

**DETERMINACIÓN DEL PERFIL MICROBIOLÓGICO DE LA LECHE
PASTEURIZADA A TRAVÉS DE SU LÍNEA DE PRODUCCIÓN EN LA
PLANTA PROCESADORA COLANTA - PLANETA RICA**

MARIELENA AGUIRRE AGUIRRE

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

MONTERÍA – CÓRDOBA

2016

**DETERMINACIÓN DEL PERFIL MICROBIOLÓGICO DE LA LECHE
PASTEURIZADA A TRAVÉS DE SU LÍNEA DE PRODUCCIÓN EN LA
PLANTA PROCESADORA COLANTA - PLANETA RICA**

MARIELENA AGUIRRE AGUIRRE

**Trabajo de grado presentado para optar al título de
Bacterióloga (o)**

VIRGINIA CONSUELO RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ

Director(a)

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

MONTERÍA – CÓRDOBA

2016

**El jurado calificador no será responsable de las ideas emitidas por los
autores.**

(Artículo 46, acuerdo 006 de mayo 29 de 1997, consejo superior)

NOTA DE ACEPTACION

PRESIDENTE DEL JURADO

JURADO

JURADO

MONTERIA, NOVIEMBRE DE 2016

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1. LECHE	3
1.1.1 Definición	3
1.1.2 Clasificación	3
1.2 LECHE PASTEURIZADA	3
1.2.1 Definición	3
1.2.2 Características físico químicas de la leche pasteurizada	4
1.2.3 Características microbiológicas de la leche pasteurizada	4
1.3 MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE	4
1.3.1 Generalidades	4
1.3.2 Clasificación	5
1.3.2.1 Bacterias mesófilas	5
1.3.2.2 Bacterias termófilas	6
1.3.2.3 Bacterias psicrófilas	6
1.3.2.4 Bacterias lácticas	6
1.3.2.5 Bacterias coliformes	7
1.4 CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE CRUDA Y	7

PASTEURIZADA	
1.5 PERFIL MICROBIOLÓGICO	8
1.5.1 Concepto	8
1.5.2 Usos	8
1.5.3 Pasos para la determinación del perfil microbiológico	8
2. OBJETIVOS	9
2.1 OBJETIVO GENERAL	9
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1 UBICACIÓN DEL ESTUDIO	10
3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN	10
3.3 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO	10
3.4 METODOLOGÍA	11
3.4.1 LECHE PASTEURIZADA A TRAVÉS DE LA LÍNEA DE PROCESO	11
3.4.1.1 Muestreo	11
3.4.1.2 Método para determinación de mesófilos aerobios	12
3.4.1.3 Método para determinación de coliformes totales y fecales	12
3.4.2 MEZCLA DE VITAMINA A PREM VIT COL 2003	12
3.4.2.1 Muestreo	12
3.4.2.2 Método para determinación de mesófilos aerobios	12

3.4.2.3 Método para determinación de coliformes totales y fecales	12
3.4.3 EMPAQUE LECHE PASTEURIZADA (POLIETILENO)	13
3.4.3.1 Muestreo	13
3.4.3.2 Métodos para determinación de mesófilos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales y hongos	13
3.4.4 AMBIENTES EN ZONA DE PROCESO	13
3.4.4.1 Método para determinación de mesófilos aerobios y hongos en ambiente de procesos	13
3.4.5 SUPERFICIES DE ZONA DE PROCESOS	14
3.4.5.1 Muestreo	14
3.4.5.2 Método para determinación de <i>Listeria spp</i> en superficies de zona de procesos	14
3.4.6 FROTIS EN MANOS DE MANIPULADORES	15
3.4.6.1 Muestreo	15
3.4.6.2 Método para determinación de coliformes totales y fecales en manos de manipuladores	15
3.5 ANÁLISIS DE LOS DATOS	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
4.1 PERFIL MICROBIOLÓGICO LECHE PASTEURIZADA A TRAVÉS DE LA LÍNEA DE PROCESO	16
4.1.1 RECuento DE MESÓFILOS AEROBIOS	16
4.1.2 COLIFORMES TOTALES	18

4.1.3COLIFORMES FECALES	20
4.2 PRE-MEZCLA DE VITAMINA A (PREM VIT COL 2003)	22
4.3 EMPAQUE DE LECHE PASTEURIZADA (POLIETILENO)	23
4.4 AMBIENTE EN AREA DE PASTEURIZACIÓN	24
4.5 MANIPULADORES Y OPERARIOS DEL AREA DE PASTEURIZACIÓN Y ENVASADO	26
4.6 FROTIS PARA DETECCIÓN DE LISTERIA EN EQUIPOS Y SUPERFICIES	27
5. CONCLUSIONES	29
6. RECOMENDACIONES	30
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características físico químicas de la leche pasteurizada entera	4
Tabla 2. Características microbiológicas de la leche pasteurizada	4
Tabla 3. Cantidad de muestras analizadas	10
Tabla 4. Puntos de muestreo en la línea de proceso de leche pasteurizada en planta procesadora Colanta-Planeta Rica	11
Tabla 5. Media de ufc/ml y Log ufc/ml de mesófilos aerobios de los diferentes puntos en la línea de producción de leche pasteurizada	16
Tabla 6. Media de coliformes totales a través de la línea de producción de leche pasteurizada en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica	19
Tabla 7. Media de coliformes fecales en leche pasteurizada a través de la línea de producción en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica	20
Tabla 8. Media del recuento microbiológico de pre mezcla de vitamina A en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica	22
Tabla 9. Resultado análisis microbiológico empaque de leche pasteurizada en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica	24
Tabla 10. Recuento de mésofilos aerobios, mohos y levaduras de ambiente en area de pasteurización en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica	25
Tabla 11. Resultados de frotis a manipuladores del polietileno en el area de envasado de leche pasteurizada en Planta procesadora	27

Colanta-Planeta Rica

Tabla 12. Resultados frotis en superficie del area de pasteurización para determinación de *Listeria* spp en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica 28

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Media de mesófilos aerobios a través de la línea de producción de leche pasteurizada en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica	17
Gráfica 2. Media de coliformes totales en leche pasteurizada a través de la línea de producción en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica	20
Gráfica 3. Media de coliformes fecales en leche pasteurizada a través de la línea de producción en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica	21
Gráfica 4. Media de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en pre mezcla de vitamina A	23
Gráfica 5. Media de mésofilos, mohos y levaduras en las diferentes areas de pasteurización en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica	26

RESUMEN

La carga microbiológica del producto terminado está determinada por la cantidad y tipo de microorganismos que estén presentes en la leche cruda, efectividad del proceso de pasteurización y por las medidas preventivas que se adopten para que no ocurra recontaminación del producto en las diferentes etapas de producción; con la realización de este proyecto se buscó determinar el perfil microbiológico de la leche pasteurizada en todos los puntos de la cadena de producción de la misma, con la finalidad de llevar una trazabilidad de las características microbiológicas del producto desde la materia prima hasta el producto terminado; para ayudar a conocer la magnitud de la calidad del proceso de pasteurización e identificar puntos críticos de contaminación, ambiente en el área e insumos; para ello se analizaron microbiológicamente muestras de la leche en los diferentes puntos del proceso de pasteurización, ambiente, insumos y manipuladores del área en 29 lotes de leche pasteurizada.

Mediante la determinación del perfil microbiológico de la línea de proceso de leche pasteurizada, se verificó efectividad del proceso de pasteurización, ya que se presentó reducción de un 99% para mesófilos y en su totalidad para coliformes totales y fecales presentes en la leche antes del proceso térmico además de la confirmación de ausencia de coliformes totales y fecales en los puntos post-pasteurización demuestran la ausencia de factores de recontaminación.

En la evaluación de ambiente, se arrojaron valores aceptables para el recuento de mesófilos, mohos y levaduras en las diferentes zonas del área de pasteurización, lo que indicaría la buena calidad microbiológica del ambiente, lo que exoneraría a este factor como fuente principal de contaminación al producto.

Palabras clave: Perfil microbiológico, calidad microbiológica, leche entera pasteurizada.

ABSTRACT

The bioburden of the finished product is determined by the amount and type of microorganisms that are present in raw milk, effectiveness of the pasteurization process and preventive measures taken to not happen recontamination of the product at different stages of production; with the completion of this project we sought to determine the microbiological profile of pasteurized milk at all points of the production chain thereof, in order to take traceability of the microbiological characteristics of the product from raw material to finished product ; to help determine the magnitude of the quality of the pasteurization process and identify critical points of pollution, environment in the area and inputs; for this milk samples at different points of the pasteurization process, environment, and inputs manipulators area in 29 batches of pasteurized milk they are microbiologically analyzed.

By determining the microbiological profile of the process line of pasteurized milk, effectiveness of the pasteurization process it was verified, since reduction of 99% for mesophilic and in full for total and fecal coliforms in milk was introduced before the process further confirmation of absence of total and fecal coliforms in points post-pasteurization temperature demonstrate the absence of factors recontamination.

In assessing environment, acceptable to the mesophilic, molds and yeasts in different parts of the area pasteurization values dropped, indicating good microbiological quality of the environment, which would exonerate this factor as a major source of pollution product.

Keywords: Profile microbiological, microbiological quality, pasteurized whole mil

INTRODUCCIÓN

La leche entera pasteurizada es uno de los principales productos de la industria láctea, puesto que sus propiedades nutricionales lo convierten en un alimento indispensable para la dieta del hombre. Este producto es obtenido mediante la aplicación de tratamiento térmico ligero a la leche cruda y su posterior envasado; no obstante por las características de este producto, lo convierten en el sitio ideal para la proliferación de una gran variedad de microorganismos tanto benéficos como patógenos que pueden llegar a la leche de diversas fuentes dado al origen de carácter animal y a las diversas etapas por las que tiene que pasar posteriormente en su proceso de producción [4-5].

Por sus cualidades nutritivas, este es un alimento altamente perecedero, por lo que es necesario que este sea producido en condiciones óptimas de higiene para que este pueda cumplir con los parámetros microbiológicos y fisicoquímicos establecidos por la normatividad establecida por los entes gubernamentales [20-21].

Las características microbiológicas de la leche tienen gran relación en la calidad de los subproductos de diversas maneras. Algunos grupos bacterianos presentes en la leche, pueden degradar sus componentes alterando la calidad composicional y sensorial, así como también tener efectos negativos en los subproductos, principalmente relacionados a la vida útil y rendimiento, además de esto muchos de estos microorganismos son patógenos para el hombre y están asociados a la leche o a sus subproductos [1].

El proceso de pasteurización consiste en destruir, la totalidad de los microorganismos patógenos y casi la totalidad de los microorganismos no patógenos que pudiese estar presente en la leche, procurando alterar lo menos posible su estructura física, su equilibrio químico y vitaminas [3].

La carga microbiana del producto terminado está determinada por la cantidad y tipo de microorganismos que estén presentes en la leche cruda, efectividad del proceso de pasteurización y por las medidas preventivas que se adopten para que no ocurra recontaminación del producto en las siguientes etapas de producción teniendo en cuenta factores como el agua para lavar los equipos, métodos de desinfección, material de empaque, componentes agregados al producto, refrigeración durante el proceso, almacenamiento, lugares y

ambiente de trabajo lo que incluye la higiene de los manipuladores y operarios de la cadena de producción [1-2-6].

Con la realización de este proyecto se buscó determinar el perfil microbiológico de la leche pasteurizada en todos los puntos de la cadena de producción de la misma, con la finalidad de llevar una trazabilidad de las características microbiológicas del producto desde la materia prima hasta el producto terminado; que puede ayudar a conocer la magnitud de la calidad del proceso de pasteurización además de identificar los puntos críticos de contaminación de la leche pasteurizada teniendo en cuenta las diversas fases del pasteurizador, ambiente en el área e insumos como vitamina y empaque de la leche para de esta forma obtener un perfil global de la mayoría de los componentes que interactúan en la cadena de producción del producto.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 LECHE

1.1.1 Definición

“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”. [7]

1.1.2 Clasificación

La leche se clasifica de la siguiente forma:

- De acuerdo con su contenido de grasa:
 - Entera
 - Semidescremada
 - Descremada
- De acuerdo con su proceso de fabricación:
 - Pasteurizada
 - Ultrapasteurizada
 - Ultra Alta Temperatura UAT (UHT) Leche Larga Vida
 - Esterilizada
 - En polvo
 - Deslactosada

1.2 LECHE PASTEURIZADA

1.2.1 Definición

“Es el producto obtenido al someter la leche cruda, termizada o recombinada a una adecuada relación de temperatura y tiempo para destruir su flora patógena y la casi totalidad de flora banal, sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo ni sus características fisicoquímicas y organolépticas. Las condiciones mínimas de pasteurización son aquellas que tiene efectos bactericidas equivalentes al calentamiento de cada partícula a 72°C - 76°C por 15 segundos (pasteurización de flujo continuo) o 61 °C a 63° C por 30 minutos (pasteurización discontinua) seguido de enfriamiento inmediato hasta temperatura de refrigeración”. [7]

1.2.2 Características físico químicas de la leche pasteurizada

Tabla 1. Características físico químicas de la leche pasteurizada entera

Parámetro / unidad	Leche Pasteurizada Entera	
Grasa % m/v mínimo	3.0	
Extracto seco total % m/m mínimo	11.30	
Extracto seco desengrasado % m/m mínimo	8.30	
Peroxidasa	Positiva	
Fosfatasa	Negativa	
	Mínimo	Máximo
Densidad 15/15°C g/ml	1.0300	1.0330
Acidez expresado como ácido láctico %m/v	0.13	0.17
Índice crioscópico °H	-0.550	-0.530

Fuente: Decreto 616 del 28 de febrero del 2006.

1.2.3 Características microbiológicas de la leche pasteurizada

Tabla 2. Características microbiológicas de la leche pasteurizada

ÍNDICES PERMISIBLES	n	m	M	c
Rto. Microorganismos mesófilos ufc/ ml	3	40000	80000	1
Rto. Coliformes ufc/ml	3	<1	10	1
Rto. Coliformes fecales ufc/ml	3	<1	-	0

Fuente: Decreto 616 del 28 de febrero del 2006.

1.3 MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE

1.3.1 Generalidades

La leche debido a su compleja composición bioquímica y por su alto contenido de agua, es un buen sustrato para los microorganismos saprófitos y también para los patógenos que la utilizan como sustrato para su reproducción.

Entre la flora bacteriana existente en la leche cruda, leche pasteurizada, y productos lácteos hay importantes diferencias. Intervienen muchas variables, el tipo de bacterias y la contaminación de productos alimenticios, dependen de:

- Los microorganismos pueden producir cambios deseables en las características físico químicas de la leche durante la elaboración de diversos productos lácteos.
- Los productos lácteos y la leche pueden contaminarse con microorganismos patógenos o sus toxinas y provocar enfermedad en el consumidor.
- Los microorganismos pueden causar alteraciones de la leche y productos lácteos afectando la calidad de sus subproductos.

Desde el punto de vista higiénico, los factores de proceso juegan un rol muy importante porque actúan directamente sobre la microflora para que no se puedan producir peligros desde el punto de vista sanitario.

El factor de proceso esencial en el campo de la leche/productos lácteos es la temperatura (pasteurización, ultra alta temperatura, esterilización), que elimina las bacterias vegetativas (pasteurización) como así también la mayoría de los esporos (ultra alta temperatura, esterilización). [8-10]

1.3.2 Clasificación

No todos los microorganismos crecen a la misma temperatura. Según la temperatura óptima de crecimiento se pueden distinguir tres grupos: los mesófilos, los psicrófilos y los termófilos.

1.3.2.1 Bacterias mesófilas aerobias:

Pertenece la mayoría de la flora que se encuentra con mayor frecuencia en la leche, principalmente las bacterias lácticas.

En leche pasteurizada, recuentos elevados de microorganismos mesófilos aerobios, es indicador de deficiencias en el proceso de refrigeración y conservación del producto después del tratamiento térmico.

1.3.2.2 Bacterias Termófilas:

Son aquellas que crecen bien a temperaturas entre 45 a 55 °C, en este grupo están el *Lactobacillus bulgaricus*, *L. fermenti*, *L.Lactis*, *L. helveticus*, *L. acidophilus* y *Streptococcus termophilus*.

1.3.2.3 Bacterias Psicrófilas:

Son bacterias capaces de crecer a temperaturas de refrigeración. Son bacterias psicrófilas los miembros del género *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes* y *Bacillus*.

Otro grupo que merece ser descrito lo constituyen las Bacterias Termodúricas que son bacterias en su mayoría mesófilas que resisten temperaturas de pasteurización; algunas de ellas son termófilas. Se encuentran en este grupo los *Micrococcus*, *Microbacterium*, además de esporas de *Bacillus* y *Clostridium*.

Los microorganismos psicrótrofos y los termotrófos, son microorganismos mesófilos pero que igualmente pueden crecer a temperaturas bajas o altas, respectivamente. La temperatura a la cual se encuentra la leche después del ordeño favorece la rápida multiplicación microbiana. La mayor proporción de la flora bacteriana presente, son microorganismos mesófilos, es por ello que la inmediata refrigeración a temperaturas de 4 a 5 °C se hace fundamental para asegurar la calidad de la leche. Pero su almacenamiento no debe ser prolongado (máximo 24 horas) ya que entonces se favorecería el aumento en número de la flora psicrótrofa. Cuando la leche no vaya a ser procesada el mismo día de recepción debe ser sometida a un proceso de termización.
[10]

1.3.2.4 Bacterias lácticas

Son muy abundantes en la naturaleza y en los alimentos, se llaman así porque entre sus productos metabólicos figura el ácido láctico. Son tanto bacilos como cocos, pero no tienen la propiedad de formar esporas. Son anaerobias facultativas y son destruidas por el calor a temperatura de 72-75°C durante 15 segundos. Entre las más destacadas tenemos a

Streptococcus thermophilus y *Lactobacillus bulgaricus*, que se utilizan para la elaboración del yogur.

1.3.4 Bacterias coliformes

Pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos de pequeña longitud, aerobios facultativos, que se encuentran presentes en el intestino, estiércol, suelo, aguas fecales, plantas contaminadas, etc. Su temperatura óptima de desarrollo es 37°C y transforman los azúcares en ácido láctico, anhídrido carbónico (CO²) e hidrógeno, desprendiendo olor y sabor desagradable. El más conocido de los microorganismos coliformes es la *Escherichia coli* y su presencia es indicador de mala higiene.

En la leche pasteurizada, a diferencia de la leche cruda, la presencia de bacterias coliformes es inaceptable, ya que las temperaturas de pasteurización las destruye. Una prueba de coliformes positiva en productos lácteos pasteurizados denota mala pasteurización ó contaminación post-pasteurización, por lo tanto debe rechazarse [21-22].

1.4 CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE CRUDA Y PASTEURIZADA

La calidad higiénica de la leche cruda depende del estado sanitario y de la limpieza de las vacas, del sistema de ordeño y de las condiciones del equipo de ordeño. La contaminación microbiana de la leche durante su obtención en la explotación ganadera puede deberse a diferentes microorganismos tales como *Streptococcus lactis*, coliformes, psicrótrofos Gram-negativos y termodúricos. La leche también puede contener distintos patógenos como *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolítica* y *Listeria monocytogenes*.

En la leche pasteurizada, a diferencia de la leche cruda, la presencia de bacterias coliformes es inaceptable, ya que las temperaturas de pasteurización las destruye. El crecimiento de coliformes en productos lácteos pasteurizados denota mala pasteurización o contaminación post-pasteurización. [9]

1.5 PERFIL MICROBIOLÓGICO

1.5.1 Concepto

El perfil microbiológico hace parte de los indicadores del sistema HACCP el cual brinda información acerca de la inocuidad de los productos, puesto que es la historia del recuento microbiológico del producto a lo largo del proceso de producción, derivado del plan de muestreo microbiológico que se realiza rutinariamente.

1.5.2 Usos

- Verificar desempeño del proceso
- Monitorear el desarrollo de proveedores
- Realizar análisis de peligros (evolución del recuento microbiológico de la leche en el proceso de pasteurización)
- Evaluar el recuento microbiológico de los elementos claves de todo el sistema de producción
 - Materias primas
 - Ingredientes, insumos
 - Productos en proceso y terminados
 - Operarios, ambientes, superficies

1.5.3 Pasos para la determinación del perfil microbiológico

- Identificar los puntos de muestreo
- Establecer los microorganismos indicadores y sus rangos de aceptación y rechazo
- Establecer las frecuencias de muestreo
- Establecer los criterios de calificación según las frecuencias
- Calificar los resultados según los criterios establecidos
- Preparar las gráficas correspondientes

2. OBJETIVOS

2.1 GENERAL:

Determinar el perfil microbiológico de la leche pasteurizada de la planta procesadora Colanta Planeta Rica en los diferentes puntos de su línea de producción.

2.2 ESPECÍFICOS:

- Realizar seguimiento al comportamiento microbiológico del producto en diferentes etapas, insumos, ambiente y manipuladores en la línea de producción.
- Identificar puntos críticos de contaminación en el proceso de pasteurización de la leche.
- Evaluar la eficacia del proceso de pasteurización teniendo en cuenta la calidad microbiológica de la leche en los diferentes puntos del pasteurizador.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se desarrolló en el laboratorio de microbiología perteneciente a la Planta procesadora de la Cooperativa Colanta en el municipio de Planeta Rica – Córdoba.

3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo corresponde a una investigación de tipo descriptivo, prospectivo.

3.3 POBLACIÓN Y OBJETO DE ESTUDIO

La población y objeto de estudio fue la leche pasteurizada a lo largo de toda su línea de proceso, insumos (mezcla de vitamina y bolsa de empaque), ambiente, superficies y manipuladores en el área de pasteurización y envasado.

Se realizó un estudio descriptivo en el cual se analizaron las siguientes muestras: (Ver tabla 3)

Tabla 3. Cantidad de muestras analizadas

MUESTRA	N° DE MUESTRAS ANALIZADAS
Leche en diferentes puntos de la línea de proceso	290
Mezcla de vitamina A (Prem Vit Col 2003)	58
Polietileno	4
Ambiente en área de pasteurización, envasadora y cava	195
Frotis manos de manipuladores	6
Frotis para Listeria en superficies	12
TOTAL	565

Fuente: Autor

3.4 METODOLOGÍA

3.4.1 LECHE PASTEURIZADA A TRAVÉS DE LA LÍNEA DE PROCESO

3.4.1.1 Muestreo

Para este estudio se tomaron muestras de leche a nivel de la línea de procesamiento de la leche pasteurizada al inicio y al final de la producción en 5 diferentes puntos (Ver tabla 4), siendo los dos primeros puntos correspondientes a la leche antes del tratamiento térmico (silo y zona de precalentamiento) y los tres últimos puntos que corresponden a la leche después del pasteurizador (leche a la salida del pasteurizador, silo 9 antes de envasadora y producto empacado).

Tabla 4. Puntos de muestreo de leche en la línea de proceso

PUNTO DE MUESTREO	
P1	Silo de leche cruda
P2	Zona de precalentamiento (Leche antes del pasteurizador)
P3	Leche después del pasteurizador
P4	Silo 9 (Leche antes de envasadora)
P5	Producto terminado (Bolsa)

Fuente: Autor

En cada uno de los puntos se recolectaron aproximadamente 50 ml de muestra de leche del mismo lote de producción en frascos plesco estériles.

Se tomó una muestra al inicio y otra antes de finalizar el proceso de pasteurización por lote de producción en cada ocasión que hubo proceso, en el transcurso de un mes, analizándose en total 29 lotes de producción.

La toma de la muestra se realizó a través de las válvulas de los silos y contenedores de la leche, realizando flameado de la válvula con ayuda de mechero como método de descontaminación y descartando la primera porción de leche, las muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio en cavas refrigeradas.

Durante el muestreo en los diferentes puntos se consideró la temperatura a la cual estaba sometida la leche, además del tiempo aproximado de duración de la leche en cada punto.

3.4.1.2 Método para determinación de mesófilos aerobios

La determinación de mesófilos aerobios en las diferentes muestras de leche a lo largo de la línea de pasteurización se realizó según la metodología estandarizada por la FDA (FDA/NCIMS 2400a) [18] donde se describe el recuento estándar en placa de Mesófilos aerobios en muestras de leche.

3.4.1.3 Método para determinación de coliformes totales y fecales

Para la determinación de coliformes totales y fecales se hizo según el método oficial AOAC 991.14 en la cual se utiliza placas Petrifilm™ para recuento de *E.coli*/Coliformes en muestras de leche [19].

3.4.2 MEZCLA DE VITAMINA A PREM VIT COL 2003

3.4.2.1 Muestreo

Se tomó muestra de insumos e ingredientes utilizados en el proceso como la mezcla de vitamina A Prem Vit Col 2003 (ver anexo 1) adicionada al producto antes de pasteurizarse, tomando una muestra al inicio y otra al final de cada lote de producción, para ello se tomó aproximadamente 50 ml de pre-mezcla de vitamina a través de la válvula del tanque de vitamina con previa desinfección de la válvula mediante flameado con mechero y descartando la primera porción de leche, la muestra fue transportada inmediatamente al laboratorio en cava refrigerada.

3.4.2.2 Método para determinación de mesófilos aerobios

La determinación de mesófilos aerobios en las muestras de pre-mezcla de vitamina se realizó según la metodología estandarizada por la FDA (FDA/NCIMS 2400a) [18].

3.4.2.3 Método para determinación de coliformes totales y fecales

Para la determinación de coliformes totales y fecales se hizo según el método oficial AOAC 991.14 en la cual se utiliza placas Petrifilm™ para recuento de *E.coli*/Coliformes [19].

3.4.3 EMPAQUE LECHE PASTEURIZADA (POLIETILENO)

3.4.3.1 Muestreo

El polietileno utilizado para empaque de la leche fue tomado con una frecuencia de una vez por semana en el transcurso del proceso de un lote de leche pasteurizada, para ello se tomó una porción aproximada de 20 cm de longitud del polietileno utilizado como empaque, haciendo uso de tijeras estériles y transportándolo al laboratorio de forma inmediata dentro de bolsa de plástico estéril para su posterior análisis.

3.4.3.1 Métodos para determinación de mesófilos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales y hongos

El polietileno utilizado como empaque, se analizó aplicando la técnica del hisopo según NTC 5230/2004 [15], el cual consiste en humedecer un hisopo en agua peptonada al 0.1% y realizar un frotis en un área aproximada de 10×10 cm del empaque, se introdujo nuevamente el hisopo en el tubo y se homogenizó vigorosamente considerando éste como la muestra original, se procedió a realizar siembra en profundidad con 1 ml de muestra en placas estériles y agregando medio Plate Count para recuento de mesófilos aerobios, YGC para recuento de mohos y levaduras, y Chromocult® Coliformes para recuento de coliformes totales y fecales. Una vez solidificadas se incubaron a 35 ± 2 °C por 48 horas la placa de Plate Count y de Chromocult y a 25 ± 2 °C por 5 días las placas de YGC. Pasado el tiempo de incubación se hizo recuento y reporte de colonias obtenidas en cada placa.

3.4.4 AMBIENTES EN ZONA DE PROCESO

Las muestras del ambiente se realizaron semanalmente por el método de sedimentación en 3 puntos: área de pasteurización, envasadora y cava de almacenamiento del producto terminado.

3.4.4.1 Método para determinación de mesófilos aerobios y hongos en ambiente de procesos

Para evaluar el ambiente se utilizó la técnica de sedimentación pasiva, de acuerdo al procedimiento descrito en la técnica IRAM 14071-1 [16], poniendo

una placa de agar YGC y otra de Plate Count abiertas ubicadas en los puntos a evaluar (Área de pasteurización, envasadora y cava de almacenamiento de producto terminado) por un lapso de 5 minutos.

Posterior a esto se transportaron al laboratorio y se procedió a incubar a 35 ± 2 °C por 48 horas la placa de Plate Count para recuento de mesófilos aerobios y a 25 ± 2 °C por 5 días las placas de YGC para aislamiento de mohos y levaduras. Pasado el tiempo de incubación se hizo recuento y reporte de colonias obtenidas en cada placa.

3.4.5 SUPERFICIES DE ZONA DE PROCESOS

El análisis de superficies se hizo con una frecuencia semanal analizándose los puntos que se encuentran en el programa de muestreo estipulado en el Manual de Procesos del laboratorio de Microbiología, donde se rotan semanalmente los diferentes puntos de muestreo de superficies del área de procesos.

3.4.5.1 Muestreo

Para tomar las muestras de superficies, se realizó de acuerdo al Método Oficial AOAC-RI No. 030601 [17] en Placas Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes, se procedió a realizar un frotis con hisopo humedecido en 3 ml de agua de peptona buferada estéril BPW en un área de 25x25 cm frotando el hisopo en sentido horizontal, vertical y de forma diagonal, una vez realizado el frotis se introdujo nuevamente el hisopo en el tubo con agua de peptona buferada estéril BPW y fue transportado en cava refrigerada hacia el laboratorio para su posterior procesamiento.

3.4.5.2 Método para determinación de *Listeria spp* en superficies de zona de procesos

Posterior a la toma de muestra en la superficie, se adicionó asépticamente a la muestra 2 mL de agua de peptona buferada estéril BPW (caldo de reparación) y se dejó la muestra a temperatura ambiente por 1 hora hasta un máximo de 1.5 horas. Este paso fue requerido para la reparación de *Listerias* dañadas.

Una vez cumplido el paso de reparación, se procedió a inocular la muestra en Placa Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes, para esto se

agregó 3 mL de la muestra en el centro de la película inferior de la placa, se esperó al menos 10 minutos para permitir que el gel se formara y se llevó a incubación durante 28 ± 2 horas a 35 ± 1 °C.

Se realizó el reporte de forma cualitativa, contando y registrando los resultados de la placa como presencia o ausencia con base en la detección de colonias rojo-violeta intenso en la placa.

3.4.6 FROTIS EN MANOS DE MANIPULADORES

3.4.6.1 Muestreo

La toma de las muestras de manos de manipuladores se realizó con método del hisopo descrita en la NTC 5230 [15], para ello se humedeció dos hisopos estériles en 3 ml de caldo BHI y se procedió a realizar un frotis en ambas manos, espacios interdigitales, dedos y uñas de los manipuladores del área de envasado; una vez realizado el frotis se introdujo nuevamente el hisopo en el tubo con caldo BHI y se llevó al laboratorio para su posterior análisis.

3.4.6.2 Método para determinación de coliformes totales y fecales en manos de manipuladores

Los tubos con caldo BHI e hisopos utilizados en el frotis se incubaron a 35 ± 2 °C por un tiempo mínimo de 6 horas y máximo 24 horas, posterior a esto se procedió a sembrar masivamente con el hisopo en placas con agar Chromocult[®] Coliformes y se incubó a una temperatura de 35 ± 2 °C por 24 horas.

Se hizo reporte cualitativo (presencia/ausencia) de acuerdo al crecimiento de coliformes totales (colonias fucsias) y/o fecales (colonias moradas) en el medio.

3.5 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva, ingresándose los resultados en hojas de cálculo de Microsoft[®] Excel 2010 y estableciéndose medias de los recuentos obtenidos con su respectivo valor en escala logarítmica en cada parámetro a evaluar para su posterior análisis.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PERFIL MICROBIOLÓGICO LECHE PASTEURIZADA A TRAVÉS DE LA LÍNEA DE PROCESO

4.1.1 RECuento DE MESÓFILOS AEROBIOS

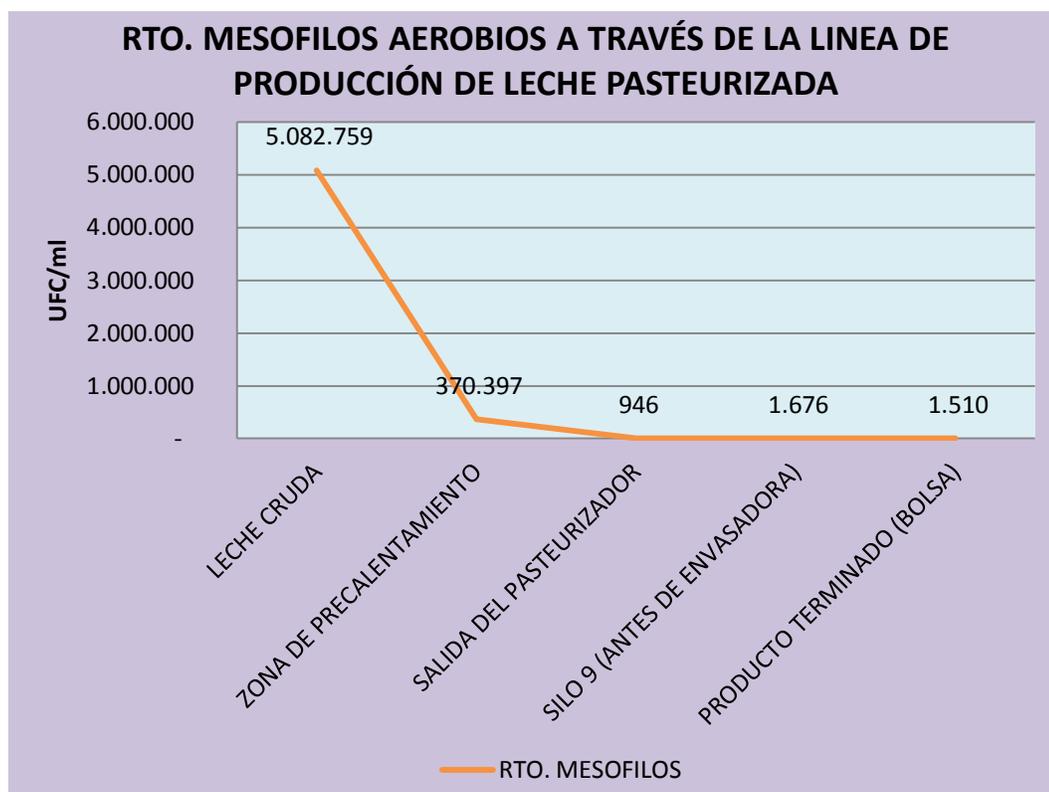
En la tabla 6 y gráfico 1, se puede apreciar la media del recuento de microorganismos mesófilos aerobios de los diversos puntos seleccionados como objeto de estudio para evaluar el perfil microbiológico del proceso de pasteurización de la leche; éstos puntos fueron escogidos debido a que se presentan cambios significativos de las características microbiológicas debido a procedimientos como, cambios de temperatura, centrifugación para el descremado de la leche, pasteurización y envasado, o en su defecto puntos susceptibles a contaminación post-proceso térmico.

Tabla 5. Media de ufc/ml y Log ufc/ml de mesófilos aerobios de los diferentes puntos en la línea de producción de leche pasteurizada

ETAPA DE PROCESO	MEDIA DE MESÓFILOS AEROBIOS ufc/ml	LOG	TEMPERATURA °C
P1: Silo (Leche cruda)	5.082.759	6.70	4 +/- 2
P2: Leche antes del pasteurizador (Zona de precalentamiento)	370.397	5.56	60 +/-5
P3: Leche después del pasteurizador	946	2.97	4 +/- 2
P4: Silo 9 (Leche antes de envasadora)	1676	3.22	4 +/- 2
P5: Producto terminado (Bolsa)	1510	3.17	4 +/- 2

Fuente: Autor

Grafico 1. Media de mesófilos aerobios a través de la línea de producción de leche pasteurizada en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica



Fuente: Autor

Como es evidente en los resultados obtenidos, se presentó una clara disminución inicial (92.7%) de la carga microbiana presente en el punto 1 correspondiente al silo de leche cruda (siendo la mayoría mezcla de leche proveniente de carro tanque y canecas) con respecto al punto 2 (Zona de pre calentamiento), las diferencias encontradas se pueden atribuir al aumento de la temperatura a la que es sometida la leche la cual pasa de 4°C en el silo de leche cruda hasta 60-65°C en la zona de pre calentamiento, por lo que comienza a haber reducción de gran parte de los microorganismos mesófilos; otra razón puede ser el proceso de descremado mediante el proceso de centrifugación, ya que gran parte de la biota microbológica al ser esta más densa se transfiere mayoritariamente a la crema, reduciéndose considerablemente la carga microbiana presente en la leche, proceso conocido como bactofugación.[11]

No obstante, se debe considerar que a pesar de que hubo una reducción considerable de microorganismos mesófilos, los recuentos obtenidos siguen

siendo elevados, por lo que la leche en este punto aun no cumple con los requisitos de calidad para envasarse.

Para los siguientes puntos P3, P4 y P5 (correspondiente a las zonas de salida del pasteurizador, almacenamiento en silo y producto envasado respectivamente) los resultados son claramente los esperados, debido a que son puntos post-pasteurización, hubo una reducción notable de microorganismos mesófilos (99.98%) generado por el proceso térmico al cual es sometida la leche; esto demuestra la eficiencia del proceso de pasteurización, el cual busca eliminar microorganismos patógenos y reducir en gran medida la carga microbiana en general; de igual manera se hace necesario resaltar el hecho de que no se presenten variaciones significativas en los recuentos entre los tres puntos antes mencionados, lo que denota la baja probabilidad de recontaminación en el transporte de la leche de un punto hacia otro y la correcta conservación de la refrigeración del producto en proceso, no obstante es normal que se presente un incremento pues la pasteurización es un proceso que elimina la mayoría de los microorganismos entre un 90-99% [3], más no su totalidad por lo que la carga microbiológica sobreviviente, a cierta temperatura inicia un proceso de reproducción, de manera que es normal que se haya presentado un aumento de forma paulatina en los recuentos de mesófilos, en el punto 4 correspondiente al silo de almacenamiento de la leche pasteurizada y en el producto terminado, con respecto a la leche recién salida del pasteurizador; de allí que sea importante que se mantenga la leche a bajas temperaturas después de haber sido sometida a pasteurización.

4.1.2 COLIFORMES TOTALES

Se puede observar en la tabla 7 y en el gráfico 2 el promedio del recuento de coliformes totales presentados en los diferentes puntos del proceso, donde podemos notar que hubo un comportamiento similar al recuento de mesófilos aerobios, puesto que se pudo encontrar una disminución de relevancia (96.7%) entre el punto 1 (leche cruda) y el punto 2 (leche zona de precalentamiento), lo que se puede atribuir al aumento de temperatura que hay en la zona de pre-calentamiento ($65 \pm 5^{\circ}\text{C}$) y al posterior proceso de descremado al cual es sometida la leche, por lo que se presenta una reducción inicial de la carga de coliformes totales presentes.

Tabla 6. Media de coliformes totales a través de la línea de producción de leche pasteurizada en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica

ETAPA DE PROCESO	MEDIA DE COLIFORMES TOTALES ufc/ml	LOG	TEMPERATURA °C
P1: Silo (Leche cruda)	47.138	4.67	4 +/- 2
P2: Leche antes del pasteurizador (Zona de precalentamiento)	1.537	3.18	60 +/-5
P3: Leche después del pasteurizador	<1	-	4 +/- 2
P4: Silo 9 (Leche antes de envasadora)	<1	-	4 +/- 2
P5: Producto terminado (Bolsa)	<1	-	4 +/- 2

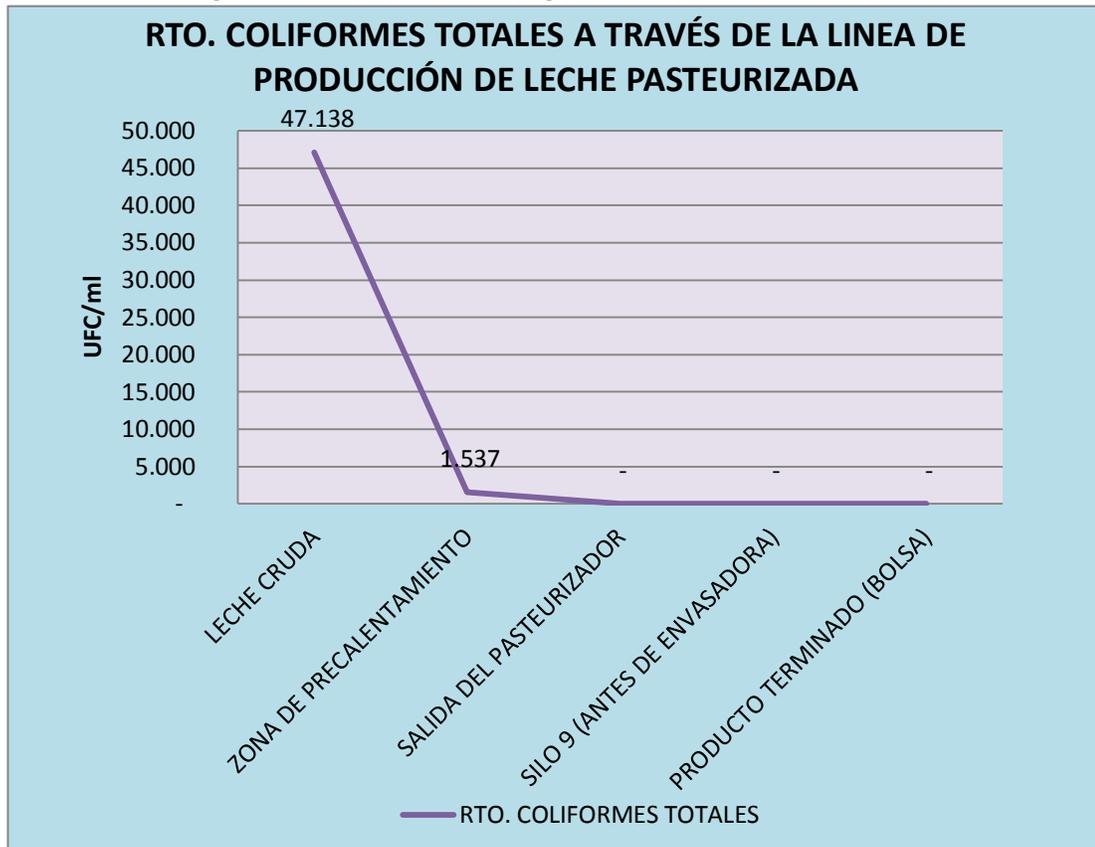
Fuente: Autor

En el punto 3 correspondiente a la leche inmediatamente después del pasteurizador, se presentó una reducción total (99.9%) de el recuento de coliformes totales con respecto al punto 2, situación dada por el tratamiento térmico utilizado, el cual tiene como finalidad reducir en su totalidad la flora patógena existente en la leche, de manera que la ausencia de coliformes totales en la leche después de haber sido pasteurizada se utiliza como indicador de la eficiencia del proceso.

Con respecto a los siguientes puntos post-tratamiento térmico como el silo 9 antes de la envasadora y al producto terminado, se pudo evidenciar que no hubo cambio en los recuentos, lo que representa la ausencia de puntos de recontaminación en la línea de transporte de la leche hacia el silo 9 y en el proceso de envasado de la misma; dado que las bacterias coliformes al haber sido eliminadas completamente en el proceso de pasteurización no deberían encontrarse posteriormente a excepción de que ocurra recontaminación en los diferentes puntos post-pasteurización.

Estos resultados representan un buen indicador de los procesos de limpieza y desinfección aplicados al pasteurizador y al área de procesos, así mismo se debe tener en cuenta la calidad microbiológica del ambiente y envases utilizados para empacar la leche, porque serían otras fuentes de recontaminación a considerar.

Grafico 2. Media de coliformes totales en leche pasteurizada a través de la línea de producción en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica



Fuente: Autor

4.1.3 COLIFORMES FECALES

El comportamiento de los recuentos de *E.coli* a lo largo del proceso, como se pueden observar en la tabla 8 y el gráfico 3, presentó la misma tendencia de reducción que los microorganismos mesófilos aerobios y coliformes totales.

Tabla 7. Media de coliformes fecales en leche pasteurizada a través de la línea de producción en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica

ETAPA DE PROCESO	MEDIA COLIFORMES FECALES ufc/ml	LOG	TEMPERATURA °C
P1: Silo (Leche cruda)	1.727	3.23	4 +/- 2

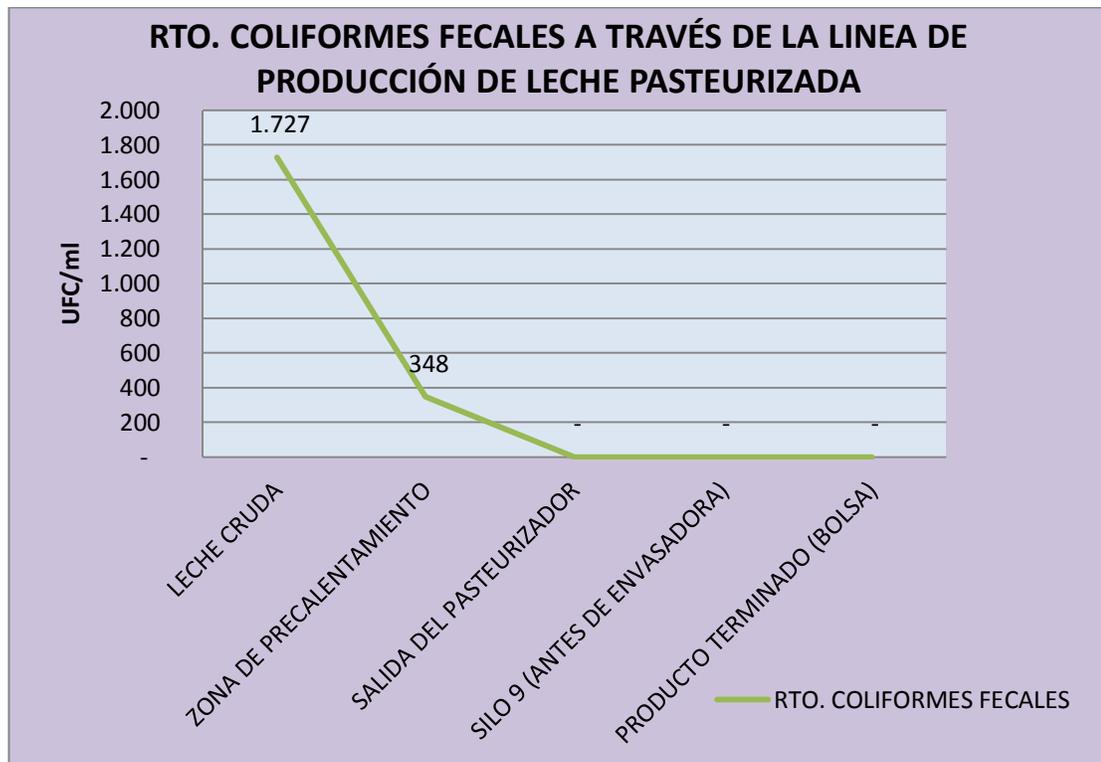
P2: Leche antes del pasteurizador (Zona de precalentamiento)	348	2.54	60 +/-5
P3: Leche después del pasteurizador	<1	-	4 +/- 2
P4: Silo 9 (Leche antes de envasadora)	<1	-	4 +/- 2
P5: Producto terminado (Bolsa)	<1		4 +/- 2

Fuente: Autor

Se presentó una alta disminución (79.8%) de la carga de *E. coli* desde el sometimiento de la leche cruda a la zona de precalentamiento, y una reducción total (99.9%) después del proceso de pasteurización.

A través de los puntos subsiguientes al proceso térmico se mantuvo la ausencia de *E. coli*.

Grafico 3. Media de coliformes fecales en leche pasteurizada a través de la línea de producción en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica



Fuente: Autor

De manera general, en todos los puntos analizados en la línea de proceso se obtuvieron los resultados esperados en relación a los indicadores microbiológicos utilizados, dado que se logró demostrar la eficacia del proceso térmico de la leche al reducir en gran parte la flora banal, y en su totalidad bacterias coliformes totales y *E. coli*; que no se encuentren dichos microorganismos en los puntos después del pasteurizador es un importante indicador de la ausencia de posibles fuentes de recontaminación de la leche por malas prácticas de higiene y manipulación post-proceso ya sea en la fase de almacenamiento de la leche después del proceso de pasteurización o en su posterior envasado.

4.2 PRE-MEZCLA DE VITAMINA A (PREM VIT COL 2003)

Se hizo necesario conocer la carga microbiológica de la mezcla de vitamina agregada a la leche antes de pasar por el pasteurizador, puesto que esta a pesar de ser un insumo estéril, de una forma u otra puede aportar una porción de microorganismos a la leche debido a la utilización de agua para su reconstitución.

En la tabla 11 y gráfico 5 se presentan la media de recuentos de mesófilos, coliformes totales y fecales obtenidos a lo largo de los ensayos; se puede notar que hay una carga representativa de mesófilos y coliformes totales los cuales pueden tener como fuente el agua utilizada para realizar la mezcla.

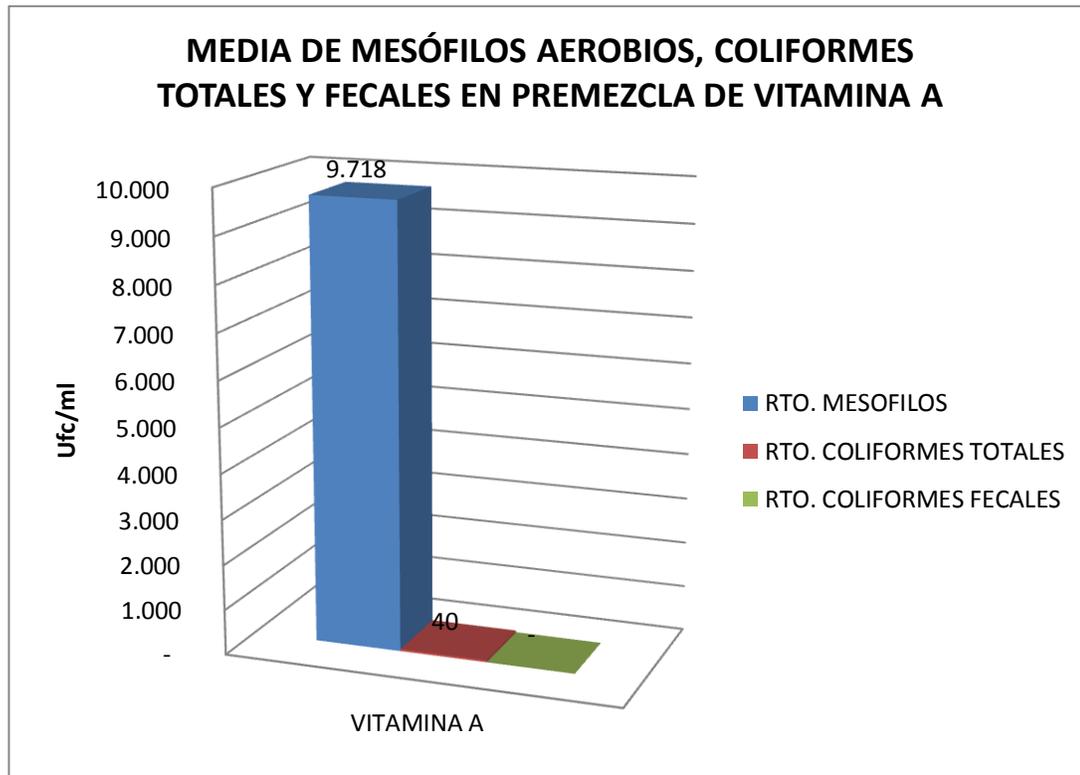
No obstante, a pesar de que se obtuvieron recuentos de coliformes totales, esto no afectó en gran medida la calidad microbiológica de la leche, debido al posterior proceso térmico aplicado a la leche, lo que se representó en la ausencia de coliformes totales en la leche después del proceso de pasteurización.

Tabla 8. Media del recuento microbiológico de pre mezcla de vitamina A en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica

VITAMINA A (Prem Vit Col 2003)			
Lote Vitamina	RTO. MESOFILOS Ufc/ml	RTO. COLIFORMES TOTALES Ufc/ml	RTO. COLIFORMES FCALES Ufc/ml
CO00705104	9.718	40	<1

Fuente: Autor

Gráfico 4. Media de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en premezcla de vitamina A



Fuente: Autor

4.3 EMPAQUE DE LECHE PASTEURIZADA (POLIETILENO)

La calidad microbiológica del empaque del producto terminado se considera un factor fundamental para la calidad e inocuidad del mismo [14], de allí que se haya considerado analizar microbiológicamente el polietileno utilizado como empaque de leche pasteurizada, puesto que al ser el proceso de envasado la fase terminal del proceso se considera un punto crítico en el cual puede ocurrir contaminación del producto por malas prácticas higiénicas.

En la tabla 12, se evidencian los resultados obtenidos en los diferentes lotes de empaques analizados, presentándose conformidad en todos los parámetros microbiológicos estudiados, lo que indica la ausencia de riesgo de contaminación por parte del polietileno para empacar la leche pasteurizada.

Tabla 9. Resultado análisis microbiológico empaque de leche pasteurizada en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica

LOTE EMPAQUE	RTO. MESÓFILOS ufc/cm²	RTO. COLIFORMES TOTALES ufc/cm²	RTO. <i>E. coli</i> ufc/cm²	RTO. MOHOS Y LEVADURAS ufc/cm²
003	<1	<1	<1	<1
633959	<1	<1	<1	<1
644130	<1	<1	<1	<1
016	<1	<1	<1	<1
025	<1	<1	<1	<1

Fuente: Autor

4.4 AMBIENTE EN AREA DE PASTEURIZACIÓN

El medio ambiente juega un papel muy importante en cuanto a factores de contaminación, dado que el estado en el que este se encuentre en el momento del procesamiento del producto esta relacionado directamente con la calidad microbiologica del producto sobretodo cuando está en su etapa final, puesto que si el ambiente no es optimo puede aportar gran variedad de microorganismos como bacterias mesófilas, psicotrófas, mohos, levaduras, etc. que pueden afectar en gran medida la vida util del producto [12], por tal razón es uno de los parametros mayormente evaluados en las plantas de procesamiento de alimentos.

En la tabla 8 se encuentran reflejados los recuentos de mesófilos, mohos y levaduras de los analisis del ambiente de diferentes fechas, realizados en tres areas diferentes relacionadas con la linea de proceso de leche pasteurizada: Envasadora, zona de pasteurización y cava.

Se puede destacar, que para los tres parametros microbiologicos analizados (mesófilos, mohos y levaduras) en las diversas areas, se presentaron recuentos dentro de los valores normales en la totalidad de muestreos realizados.

Por otro lado, de acuerdo a los resultados obtenidos se pudo evidenciar que el tipo de microorganismo que en promedio general presentó recuentos en mayor proporción con respecto a los demas fue el de mesófilos aerobios, seguido por los mohos y en ultimo lugar las levaduras.

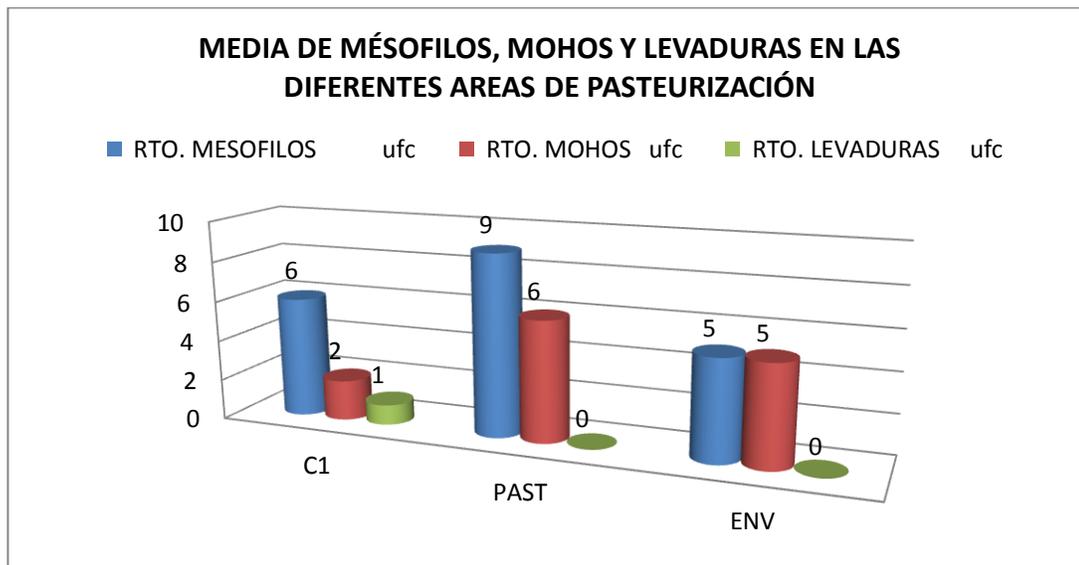
Tabla 10. Recuento de mesófilos aerobios, mohos y levaduras de ambiente en area de pasteurización en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica

FECHA DE MUESTREO	PUNTO DE MUESTREO	RTO. MÉSOFILOS ufc/5min	RTO. MOHOS ufc/5min	RTO. LEVADURA S ufc/5min	ESTADO
05-abr-16	Envasadora	9	2	0	conforme
	Zona past.	1	5	0	conforme
	Cava	14	1	0	conforme
14-abr-16	Envasadora	17	4	1	conforme
	Zona past.	3	4	0	conforme
	Cava	8	0	1	conforme
21-abr-16	Envasadora	2	7	0	conforme
	Zona past.	6	2	0	conforme
	Cava	4	1	0	conforme
27-abr-16	Envasadora	7	6	1	conforme
	Zona past.	9	9	1	conforme
	Cava	0	3	1	conforme
05-may-16	Envasadora	14	18	0	conforme
	Zona past.	8	7	0	conforme
	Cava	9	1	5	conforme
12-may-16	Envasadora	2	1	0	conforme
	Zona past.	2	3	1	conforme
	Cava	3	3	0	conforme
PROMEDIO		7	4	1	

Fuente: Autor

Como se refleja en la grafica 4, los recuentos varían de un area a otra, ya que el area de pasteurización el cual presentó mayores recuentos de microorganismos, se dió un predominio del grupo de mesófilos aerobios con respecto al otro grupo de microorganismos estudiados, de igual forma en la cava se observa la misma tendencia. No obstante, en el area de envasado se obtienen valores similares en los recuentos tanto de mohos como de mesófilos.

Gráfico 5. Media de mésofilos, mohos y levaduras en las diferentes áreas de pasteurización en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica



Fuente: Autor

A pesar de que se haya obtenido crecimiento de microorganismos en las diversas zonas, estas se encuentran dentro del rango aceptable, por lo que no representarían una posible fuente de contaminación de mayor impacto en el producto, debido a que la línea de pasteurización y envasado es cerrada y no se mantiene la leche expuesta directamente al ambiente.

4.5 MANIPULADORES Y OPERARIOS DEL AREA DE PASTEURIZACIÓN Y ENVASADO

Los manipuladores y operarios en el área de proceso de leche pasteurizada representan una fuente de contaminación de relevancia si no se siguen unas buenas prácticas de higiene y manipulación adecuadas; de allí que se realice seguimiento constante al tipo de carga microbiana que puedan presentar estos.

En la tabla 9, se expresan los resultados de los frotis para identificación de coliformes totales y fecales realizados en diferentes fechas al manipulador del polietileno utilizado como empaque de la leche.

Se pudo evidenciar que de 6 muestreos realizados, en 3 ocasiones se dio presencia de coliformes totales; sin embargo, a pesar de que la presencia de coliformes totales no se considera una no conformidad, debería tenerse más

en cuenta, por ser el proceso de envasado una etapa crítica al ser este el punto final del producto.

Tabla 11. Resultados de frotis a manipuladores del polietileno en el área de envasado de leche pasteurizada en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica

FECHA DE MUESTREO	MANIPULADOR	COLIFORMES TOTALES	COLIFORMES FECALES	ESTADO
05-abr-16	A	Presencia	Ausencia	Conforme
14-abr-16	B	Presencia	Ausencia	Conforme
21-abr-16	C	Presencia	Ausencia	Conforme
27-abr-16	B	Ausencia	Ausencia	Conforme
05-may-16	B	Ausencia	Ausencia	Conforme
12-may-16	C	Ausencia	Ausencia	Conforme

Fuente: Autor

4.6 FROTIS PARA DETECCIÓN DE LISTERIA EN EQUIPOS Y SUPERFICIES

La detección de *Listeria spp* es utilizada como indicador de eficacia de limpieza y desinfección de superficies y equipos, dada al amplio rango de temperaturas al cual es capaz de crecer este tipo de microorganismos (especialmente a bajas temperaturas); de allí que su uso como indicador de puntos críticos sea de importancia, puesto que su hallazgo servirá para establecer medidas de control que conlleven a la obtención de productos inocuos.[13]

Como se puede ver en la tabla 10, de los muestreos realizados en diferentes fechas, se obtuvo aislamiento de *Listeria spp.* en una canasta de la envasadora, las cuales son utilizadas para transportar el producto final y han pasado previamente por un proceso de limpieza y desinfección, por lo que la presencia de este microorganismo es indicio de una inadecuada limpieza.

Sin embargo, se debe resaltar que los demás puntos muestreados en el área de pasteurización y envasado se presentaron conformes a lo largo del ensayo.

Se debe revisar de formas más detallada la eficiencia del proceso de desinfección de las canastas, puesto que ya se venía detectando la presencia de *Listeria spp.* en las mismas.

Tabla 12. Resultados frotis en superficie del area de pasteurización para determinación de *Listeria spp* en Planta procesadora Colanta-Planeta Rica

FECHA DE MUESTREO	AREA DE MUESTREO	PUNTO DE MUESTREO	INVESTIGACIÓN <i>Listeria spp.</i> En 25 cm²	ESTADO
05-abr-16	Pasteurización	Sifón	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Botas	Ausencia	Conforme
14-abr-16	Pasteurización	Canaleta	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Canasta	Presencia	No conforme
	Envasadora	Canaleta	Ausencia	Conforme
21-abr-16	Pasteurización	Piso	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Piso	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Canasta	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Botas	Ausencia	Conforme
27-abr-16	Pasteurización	Botas	Ausencia	Conforme
	Pasteurización	Pared	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Pared	Ausencia	Conforme
05-may-16	Envasadora	Canasta	Ausencia	Conforme
	Pasteurización	Sifón	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Botas	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Canasta	Ausencia	Conforme
12-may-16	Pasteurización	Canaleta	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Canasta	Ausencia	Conforme
	Envasadora	Canaleta	Ausencia	Conforme

Fuente: Autor

De manera general, analizando los diversos actores de la línea de pasteurización de la leche se quiso conocer de una forma más global las posibles fuentes de contaminación del producto por la carga microbiológica que podían aportar a este, obteniéndose resultados dentro de los valores de aceptación, no obstante estos puntos continúan siendo potenciales causas de deterioro de la leche, por lo que se deben monitorear continuamente.

5. CONCLUSIONES

- Se verificó efectividad del proceso de pasteurización, ya que se presentó reducción de un 99% para mesófilos y en su totalidad para coliformes totales y fecales presentes en la leche antes del proceso térmico.
- Recuentos normales de mesófilos aerobios en los puntos post-pasteurización y en el producto terminado refleja eficiencia en la conservación y refrigeración de la leche.
- La ausencia de coliformes totales y fecales en los puntos post-proceso térmico demuestran la ausencia de factores de recontaminación en la línea del pasteurizador.
- En la evaluación de ambiente, se arrojaron valores aceptables para el recuento de mesófilos, mohos y levaduras en el ambiente de las diferentes zonas del área de pasteurización, lo que indicaría conformidad de la calidad microbiológica del ambiente.
- En el análisis a manipuladores se detectó la presencia de coliformes totales en manos de algunos manipuladores, lo que si bien no se considera una no conformidad, debería tenerse en cuenta como una posible fuente de contaminación.
- Se evidenció la presencia de *Listeria spp.* en canasta del área de envasado de la leche, lo que puede indicar fallas en el proceso de lavado y desinfección de las mismas.
- Se obtuvieron recuentos considerables en la mezcla de vitamina A, a pesar de que podría aportar una carga microbiana a la leche, esta se logra reducir en gran proporción con el posterior proceso de pasteurización
- Se presentó total conformidad en la calidad microbiológica del empaque de la leche pasteurizada.

6. RECOMENDACIONES

- Realizar evaluación del proceso de lavado y desinfección de canastas utilizadas para almacenar el producto terminado.
- Hacer seguimiento continuo a manipuladores, con miras a disminuir la presencia de coliformes totales en manos de los mismos.
- Vigilar la calidad microbiológica del agua utilizada para realizar la pre mezcla de vitamina A.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Noli, M. J. O., & Veterinarias, C. (2014) Evaluación de la calidad microbiológica de la leche producida en establecimientos de la región litoral noroeste del país, período 2012-2013. (Tesis de pregrado). Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay. Recuperado de: http://fvet2.fvet.edu.uy/sites/default/files/biblioteca-archivos/Tesis-de-grado-2014/FV-31003_0.pdf
- [2] Serrano, G. (2005) El Sistema Nacional de Análisis de Leche Fresca. SISLAC. Bogotá, Colombia.
- [3] Veisseryre, R. (1988) Lactología técnica. 2da. ed. Editorial Acribia. España.
- [4] Ferrus, M et al. (2015) Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre los riesgos microbiológicos asociados al consumo de leche cruda y productos lácteos elaborados a base de leche cruda. AECOSAN-2015-004, 21, 4-5
- [5] Vázquez Ojeda, E., Pérez, E., Ayala, L., Alcántara, L. (2014) Evaluación de la calidad microbiológica de la leche. Revista Iberoamericana de Ciencias. 1(3).
- [6] Garedew, L., Berhanu, A., Mengesha, D., Tsegay, G. (2012) Identification of gram-negative bacteria from critical control points of raw and pasteurized cow milk consumed at Gondar town and its suburbs, Ethiopia. BMC Public Health 12(1):950. Doi: 10.1186/1471-2458-12-950
- [7] Ministerio de la Protección Social 2006. Decreto 616 de 2006.
- [8] Foster, E. (1994). Microbiología de la leche. Editorial Herrero, S.A. México.
- [9] Frazier, W. y Westhoff, D., (1988). Microbiología de los Alimentos. 3ra. ed. Editorial Acribia SA. Zaragoza, España
- [10] Heer, G. (2007). Microbiología de la leche. Cátedra de tecnología de la leche. Universidad Nacional del litoral. Santa Fe, Argentina.
- [11] Enamorado, C. (2003). Evaluación microbiológica de la leche cruda recibida y de la línea de procesamiento de la leche fluida en bolsa al 2% de

grasa en la planta de lácteos de Zamorano. (Tesis de pregrado). Universidad de Zamorano, Zamorano, Honduras.

[12] Dávila, J., Genara, R., & Otoniel, C. (2006). Evaluación Microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo Gouda en una Industria Venezolana. Arch. latinoam. nutr, 56(1), 50-59.

[13] Sanchez, F. (2003) .Detección de *Listeria monocytogenes*- *Listeria spp* en puntos críticos establecidos en una planta procesadora de productos congelados para rápido consumo. (Tesis de grado). Universidad autónoma de Nuevo León, Nuevo León, México.

[14] Luna, L. (2002). Evaluación microbiológica del ambiente y diseño de un plan de monitoreo en la planta de lácteos. (Tesis de grado). Universidad de Zamorano, Zamoranos, Honduras. Recuperado de: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1544/1/T1555.pdf>

[15] Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). (2004). Norma Técnica Colombiana. NTC 5230, Microbiología de alimentos y alimento para animales. Método horizontal de técnicas de muestreo de superficies usando cajas de contacto y método de escobillón. ICONTEC.

[16] IRAM (2004). Método pasivo por sedimentación. Norma 14071-1. 1 Ed. Argentina.

[17] 3M Petrifilm™. (2006). Guía de interpretación de Placas Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes. México.

[18] Food and Drug Administration (2009). FDA 2400a. Standard Plate Count, Coliform, and simplified count methods.

[19] 3M Petrifilm™. (2006). Guía de interpretación de Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes. México.

[20] Valbuena, E y col. (2004).Calidad microbiológica de las principales marcas de leche pasteurizada distribuidas en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. Rev Cient, 14, 59-67.

[21] Organización Mundial de la Salud.(1960). Normas para el examen de los Productos Lácteos. 11va ed. Washington. p 145-179.

[22] BOSCÁN, L. A. (1983). Guías Prácticas del Laboratorio de Industrias Lácteas. 11va Ed. FCV-LUZ. p 75-81.