

RICHARD ELLNER

PREGUNTAS Y  
RESPUESTAS  
SOBRE LA

MICROBIOLOGÍA

DE LA LECHE Y  
LOS PRODUCTOS LÁCTEOS

Edición española 1999  
actualizada por el autor y  
traducida del alemán por:  
Corinna Schlüter-Ellner y  
Rodrigo Schulz,



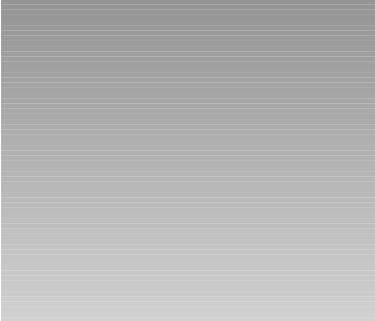
Portada: Bacterias corineformes  
Foto: Rodrigo Schulz

# ÍNDICE

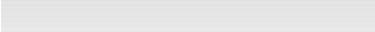
Prefacio a la edición española . . . . .	VII
Prefacio a la edición alemana . . . . .	IX
Abreviaturas y siglas . . . . .	XI
<b>1. Microbiología general . . . . .</b>	<b>1</b>
1.1. Los microorganismos en la naturaleza . . . . .	1
1.2. La célula de los microorganismos y su estructura . . . . .	2
1.3. La clasificación de los microorganismos . . . . .	10
1.4. Multiplicación y crecimiento de los microorganismos . . . . .	18
1.5. Destrucción e inhibición de microorganismos . . . . .	25
1.6. El metabolismo de microorganismos . . . . .	30
1.7. Alteraciones microbiológicas de los componentes de la leche . . . . .	34
<b>2. Microbiología de la leche y los productos lácteos . . . . .</b>	<b>37</b>
2.1. Leche cruda . . . . .	37
2.2. Leche pasteurizada . . . . .	39
2.3. Leche UHT . . . . .	43
2.4. Leche condensada . . . . .	49
2.5. Productos lácteos secados . . . . .	49
2.6. Cultivos iniciadores . . . . .	52

# ÍNDICE

2.7. Productos lácteos fermentados .....	59
2.8. Mantequilla .....	63
2.9. Queso .....	64
<b>3. Analítica microbiológica .....</b>	
3.1. Requisitos para el trabajo microbiológico .....	69
3.2. Medios de cultivo .....	70
3.3. Muestreo y preparación de las muestras .....	76
3.4. Tabla de los análisis microbiológicos de diferentes productos .....	79
3.5. Determinación del recuento total .....	82
3.6. Bacterias coliformes .....	89
3.7. Microorganismos proteolíticos y lipolíticos .....	92
3.8. Esporulados .....	94
3.9. Levaduras y hongos .....	97
3.10. Métodos de análisis para diferentes microorganismos importantes en la fabricación de productos lácteos .....	99
3.11. Pruebas microbiológicas para sustancias inhibidoras .....	103
3.12. Control de cultivos iniciadores .....	106
3.13. Procedimientos de enriquecimiento .....	108
3.14. Controles de la higiene en la empresa .....	110
3.15. Descripción de la forma celular y de la colonia de los microorganismos .....	111
3.16. Identificación de microorganismos .....	115
<b>4. Anexo .....</b>	<b>123</b>
4.1. Criterios microbiológicos para leche y productos lácteos vigentes en la Unión Europea .....	123
4.2. Tablas NMP .....	130
– por triplicado .....	130
– por quintuplicado .....	131
4.3. Ejercicios para el cálculo en la microbiología de alimentos .....	132
<b>5. Bibliografía .....</b>	<b>137</b>
<b>6. Índice alfabético .....</b>	<b>139</b>



## PREFACIO A LA EDICIÓN ESPAÑOLA



Varios años de docencia en la Universidad de Costa Rica en el Área de Microbiología de Alimentos, que simultáneamente me permitieron conocer la analítica microbiológica de la industria láctea de aquel país, me enseñaron que los conocimientos a nivel científico son excelentes, pero que siempre surgen problemas a la hora de traducirlos en la práctica diaria de laboratorio industrial.

La transferencia de estos conocimientos a las empresas, especialmente a las pequeñas, resulta difícil muchas veces. Por eso, este libro —ahora por primera vez en versión española— se dirige en primer plano a las personas que no cuentan con la asistencia constante de un microbiólogo. Las preguntas y respuestas formuladas en el libro pretenden ser impulso y apoyo para realizar el análisis de los problemas microbiológicos en la empresa. Vienen destinadas a capacitar a las personas activas en la producción a describir los problemas y a definir las medidas de análisis más fácilmente y con más exactitud.

Para esta edición española la versión alemana ha sido actualizada por completo, complementándola también con algunos capítulos nuevos.

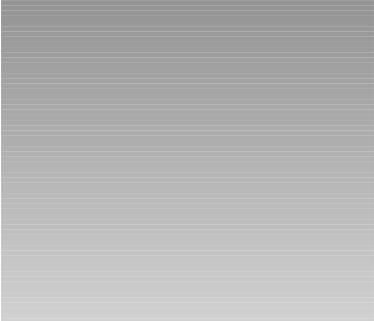
Merece mi especial agradecimiento el Sr. Rodrigo Schulz (Tetra Pak Hispania) por su idea de realizar esta edición en español y su valioso trabajo de traducción. Además, doy las gracias a mi esposa

## PREFACIO

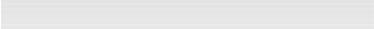
Corinna por la traducción y por acompañar el trabajo con espíritu analizador. Extiendo mi agradecimiento a las empresas industriales por su generoso apoyo a este proyecto.

Ottobrunn, mayo de 2000

Richard Ellner



## PREFACIO A LA EDICIÓN ALEMANA



En la formación del personal de la industria lechera, la microbiología de la leche representa un punto clave.

Con las presentes «Preguntas y Respuestas sobre la Microbiología de la Leche y los Productos Lácteos» se pretende contestar de manera simple y comprensible a las preguntas hechas con frecuencia sobre esta materia. Este libro está escrito tanto para el instructor en el laboratorio que debe contestar las preguntas de sus alumnos, como para el aprendiz que desea ampliar su conocimiento y comprobarlo.

Esta recopilación ha surgido de mi labor de enseñanza y prácticas en la microbiología de la leche. Puntos de vista didácticos en relación con el grupo al que está dirigida, exigen una presentación no demasiado científica. Dado que el tema se ha tratado limitándose a puntos de esencial interés, se recomienda el uso de un libro de texto, publicaciones en revistas, o libros metodológicos para profundizar los conocimientos.

A los aprendices les deseo mucho éxito y tenacidad en el trabajo con las «Preguntas y Respuestas sobre la Microbiología de la Leche y los Productos Lácteos».

Merkendorf, agosto de 1988

Dr. Richard Ellner

## ABREVIATURAS Y SIGLAS

<b>APC</b>	Agar Plate Count
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
valor $a_w$	actividad de agua
<b>CDT</b>	Caldo Dextrosa-Triptona
<b>CEC</b>	Caldo EC
<b>CLS</b>	Caldo-laurilsulfato
<b>CLSF</b>	Caldo-laurilsulfato-Fluorocult
<b>CVBL</b>	Caldo-verde brillante-bilis-lactosa
<b>CVBLF</b>	Caldo-verde brillante-bilis-lactosa-Fluorocult
valor $D_{10}$	tiempo de reducción decimal
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DRCM</b>	Differential Reinforced Clostridial Medium = Caldo diferencial para clostridios
<b>DSM</b>	Deutsche Sammlung für Mikroorganismen = Colección Alemana de Microorganismos
<b>FIL-IDF</b>	Federación Internacional de Lechería
Agar <b>GSP</b>	G = glutamato, S = Stärke = almidón, P = penicilina (Agar selectivo para Pseudomonas-Aeromonas seg. KIELWEIN)

## MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE

<b>IMViC</b>	pruebas de identificación de E. coli y Enterobacter aerogenes I = prueba de Indol M = prueba de rojo de metilo Vi = prueba de VOGES -PROSKAUER C = prueba de citrato
Agar <b>KRANEP</b>	Agar rodanuro potásico-Actidione-azida sódica-yema de huevo-piruvato
<b>NMP</b>	Número más probable
<b>RCM</b> <b>RNA</b>	Reinforced Clostridial Medium (Agar para clostridios Ácido ribonucleico
<b>SH</b>	valor Soxlet-Henkel
<b>UFC</b>	Unidades formando colonias
Agar <b>VRB</b>	Agar-violeta cristal-rojo neutro-bilis
Agar- <b>YGC</b>	Agar-extracto de levadura-dextrosa-cloranfenicol
<b>UHT</b>	Ultra high temperature (ultra alta temperatura)
<b>UE</b>	Unión Europea

# 2

## MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE Y DE LOS PRODUCTOS LÁCTEOS

### 2.1. Leche cruda

#### 1. ¿Cuál es el nivel de microorganismos en leche cruda?

$10^4$ - $10^6$  (10.000 - 1.000.000) UFC/ml

#### 2. ¿De qué forma entran los microorganismos en la leche cruda?

En la ubre de una vaca sana la leche está libre de microorganismos.

Los primeros microorganismos entran en la leche desde el pezón de la vaca.

Otras fuentes de contaminación son:

- el equipo de ordeño (cualquier microorganismo)
- forraje (esporulados anaerobios en el silaje)
- estiércol de la vaca (bacterias coliformes, *Enterococcus*)
- agua (*Pseudomonas*)
- tierra (esporulados, hongos)
- aire
- piel (*Micrococcus*, *Microbacterias*, bacterias lácticas).

## MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE

### 3. ¿De qué forma puede el ganadero tomar influencia sobre la calidad bacteriológica de la leche cruda?

1. Apropiaada técnica de ordeño (es decir: preordeño en tarro de preordeño, limpieza de la ubre, sellar la punta del pezón con yodóforo)
2. Cuidado con los aparatos de ordeño (limpieza, desinfección).
3. Cambio de gomas pezoneras endurecidas.
4. Rápido enfriamiento de la leche cruda a temperaturas bajas (6-8 °C).

### 4. ¿Cómo se puede examinar la calidad bacteriológica de leche cruda?

Los siguientes análisis son recomendables:

Examen:	Medio cultivo:
Recuento total	Agar Plate Count
Microorganismos lactosa-positivos y lactosa negativos	Agar azul de China-lactosa
Esporulados anaerobios	Caldo diferencial para <i>Clostridios</i> , DRCM
<i>Pseudomonas</i>	Agar selectivo para <i>Pseudomonas-Aeromas</i> seg. KIELWEIN

### 5. ¿Qué análisis se recomiendan al recibir la leche cruda?

1. Análisis de sustancias inhibidoras	para cualquier tipo de elaboración
2. Recuento total	para cualquier tipo de elaboración
3. Análisis de <i>Bacillus cereus</i> :	para la elaboración de leche pasteurizada
4. Análisis de <i>Pseudomonas</i>	para la elaboración de leche UHT
5. Análisis de <i>Clostridium</i> :	para la elaboración de queso duro y blando

## 2.2. Leche pasteurizada

### 1. ¿Qué objetivo tiene la pasteurización de leche?

Se han de eliminar todos los microorganismos patógenos.

### 2. ¿Qué porcentaje de los microorganismos presentes se destruye mediante la pasteurización?

El efecto germicida se sitúa alrededor del 95 %, es decir, de un recuento total de  $10^5$  UFC/ml (=100.000) en leche cruda permanecen unos  $10^3$  UFC/ml de microorganismos termorresistentes en leche pasteurizada.

### 3. ¿Cómo se denominan las bacterias que sobreviven la pasteurización?

Resistentes al calor (termorresistentes = termodúricas)

### 4. ¿Qué bacterias de la flora bacteriana de leche cruda son termorresistentes?

- *Alcalígenes*
- *Streptococcus*
- *Micrococcus*
- *Microbacterias*
- *Bacillus*
- *Clostridium*

### 5. ¿Qué influencia tienen las bacterias termorresistentes sobre la conservabilidad de la leche pasteurizada?

Si la leche pasteurizada envasada es almacenada en el comercio y por el consumidor en el frigorífico, las bacterias termorresistentes se multiplican solamente de forma muy lenta o ni siquiera eso. Su influencia sobre la durabilidad es débil.

De forma distinta se comportan los esporulados aerobios, especialmente. *Bacillus cereus*, los cuales sobreviven la pasteurización y pueden crecer a pesar de la refrigeración de la leche. (*Bacillus cereus* es psicrótrofo y termorresistente.)

## MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE

### **6. ¿Qué bacterias tienen importancia para la conservabilidad de leche pasteurizada?**

Ya que la leche pasteurizada generalmente se conserva en frío, solo tienen importancia las bacterias que pueden crecer a temperaturas de refrigeración (bacterias psicrófilas).

### **7. ¿De qué forma entran bacterias psicrófilas sobre todo en la leche?**

- por recontaminación entre el tratamiento térmico y el envasado, debido a la falta de limpieza y desinfección de las instalaciones

### **8. ¿Qué microorganismos suelen recontaminar la leche?**

Todas las bacterias, levaduras y hongos pueden recontaminar la leche.

Su importancia para la conservabilidad de la leche, sin embargo, es diferente.

### **9. ¿Cuáles son las causas principales de defectos y recontaminación ocurridos durante la fabricación de leche tratada térmicamente, con vista a la calidad microbiana?**

- deficiencias en la calidad de la leche cruda
- deficiencias en el efecto del tratamiento térmico
- limpieza deficiente de tanques intermedios, tubería y armaduras hasta la máquina envasadora
- limpieza deficiente de las superficies de la máquina envasadora, especialmente de los elementos de llenado, en contacto con el producto
- contenido de microorganismos demasiado alto en el aire, ocasionado por el aire externo, las piezas de la máquina en movimiento; paredes, techos y los trabajadores
- contenido de microorganismos demasiado alto en la superficie interior del envase
- envases no herméticos durante el almacenamiento y transporte de la leche

## MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS

### 10. ¿De qué forma se puede evitar una recontaminación?

Para evitar una recontaminación hay que limpiar y desinfectar detenidamente y con frecuencia la planta y los equipos. Asimismo el envasado de los productos debe realizarse bajo condiciones asépticas.

### 11. ¿Cual es el principio del título de recontaminación?

Primero, las bacterias se enriquecen en el producto y a continuación se esparcen sobre un medio de cultivo selectivo.

El enriquecimiento se realiza directamente en la leche.

Bajo condiciones asépticas se colocan  $3 \times 10$  ml,  $3 \times 1$  ml y  $3 \times 0,1$  ml de la leche en tubos de ensayo (9 tubos) estériles y se incuban por 24 h a 20 °C.

A continuación se estría con asa sobre Agar-violeta cristal-rojo neutro-bilis (AVRB), una placa de los tres tubos de 10 ml, una placa de los tres tubos de 1 ml y una placa de los tres tubos de 0,1 ml.

Incubación por 24 h, 30 °C.

Para la evaluación se consulta la tabla N.M.P.(ver anexo).

El resultado indica el número más probable de microorganismos recontaminantes gram-negativos en 10 ml del producto (N.M.P. / 10 ml).

### 12. ¿Con qué productos se realiza el título de recontaminación?

- Leche de consumo (leche pasteurizada)
- Nata para batir

Los productos se analizan el mismo día de su producción.

### 13. ¿Cuándo se realiza el título de recontaminación en el marco del control de producción de leche pasteurizada?

El título de recontaminación solo tiene sentido el mismo día de la fabricación.

Solo se realiza, si el análisis de bacterias coliformes en producciones anteriores ha resultado negativo.

## MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE

### 14. ¿Qué conclusiones acerca de la calidad y del vencimiento de la leche pasteurizada se pueden sacar del título de recontaminación?

Con este método se puede evaluar el probable vencimiento de leche pasteurizada.

Tabla para la evaluación del probable vencimiento de leche pasteurizada por medio del título de recontaminación

Título de recontaminación esparcimiento sobre AVR	Número probable de microorganismos recontaminantes en 100 ml	Calidad de leche pasteurizada el día de fabricación y su probable vencimiento
ninguna estría con crecimiento	< 1	excelente vencimiento > 5 días
máx. 2 estrías de 10 ml con crecimiento	1 - 10	buena
máx. 2 estrías de 1 ml con crecimiento	10 - 100	regular
más de 2 estrías de 1 ml con crecimiento	> 100	muy mala vencimiento < 5 días

### 15. ¿Puede sustituirse el análisis de bacterias coliformes en leche pasteurizada por el título de recontaminación?

No; el análisis sobre bacterias coliformes en leche pasteurizada es obligatorio según la directiva de las Comunidades Europeas (véase en el anexo).

La norma microbiológica es:  $n = 5$ ,  $c = 1$ ,  $m = 0$ ,  $M = 5$ .

El título de recontaminación es un método adicional.

### 16. ¿A partir de qué recuento bacteriano total se puede apreciar por el olor o sabor el deterioro de leche pasteurizada?

– a partir de  $10^6$  UFC / ml