

**CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA MATERIA PRIMA
PROCESADA EN LA PLANTA PULVERIZADORA DE LA COOPERATIVA
COLANTA PLANETA RICA-CÓRDOBA**

NAUDITH JUDITH CUADRADO AYALA

**Trabajo de grado presentado para optar al título de
Bacteriólogo(a)**

LINDA MARÍA CHAMS CHAMS M.Sc

Director(a)

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA
MONTERÍA**

2014

DEDICADO A

A Mi madre Nelsy Ayala

Que con su esfuerzo y dedicación

Me impulso a conseguir esta meta.

AGRADECIMIENTOS

Quiero dar gracias primeramente a Dios, pues sin él nada es posible, él me regalo la vida y la salud para llevar a cabo este proyecto, él es mi guía en cada camino que tomo. Soy por él y en él

A mi Madre que siempre ha estado allí alentándome a luchar cada día por lo que quiero, a perseguir mis sueños, ella es mi mayor ejemplo de esfuerzo, sacrificio y dedicación, y también mi mayor motivación.

A mi segundo padre José Hernández y mis hermanos por quienes cada día intento ser alguien mejor para ser un buen ejemplo.

A mi abuela Miguelina que siempre me aconsejo seguir el buen camino, estudiar y superarme, y que lastimosamente partió de este mundo sin poder presenciar el cumplimiento de esta meta.

A mi tutora de trabajo de grado La Dra. Linda Chams por su apoyo en todo este proceso.

A todo el personal de la planta pulverizadora Colanta Planeta Rica, en especial a Maritza Santa Cruz Coordinadora de control de calidad, Brenda Cárdenas supervisora, la Dra. María Cristina Otero Bacterióloga del Laboratorio de Microbiología, a Mi amiga y Auxiliar del mismo Alba Urango, a los auxiliares de centro de acopio y recibo de leche quienes muy amablemente me colaboraron con la toma de muestra, todos ellos quienes estuvieron acompañándome y asesorándome en todo el desarrollo de este proyecto y sin cuya ayuda no hubiese sido posible.

Al Dr. Gustavo Quintero quien siempre estuvo presto a colaborarme en la resolución de las dudas que se me presentaron y cuya asesoría me fue de gran ayuda.

A la Dra. Virginia Rodríguez por impulsarme a tomar esta oportunidad.

A mis amigas y amigos de quienes escuche voces de aliento cuando las necesite, que me apoyaron en el proceso y convirtieron momentos de estrés y desespero en momentos más llevaderos (Angie, Carlos, Natalia, Leyand, Sandra Jesús David , Sindy y Yeimi)

A mi alma mater la Universidad de Córdoba que me ha permitido formarme como profesional y como persona.

Y en general a todo el cuerpo de docentes del programa de Bacteriología quienes sentaron en mí las bases que me permitieron desarrollar este trabajo.

A estas y muchas más personas que de una u otra manera han estado conmigo a lo largo de estos casi 5 años de carrera muchas gracias, Dios les bendiga

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION	8
2. MARCO TEORICO	10
2.1. Factores relacionados con la higiene de la ordeña	10
2.2. Factores relacionados al almacenamiento y al transporte	10
2.3. Microbiología de la leche	11
3. OBJETIVOS.....	13
4. METODOLOGÍA	14
5. RESULTADOS Y ANALISIS	18
5.1. Caracterización de leche proveniente de las rutas Seleccionadas	18
5.2. Caracterización de leche transportada en mulas.....	18
5.3. Caracterización de leche transportada en carrotaques provenientes de diversas rutas.	19
5.4. Cambios microbiológicos por semanas	22
5.5. Cambios microbiológicos de la leche desde su llegada a la planta hasta su entrada a procesos de transformación.....	27
5.6. Comparativo de recuentos de microorganismos en leche transportada hasta la planta en diferentes medios de transporte.....	34
6. DISCUSION.....	35
7. CONCLUSIÓN	37
8. RECOMENDACIONES	38
9. BIBLIOGRAFIA.....	38
10. ANEXOS	41

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA MATERIA PRIMA PROCESADA EN LA PLANTA PULVERIZADORA DE LA COOPERATIVA COLANTA, PLANETA RICA-CÓRDOBA

RESUMEN

La excelencia de la leche comercial y de sus derivados, elaborados en la industria de lácteos, depende directamente de la calidad del producto original o materia prima proveniente de las zonas de producción y de las condiciones de transporte, conservación y manipulación en general hasta su llegada a la planta, por lo tanto la calidad de los productos que llegan al consumidor y por consiguiente el éxito y buen nombre de la empresa dependen del control que se lleve sobre la leche cruda como materia prima. Con el propósito de determinar el comportamiento de la calidad higiénica de la leche como materia prima que se recibe en la Planta pulverizadora de la cooperativa Colanta Planeta Rica, se analizó un total de 218 muestras de leche cruda (fría), provenientes de carro tanques que transportaban leches de las rutas de Tierralta, Tierra Santa, Caucasia y Arenoso, y leche transportada en tracto camiones de Santa Rosa, Yarumal y Barranquilla; incluyendo en el análisis muestras de Silos en los que se almacenan la totalidad de la leche y muestras de leche provenientes de diversas rutas, diferentes a las inicialmente mencionadas; además se le realizó luminometría a 9 silos que se encontraron vacíos. Las muestras fueron recolectadas en diferentes semanas, de enero a junio, que cubrían épocas de lluvias y verano. Los parámetros microbiológicos analizados fueron el recuento total de microorganismos mesófilos aerobios como principal indicador de la calidad higiénica, obteniendo como resultados un valor medio de recuento de mesofilos para la ruta de Tierra Santa de 343×10^3 ufc/ml, 455×10^3 ufc/ml para la ruta de Arenoso, 1.460×10^3 ufc/ml para Caucasia y 1.640×10^3 ufc/ml para Tierralta, en leche de carro tanques de otras rutas se obtuvo un promedio de 1.100×10^3 ufc/ml, y 830×10^3 ufc/ml en leche transportada en tracto camiones; como indicadores adicionales se determinó la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) de esporas Mesófilas aerobias y los patógenos *Estafilococo coagulasa positivo* y *Bacillus cereus*. El 77,7% (7) de las luminometrías realizadas se encontraron por encima de los parámetros permitidos como indicadores de limpieza. Concluyéndose que la leche que llega hasta La planta pulverizadora Colanta planeta rica es de mediana calidad ya que el 50% de esta cumple con lo establecido en el marco normativo de la NTC399 como límite máximo en el recuento de mesofilos, mientras que el 50% restante incumple esta. No se observaron cambios significativos en la caracterización microbiológica de las rutas con respecto a las épocas en que fueron tomadas.

Palabras claves: calidad microbiológica, leche cruda, silos, carrotanques, luminometria.

ABSTRACT

The commercial milk excellence and its derived, made in the milky company, depends mainly in the quality of the original product or the raw material that comes from the production zones and the transport condition, conservation and manipulation in general on the arriving to the plant. Therefore, the products quality that the consumer gets and consequently, the company success and good reputation depends on the control that is made on the raw milk as a raw material, with the purpose to determinate the hygienic quality milk behaviour as the raw material that is gotten from the Planeta Rica pulverized plant corporation, it was analyzed 218 raw milk (cold) samples total, coming from tanks car that were transporting milk from Tierralta, Tierra Santa, Caucasia and Arenoso ; milk

transported in trucks from Santa Rosa, Yarumal y Barranquilla routes. Including the Silos samples analysis in which all the milk is stored and the milks samples that come from several routes, that are different from the ones mentioned before; besides it was made the luminometer to 9 silos that were found empty. The samples were recollected in different weeks, from January to June that covered the rainy and summer seasons. The microbiological parameters analyzed were the total re-count the aerobics mesophylic microorganism as the main indicator of the hygienic quality, getting as results a half value of the mesophylic re-count to the Tierra Santa's route of 343×10^3 UFC/mL, 455×10^3 UFC/mL to the Arenoso's route, $1,460 \times 10^3$ UFC/mL to Caucasia and $1,640 \times 10^3$ UFC/mL to Tierralta , in tank's car milk from another routes was gotten the average of $1,100 \times 10^3$ UFC/mL and 830×10^3 UFC/mL in milk transported in trucks; as additional indicators was determined the colonies forming unites (CFU) of aerobic mesophylic spores and the positive coagulase *Staphylococcus* pathogens and *Bacillus cereus*.

The 77.7% (7) of luminometer made were found over the allowed parameters as the cleaning indicators. Concluding that the milk that goes to Colanta's Planeta Rica pulverized planta is of a half quality due to the fact that the 50% of it fulfills on what it is established in the NTC399 normative setting as the maximum limit in the mesophylic re-count, while the 50% remaining doesn't fulfill it. It was not observed significant changes in the microbiological characterizations routes regarding in the ages in which they were taken.

Keywords: microbiological quality, raw milk, silos, tank cars, luminometry.

1. INTRODUCCION

La leche es el producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos, bufalinos y caprinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños completos, sin ningún tipo de adición, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración posterior.¹ Dentro de los múltiples factores que pueden afectar la calidad de la leche esta la presencia de microorganismos que contaminan la misma debido a su amplia distribución pudiendo constituir la fuente de tal contaminación desde el personal que participan en la obtención de la leche, los diferentes recipientes en los que es envasada, los medios de transporte, los mismos animales si no se encuentran en buen estado, entre otros.

La leche es rica en grasa, proteína, azúcares, vitaminas y minerales lo que hacen de ella un alimento muy completo, pero muy susceptible a posibles contaminaciones. Por este motivo, la leche requiere controles muy estrictos. Si bien son incuestionables las cualidades nutritivas de la leche y los productos lácteos, no es menos cierto que, desde su síntesis en la glándula mamaria, hasta su llegada al consumidor, están sometidos a un gran número de riesgos que hacen peligrar la calidad original.²

Estos riesgos son: la contaminación y multiplicación de microorganismos, contaminación con gérmenes patógenos, alteración físico-química de sus componentes, absorción de olores extraños, generación de malos sabores y contaminación con sustancias químicas tales como pesticidas, antibióticos, metales, detergentes, desinfectantes, partículas de suciedad, etc. Todos éstos, ya sea en forma aislada o en conjunto, actúan en forma negativa sobre la calidad higiénica y nutricional del producto y, consecuentemente en contra de la salud pública y economía de cualquier país.³

Es por ello, que el desafío para quienes trabajan en el sector lechero no sólo es producir mayor cantidad de leche, sino también, de alta calidad higiénica, y para ello deben contemplarse aspectos fundamentales, como lo son, la higiene microbiológica, química y estética. Tres aspectos, que unidos, pueden

contribuir favorablemente a la mejora del sector lechero, Es así, que la higiene de la leche y salud pública, son dos aspectos que se conectan mediante una sola palabra, Calidad.

Así mismo, la calidad de la leche cruda es influenciada por múltiples condiciones entre las que se destacan los factores zootécnicos, asociados al manejo, alimentación y potencial genético de los animales así como factores relacionados a la obtención y almacenamiento de la leche recién ordeñada. Los primeros, son los responsables por las características de la composición de la leche y por la productividad.⁴ La obtención y almacenamiento de la leche cruda, por otro lado, se relaciona directamente con la calidad microbiológica del producto, determinando inclusive su tiempo de vida útil.⁵

En la Planta Pulverizadora Colanta de Planeta Rica, se recibe la leche cruda que llega en distintos medios de transportes como carro tanques y tracto camiones, y hasta el momento esta no se había caracterizado microbiológicamente; de igual manera tampoco se tenía conocimiento de los cambios que sufría la leche cruda en los silos hasta el momento de su utilización y los factores que podrían estar influyendo en esos cambios, y dado que la materia prima constituye un punto de control dentro del marco del HACCP implementado en la planta, se hacía necesaria la realización de investigaciones que dieran como resultado la caracterización microbiológica de esta.

2. MARCO TEORICO

Dentro de los principales factores que afectan los parámetros de la calidad de la leche cruda, relacionados al manejo y alimentación de los animales, así como, de la obtención y conservación del producto en los establos lecheros y centros de acopio se pueden señalar los siguientes:

2.1. Factores relacionados con la higiene de la ordeña

La obtención de leche constituye la etapa de mayor vulnerabilidad para que ocurra la contaminación por suciedad, microorganismos y sustancias químicas presentes en el propio local de ordeña, y que, puede ser inmediatamente incorporado al producto. La carga microbiana inicial de la leche, está directamente relacionada a la limpieza de los utensilios utilizados, su almacenamiento y transporte. De esta forma, la higiene y sanitización deficiente de los ordeñadores, baldes, perolas y sistema de ordeño son mencionados como los principales factores responsables por el aumento de este parámetro.

La calidad del agua utilizada para lavar los utensilios equipo de ordeña y pezones de los animales, es fundamental para evitar la contaminación de la leche. Considerando, que la superficie de los pezones representa una importante fuente de contaminación de la leche, se concluye, que la limpieza y desinfección de los mismos antes de la ordeña contribuye significativamente para el control de los niveles del conteo total bacteriano (CTB). Se estima que más del 95% de las causas de elevados CTB son por deficiencias en el lavado, higiene y sanitización de equipos y utensilios de ordeño, o están asociados a las deficiencias de enfriamiento del producto recién ordeñado.^{3, 5,6}

2.2. Factores relacionados al almacenamiento y al transporte

La mayor parte de la leche producida en los establos es almacenada en perolas, los cuales, son llevados posteriormente a los centros de acopio para su refrigeración y ser finalmente transportados a la industria láctea; este flujograma, ha sido utilizado por varias décadas y constituye hasta hoy la

principal forma de captación de leche por las industrias. Sin embargo, este modelo necesita de una profunda revisión, una vez, que la implementación de programas de calidad total de las empresas, deberá exigir cada vez, mayor calidad de leche cruda.⁷

La relación tiempo-temperatura asume destacada relevancia para la conservación de la leche recién ordeñada, es así, que la cadena fría es fundamental para prevenir la multiplicación de los microorganismos patógenos. La cadena de frío desde la finca como a lo largo de toda la cadena productiva, es una variable importante en la conservación de la calidad de la leche, el establecimiento de ésta, ayuda a generar productos de mejor calidad; una deficiente infraestructura de la red de frío, es una de las limitantes más graves para el fortalecimiento de la industria láctea, también el inadecuado transporte agrava la deficiente calidad de la leche fresca, ya que al hacer uso de vehículos no aptos sin ningún tipo de refrigeración y el recorrido de largas distancias, se favorece el crecimiento bacteriano, muchas veces ayudado por las altas temperaturas ambientales.⁸

2.3. Microbiología de la leche

2.3.1. Esporuladas: los *Bacillus* son bacterias aeróbicas con actividad enzimática variada producen acidificación, coagulación y proteólisis. Los *Clostridium* son anaerobios estrictos, producen gas. Algunos producen toxinas patógenas (*Clostridium botulinum*).

Ambos géneros son de poca importancia en leche cruda, su crecimiento es inhibido por las bacterias lácticas. Cobran importancia en productos lácteos como en leche pasteurizada, quesos fundidos, leches concentradas, quesos de pasta cocida. Resisten la pasteurización por su capacidad de producir esporas, las cuales solo se destruyen a temperaturas por encima de 100 °C.

2.3.1.1. *Bacillus cereus*. Crece por debajo de los 10°C. La actividad proteolítica y lipolítica se mantiene a esa temperatura y a veces está potenciada. Estas bacterias son de importancia tecnológica, porque además de desarrollarse a bajas temperaturas, sus enzimas proteolíticas y lipolíticas son termoestables (no así las bacterias que se destruyen), no se destruyen con la

pasterización y siguen actuando en los subproductos. Cuando están presentes en un número elevado, pueden causar alteraciones en el sabor.⁹

2.3.2. Pseudomonas: Más del 50% de la flora Gram negativa de la leche cruda está representada por este género. Juegan un papel importante en la conservación de productos lácteos, ya que además de ser psicrófilas, varias especies tienen un gran poder proteolítico y lipolítico. Además se ha descrito que algunas de estas enzimas resisten temperaturas por encima de los 80 °C, por lo cual pueden causar alteraciones aún en productos elaborados con leches pasteurizadas.⁹

2.3.3. Enterobacteriaceae: Restos de materia fecal pueden contaminar los alimentos con patógenos fecales. Antiguamente se asoció el hallazgo de Enterobacterias en leche con a una contaminación con materia fecal. Hoy se sabe que muchas Enterobacterias se multiplican fuera del intestino y su relación con una contaminación fecal se reduce solamente a una sospecha.

2.3.4. Bacterias Psicrotrofas: Se denominan psicrotrofas a aquellas bacterias que pueden desarrollarse desde -5 hasta 20°C. Su temperatura óptima de desarrollo es de 12 a 15°C. Origen: suelo, aire, agua, forrajes, equipamiento, materia fecal. Pertenecen a las Psicrotrofas los siguientes géneros: Pseudomonas, Alcalígenes, Lactobacillus, Micrococcus, Streptococcus y géneros de la Familia Enterobacteriaceae. Las bacterias Psicrotrofas se encuentran en la leche en forma proporcional al recuento total de bacterias: Leche con bajos recuentos de bacterias: 10% de psicrotrofas. Leche con altos recuentos de bacterias: hasta 75% de psicrotrofas. Producen enzimas lipolíticas y proteolíticas resistentes a los tratamientos UHT (Ultra Alta Temperatura).⁹

2.3.5. Hongos, levaduras y mohos: Algunos géneros de levaduras y mohos son de importancia para la industria láctea. Su presencia indica deficientes condiciones higiénico-sanitarias. Pueden producir deterioros en la leche o en productos derivados. Los hongos que producen micotoxinas resultan muy peligrosos, sobre todo a que estos metabolitos son termoresistentes. Algunas

especies son utilizadas como cultivos lácteos para el afinado de los quesos madurados como el *Penicillium candidum* y *Penicillium camemberti*.⁹

2.3.6. Bacterias Termodúricas: En la industria lechera se denominan así a las bacterias que son resistentes a la Pasterización (30 minutos a 63-65°C).

Origen: suelo, forrajes, silaje, barro, bosta, equipamiento. La temperatura óptima de crecimiento de este grupo de bacterias por lo general se halla entre 20 – 40 °C. Pertenecen a este grupo las bacterias esporígenas aerobias y anaerobias, *Pseudomonas*, microbacterias, micrococcos, *Lactobacillus*, *Corinebacterias*, algunos *Streptococcus*, *Alcalígenes*. En leche cruda su presencia indica falta de higiene del equipamiento de ordeño. ⁹

3. OBJETIVOS

General

Determinar la calidad microbiológica de la leche como materia prima utilizada en la planta pulverizadora de la Cooperativa Colanta Planeta Rica.

Específicos

Determinar la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de microorganismos mesófilos aerobios, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus coagulasa positiva* y esporas mesófilas aerobias en la leche cruda.

Determinar la influencia climática en la calidad microbiológica de la leche cruda.

Analizar los cambios microbiológicos sufridos por la leche desde su llegada a la planta hasta la entrada a proceso y los factores que influyen en ellos.

4. METODOLOGÍA

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de microbiología de la planta Pulverizadora de la Cooperativa Colanta - Planeta Rica. Inicialmente se estableció con los directivos del área de control calidad de la cooperativa, que el análisis microbiológico se le realizaría a la leche cruda transportada en carro tanques provenientes de la ruta con peor historial microbiológico, mejor historial microbiológico, la ruta más cercana y más lejana de la planta.

Para establecer cuál era la mejor y la peor ruta microbiológicamente hablando, se tomaron durante dos semanas muestras de cada una de las 11 rutas que llegaron a la planta durante la semana, y se les realizó recuento de microorganismos mesófilos como el principal indicador de la calidad higiénica, basado en la resolución 000017 de 2012 “Por el cual se establece el sistema de pago de la leche cruda al proveedor” y la Norma Técnica Colombiana NTC 399, la cual establece los requisitos que debe cumplir la leche cruda como materia prima para su industrialización ^{10,11}. La ruta más cercana y la más lejana fue establecida por el supervisor de recibo de leche.

Los promedios de UFC/mL de mesofilos del muestreo de todas las rutas se relacionan en la tabla 1.

Tabla 1. Promedio de mesofilos por rutas

RUTAS	PROMEDIO UFC/mL MESOFILOS
San Onofre	2.845.000
Arenoso	493.333
Centro Alegre	1.536.250
Particular	200.000
Arboletes	2.300.000
Cerete	1.750.000
Tierra Santa	135.000
Caucasia	1.285.000
Tierralta	4.200.000
Montelibano-Ayapel	725.000
Sahagún	796.667

Habiendo definido las rutas a muestrear, se procedió a realizar un plan estadístico para saber cuántas muestras se deberían tomar para el estudio, teniendo como tiempo de duración de este 10 semanas divididas entre verano e invierno, y teniendo en cuenta que son 4 rutas las que se pretenden muestrear:

1. Ruta con mejor historial microbiológico, 2.Ruta con peor historial microbiológico, 3.Ruta más cercana a la planta y 4.Ruta más lejana a la planta.

Si el tiempo de muestreo tiene una duración de 10 semanas y cada ruta viene en promedio 3 veces por semana, para un total de 30 veces por cada ruta en esas 10 semanas, tendríamos un total 120 veces por las 4 rutas en ese lapso de tiempo, lo cual equivaldría a mi población de estudio.

Tomando la fórmula para calcular el tamaño de muestra necesario tengo que Con esa población necesitaría tomar 83 muestras lo que dividido entre las 4 rutas me daría un valor de 21 muestras necesarias por cada ruta, es decir que tomando 2 muestras por semana de cada ruta completaría el tamaño de muestra necesario para obtener un nivel de confiabilidad para el estudio equivalente al 90% con un porcentaje de error del 5%. Según la metodología descrita por morales et al. 2013

FÓRMULA PARA CALCULAR TAMAÑO DE LA MUESTRA

Remplazando formula	
$n = \frac{N}{1 + \frac{e^2(N-1)}{Z^2pq}}$	$n = \frac{120}{1 + \frac{(0.05)^2(120-1)}{(1,65)^2(0,25)}}$
n= 83	
<p>n=tamaño de muestra a conocer N= tamaño de la población e= error (%) Pq=varianza de la población Z= nivel de confianza (un equivalente asignado para cada nivel de confianza)</p>	

Tomada de Morales Vallejo et al. (2013).¹²

Habiendo determinado el número de muestras necesarias de carro tanque se procedió a iniciar el muestreo, las muestras de tracto camiones y de las rutas diferentes a las seleccionada se toman con el fin de obtener información de la calidad de la leche que en ellas llega ya que esta es vertida de igual manera en los silos y como se necesita conocer los cambios microbiológicos que sufre la leche en esos contenedores es necesario conocer la calidad microbiológica de la totalidad de la leche que en ellos se vierte para llevar la trazabilidad de la leche proveniente de carro tanques que es en la cual se centra este estudio.

Para realizar el muestreo, cada semana se disponía de la programación de las rutas de carro tanque que llegarían a la planta durante dicha semana, inicialmente se tomaron muestras de los contenedores en los que se iba a verter la leche (silos), si estos se encontraban vacíos se les realizaba luminometria y si tenían contenido, se muestreaba este y se anotaba la procedencia de ese contenido; se tomaban muestras de la leche en carro tanques provenientes de las rutas antes definidas, mulas y demás rutas; y se muestrea nuevamente el silo cuando este se encontraba lleno o cuando el contenido se disponía a entrar a proceso para ser transformados en los diferentes derivados lácteos. Las muestras del silo contenedor de la leche proveniente de canecas se realizó de lunes a miércoles durante la semana tomando una muestra cada uno de estos días, los datos de la leche de canecas que se vertían en el silo se conocían de manera aparte a este estudio ya que rutinariamente de domingo a lunes estas se siembran para recuento de UFC/mL con el propósito de pago a productores. Las muestras analizadas se relacionan en la Tabla 2.

Tabla 2. NUMERO DE MUESTRAS Y ANALISIS REALIZADOS.

Análisis	Numero de muestras				TOTAL
	Carro tanques rutas a caracterizar	Tracto camiones	Silos	Carro tanques de otras Rutas	
	83	23	68	44	218
Mesofilos	X	x	x	x	218
<i>Staphylococcus</i>	X	x	x	x	218
<i>Bacillus cereus</i>	X	x	x	x	218
Esporas mesófilas aerobias	X	x	x	x	218
Total análisis	260	92	344	176	872

A cada una de las muestras se les realizó recuento de UFC/mL de Mesófilos como indicador principal de la calidad microbiológica y como parámetros adicionales se realizó recuento de UFC/mL de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y Esporas mesófilas aerobias. La metodología utilizada para cada uno de los análisis es la relacionada en la tabla 3.

Tabla 3. METODOLOGIA Y PARAMETROS EMPLEADOS.

METODOLOGIA Y PARAMETROS A ANALIZAR ¹³	
PARAMETRO	METODOLOGIA
Recuento de mesofilos aerobios	Método oficial A.O.A.C. 989.10
Recuento de <i>Staphylococcus</i> coagulasa positiva	Técnica Invima
Recuento de <i>Bacillus cereus</i>	Técnica Invima
Recuento de esporas mesófilas aerobias	Técnica Invima

La escogencia de los parámetros adicionales a analizar se dio basados en los indicadores que hacen parte del programa Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (HACCP), implementado en la planta, en este caso el recuento de *Staphylococcus*, es un parámetro indicador para Mantequilla uno de los derivados lácteos fabricados en la planta, *Bacillus cereus*, igualmente es un parámetro indicador de la leche pulverizada y el recuento de esporas mesófilas aerobias es un indicador de la eficiencia de los procesos térmicos que se llevan a cabo, por lo que resulta importante conocer cómo se encuentran estas en la leche cruda. Los resultados obtenidos se organizaron en hojas de cálculo del programa Microsoft Excel versión 2013, programa en el cual se realizaron la totalidad de las tablas y gráficos para su posterior análisis.

5. RESULTADOS Y ANALISIS

5.1. Caracterización de leche proveniente de las rutas Seleccionadas

En la tabla 4 se presenta la caracterización microbiológica de las rutas escogidas en este estudio: Tierralta, Tierra Santa, Arenoso y Caucasia; la ruta con peor y mejor historial microbiológico, la más cercana y la más lejana a la planta respectivamente.

Tabla 4. CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LAS RUTAS SELECCIONADAS.

CARACTERIZACION MICROBIOLOGICA DE RUTAS				
RUTA	Promedio de Resultados (UFC/mL)			
	UFC/mL MESOFILOS	ESTAFILOCOCOS	BACILLUS CEREUS	ESPORAS
ARENOSO	454.762	3.241	<100	51
TIERRASANTA	343.000	2.000	<100	20
TIERRALTA	1.640.000	2.800	<100	15
CAUCASIA	1.460.000	2.500	<100	26

En la tabla 4 se puede observar que la ruta con mayor recuento de UFC/mL de mesófilos fue la ruta de Tierralta, lo que concuerda con la estimación inicial que se hizo para escoger la ruta con peor historial microbiológico para este estudio, así mismo es la ruta con mayor recuento de UFC/mL de *Staphylococcus aureus*, La ruta de Tierra Santa es la que presenta menores recuentos tanto de UFC/mL de mesófilos como de *Staphylococcus aureus*. El mayor y menor recuento de UFC/mL de esporas Mesófilas aerobias lo presentan la ruta de Arenoso y Tierralta respectivamente. En ninguna de las muestras analizadas para las cuatro (4) rutas se aisló colonias correspondientes a *Bacillus cereus*.

5.2. Caracterización de leche transportada en tracto camiones.

En la tabla 5 se presenta la caracterización correspondiente a la leche transportada en tracto camiones desde diferentes centros de acopio hasta la planta pulverizadora de Colanta Planeta Rica.

Tabla 5. CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE TRANSPORTADA EN TRACTOCAMIONES

PROMEDIO DE MICROORGANISMOS EN LA LECHE TRANSPORTADA EN TRACTOCAMIONES (UFC/mL)				
ORIGEN	Mesofilos	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Esporas mesofilas aerobias
SANTA ROSA	635.000	3.745	<100	35
YARUMAL	1.100.000	4.729	<100	26
BARRANQUILLA	350.000	500	<100	60

La leche transportada en tracto camiones con el mayor recuento de UFC/mL de mesófilos y *Staphylococcus aureus*, fue la ruta procedente de Yarumal, mientras que la leche proveniente de Barranquilla arrojó los menores recuentos de UFC/mL tanto de mesófilos como de *Staphylococcus aureus*, sin embargo, fue la que mayor número de UFC /mL de esporas mesófilas presentó; en ninguna de las muestras de leche transportadas en mulas (23) provenientes de estas rutas se aisló *Bacillus cereus*.

5.3. Caracterización de leche transportada en carrotaques provenientes de diversas rutas.

En los gráficos 1, 2, 3 y 4 se muestra la caracterización microbiológica de la leche transportada en carrotaques que llega a la planta pulverizadora Colanta planeta Rica durante la semana y que es procedente de diversas rutas.

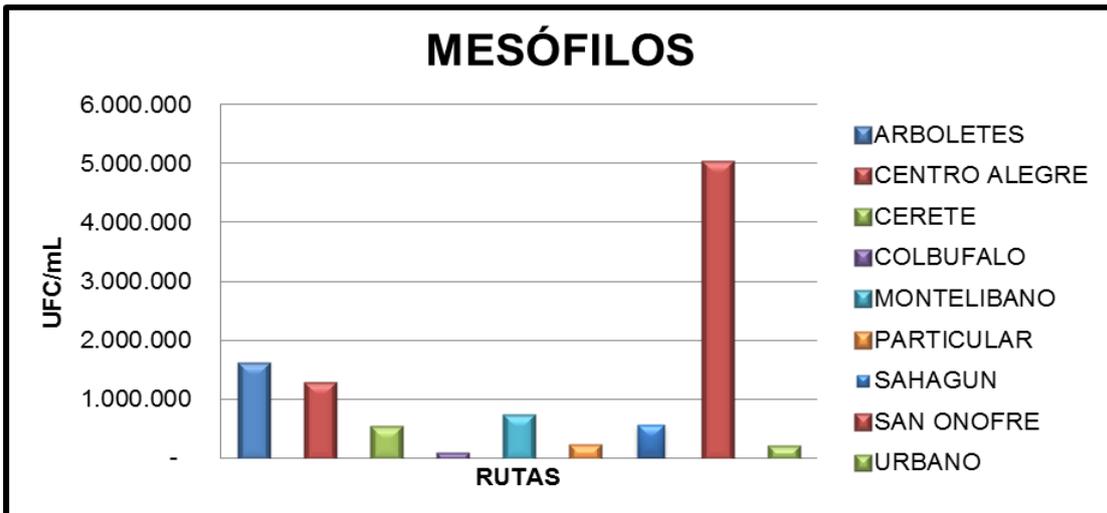


Gráfico 1. Promedio de UFC/mL de mesofilos en diferentes rutas analizadas

En el Gráfico 1 se puede apreciar que la ruta con mayor recuento de UFC/mL es la ruta de San onofre, mientras que la leche de búfala proveniente de Colbùfalo es la que presenta menores recuentos. Esto se puede deber a que en rutas como la de San Onofre, la leche proviene de un tanque comunitario en el cual se vierte leche de diferentes productores que pueden ir desde 10 litros hasta cientos de estos, lo cual hace que la probabilidad de contaminación sea mayor, a diferencia de la ruta de colbùfalo en la que toda la leche proviene de la misma empresa, que además posee un mejor proceso de recolección. Además de lo anterior las diferencias de distancia que deben recorrer los carro tanques que recogen la leche de cada una de estas rutas hasta la planta pulverizadora de Colanta Planeta Rica también podría ser un factor influyente; ya que San Onofre y Arboletes que son las que presentan mayores promedios de UFC/mL de mesofilos, son rutas más distantes de la planta, mientras que Colbùfalo, Urbano y particulares que presentan los recuentos más bajos, son rutas que son más cercanas, y por tanto realizan recorridos más cortos.

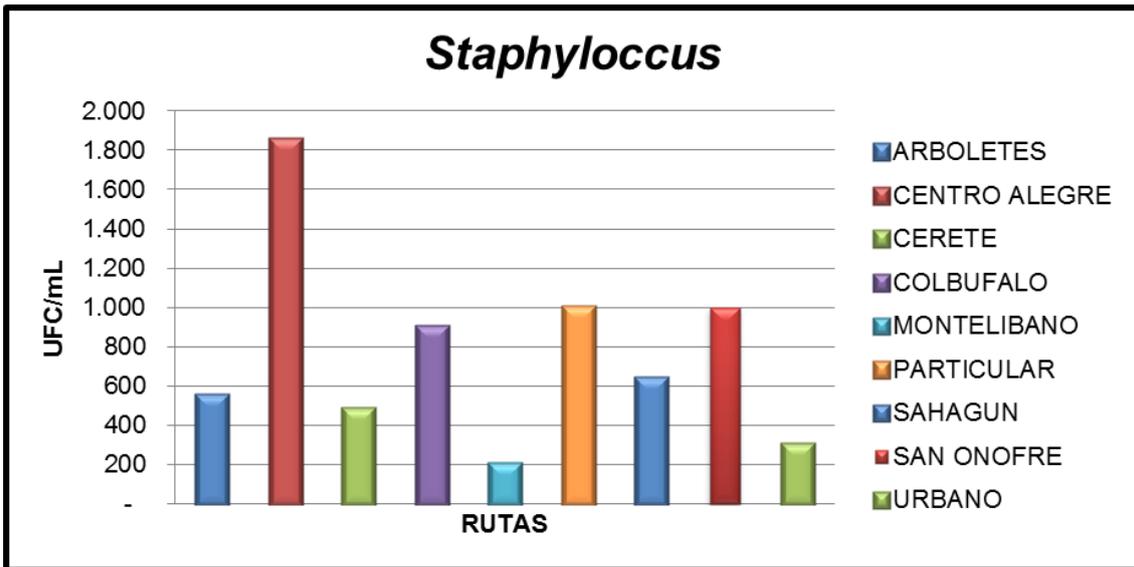


Grafico 2. Promedio de UFC/mL de *Staphylococcus* coagulans positiva en diferentes rutas analizadas

En el Gráfico 2 se puede apreciar que la ruta con mayor recuento de *Staphylococcus* coagulans positiva es la de Centro Alegre, seguida por las rutas de particulares y San Onofre, mientras que Montelibano, Urbano y Cereté son las rutas con menor recuento de UFC/mL de *Staphylococcus*.

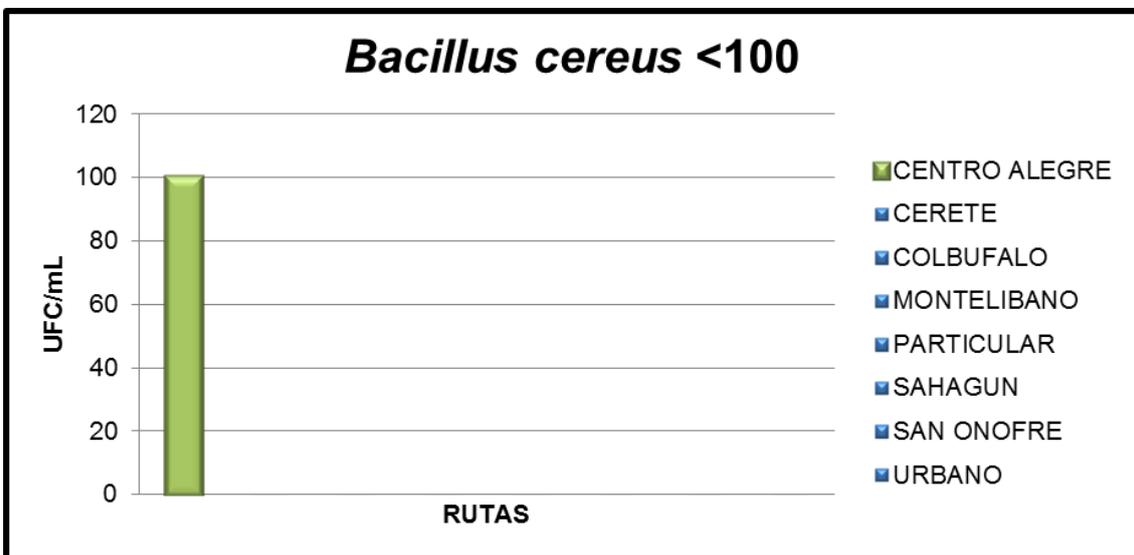


Grafico 3. Promedio de UFC/mL de *Bacillus cereus* en diferentes rutas analizadas

En el Gráfico 3 se puede apreciar que la única ruta que presentó *Bacillus cereus*, fue la ruta de Centro Alegre, quien presentó un promedio de 100 UFC/mL de *Bacillus cereus*, mientras que en el resto de las rutas su promedio

fue <100 UFC/mL lo que deja entrever el bajo porcentaje de este microorganismo presente en la leche cruda transportada en carrotanques hasta la planta Colanta Planeta Rica.

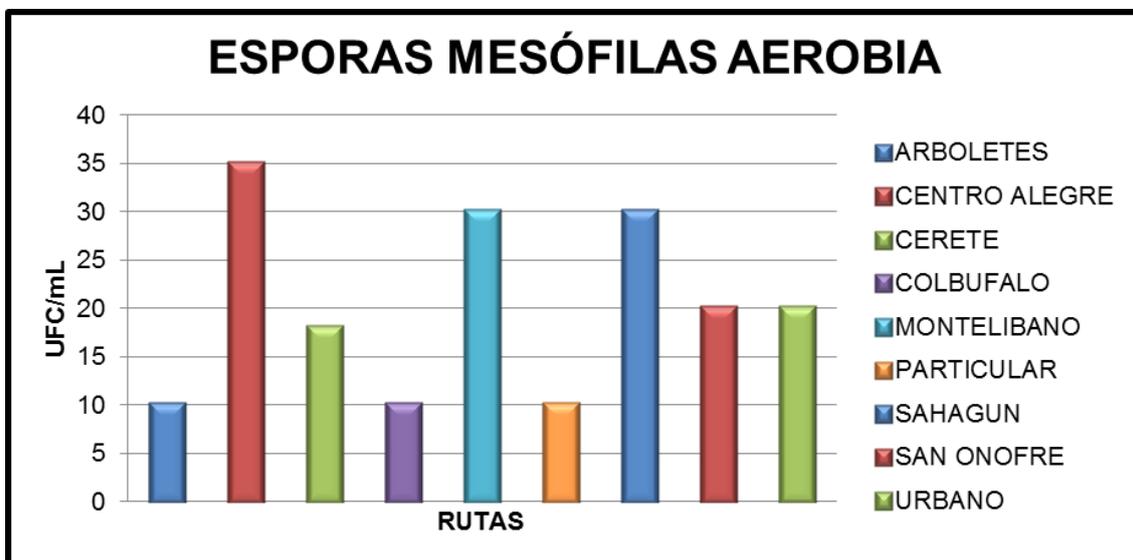


Grafico 4. Promedio de UFC/mL de Esporas mesófilas aerobias en diferentes rutas analizadas

En el Gráfico 4 se puede observar que la ruta con mayor recuento de UFC/mL de esporas Mesófilas aerobias es la ruta de Centro Alegre con un promedio de 35 UFC/mL, mientras que Arboletes, Colbùfalo y Particulares presentan los menores recuentos con un promedio de 10 UFC/mL para cada una. A manera general se puede apreciar que los recuentos de Esporas en la leche cruda son bajos, lo cual se puede deber al hecho de que haya baja densidad de microorganismos productores de esporas mesofilas, y las características composicionales de la leche lo hacen un medio poco apto para el desarrollo de esporas ya que estas suelen generarse en medios más hostiles para el microorganismo productor.

5.4. Cambios microbiológicos por semanas

En la tabla 6 y los Gráficos 5, 6, 7 ,8 se pueden apreciar la caracterización microbiológica de toda la leche recibida en la planta pulverizadora Colanta

Planeta Rica transportada en carrotanque y mulas hasta la planta por semanas.

Tabla 6. CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS REGISTRADOS DURANTES LAS DIFERENTES SEMANAS DE MUESTREO, EN EPOCA DE LLUVIAS Y SEQUIA.

CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS POR SEMANAS				
SEMANA	MESOFILOS	ESTAFILOCOCOS	BACILLUS CEREUS	ESPORAS
SEMANA 2	298.000	5.500	100	50
SEMANA 7	257.000	13.000	100	48
SEMANA 9	425.000	1.700	<100	10
SEMANA 12	300.000	383	<100	10
SEMANA 13	670.000	3.500	<100	38
SEMANA 14	1.000.000	3.000	<100	30
SEMANA 15	458.000	4.000	<100	68
SEMANA 16	1.600.000	800	<100	15
SEMANA 17	243.000	1.490	<100	30
SEMANA 18	295.000	1.400	<100	44
SEMANA 19	488.000	1.200	<100	20
SEMANA 20	2.200.000	2.800	100	20
SEMANA 21	700.000	820	<100	15
SEMANA 22	600.000	440	<100	13
SEMANA 23	225.000	330	<100	18

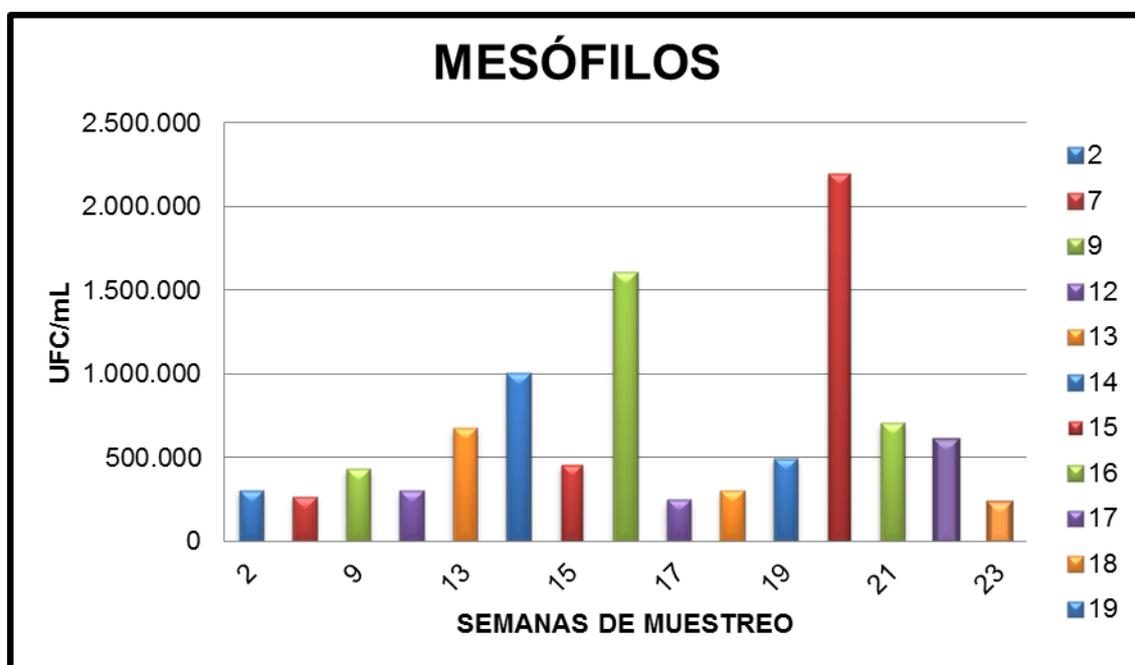


Grafico 5. Promedio de UFC/mL de mesofilos por semanas

En el Gráfico 5 se puede apreciar que los mayores recuentos de UFC/mL de mesofilos se encuentran en las semanas 20, seguidos de la 16 y 14, mientras que los menores promedios se haya en las semanas 23, 17 y 7 respectivamente. En Colombia, se manejan dos estaciones o épocas del año: invierno y verano, en el presente estudio se tomaron muestras en ambas épocas; la época de verano correspondiente al muestreo va hasta la semana 14; y la época de invierno de la semana 15 hasta la 23.

La misma Gráfica nos muestra que no existe una tendencia en cuanto al recuento de mesofilos de acuerdo con la época del año, o estación climática, ya que los recuentos varían mucho de una semana a otra y aunque el mayor recuento se presenta durante la temporada de lluvias, también vemos recuentos altos en verano y recuentos bajos en ambas temporadas; lo cual nos permite pensar que los cambios climáticos o temporadas del año no influyen de manera significativa sobre los aspectos microbiológico de la leche, que estos tienen más relación con cambios físico químicos como grasa y proteínas que se relacionan directamente con la alimentación del animal, la calidad del pasto, lo cual guarda relación directa con la época del año.

Sin embargo, tenemos que considerar que en nuestro país se vienen presentando en los últimos años fenómenos climáticos como el denominado **“fenómeno del niño”** con consecuentes largas temporadas de sequias, durante este estudio solo se tuvieron 4 semanas con lluvias marcadas (15, 16, 18 y 19), las otras semanas que consideramos como época de invierno las lluvias fueron aisladas, lo cual pudo inferir en los resultados ya que no se pudieron tomar todas las muestras de esta etapa en una verdadera época de lluvias.

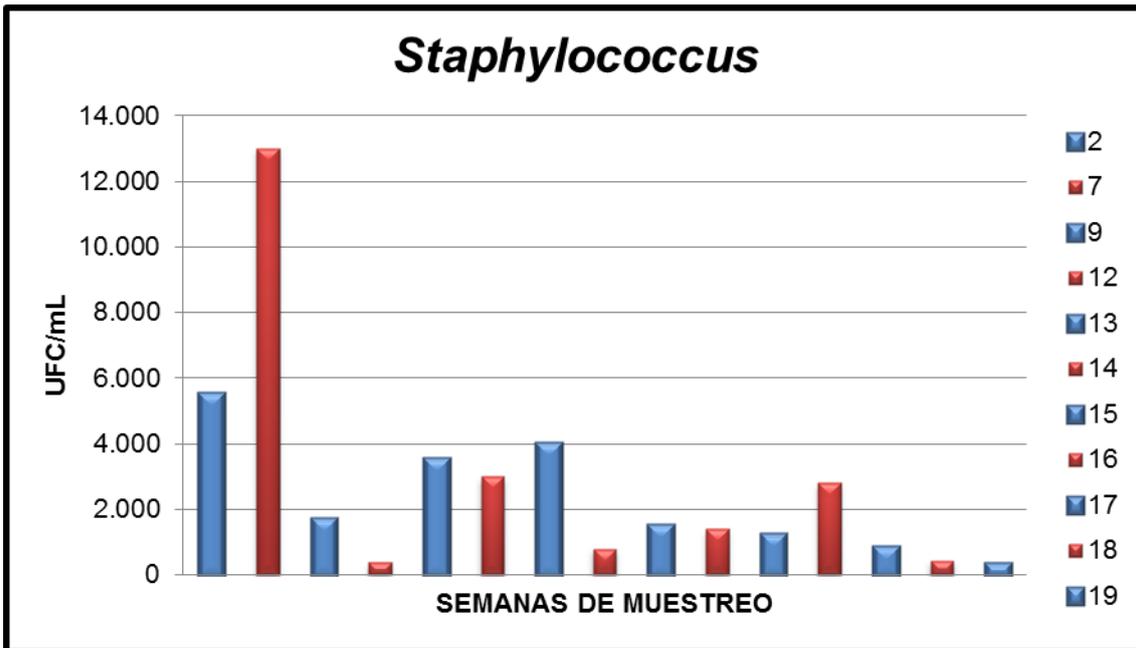


Gráfico 6. Promedio de UFC/mL de *Staphylococcus coagulans* positiva por semanas

En el Gráfico 6 se puede apreciar al igual que en el Gráfico anterior que no existe una relación marcada entre una época y otra, ya que aunque los mayores recuentos se presentan en las semana 2 y 7, correspondientes a la época de verano, también vemos uno de los recuentos más bajos también se presenta durante esta época; de igual manera vemos que durante el muestreo en invierno se presentan recuentos bajos pero también recuentos medianamente altos como en el caso de la semana 20.

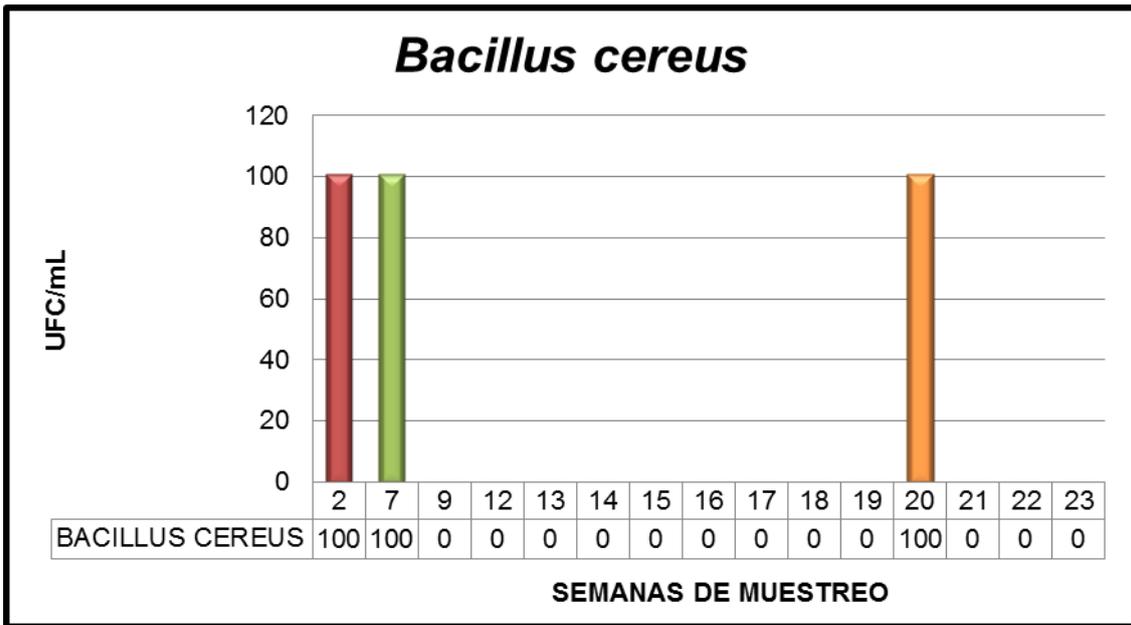


Gráfico 7. Promedio de UFC/mL de *Bacillus cereus* por semanas

En el Gráfico 7 se puede ver que durante todo el estudio solo se aisló 3 veces *Bacillus cereus*, correspondientes a la semanas 2, 7 y la 20 con un promedio de 100 UFC/mL lo cual es un valor mínimo, ya que tan solo corresponde a una colonia en una muestra sembrada con una dilución 1:100. Dos (2) de las semanas que se aisló *Bacillus cereus* corresponden a verano y una tercera (3) a invierno lo cual indica que no existe una tendencia en la presencia de este microorganismo en la leche entre una época y otra.

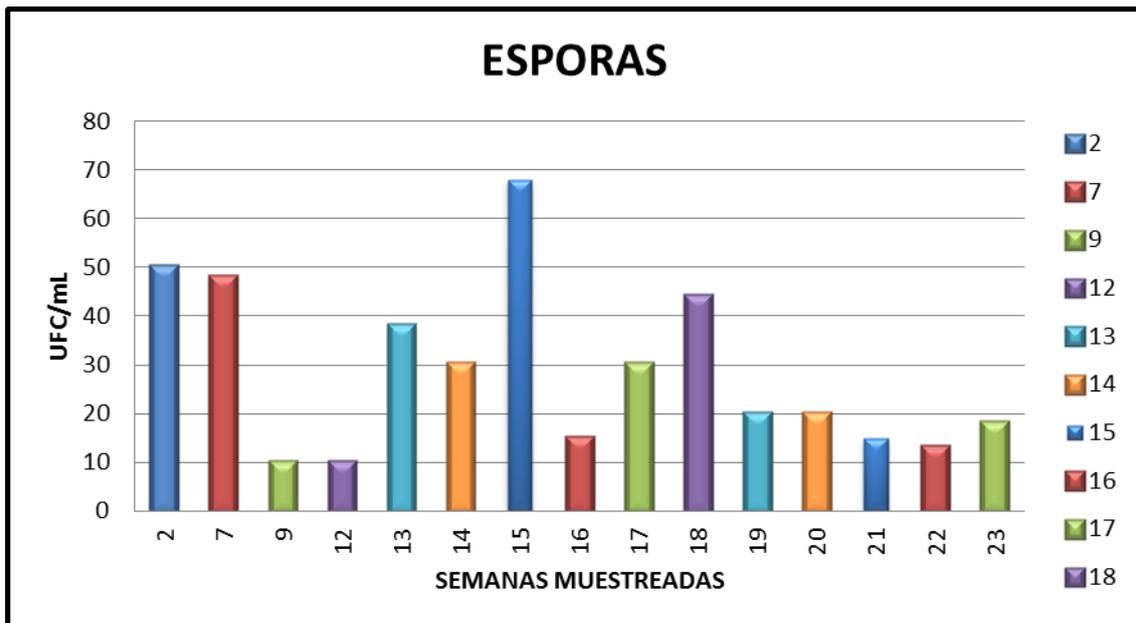


Gráfico 8. Promedio de UFC/mL de esporas mesófilas aerobias por semanas

En el Gráfico 8 se puede apreciar los recuentos de esporas mesófilas aerobias varían mucho entre una semana y otra, y no hay una tendencia marcada entre la época de invierno y verano, lo que es indicativo de que estas no guardan relación directa con la presencia de esporas mesófilas en la leche.

5.5. Cambios microbiológicos de la leche desde su llegada a la planta hasta su entrada a procesos de transformación.

En las tablas 7, 8, 9, 10 y 11 se muestra una relación entre el promedio de UFC/mL de mesofilos, *Staphylococcus coagulasa positiva*, *Bacillus cereus* y esporas mesófilas aerobias encontradas en una muestra inicial de un silo, o en su defecto los resultados de luminometría si este se encontraba vacío, el promedio de UFC/mL para estos análisis de la leche que se le agregaba a ese silo y el promedio que se encontraba en una muestra final del Silo antes de entrar a proceso o cuando estuviese lleno. Además se relaciona la semana en que se realizó el muestreo y la temperatura del silo ese día.

Tabla 8. CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS OCURRIDOS EN SILO 2

SEMANA	No.SILO	PARAMETROS	INICIAL	AGREGADO	FINAL	T° DEL SILO(°C)
9	2	Mesofilos	150.000	425.000	5.000.000	4,0
		<i>Staphylococcus</i>	1.000	1.700	5.000	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
		Esporas	20	10	50	
18		Mesofilos	4.300.000	402.500	5.400.000	5,4
		<i>Staphylococcus</i>	1.000	2.300	7.000	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
		Esporas	20	53	20	
19		Mesofilos	LUMINOMETRIA PARED:3.6 Y TAPA 3.2	2.095.000	56.000.000	4,1
		<i>Staphylococcus</i>		800	4.700	
		<i>Bacillus cereus</i>		<100	<100	
		Esporas		10	10	
19		Mesofilos	LUMINOMETRIA PARED:3.4 Y TAPA 3.2	530.000	32.000.000	4,2
		<i>Staphylococcus</i>		575	6.000	
		<i>Bacillus cereus</i>		<100	<100	
		Esporas		25	30	
19	Mesofilos	600.000	1.226.667	2.600.000	5,6	
	<i>Staphylococcus</i>	7.000	800	3.600		
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100		
	Esporas	40	10	20		
20	Mesofilos	1.100.000	350.000	5.000.000	4,4	
	<i>Staphylococcus</i>	6.600	100	10.800		
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100		
	Esporas	<10	10	20		

En la Tabla 8 se puede apreciar el comportamiento de la leche en el silo dos durante el muestreo en varias semanas, en ella se observa el aumento significativo que suele sufrir el recuento de UFC/mL de mesofilos, *Staphylococcus* coagulasa positiva y esporas mesófilas aerobias con respecto a la muestra inicial y/o la leche agregado. En ninguno de los muestreos realizados en leche de este silo se pudo aislar *Bacillus cereus*.

En dos de los muestreos realizados en la semana 19 se encontraron los silos inicialmente vacíos, luego de haber sido lavados, por lo que se pudo realizarles luminometría, encontrándose que esta arrojó resultados por encima de lo establecido (3.0) como límite máximo para garantizar el proceso de limpieza de estos recipientes; en el seguimiento que se le hizo a la leche agregada en el silo esos días, como se puede observar en la tabla hubo un incremento bastante considerable en los recuentos de UFC/mL de mesofilos y *Staphylococcus* coagulasa positiva en la muestra final de los silos con respecto al promedio encontrado en la leche que se agregó. Si miramos la temperatura promedio de los silos esos días encontramos que esta se encuentra alrededor de 4.1°C, es decir que es una temperatura de refrigeración adecuada para suprimir la proliferación bacteriana, dadas estas condiciones se puede pensar que el principal factor que contribuyó a que se presentara tan notable aumento en los recuentos de estos microorganismos sería el hecho de que los silos inicialmente se encontraban sucios.

Tabla 9. CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS OCURRIDOS EN SILO 3.

PARAMETROS	INICIAL	AGREGADO	FINAL	T° DEL SILO(°C)
Mesofilos	LUMINOMETRIA:PARED: 2.5 - TAPA :1.6	684.300	3.000.000	5,5
<i>Staphylococcus</i>		6.000	22.000	
<i>Bacillus cereus</i>		100	<100	
Esporas		64	40	
Mesofilos	LUMINOMETRIA : PARED: 2.5 - TAPA :3.4	257.500	1.600.000	5,3
<i>Staphylococcus</i>		13.000	30.000	
<i>Bacillus cereus</i>		100	<100	
Esporas		48	50	
Mesofilos	1.200.000	1.250.000	5.000.000	5,2
<i>Staphylococcus</i>	800	4.500	5.000	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
Esporas	10	35	50	
Mesofilos	2.600.000	964.000	4.400.000	4,6
<i>Staphylococcus</i>	6.000	4.540	7.800	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
Esporas	70	126	20	
Mesofilos	600.000	76.670	4.300.000	5,9
<i>Staphylococcus</i>	3.000	633	8.500	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
Esporas	<10	30	50	
Mesofilos	150.000	238.000	4.100.000	5,9
<i>Staphylococcus</i>	100	433	1.000	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
Esporas	20	30	30	
Mesofilos	3.100.000	271.000	2.900.000	5,5
<i>Staphylococcus</i>	10.000	770	5.400	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
Esporas	30	30	20	
Mesofilos	LUMINOMETRIA-PARED:3,4 TAPA:3.3	1.750.000	42.000.000	4,5
<i>Staphylococcus</i>		4.500	4.400	
<i>Bacillus cereus</i>		<100	<100	
Esporas		40	30	
Mesofilos	2.600.000	500.000	28.000.000	5,5
<i>Staphylococcus</i>	200	360	200	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
Esporas	<10	35	20	
Mesofilos	3.000.000	5.700.000	19.000.000	5,2
<i>Staphylococcus</i>	2.100	7.700	18.000	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	100	<100	
Esporas	<10	10	20	
Mesofilos	2.000.000	850.000	4.500.000	4,0
<i>Staphylococcus</i>	200	750	5.000	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
Esporas	10	15	50	
Mesofilos	1.000.000	600.000	3.000.000	5,5
<i>Staphylococcus</i>	1.500	750	2.000	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
Esporas	10	12	20	
Mesofilos	1.100.000	600.000	5.000.000	5,1
<i>Staphylococcus</i>	900	440	2.000	
<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
Esporas	10	13	20	

En la tabla 9 se puede apreciar el comportamiento de la leche en el silo tres (3) durante el muestreo en varias semanas, en ella se observa el aumento significativo que sufren el recuento de UFC/mL de mesofilos, *Staphylococcus* coagulasa positiva, y esporas mesófilas aerobias con respecto a la muestra inicial y/o la leche agregado.

En los muestreos realizados en la semana 2, 7 y 19 se encontraron los silos inicialmente vacíos, luego de haber sido lavados, por lo que se pudo realizarles luminometría, en la luminometría realizada en la semana 2 tanto en la pared del silo como en la tapa se encontró que ambos cumplían con los parámetros establecidos ya que se encontraban por debajo del límite máximo (3.0) para garantizar el proceso de limpieza de estos recipientes; en la luminometría realizada la semana 7 se encontró que la pared del silo cumplía, mientras que la tapa se hallaba por encima del máximo establecido; mientras que en la luminometría realizada en la semana 17 se pudo evidenciar que tanto la tapa como la pared del silo arrojaron resultados por encima de lo establecido, poniendo como manifiesto el mal lavado de estos.

Los resultados del seguimiento que se le realizó a la leche agregada en los silos los días que se hizo luminometría, como se puede observar en la Tabla 9, el mayor incremento en los recuentos de UFC/mL de mesofilos y *Staphylococcus* coagulasa positiva en la muestra final de los silos con respecto al promedio encontrado en la leche que se agregó se observa en la semana 19 en la que tanto la tapa como la pared del silo se encontraban sucios, mientras que cuando ambos se encontraban limpios o solo la pared estaba limpia, semanas 2 y 7 respectivamente, los aumentos fueron mucho menores. Toda vez que se muestreo las temperaturas de los silos se encontraban en una adecuada temperatura de refrigeración (4-6°C).

En uno de los muestreos realizados en la semana 20, se pudo aislar *Bacillus cereus* en un promedio de 100 UFC/mL en una de las rutas agregadas al silo 3 ese día, en la muestra tomada inicialmente del silo no se presentó *Bacillus cereus* y en la muestra tomada al final cuando la leche del silo se disponía a entrar a procesos de transformación tampoco se pudo recuperar este microorganismo, lo que se presume se pudo dar debido a que este se encontraba en muy poca cantidad y al ser agregada la leche al silo se mezcló con el resto de la leche agregada provocando una dilución del microorganismo.

Tabla 10. CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS OCURRIDOS EN SILO 4.

SEMANA	SILOS	PARAMETROS	INICIAL	AGREGADO	FINAL
12	4	Mesofilos	LUMINOMETRIA PARED:3.2 - TAPA:1.3	300.000	3.500.000
		<i>Staphylococcus</i>		383	2.300
		<i>Bacillus cereus</i>		<100	<100
		Esporas		12	10
13		Mesofilos	400.000	415.000	1.500.000
		<i>Staphylococcus</i>	1.200	2.500	5.500
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100
		Esporas	40	40	20
14		Mesofilos	2.500.000	1.026.000	4.400.000
		<i>Staphylococcus</i>	3.200	3.000	7.200
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100
		Esporas	20	30	10
17		Mesofilos	LUMINOMETRIA PARED:3.1 - TAPA:1.9	128.000	1.000.000
		<i>Staphylococcus</i>		600	1.900
		<i>Bacillus cereus</i>		<100	<100
		Esporas		43	10
17	Mesofilos	800.000	415.000	3.000.000	
	<i>Staphylococcus</i>	700	2.820	3.500	
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
	Esporas	<10	30	50	
21	Mesofilos	2.000.000	682.000	4.500.000	
	<i>Staphylococcus</i>	3.000	1000	4.200	
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	<100	
	Esporas	10	10	20	
23	Mesofilos	LUMINOMETRIA - PARED:3.0 Y TAPA 1.5	255.000	1.000.000	
	<i>Staphylococcus</i>		333	7.000	
	<i>Bacillus cereus</i>		<100	<100	
	Esporas		18	40	

En la tabla 10 se puede apreciar el comportamiento de la leche en el silo cuatro (4) durante el muestreo en varias semanas, en ella se observa el aumento significativo que sufren el recuento de UFC/mL de mesófilos, *Staphylococcus* coagulasa positiva, y esporas mesófilas aerobias con respecto a la muestra inicial y/o la leche agregado.

Se realizaron luminometrías al silo durante las semanas 12, 17 y 23 en los dos primeros casos las tapas dieron dentro de los rangos admisibles y las luminometrías de paredes se salieron de los máximos establecidos, mientras que en la semana 23 la tapa y la pared se encontraban en los rangos aceptados, pero esta última se encontraba el límite máximo admisible (3.0).

El mayor cambio entre el valor promedio de UFC/mL de Mesofilos entre la leche agregada y la muestra final del silo se presenta en la semana 12 donde vemos un recuento de mesofilos de 300×10^3 UFC/mL en la leche agregada y un recuento final del silo de 3500×10^3 UFC/mL, esto coincide con el hecho de que el mayor valor de luminometría realizada en la pared del silo 4 se presentó ese día. El mayor cambio entre los recuentos de *Staphylococcus* coagulasa positiva se presentó en la semana 23 donde se pasó de un promedio de la

leche agregada de 333 UFC/mL a 7000 UFC/mL en la muestra final del silo, en este caso también se le había realizado luminometría al silo y la pared se encontraba en el límite máximo de aceptación.

En la semana 14 se puede apreciar que la temperatura del silo se encontraba en 7.9°C, por encima de la temperatura de refrigeración recomendada (4-6°C), y vemos que el recuento final de mesofilos en el silo ese día esta en 4.4×10^5 sin embargo teniendo en cuenta que el recuento inicial en el Silo es de 2.5×10^5 y el del promedio de leche agregado es de aproximadamente 1×10^5 , el aumento no es tan elevado.

Tabla 11. CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS OCURRIDOS EN SILO 7.

SEMANA	No.SILO	PARAMETROS	INICIAL	FINAL	T° DEL SILO (°C)
13	7	Mesofilos	34.000.000	38.000.000	3,8
		<i>Staphylococcus</i>	20.000	50.000	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	
		Esporas	30	50	
14		Mesofilos	4.500.000	6.200.000	4,9
		<i>Staphylococcus</i>	5.000	9.000	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	
		Esporas	50	20	
14		Mesofilos	2.500.000	12.000.000	4,4
		<i>Staphylococcus</i>	1.500	3.500	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	
		Esporas	30	100	
17		Mesofilos	5.100.000	38.000.000	4,6
	<i>Staphylococcus</i>	3.000	12.000		
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100		
	Esporas	<10	50		
17	Mesofilos	3.200.000	5.000.000	4,0	
	<i>Staphylococcus</i>	19.000	25.000		
	<i>Bacillus cereus</i>	100	<100		
	Esporas	10	20		
18	Mesofilos	1.600.000	6.600.000	4,3	
	<i>Staphylococcus</i>	1.000	8.500		
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100		
	Esporas	10	10		
20	Mesofilos	15.000.000	80.000.000	5,4	
	<i>Staphylococcus</i>	5.000	15.000		
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100		
	Esporas	<10	20		
21	Mesofilos	6.500.000	8.000.000	4,2	
	<i>Staphylococcus</i>	5.000	6.700		
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100		
	Esporas	10	30		
21	Mesofilos	4.000.000	11.000.000	5,0	
	<i>Staphylococcus</i>	1.000	3.000		
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100		
	Esporas	<10	10		
22	Mesofilos	3.000.000	9.500.000	4,6	
	<i>Staphylococcus</i>	1.000	3.000		
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100		
	Esporas	<10	10		
23	Mesofilos	6.500.000	15.000.000	4,8	
	<i>Staphylococcus</i>	4.000			
	<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100		
	Esporas	20	10		

Tabla 12. CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS OCURRIDOS EN SILO 8

SEMANA	SILOS	PARAMETROS	INICIAL	FINAL	T° DEL SILO (°C)
16	8	Mesofilos	5.700.000	47.000.000	3,5
		<i>Staphylococcus</i>	8.000	30.000	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	
		Esporas	20	30	
17		Mesofilos	8.000.000	18.500.000	3,2
		<i>Staphylococcus</i>	10.000	11.000	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	
		Esporas	10	10	
18		Mesofilos	9.000.000	59.000.000	4,0
		<i>Staphylococcus</i>	6.000	20.000	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	
		Esporas	10	20	
19		Mesofilos	8.000.000	20.000.000	4,4
		<i>Staphylococcus</i>	6.000	44.000	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	
		Esporas	<10	30	
20		Mesofilos	6.000.000	60.000.000	3,9
		<i>Staphylococcus</i>	3.700	11.000	
		<i>Bacillus cereus</i>	<100	<100	
		Esporas	10	10	

En la tabla 11 y 12 se presenta el comportamiento microbiológico de la leche en los silos 7 y 8, en estos silos se agrega la leche transportada en canecas, no refrigeradas hasta la planta por lo que los recuentos finales de mesofilos y *Staphylococcus* coagulasa positiva suelen ser mayores que la leche transportada en carro tanques y mulas como se puede evidenciar en las tablas. Según un estudio realizado en 2013 en la Planta Pulverizadora Colanta Planeta Rica el recuento de mesofilos en leche cruda caliente transportada en canecas hasta la planta es en promedio de $6,2 \times 10^6$ UFC/mL.

En la semana 17 de la tabla 12 correspondiente al silo 7 se presentó *Bacillus cereus* en un promedio de 100u UFC/mL, sin embargo en la muestra final no se pudo recuperar este microorganismo, lo cual se atribuye al hecho de que el *Bacillus cereus* se encontraba en muy poca cantidad y al ser agregada más leche al silo esta cantidad se diluyo, presentándose en concentraciones no detectables en el análisis realizado.

Los recuentos de esporas mesófilas aerobias son bajos, presentándose como valor máximo de estas 100UFC/mL en la semana 14 para las muestras del

silo7. Las variaciones entre los recuentos de la muestra inicial y la final en las semanas 16, 18 y 20 muestran un significativo aumento, estos se encuentran resaltados en verdes en la tabla.

5.6. Comparativo de recuentos de microorganismos en leche transportada hasta la planta en diferentes medios de transporte.

Tabla 13. COMPARACION DE LA CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE EN CARROTANQUES Y TRACTO CAMIONES

Promedio de UFC/mL de microorganismos en leche , en distinto medio de transporte				
Medio de transporte	Mesófilos	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Esporas Mesofilas aerobias
Tracto camiones	839.000	3.800	<100	32
Carrotanques	1.100.000	1.343	100	22

La NTC 399 establece un máximo de recuento de mesofilos aerobios para la leche cruda de 700.000 UFC/mL, en la **tabla 13** se puede observar que los recuentos de mesofilos en la leche transportada hasta la planta en carro tanques y mulas exceden este valor, por lo cual se deduce que no se está cumpliendo con lo establecido en esta norma.¹¹ sin embargo , si discriminamos entre cada una de las rutas, tenemos que el 46,1 % (6) del total de las rutas de carro tanques muestreadas (13) correspondientes a las rutas de Arenoso , Tierra Santa , Cerete, Colbúfalo, particular , y urbano; presentan recuentos de mesofilos <700.000 UFC/mL, lo cual comparado con lo estipulado en la NTC 399 nos indica que es una leche de aceptable calidad microbiológica, mientras que el 53,9% (7) , correspondientes a las rutas de Tierralta , Caucasia, Arboletes, Centro Alegre, Montelibano, Sahagún y San Onofre, presentan recuentos >700.000 UFC/mL lo cual la constituye en leche de deficiente calidad microbiológica.

Si realizamos este mismo análisis en la leche transportada en tracto camiones, tenemos que el promedio de mesofilos en la leche de origen de Santa rosa y Barranquilla es < 700.000 UFC/mL, es decir es de buena calidad microbiológica; mientras que la leche procedente de Yarumal, presenta recuentos de microorganismos mesofilos aerobios >700.000 UFC/mL lo cual la constituye en leche de baja calidad.

6. DISCUSION

La producción primaria de la leche comienza desde la cría, levante y etapa productiva de los animales e involucra el control de enfermedades zoonóticas y no zoonóticas. Los pastos secos mal conservados son una fuente de contaminación, ya que pueden contener esporas de microorganismos patógenos como *Bacillus cereus*.¹³ Es bien conocido que la leche recién ordeñada puede contener bacterias, su composición puede cambiar rápidamente dependiendo de las condiciones de producción tales como el estado sanitario de las vacas y las prácticas higiénicas de ordeño, así como el almacenamiento y transporte de la leche. En los procesos de ordeño, especialmente en el equipo utilizado para éste se pueden introducir una gran cantidad de bacterias en la leche cruda.¹⁴

Según la Unidad de Seguimiento de Precios (USP) del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) el 37,65% de las leches producidas en el primer semestre de 2009, presentaron recuentos de bacterias mesófilas aerobias mayores de 700.000 UFC/mL, sin cumplir con la normativa vigente, Indicando que esta leche presenta una calidad inferior a la exigida.

Un estudio realizado en el año 2002 en la Cooperativa Colanta para evaluar la calidad microbiológica de la leche cruda demuestra que ésta es extremadamente variable entre productores de una misma región, obteniendo recuentos de microorganismos mesófilos superiores a 10×10^6 UFC/mL en leche caliente, mientras que en leche fría se observan resultados hasta de 10×10^5 UFC/mL. Los resultados del presente estudio revelan un promedio de mesofilos en leche de Carro tanques de 1.1×10^6 UFC/mL y 839×10^3 en leche de tracto camiones; si consideramos estos resultados comparados los obtenidos en leche fría en el estudio realizado en 2002, tenemos que son similares, aunque que la leche en tracto camiones presenta menores recuentos.

Moreno et al. (2007), reportaron presencia de *Estafilococo coagulasa* positiva en muestras de leche cruda provenientes de 34 hatos del cordón lechero de la cuenca del Chicamocha en el departamento de Boyacá, con recuentos entre 1 a 20×10^4 UFC/mL.¹⁵

Otro estudio realizado en Paipa, Boyacá en 20 muestras de leche determinó a *S. aureus* en el 100% con recuentos que variaron de $1,3 \times 10^2$ a $1,9 \times 10^5$ UFC/mL, siendo esta última concentración suficiente para producir la toxina.¹⁰ Un estudio realizado en el departamento de Sucre donde se analizaron 179 muestras de leche obtenidas en centros de acopio, señala que el 94% de las muestras recolectadas en verano presentaron recuentos superiores a 10^3 UFC/mL y en invierno el 100% de las muestras analizadas presentaron recuentos superiores a 10^3 UFC/mL.¹⁶ En nuestro estudio el 98% de las muestras tanto en invierno como en verano presentan recuentos superiores a 10^2

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio realizado en la Planta pulverizadora Colanta Planeta Rica, en el cual se obtuvo un promedio de 4×10^3 UFC/mL en el recuento de *Staphylococcus coagulasa* positiva, sumando la leche de carro tanques y tracto camiones se puede inferir que se presentan resultados similares a los citados anteriormente.

Lo anterior se debe a que la leche una vez extraída, se puede contaminar en cada uno de las etapas de la cadena productiva. Entre los contaminantes externos están la piel y heces del mismo animal, el ambiente que lo rodea, los utensilios usados durante el proceso de ordeño, los tanques de almacenamiento, el transporte, la comercialización, así como el manipulador y el agua utilizada para los procesos de lavado y desinfección en las etapas de ordeño. En caso de que el *S. aureus* esté presente en la leche proveniente de animales con mastitis, este puede multiplicarse, ya que su temperatura óptima de crecimiento está entre 30 y 37°C.

En un estudio del Instituto nacional de salud en el año 2011, sobre la evaluación de riesgos biológicos en leche cruda para consumo directo, en Colombia no se identifica al *Bacillus cereus* como patógeno asociado a intoxicaciones, en éste mismo estudio en el contexto internacional específicamente en Holanda se reporta que la prevalencia para el recuento de esporas de *Bacillus cereus* en leche cruda es de 1×10^2 UFC/mL.¹⁷

Comparando lo anterior con los resultados obtenidos en este estudio, en el recuento de *Bacillus cereus* no se observan diferencias, ya que se presentó una prevalencia de 1×10^2 UFC/mL.

7. CONCLUSIÓN

De la realización del presente estudio se puede concluir que:

La leche que llega a la planta pulverizadora Colanta Planeta Rica tanto en carro tanques como en mulas, es de regular calidad microbiológica, ya que sólo el 50% de ésta cumple con lo establecido en el marco normativo de la NTC 399 como límite máximo en el recuento de mesófilos.

La leche transportada en tracto camiones presentó mejores recuentos de microorganismos mesófilos, que la leche transportada en carro tanques, esto se puede atribuir a una mejor conservación de la cadena de refrigeración en el transporte de leche en tracto camiones.

La leche que llega a la planta Colanta Planeta Rica presenta bajos recuentos de *Bacillus cereus* y Esporas mesófilas aerobias, mientras que los recuentos de *Staphylococcus coagulasa positiva* suelen ser mayores.

Las condiciones climáticas no son un factor influyente en la microbiología de la leche, por tanto, no se observan variaciones significativas en la calidad microbiológica de esta, con el cambio de las diferentes épocas del año, época de lluvias y verano.

Los cambios microbiológicos que sufre la leche en los sitios de almacenamiento están estrechamente ligados a la inadecuada limpieza y refrigeración de la misma, por lo que un silo sucio va a significar aumentos significativos entre la carga de microorganismo iniciales en la leche y la carga encontrada al momento de entrar esta a los proceso de transformación.

La suciedad en el recipiente se convierte en un potencializador del crecimiento de los microorganismos, y por las características composicionales de la leche que la hacen un adecuado medio de cultivo resulta en un aumento exponencial de los microorganismos afectando la calidad del producto.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda como medida a tomar la adecuada limpieza de los silos de almacenamiento de la leche y la ejecución de medidas de control que permitan evaluar la efectividad de los procesos de limpieza que se llevan a cabo en estos recipientes.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Leche para el consumo humano. Decreto 616 de 2006. Presidencia de la Republica. 2006-02-18.
2. Brito MAVP. Conceitos basicos da qualidade da leite. In: Brito JRF, DiasJC. Sanidade do gado leiteiro. Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL/saoPaulo, Tortuga. 1995:55-62.
3. Margariños H. Producción higiénica de la leche cruda. Una guía para la pequeña y mediana empresa. 1ª ed. Guatemala, Guatemala: Producción y Servicios Incorporados S.A. 2001.
4. Ortiz OG, Avila DA, Lagunes LJ, Castañeda MO, López GI, Aguilar BU, Román PH, Villagómez CJA, Aguilera SR, Quiroz VJ, Calderón RR. Manejo de ganado bovino de doble propósito en el trópico. INIFAP. CIRGOC. Libro Técnico Núm. 5. Segunda edición. Veracruz, México. 2002:161.

5. Harding F. Milk quality. Glasgow; Chapman and Hall; 1995.
6. Reneau JK, Packard VS. Monitoring mastitis, milk quality and economic losses in dairy fields. Dairy, food and environmental sanitation 1991;4-11.
7. Alvarez MA. Tendencias de la reestructuración agroindustrial de la actividad lechera mexicana. En: Martínez BE, Alvarez MA, García HL, Del Valle MC coordinadores. Dinámica del sistema lechero mexicano en el marco regional y global. Plaza y Valdés Editores, UNAM, UAM-Xochimilco. México. 1999:183-202.
8. Campabadall C. Factores que afectan el contenido de sólidos de la leche. Memorias. II Seminario internacional sobre calidad de la leche. Colanta. Medellín, Colombia. 2009; p91-111.
9. Alfonso Calderón, Fredy García, Gloria Martínez . Indicadores De Calidad de Leches Crudas en Diferentes Regiones de Colombia. Rev.MVZCordoba [Revista on-line] 2006 [Consultado el 15 de Marzo de 2014]; 11(1). Disponible en [\[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012202682006000100006&script=sci_arttext\]](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012202682006000100006&script=sci_arttext)
10. Sistema de Pago de la leche cruda al proveedor. Resolución 000017. Ministro de Agricultura y Desarrollo 2012-01-20.
11. Productos Lácteos. Leche Cruda. Norma Técnica Colombiana 399. INCONTEC. 4ta Actualización. 2002-11-22
12. Morales Vallejo et al. Tamaño necesario de muestra ¿Cuántos sujetos necesitamos?. Universidad Pontificia Comillas. Madrid. 2013 Dic 13. [Epub ahead of print]. Disponible en <http://www.upcomillas.es/personal/peter/investigacion/Tama%F1oMuestra.pdf>
13. AOAC Official Method 989.10: Bacterial and Coliform Counts in Dairy Products, Dry Rehydratable Film Method.
14. Neira E, Silvestrini J. Análisis del proceso de ordeno y de la calidad higiénica de la leche utilizada en la fabricación del queso paipa en Paipa (Boyacá). Revista de Investigación U La Salle. 2006;6(2):163-270.
15. Moreno F, Martínez G, Mancera V, Ávila L, Vargas M. Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá). Rev Med Vet. 2007;14:61-83.

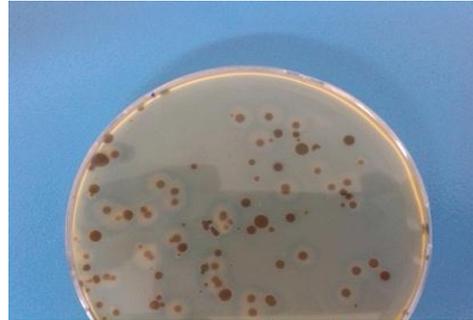
- 16.** FEDEGAN. Extracción mecánica y conservación de leche. Manual práctico del ganadero. 1999.
- 17.** Evaluación de riesgos biológicos en leche cruda para consumo directo. Unidad de evaluación de riesgos para la inocuidad de los alimentos, UERIA.

10. ANEXOS

Prueba de hidrolisis de almidón en colonias sospechosas de *Bacillus cereus*: NEGATIVA



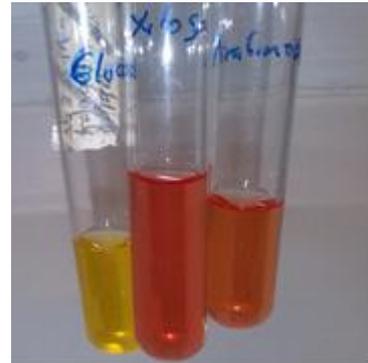
Colonias típicas de *Staphylococcus* cuagulasa positiva (negras con halo claro alrededor) en Agar Baird Parker.



Prueba de hidrolisis de almidón en colonias sospechosas de *Bacillus cereus*: POSITIVA



Batería bioquímica compatible con *Bacillus cereus* (Glucosa: positiva, Xilosa: negativa y Arabinosa: negativa)



Colonia característica de *Bacillus cereus* (rosas grandes con viraje del medio a fucsia) en Agar Mossel.

