Food Microbiology: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816052100310X>
- Cardozo, M. & Moreno, J. (2012). *Diseño y optimización de un medio de cultivo a base de melaza de caña para la producción de biomasa a partir de Saccharomyces cerevisiae*. Retrieved from

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11788/CardozoGuzmanMariaCamila2012.pdf;jsessionid=B8F22D3456915EB0D32808196BA29539?sequence=1>

Doyle C, O'Toole P and Cotter P. (2018). *Genomic Characterization of Sulphite Reducing Bacteria Isolated From the Dairy Production Chain*. Retrieved from Front Microbiol: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6041559/>

FDA . (2022). *La FDA advierte a los consumidores que no usen ciertas fórmulas infantiles en polvo producidas de las instalaciones de Abbott Nutrition en Sturgis, Michigan*. Retrieved from fda.gov: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/la-fda-advierte-los-consumidores-que-no-usen-ciertas-formulas-infantiles-en-polvo-producidas-de-las>

FDA . (2023). *Conozca los datos sobre la Salmonella*. Retrieved from fda.gov: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/animal-health-literacy/conozca-los-datos-sobre-la-salmonella>

Food and Drug Administration. (2023). *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*. Retrieved from <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>

Gea Group. (2023). *Secado por atomización convencional*. Retrieved from <https://www.gea.com/es/products/dryers-particle-processing/spray-dryers/conventional-spray-dryer.jsp>

Hernández A, Pérez F, Ruiz S, Serradilla M, Villalobos M, Martín A, Córdoba M. (2018). *Spoilage yeasts: What are the sources of contamination of foods and beverages?* Retrieved from International Journal of Food Microbiology: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160518304331>

- Herrera, A.G. (2001). *Mesophilic Aerobic Microorganisms*. Retrieved from In: Spencer, J.F.T., de Ragout Spencer, A.L. (eds) *Food Microbiology Protocols*. : <https://link.springer.com/protocol/10.1385/1-59259-029-2:25>
- International Organization for Standardization. (2018). *Norma ISO 22000 de Seguridad Alimentaria*. Retrieved from <https://www.iso.org/obp/ui#iso:std:iso:22000:ed-2:v2:es>
- Jiménez, D. (2016). *Operación óptima de un filtro rotativo de vacío*. Retrieved from <https://dspace.itcolima.edu.mx/bitstream/handle/123456789/939/TITUTLACI%C3%93N%20INTEGRAL%20Operaci%C3%B3n%20%C3%B3ptima%20de%20un%20filtro%20rotativo%20de%20vac%C3%ADo.pdf>
- Karant S, Feng S, Patra D, Abani K. (2023). *Linking microbial contamination to food spoilage and food waste: the role of smart packaging, spoilage risk assessments, and date labeling*. Retrieved from Front Microbiol: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10325786/>
- Lang E & Sant'Ana A. (2021). *Microbial contaminants in powdered infant formula: what is the impact of spray-drying on microbial inactivation?* Retrieved from Current Opinion in Food Science: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799321001065>
- Lesaffre Ibérica. (2021). *La levadura líquida*. Retrieved from <https://www.lesaffre.es/la-levadura-liquida-la-primer/>
- Levapan . (2017). *¿Quiénes somos?* Retrieved from <https://www.levapan.com/quienes-somos/>
- Levapan . (2023). *Bacterias sulfito reductoras. (IT3-317)*. Retrieved from Levapana S.A.

Levapan. (2015). *Levadura Activa Seca Levapan® de 500 g*. Retrieved from <https://www.levapan.com/productos/levadura-activa-seca-levapan-bolsa-de-papel-de-aluminio-de-500g/>

Levapan. (2017). *Nuestras plantas*. Retrieved from <https://www.levapan.com/plantas/>

Levapan. (2018). *Bioingredientes*. Retrieved from <https://www.levapan.com/biolev/bioingredientes/>

Levapan. (2022). *Bioactivos*. Retrieved from <https://www.biolev.com.co/bioactivos/>

Levapan. (2022). *Levaduras*. Retrieved from <https://www.biolev.com.co/bioingredientes-levaduras/>

Levapan. (2022). *Proteínas*. Retrieved from <https://www.biolev.com.co/proteinas/>

Levapan. (2023). *Ambiente y superficies. (FR3-132)*. Obtenido de Levapan S.A.

Levapan. (2023). *Ambiente y superficies. (FR3-132)*. Retrieved from Levapan S.A.

Levapan. (2023). *Coliformes totales y fecales. (IT3-097)*. Retrieved from Levapan S.A .

Levapan. (2023). *Control físico muestreo glucan. (CCA-FR-094)*. Retrieved from Levapan S.A.

Levapan. (2023). *Diluciones para los análisis de glucan plus 3111. (CCA-AN-005)* . Retrieved from Levapan S.A.

Levapan. (2023). *Glucan de levadura Ref. PCT-3111. (CCA-FT-033)*. Retrieved from Levapan S.A.

Levapan. (2023). *Manipuladores. (FR3-283)*. Retrieved from Levapan S.A.

Levapan. (2023). *Mesófilos aerobios. (IT3-102)*. Retrieved from Levapan S.A.

Levapan. (2023). *Recuento de células vivas. (CCA-IT-006)*. Retrieved from Levapan S.A.

Levapan. (2023). *Sistema automatizado para la detección de patógenos Mini-vidas. (CCA-IT-106)*. Retrieved from Levapan S.A.

Llanos, E. & Capera, D. (2019). *Propuesta de aplicación de herramientas de manufactura esbelta para reducir el tiempo perdido en el proceso productivo de la empresa Levapan S.A. .* Retrieved from bibliotecadigital.univalle.edu.co: <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/server/api/core/bitstreams/d0be68c7-f1d1-4ccb-b5cd-f2a1f7847c50/content>

Martínez, C & Gómez, S. (2020, Abril 13). *Proceso industrial de la lecadura en la empresa Levapan.* Retrieved from YouTube.com: https://www.youtube.com/watch?time_continue=259&v=z5HNO-TxYkw&embeds_referring_euri=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2Fsearch%3Fq%3Dproceso%2Bde%2Belaboracion%2Bde%2Blevadura%2Bactiva%2Bseca%2Ben%2Blevapan%2Bs.a%26sca_esv%3D577721307%26bih%3D609%26biw%3D681%2

Martins R, Vera L, Dantas S, Pereira V, Cirone N. (2021). *Salmonellaspp. in low water activity food: Occurrence,survival mechanisms, and thermoresistance.* Retrieved from CONCISE REVIEWS & HYPOTHESES IN FOOD SCIENCE: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1750-3841.16152>

Merck. (2015). *La familia MAS-100® Soluciones para el control del aire.* Retrieved from https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-CO-Site/es_ES/-/COP/ShowDocument-File?ProductSKU=MM_NF-C170568&DocumentId=201510.742.ProNet&DocumentType=BRO&Language=ES&Co

untry=NF&Origin=PDP#:~:text=El%20sistema%20MAS%2D100%20Iso%20MH%C2
%AE%20se%20

Ministerio de Salud y Protección Social. (2007). *Resolución 2115 de 2007*. Retrieved from
<https://minvivienda.gov.co/sites/default/files/normativa/2115%20-%202007.pdf>

Ministerio de Salud y Protección Social. (2008). *Decreto 3075 de 1997*. Retrieved from
https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/DECRETO%203075%20DE%201997.pdf

Ministerio de Salud y Protección Social. (2008). *Decreto 60 de 2002*. Retrieved from
https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/DECRETO%200060%20DE%202002.pdf

Ministerio de Salud y Protección Social. (2013). *Resolución 2674 del 2013*. Retrieved from
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-2674-de-2013.pdf>

Ministerio de Salud y Protección Social. (2022). *Resolución 1407 de 2022*. Retrieved from
https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%201407%20de%202022.pdf

Minyeong Kwon, Mohammad Shakhawat Hussain, and Deog Hwan O. (2017). *Biofilm formation of Bacillus cereus under food-processing-related conditions*. Retrieved from Food Sci Biotechnol: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6049562/>

- Nandar, Y. (2022). Control de calidad microbiológico en las líneas de producción de levadura y proteína en la Compañía Nacional de Levaduras Levapan S.A. planta Tuluá. Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Microbiología: Universidad de Pamplona.
- Parapouli M , Vasileiadis A , Afendra A , Hatziloukas E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS microbiology*, 1-32. Obtenido de <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020001>
- Pereira P, Freitas C, Paschoalin V. (2021). *Saccharomyces cerevisiae* biomass as a source of next-generation food preservatives: Evaluating potential proteins as a source of antimicrobial peptides. Retrieved from Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1541-4337.12798>
- Portilla G, Vergara J, Ceballos A. (2021). *Producción de levadura seca en secador de lecho fluidizado a escala piloto*. Retrieved from Edu.co: https://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/102940/1/TG03702.pdf
- Ramírez J, Parra J, Alvarez A. (2017). Retrieved from https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/mente_joven/article/download/3665/3060
- Shuxiang L, Roopesh M, Tang J, Wu Q, Qin W. (2022). *Recent development in low-moisture foods: Microbial safety and thermal process*. Retrieved from Food Research International: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996922001296>
- United States Pharmacopeia. (2016). *Microbiological examination of nonsterile products: tests for specified microorganisms*. Retrieved from https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/harmonization/gen-method/q05a_pf_ira_34_6_2008.pdf

- Walker G & Graham S. (2016). *Saccharomyces cerevisiae in the Production of Fermented*.
doi:10.3390/beverages2040030
- Zand E, Brockmann G, Schottroff F, Zunabovic-Pichler M, Hartmann A, Kriegel M, Jaeger H. (2022). Identification of microbial airborne contamination routes in a food production environment and development of a tailored protection concept using computational fluid dynamics (CFD) simulation. *Journal of Food Engineering*(334), 11. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111157>
- Zapata, G. & Meza, H. (2006). *Proceso para la obtención de glucan de levadura por autólisis de células de levadura Saccharomyces cerevisiae de panadería*. Retrieved from <https://patentimages.storage.googleapis.com/f4/f8/91/9bb06b5e1797b7/WO2008032134A1.pdf>
- Zhong X, Wang G, Fang S, Zhou S, Ishiwata A, Tonevitsky A, Shkurnikov M , Cai H . (2023). Immunomodulatory effect and biological significance of β -glucans. *Pharmaceutics*, 15, 1615. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061615>

ANEXOS

Anexo 1. Registro fotográfico de implementos y materiales usados para el análisis de ambientes efectuado en la Compañía Nacional de levaduras.



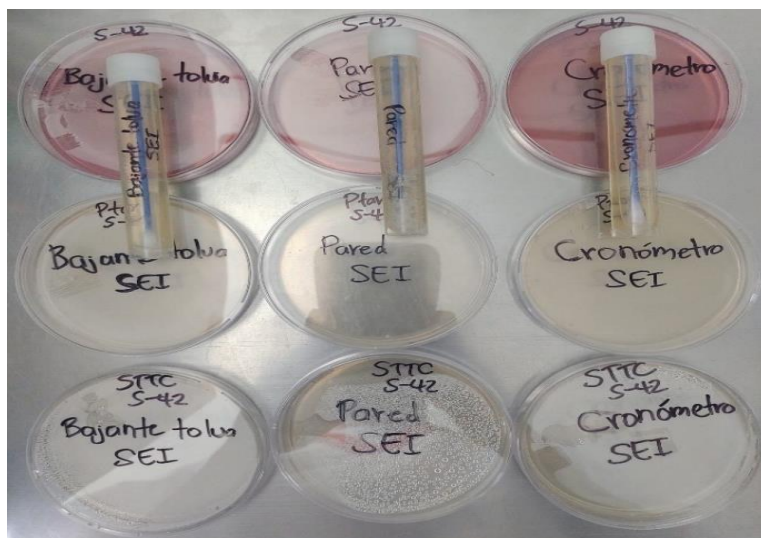
Fuente: Autor

Anexo 2. Registro fotográfico de los resultados de análisis de manipuladores efectuado en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

Anexo 3. Registro fotográfico de los resultados de análisis de superficies efectuado en la Compañía Nacional de Levaduras.



Fuente: Autor

Anexo 4. Registro fotográfico de formato usado para la medición de pH de los medios de cultivo por la Compañía Nacional de Levaduras para los análisis microbiológicos.

 CONTROL DE MEDIOS DE CULTIVO

Pag 1 de 2

CONTROL DE pH

AÑO:

Medio Cultivo	Responsable	Fecha Preparación		Fecha Vencimiento		pH después de esterilizar	Marca del medio	Lote del medio	Observaciones
		Mes	Día	Mes	Día				
CHR	EAM	10	04	10	06	6.871	Scharlau	136943	
VRBG	EAM	10	10	10	12	7.302	Scharlau	129751	
SPS	EAM	10	10	10	12	6.870	Scharlau	136517	
BP	EAM	10	10	10	12	7.167	Scharlau	129158	
S	EAM	10	10	10	12	6.833	Scharlau	138170	
CHR	EAM	10	10	10	12	6.654	Scharlau	136943	
VRBG	EAM	10	11	10	13	7.291	Scharlau	129751	
CHR	EAM	10	11	10	13	6.688	Scharlau	136943	
S	EAM	10	11	10	13	6.928	Scharlau	138170	
P	EAM	10	11	10	13	5.786	Scharlau	137868	
SPS	EAM	10	11	10	13	6.901	Scharlau	136517	
VRBG	EAM	10	12	10	14	7.301	Scharlau	129751	
CHR	EAM	10	12	10	14	6.685	Scharlau	136943	
SPS	EAM	10	12	10	14	6.878	Scharlau	136517	
S	EAM	10	12	10	14	6.902	Scharlau	138170	
P	EAM	10	12	10	14	5.805	Scharlau	137868	
VRBG	EAM	10	15	10	17	7.329	Scharlau	129751	
CHR	EAM	10	17	10	19	6.799	Scharlau	136943	
SPS	EAM	10	15	10	17	6.955	Scharlau	136517	
S	EAM	10	15	10	17	7.002	Scharlau	138170	
P	EAM	10	17	10	19	5.863	Scharlau	137868	
VRBG	EAM	10	18	10	20	7.482	Scharlau	129751	
CHR	EAM	10	18	10	20	6.833	Scharlau	136943	
SPS	EAM	10	18	10	20	7.021	Scharlau	136517	
S	EAM	10	18	10	20	7.085	Scharlau	138170	
P	EAM	10	18	10	20	5.803	Scharlau	137868	
BP	EAM	10	18	10	20	7.362	Scharlau	129158	
VRBG	EAM	10	20	10	22	7.432	Scharlau	129751	
CHR	EAM	10	20	10	22	6.787	Scharlau	136943	
SPS	EAM	10	20	10	22	6.941	Scharlau	136517	
S	EAM	10	20	10	22	6.947	Scharlau	138170	

*Los medios para el aislamiento de patógenos que requiere activar, la persona de efectuado debe registrar su nombre.

Fuente: Autor

Anexo 5. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para los análisis microbiológicos de ambientes.

[illegible]

Fuente: Autor

Anexo 6. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para los análisis microbiológicos de manipuladores.


Compañía Nacional de Levaduras Levapan S.A.

REPORTE DE FROTIS DE MANOS

3. CUARTOS DE EMPAQUE EXTRACTOS DE LEVADURAS Y SABORES

FECHA	OPERARIO	S. AUREUS Negativo	Enterobacterias 0 ufc/cm	COLIFORMES		Responsable
				Totales 0 ufc/cm	Fecales 0 ufc/cm	
23-10-10	Oscar Cuamien	0	0	0	0	Micaela
23-10-10	Cesar Carriles	0	0	0	0	
23-10-10	Robinson Ortega	0	0	0	0	
23-10-10	Alexandro Barbosa	0	0	0	0	
23-10-10	Walter Paredes	0	0	0	0	
23-10-10	Cristian Lopez	0	0	0	0	
23-10-10	Gustavo Pineda	0	0	0	0	
23-10-10	Gustavo Blanco	0	0	0	0	
23-10-10	Juan Carlos Narino	0	0	0	0	
23-10-19	Francisco Gonzalez	0	0	0	0	
23-10-19	Agustin Diaz	0	0	0	0	Jessica
23-10-29	Gustavo Cruz					
23-10-29	Oscar Vietman					
23-10-29	Jose Corton					

ACCIONES CORRECTIVAS		
FECHA	INFORMA	DESCRIPCIÓN

Fuente: Autor

Anexo 7. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para la verificación de prácticas higiénicas de los manipuladores.

 **Compañía Nacional de Levaduras Levapan S.A.**

VERIFICACIÓN DE LAS PRÁCTICAS HIGIÉNICAS

FECHA	NOMBRE DEL TRABAJADOR	SECCIÓN	EMPRESA	CRITERIOS DE VERIFICACIÓN												RESPONSABLE	OBSERVACIONES	ACCIONES CORRECTIVAS
				HIGIENE PERSONAL	UNIFORME LIMPIO, EN BUENAS CONDICIONES Y ACORDE AL DÍA	CABELLO CORTADO Y SUJETO (USO DE COPIA)	UTILIZA TAPABOCAS EN LAS ÁREAS DESTINADAS A LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS (BARRAS, BARRAS)	SE UTILIZA ZAPATOS CERRADOS, SIN TAPAS, SIN TAPAS DESTINADAS	SE UTILIZA ZAPATOS EN ÁREAS DESTINADAS	USO CORRECTO DE DELANTALES	USAS CORBAS Y LIMPIAS	SE UTILIZA LA MANO DERECHA PARA MANEJAR EL PRODUCTO	EVIDENCIA EL LAVADO DE MANOS	LENTES CON BANDAS AJUSTABLES	AUSENCIA DE JOWAS (CADERNAS, ANILLOS, RELOJES)			
23-10-10	Oscar Guarnizo	SEI	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23-10-10	Cesar Corrales	SEI	SE Buga	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23-10-10	Alejandro Barbosa	GEA	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	Edgar	
23-10-10	Robinson Orozco	GEA	Beol	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23-10-10	Wermar Paredes	GEA	SE Buga	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/11	Marlon Obando	FRU	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	Edgar	
23/10/11	David Viveros	Corte	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/11	Alvaro Quintero	Corte	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/11	Hector Casañas	Corte	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/17	Juan P. Villada	FRU	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	Edgar	
23/10/17	Francisco Díaz	Corte	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/17	Jairo Carcedo	Corte	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/17	Jorge Cruz	Corte	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/18	Cristian López	SEI	Beol	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	Edgar	
23/10/18	Gustavo Aguirre	Zona roja	SE Buga	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/18	Gustavo Blanco	Zona roja	Levapan	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/18	Juan Carlos Nario	Zona roja	SE Buga	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/18	Francisco Gonzales	GEA	Adecco	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	Edgar	
23/10/19	Agustin Diaz	GEA	Beol	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
23/10/24	Gustavo Cruz	SEI	Beol	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		

CONVENCIONES

✓ Se marca en la casilla correspondiente de esta manera si se cumple con la descripción

X Se marca en la casilla correspondiente de esta manera si NO se cumple con la

Fuente: Autor

Anexo 8. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para análisis de superficies.

Compañía Nacional de Levaduras Leaven S.A.
REPORT DE RESULTADOS DE VERIFICACION DE EQUIPOS Y SUPERFICIES

FECHA	MUESTRA	RESPONSABLE DEL MUESTRO	VERA DEL MUESTRO	Leaven	RTG	Cultivos Tubos	L. col	RTI	Leaven	Submalla	L. de tipo	Estadístico	OBSERVACIONES	ACCION CORRECTIVA
23-10-09	Semana 1 GEA													
	Pala de pesaje				0	0	0	0-0				0		
	Banda transportadora				0	0	0	0-0				0		
	Punto aleatorio	Puerta			0	0	0	0-0				0		
23-10-10	Semana 2 GEA													
	Rejilla aire				0	0	0	0-0				0		
	Balanza	Pantalla Balanz.			0	0	0	0-0				0		
	Punto aleatorio				0	0	0	0-0				0		
	Semana 3 GEA													
	Cuchara de pesaje				0	0	0	0-0				0		
	Mesa				0	0	0	0-0				0		
23-10-20	Punto aleatorio	Puerta			0	0	0	0-0				0		
	Semana 4 GEA													
	Cronometro													
	Pared													
	Punto aleatorio													
23-10-09	Semana 1 SEI													
	Pala de pesaje				0	0	0	0-0				0		
	Banda transportadora				0	0	0	1-0				0		
	Punto aleatorio	Resto			0	0	0	0-0				0		
	Semana 2 SEI													
	Cuchara de pesaje				0	0	0	0-0				0		
23-10-10	Balanza				0	0	0	0-0				0		
	Punto aleatorio	Boquilla			0	0	0	0-0				0		
23-10-19	Semana 3 SEI													
	Cuchara de pesaje				0	0	0	0-0				0		
	Mesa				0	0	0	0-0				0		
	Punto aleatorio	Puerta			0	0	0	0-0				0		
	Semana 4 SEI													
	Cronometro													
	Pared													
	Punto aleatorio													

	Superficies en contacto directo con			Superficies no se encuentra contacto directo con			Agua condensado		Material empacado	Distribución
	En proceso	Limpia	Desinfectada	En proceso	Limpia	Desinfectada	Limpia	Desinfectada		
RTG	50	10	2	100	50	10	50	10	5	10
Col. Tubos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L. col	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L. col	5-5	5-5	0-0	20-20	5-5	0-0	5-5	0-0	2-2	2-2
Boquilla zenzur	10	10	<10	50	50	<10	50	<10		
Boquillo de pesaje	0	0	0	0	0	0	0	0		
Boquillo de pesaje	Asencia	Asencia	Asencia	Asencia	Asencia	Asencia				
Boquillo de pesaje	Asencia	Asencia	Asencia	Asencia	Asencia	Asencia				
Boquillo de pesaje	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Autor

Anexo 9. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levaduras para el registro de muestras de laboratorio para su análisis.

 **Compañía Nacional de Levaduras Levapan S.A**
REGISTRO DE MUESTRA LABORATORIO

FECHA: 25-10-23
073 V001

Pag 1de

Las muestras ingresan con un código dependiendo del punto de muestreo y de la procedencia. El consecutivo inicia el día lunes con el 001 y termina el día domingo. Las muestras están identificadas con un número (punto de muestreo) y luego el consecutivo.

En la segunda hoja esta los números desde el 1 hasta 340 para marcar las muestras que van ingresando, en el caso de superar este número, seguir con el consecutivo.

Planta de Levaduras:
PC: Se coloca el PC
Mosto stock, Mosto generación: Se coloca solo el número consecutivo.
Crema Stock (3), Generación (6), Finales de fermentación (8), Cremas (9-9A), PT. Levadura Lb-Bto (12), Levadura seca (14)

Planta de Proteínas:
Producto líquido de extractos (1), Producto seco a granel o terminado (2), Proteína Vegetal hidrolizada (PVH), Producto de planta de sabores (SPC o SPP)

Otras muestras:
Muestras de planta piloto (5), muestras Semanales (S), Materias Primas (MP)

HORA	CODIGO	MUESTRA	NÚMERO DE ANÁLISIS	ANALISTA
	3.074	[REDACTED] 4-6 S-1	3	EAM
	9A-075	[REDACTED] PM-8 C1	2	EAM
	9A-076	[REDACTED] PM-8 C2	2	EAM
	8.077	[REDACTED] PM 7 F7	2	EAM
	9A-078	[REDACTED] PM 7 C5	2	EAM
	9A-079	[REDACTED] PM 7 C8	2	EAM
	8.080	[REDACTED] PM 5 F5	2	EAM
	9A-081	[REDACTED] PM 5 C14	2	EAM
	12-082	Lb [REDACTED] L: [REDACTED]	3	EAM
	14-083	[REDACTED] L: [REDACTED]	3	EAM
	1.084	EXLV VLS AGGL 1111 AUT: [REDACTED] (9)	2	EAM
	1.085	EXLV VLS 1111 AUT: [REDACTED] TQ2 (9)	2	EAM
	2.086	Biolev Rich F-Ye VLS AGGL L: [REDACTED] C: [REDACTED]		EAM
	2.087	Biolev Rich F-Ye Savory PWD L: [REDACTED] C: [REDACTED]		EAM
	2.088	Biolev Rich F-Ye Savory PWD L: [REDACTED] C: [REDACTED]		EAM
	2.089	Biolev Rich F-Ye VLS AGGL L: [REDACTED] C: [REDACTED]		EAM
	9.090	Seguimiento 25/10/23 [REDACTED] EQ3 C10	2	EAM

Fuente: Autor

Anexo 12. Registro fotográfico de formato usado por la Compañía Nacional de Levadura para el análisis de conteo de células vivas.

FECHA	MUESTRA	% CELULAS VIVAS	CELULAS X GRAMO	CELULAS VIVAS X GRAMO	CÁLCULOS
23.09.08	3-307-3308	79,9%	$2,3 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^{10}$	(453-85)81,2% (495-105)78,7%
23.09.08	3-309-3310	74%	$2,3 \times 10^{10}$	$1,7 \times 10^{10}$	(475-112)71% (467-111)76%
23.09.09	3-311-3312	77%	$2,2 \times 10^{10}$	$1,7 \times 10^{10}$	(489-106)75% (478-96)79%
23.09.09	3-313-3314	78%	$2,4 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^{10}$	(462-102)77% (500-110)78%
23.09.11	3315	76%	$2,2 \times 10^{10}$	$1,6 \times 10^{10}$	(433-104)75% (460-110)76%
23.09.12	3316-3317	77%	$2,4 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^{10}$	(474-113)76% (401-81)79%
23.09.12	3-318-1 3-319-1	79,2%	$2,1 \times 10^{10}$	$1,7 \times 10^{10}$	(362-90)80% (333-91)78,5%
23.09.13	3320-3321	76%	$2,0 \times 10^{10}$	$1,5 \times 10^{10}$	(406-104)74% (394-85)78%
23.09.13	3-331-1 3-332-1 3-333-1	67,1%	$1,8 \times 10^{10}$	$1,2 \times 10^{10}$	(234-124)65,3% (251-116)61% Permutación
23.09.14	3322-3323	74%	$2,1 \times 10^{10}$	$1,6 \times 10^{10}$	(450-117)74% (425-103)75%
23.09.15	3324-1	81%	$2,0 \times 10^{10}$	$1,6 \times 10^{10}$	(420-84)80% (322-66)82%
23.10.12	3-327-1 3-328-1	71,2%	$2,2 \times 10^{10}$	$1,5 \times 10^{10}$	(314-134)70,1% (325-124)72,3%
23.10.12	3-329-1 3-330-1	79,7%	$2,4 \times 10^{10}$	$1,9 \times 10^{10}$	(515-115)77,6% (480-87)81,3%
23.10.13	3-331-1 3-332-1	77,6%	$2,7 \times 10^{10}$	$2,1 \times 10^{10}$	(535-115)78,5% (555-125)77,4%
23.10.14	3-333-1 3-334-1	67,2%	$2,1 \times 10^{10}$	$1,4 \times 10^{10}$	(297-133)69% (283-148)65,5%
23.10.17	3-335-1 3336-1	74%	$2,4 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^{10}$	(465-119)74% (508-122)75%
23.10.18	3337-1 3338-1	74%	$2,2 \times 10^{10}$	$1,6 \times 10^{10}$	(440-110)75% (463-118)74%
23.10.19	3339-1 3340-1	76%	$1,9 \times 10^{10}$	$1,4 \times 10^{10}$	(416-98)76% (372-86)76%
23.10.20	3-341-1 3-342-1	79,6%	$2,8 \times 10^{10}$	$2,2 \times 10^{10}$	(442-100)78,5% (461-92)77,8%
23.10.20	3343-1 3344-1	77%	$2,5 \times 10^{10}$	$1,9 \times 10^{10}$	(504-114)77% (518-116)77%
23.10.21	3345-1 3346-1	78,3%	$2,7 \times 10^{10}$	$2,1 \times 10^{10}$	(554-116)79% (540-120)77,7%
23.10.21	3347-1 3348-1	74%	$2,3 \times 10^{10}$	$1,7 \times 10^{10}$	(490-129)73% (446-110)75%
23.10.21	3349	74%	$2,2 \times 10^{10}$	$1,6 \times 10^{10}$	(427-102)76% (475-131)72%
23.10.23	3-350-1 3-351-1	75%	$2,5 \times 10^{10}$	$1,9 \times 10^{10}$	(370-130)74% (407-127)76%
23.10.24	3350	64%	$1,8 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{10}$	(375-134)64% (363-124)65%
24.10.23	3-352-1 3-353-1	77,8%	$2,2 \times 10^{10}$	$1,7 \times 10^{10}$	(375-101)78,8% (330-105)72,8%

Fuente: Autor