

CATEDRA DE INDUSTRIAS DE LA LECHE, CARNE Y PESCADO

Prof. Encargado: Dr. FELIX REJAS GARCIA

CONTROL MICROBIOLOGICO DEL PROCESO DE FABRICACION DE LA LECHE CONDENSADA

Por Félix Rejas Garcia

La leche condensada, según nuestra legislación, aparte de una serie de especificaciones sobre su composición, debe reunir unas características higiénicas determinadas, entre las que se encuentra el contenido microbiano, que deberá ser inferior a 50.000 gérmenes por gramo de producto.

La leche condensada es pues, una leche conservada, pero no una leche estéril.

La microbiología de la leche condensada, desde los primeros trabajos de Kossowiez, hasta nuestros días, ha sido estudiada ampliamente, pero son realmente escasas las investigaciones publicadas sobre ensayos microbiológicos durante el proceso de fabricación, al objeto de lograr productos lo menos contaminados posibles, y evitar pérdidas económicas por alteraciones microbianas en el producto acabado y envasado. Como creemos es de gran interés el conocimiento de las diversas causas de contaminación de la leche condensada, vamos a intentar plasmar en este trabajo los resultados de diversos ensayos realizados en condenserías, así como de las técnicas más idóneas para realizarlos.

En la redacción de este estudio, citaremos en primer lugar los

fundamentos científicos que hacen de la leche condensada una conserva de leche, más tarde las alteraciones microbiológicas más frecuentes, para continuar con la exposición de las técnicas más idóneas en los análisis microbiológicos, y terminar con una exposición detallada de las diversas fases del proceso de fabricación y las posibles causas de contaminación del producto en cada una de ellas.

FUNDAMENTO CIENTIFICO DE LA CONSERVACION DE LA LECHE CONDENSADA

La leche condensada, siguiendo a nuestra legislación, es una leche concentrada hasta un extracto seco magro mínimo del 22 por 100 y una riqueza grasa mínima del ocho por 100, a la que se ha incorporado una cantidad determinada de sacarosa de forma que, su concentración en el producto final oscile entre un mínimo y máximo tanto por ciento de 62,5-0,625 E y 64,5-0,645 E (siendo E el extracto seco desengrasado). De tal forma que una leche condensada que cumpla los mínimos de nuestra legislación deberá tener la siguiente composición: Extracto seco magro 22 por 100, grasa ocho por 100, sacarosa entre 43,75-45,15 por 100, agua 25-27 por 100, y por consiguiente una "relación de azúcar" comprendido entre 62,5 y 64,5.

$$(\text{"relación de azúcar"}) = \frac{\% \text{ azúcar en leche condensada} \times 100}{100 - \% \text{ sólidos de leche totales en la leche condensada}} \quad)$$

El fundamento de la conservación de la leche condensada se encuentra en los fenómenos osmóticos que se producen al tener una tasa alta de azúcar.

Recordaremos que la ósmosis es una difusión especial entre dos soluciones de diferente concentración separadas por una membrana permeable, con tendencia a igualar las condiciones reinantes a ambos lados de tal membrana, y que presión osmótica es el desequilibrio que da origen a los fenómenos de difusión y osmosis.

Pues bien, en nuestro caso, la sacarosa se encuentra formando una solución fuertemente hipertónica respecto a la solución de electrolitos del protoplasma de los microorganismos que se pudieran encontrar en ella, originándose debido a la enorme diferencia de presión osmótica entre dentro y fuera de la membrana celular, una pérdida de agua del

protoplasma bacteriano hasta que se establezca un equilibrio entre las presiones osmóticas dentro y fuera de ella. Como la diferencia inicial entre estas dos presiones es notable, con una "relación de azúcar" entre 62,5 y 64,5 puede ser de 140 atmósferas, en la mayoría de los gérmenes, no en todos, la membrana citoplasmática se contraerá, el protoplasma bacteriano se desecará y agrupará en el centro de la célula, la vitalidad del microorganismo se debilitará o desaparecerá, y por lo menos el metabolismo celular y las funciones de reproducción disminuirán al máximo. Las células en definitiva se han plasmolizado, y aunque algunas más resistentes no se hayan destruido, el producto en estas condiciones podemos considerarlo como conservable.

ALTERACIONES MICROBIOLOGICAS DE LA LECHE CONDENSADA

A pesar de la defensa antimicrobiana que la sacarosa proporciona a la leche condensada, ésta pocas veces se encuentra libre de microorganismos viables. El número de los mismos es muy variable, en condicioner normales de fabricación nosotros hemos encontrado cifras que oscilan entre 100 y 5.000 por gramo de producto. Los especialistas americanos aseguran que cifra hasta 10.000 gérmenes por gramo pueden considerarse como normales.

Los microorganismos contaminantes pueden ser muy diversos, gérmenes, levaduras o mohos. En condiciones normales solamente suelen encontrarse los primeros, cuando aparecen mohos y levaduras generalmente van acompañados de alteraciones del producto originadas por los mismos.

Los gérmenes más frecuentes que hemos encontrado y generalmente en alto número son los pertenecientes al género *Micrococcus*, le siguen en importancia los esporulados aerobios del género *Bacillus*, y menos frecuentemente especies de los géneros *Flavobacterium*, *Escherichiae*, *Alcaligenes* y *Achromobacter*. El origen de estos gérmenes puede ser muy diverso, los micrococos tienen una habitat muy amplio, plantas, piel de los animales, suelo, agua, aire, azúcar; la contaminación de la leche condensada sucede en el transcurso de la fabricación, pues los que lleva la leche, a pesar de su termoresistencia, son fácilmente destruidos en el precalentamiento. Durante el almacenamiento los micrococos pue-

den reproducirse, aunque lentamente, debido a su alta resistencia a la presión osmótica. Las especies que con más frecuencia hemos encontrado han sido el *M. varians*, *M. epidermidis* y *M. candidus*, todos ellos en botes sin ninguna alteración manifiesta. En contaminación experimental con estos gérmenes no hemos observado alteraciones organolépticas ni variación en la acidez manifiesta.

Los gérmenes del género *Bacillus*, muy frecuentes en el suelo, polvo, agua y azúcar resisten en mayor o menor proporción el precalentamiento de la leche y la esterilización del azúcar, contaminando así el producto final. Con frecuencia hemos encontrado en la leche condensada *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. coagulans* y *B. circulans*, sin alteración manifiesta de la misma. Sin embargo OVEJERO S., ha encontrado como agente responsable de coagulaciones en leche condensada al *B. cereus* y *B. coagulans*, y HAMMER comprobó el sabor amargo de leche contaminada con una raza especial de *B. subtilis*.

Las especies de los géneros *Escherichiae*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* y *Alcaligenes*, se encuentran ampliamente distribuidas en el contenido intestinal, suelo, plantas y agua, y por su pequeña resistencia al calor quedan destruidas en la pasterización, y solamente podrán contaminar la leche por falta de higiene o fugas en circuitos de agua, durante el proceso de fabricación. A pesar de su escasa importancia como agentes productores de alteraciones en la leche condensada, algunos autores citan fermentaciones gaseosas producidas por el *Esch. coli*. Nosotros hemos encontrado en contaminación experimental con *Flav. estereoaromaticum* un ligero olor a frutas en la leche condensada.

En la literatura son frecuentes las citas sobre alteraciones gaseosas producidas por el *C. butyricum*. Esta especie se encuentra normalmente en el tubo digestivo de los animales domésticos y en algunos tipos de ensilados defectuosos, desde donde pasan a la leche por falta de higiene en el ordeño. Debido a su termoresistencia, el origen de la contaminación hay que localizarlo en la leche. Nosotros hemos logrado fermentaciones gaseosas en leche condensada contaminándola experimentalmente, pero para conseguirlo nos ha sido necesario inocular un número elevado de gérmenes.

Las levaduras son las responsables en la casi totalidad de las alteraciones gaseosas. Entre las especies más frecuentes figuran la *Torulopsis globosa*, *T. lactis-condensii*, el *Debaromyces hansenii*, y el *Cite-*

romyces matritensis, esta última aislada por SANTAMARIA y según él es la forma perfecta de la *T. globosa*. Todas estas especies tienen su hábitat en el suelo, polvo, plantas y azúcar. A la leche condensada pueden llegar con el azúcar si no se esteriliza bien, o en el proceso de la fabricación por manipulaciones poco higiénicas. Nosotros hemos conseguido fermentaciones gaseosas mediante la contaminación experimental con especies de los géneros *Saccharomyces* y *Zygosaccharomyces* aisladas de la sacarosa.

Una alteración que aparece con alguna frecuencia en los botes de leche condensada son los "botones", formaciones pigmentadas de micelio de mohos y caseína coagulada, y de la cual son responsables diversas especies de hongos, *Asp. repens*, *Asp. glaucus*, *Catelunaria fuliginea*, *Monilia nigra*, y diversas especies de penicillium. El color de estas formaciones puede ser muy diverso, pardo rojizo con los primeros, negruzco con la *M. nigra*, y azulado verdusco con los penicillium. El hábitat de estos mohos es muy variado, pero sus esporas son frecuentes en el aire, suelo, plantas y azúcar. Generalmente contaminan la leche en el proceso de fabricación.

TECNICAS EMPLEADAS EN LOS ENSAYOS MICROBIOLOGICOS

En este apartado se describirán las técnicas empleadas en los diversos ensayos realizados y que son aquéllas que nuestra experiencia ha considerado como más idoneas.

En la leche de recepción se han realizado contajes por métodos microscópicos directos y por cultivos, en la leche después del precalentamiento métodos microscópicos directos y por cultivo, en los demás apartados de los procesos de fabricación los contajes se han realizado mediante cultivo.

El medio de cultivo empleado en los contajes de bacterias, ha sido el Tryptone glucose extract agar de la casa Difco con un uno por ciento de leche descremada. Con este medio se consiguen crecimientos muy rápidos, pero tiene el inconveniente de ser excesivamente caro, poco económico para exámenes diarios de rutina. Hemos conseguido obtener resultados similares empleando materias primas nacionales en su preparación y substituyendo la triptona por hidrolizado enzimático de caseína,

logrando de esta forma un medio económico y de resultados rápidos y seguros.

El contaje y la investigación de mohos y levaduras, lo hemos realizado sobre Agar malta a pH 4,5, los mohos y levaduras prosperan abundantemente, al mismo tiempo que se inhibe el crecimiento bacteriano por la acidez excesiva del medio.

En las colimetrías hemos empleado directamente en las pruebas de probabilidad, el medio de formiato y ricinoleato sódico, por haber obtenido con él resultados más seguros y constantes que con el medio clásico de caldo lactosado, las pruebas de confirmación sobre medio de Levine o Endo respectivamente.

En los métodos directos de contaje, hemos preferido, por su sencillez, el método de Breed. En la tinción de la preparación empleamos el colorante de Erb, que reúne las ventajas de su gran rapidez y perfecta tinción de los gérmenes. Si se desea un mayor contraste entre el color rojo de los gérmenes sobre el fondo verde de la preparación, aconsejamos substituir el verde brillante de la fórmula por verde malaquita. El colorante de Erb, es de resultados más seguros que el clásico colorante de NEWMAN, pues con éste no se suele conseguir una perfecta tinción de todos los gérmenes, pudiendo ocurrir al observador poco experimentado que al realizar el examen microscópico no repare en numerosos gérmenes que aparecen teñidos con un débil color azulado.

Sobre la leche pasterizada hemos ensayado una tinción diferencial de gérmenes vivos y muertos. A pesar de no poseer suficiente experiencia sobre los resultados de esta técnica, sobre leche pasterizada, vamos a reseñarla brevemente por creer pudiera resolver el contaje microbiano directo en leches calentadas. Los problemas a resolver en la tinción de gérmenes vivos y muertos en las leches calentadas son dos, el primero conseguir la tinción del número total de gérmenes en la leche, ya que probablemente en virtud de adsorción de fosfato tricálcico por las células durante el calentamiento muchas de éstas no quedan teñidas al no poder penetrar en su protoplasma el colorante: y el segundo, poder, mediante mezcla de diversos colorantes y debido a la diferente capacidad de absorción de colorante por los gérmenes vivos y muertos, lograr que las células muertas se tiñan por un colorante determinado y las vivas por otro color de contraste.

Nuestra técnica, se basa en una modificación original a la técnica

de PROC-KAYSER, con la que hemos conseguido magníficos resultados en la diferenciación de gérmenes vivos y muertos en caldos de diversas fermentaciones industriales. Al tratar de emplear esta técnica sobre leches calentadas hemos tenido que resolver el problema de la fijación y desengrasado de la preparación, ya que el alcohol destruye rápidamente los gérmenes vivos y el tetracloruro de carbono o xilol interfiere la coloración posterior.

La técnica con la que hemos conseguido excelentes resultados en numerosas pruebas con leche pasterizada a diversas temperaturas en laboratorio, y sobre algunas industriales es la siguiente:

a) Mezclar un tubo de ensayo a partes iguales leche y suero de caballo estéril.

b) Colocar con pipeta de milésimas 0,005 c.c. de la mezcla sobre un portaobjetos, distribuir con hilo de platino sobre una superficie de un centímetro cuadrado.

c) Fijar ligeramente a la llama al objeto de que se coagule el suero y quede perfectamente adherido al portaobjetos.

d) Teñir 8-10 minutos con solución acuosa de azul de metileno al dos por 100.

e) Lavar por inmersión, en un vaso de precipitado con agua. Secar por papel de filtro.

f) Teñir durante un minuto con solución acuosa de fuchina al 1/10.000 o con solución acuosa de verde malaquita y rojo neutro al 1/10.000 durante 15-30 segundos.

g) Lavar. Secar y observar al microscopio.

Los gérmenes vivos aparecen teñidos en azul oscuro, o azul violeta, los muertos teñidos en rojo claro.

Hemos comprobado en varias ocasiones el método de KNAYSI y FORD para recuentos por tinción de gérmenes vivos y muertos en leches calentadas, la experiencia que poseemos sobre él es pequeña para opinar con certeza, pero lo que si podemos asegurar en que se trata de un método bastante complicado y de realización muy cuidadosa, por lo cual quizás poco apto para análisis de rutina en la industria.

Ante la diferencia ostensible que se encuentra entre los recuentos por métodos directos, según se realicen contajes de gérmenes individuales o en grupo, y los hallados por el método de dilución y siembra en placa, las cifras que damos en este trabajo serán las encontradas por el último procedimiento.

PROCESO DE FABRICACION

RECEPCION DE LA LECHE EN LA FACTORIA

En la leche llegada a la condensería, se realizan algunos ensayos biológicos encaminados a comprobar la higiene del producto. Normalmente el único ensayo realizado es la prueba de la alizarina, admitiéndose como leche apta para la condensería la que no presenta ningún coágulo con color rojo-lila. La prueba de la alizarina posee grandes ventajas pero presenta a la vez graves inconvenientes. Reúne la gran ventaja de su rapidez y que detecta bastante bien acideces superiores a 20° D. La leche que se dé como apta por esta prueba no coagulará durante el precalentamiento anterior a la evaporación. Indudablemente esta prueba no nos detecta el contenido bacteriano de la leche, a veces, especialmente en verano, muy grande sin que se refleje en la acidez debido a la adición fraudulenta de neutralizantes por parte de los ganaderos.

Sería de gran interés poder emplear en este tipo de industria, además de la prueba de la alizarina, la prueba de la resazurina lenta o la rápida de diez minutos, o simplemente contajes microbianos directos microscópicos, que permitirían al técnico de la industria conocer a la perfección la verdadera calidad higiénica de la leche, e intentar una mejora de los métodos de producción lechera.

Nosotros hemos encontrado contenidos muy diversos en leches de recepción, y en verano verdaderamente altos. En días muy calurosos las cifras han alcanzado hasta 42,9 millones de gérmenes por c.c., con más de 10.000 colis por centímetro cúbico, sin que en la prueba de la alizarina se presentaran coágulos. Cifras más corrientes en épocas calientes son del orden de 15-25 millones/c.c. con más de 10.000 colis/c.c.

Sería de gran interés en este tipo de industria disponer de leches con un contenido microbiano lo más bajo posible, pues a pesar de que se pueda aducir de que con el precalentamiento se destruyen todas las bacterias en forma vegetativa, sin embargo, permanecen viables los esporos bacterianos, no demasiado numerosos en la mayoría de los casos debido a que las células vegetativas generalmente no han alcanzado la fase de esporulación de su ciclo vital por el escaso período de incubación desde el momento de contaminación hasta la recepción en la factoría. Además, debemos pensar que cuanto menos contenido microbiano posean, más pequeña será la tasa de metabolitos y toxinas microbianas,

algunas termoresistentes y capaces de producir trastornos tóxicos en los consumidores del producto final.

Durante la recepción se realizan dos operaciones, pesado de la leche y desinfección de los bidones, en los que conviene tener en cuenta algunos detalles. El pesado de la leche debe realizarse lo más rápidamente posible, al objeto de que los gérmenes no prosigan su desenvolvimiento, y la limpieza y desinfección de la báscula y circuitos por los que atraviesa la leche deberá ser lo más perfecta posible. Los bidones vacíos, antes de su devolución al productor deberán limpiarse y desinfectarse bien, para evitar que queden en los mismos pequeñas cantidades de leche contaminada que servirán de siembra a la leche que se deposita en ellos al día siguiente.

DEPURACION DE LA LECHE

Si la leche llega a la factoría sucia, es conveniente eliminar las impurezas de la misma. En numerosas condenserías realizan una sencilla filtración a través de coladores de malla fina, que retienen solamente impurezas gruesas. Sería de desear que en las factorías de este tipo se realizara una verdadera depuración de la leche, con eliminación intensa de impurezas. En plan industrial la depuración podemos realizarla por medio de filtros estáticos, filtros continuos, o depuradores centrífugos. La mejor depuración se consigue con los filtros continuos, pero cuando interesa eliminar esporos bacterianos, como sucede en las condenserías, es posible que interese la depuración centrífuga, ya que gracias a la densidad de los esporos se consigue eliminar en los barros un tanto por ciento bastante alto de los mismos.

Si se emplearan filtros discontinuos, será conveniente cambiar con frecuencia de filtro, al objeto de evitar que se reblanzezcan las impurezas depositadas en el tejido filtrante, y evitar de esta forma la contaminación de la leche que sigue filtrando.

REFRIGERACION Y ALMACENAMIENTO DE LA LECHE

La leche ingresada en la condensería puede seguir diversos caminos, según el aflujo de leche, horario de recepción, y régimen de

trabajo. Pueden suceder tres casos: a) Que la leche se precaliente directamente y aliente los evaporadores; b) Que se precaliente para destruir la flora microbiana y después se refrigerere y almacene en depósitos isotérmicos hasta el momento de su empleo; y c) que la leche se refrigerere y almacene en los depósitos isotérmicos.

En los dos últimos apartados, la refrigeración puede realizarse en cambiadores de calor de tubos o placas, o en refrigerantes de cortina. En los primeros, solamente se puede contaminar la leche cuando existen fugas en el circuito por corrosión, poco probables si los aparatos están construidos en acero inoxidable. En los refrigerantes de cortina la leche puede sufrir contaminaciones por los microorganismos del aire, especialmente en los refrigerantes abiertos. De todas formas estas contaminaciones apenas tienen influencia en la calidad higiénica del producto final, si la leche no se ha pasterizado antes, pues en el precalentamiento serán destruidas. Si la leche se ha pasterizado antes de refrigerar, los gérmenes contaminantes pueden influir fuertemente, en especial la flora microbiana del aire, mohos y levaduras.

En los depósitos de almacenamiento las únicas precauciones a tomar son que estén perfectamente calorifugados, para evitar pérdidas de frío, que el prensaestopas del agitador ajuste bien al objeto de que no gotee aceite en el interior del tanque, y que la limpieza y desinfección del mismo una vez vacío sea perfecta.

PRECALENTAMIENTO O PASTERIZACION DE LA LECHE

La leche antes de entrar en el evaporador sufre un calentamiento que oscila según las técnicas de fabricación, entre 80 y 110° C, con tiempos entre diez minutos y algunos segundos. El objeto de este calentamiento es diverso, destruir las lipasas, evitando el posible ranciamiento del producto final, evitar un excesivo espesamiento de la leche condensada durante la conservación, prevenir la precipitación de las sales cárnicas, y destruir la flora patógena y la mayor parte de la flora banal de la leche.

Esta operación se realiza en cambiadores de calor de tubos o placas. La única precaución a tomar en esta operación es limpiar perfectamente el aparato una vez terminada la pasterización.

El contenido microbiano de la leche después del calentamiento es

muy variable, pero en general es muy bajo. En nuestros ensayos hemos encontrado cifras que oscilan entre 40 y 2.000 gérmenes/c.c., no encontrando colis en 10 c.c. de leche. Todos los microorganismos encontrados han sido bacterias esporuladas, con ausencia de levaduras y mohos. Son lógicos estos resultados, pues tanto los gérmenes no esporulados, como las levaduras y mohos son fácilmente destruidos a estas temperaturas. En cuanto al escaso número de bacterias esporuladas sobrevivientes, se explica fácilmente si pensamos en el origen de estos gérmenes y las vicisitudes porque atraviesa la leche desde la producción hasta la llegada a la factoría. Los gérmenes esporulados del género *Bacillus* suelen llegar en abundancia a la leche en tiempo caluroso y seco por el polvo, y los del género *Clostridium* por el polvo y por contaminación fecal durante el ordeño. En casi su totalidad contaminan la leche en forma de esporos y pocas células llegan en forma vegetativa. El tiempo que tarda la leche en llegar a la condensería desde el ordeño, podemos cifrarla entre las cinco y las quince horas, según proceda del ordeño de la mañana o del de la tarde, y la temperatura a que se mantiene en tiempo templado o caluroso, oscila entre los 10-20° C, con lo que los esporos bacterianos, al encontrarse en un medio excelente de cultivo, les son suficientes las cinco horas para pasar a forma vegetativa e insuficientes las 15 para poder terminar su ciclo vital pasando a forma esporulada.

EVAPORACION

La concentración se realiza en evaporadores de vacío, de simple o de doble efecto, a temperaturas cercanas a 50°C con vacío de 600-650 mm. de mercurio. El tiempo de la concentración es muy variable según el modelo de evaporador, siendo frecuentes tiempos de 3-4 horas en la industria. En el transcurso de esta operación, pueden prosperar los gérmenes termófilos, punto éste de más importancia teórica que práctica, ya que a no ser por contaminación posterior, los gérmenes termófilos en forma vegetativa, son destruidos durante el precalentamiento. Más importancia real tienen los focos de contaminación que pueden representar pequeñas cantidades de leche fermentada de la operación anterior, localizadas en puntos interiores del evaporador de difícil limpieza, tapa, bulbos, salida de tubos, etc. Es conveniente realizar una lim-

pieza perfecta, una vez terminada la evaporación, introduciendo en el evaporador soluciones detergentes calientes y manteniéndolas en el mismo como mínimo media hora.

ADICION DE LA SACAROSA

La sacarosa en proporción alrededor del 17 por 100 sobre la leche a condensar, puede ser incorporada a la leche de diversas formas, sólida antes o después del precalentamiento, y en forma de jarabe estéril del 70 por 100 antes de entrar en el evaporador o en la última fase de la evaporación.

La forma de adición tiene indudablemente influencia en las características del producto final. No es conveniente la incorporación antes del precalentamiento, pues la alta tasa de azúcar suele incrementar la resistencia al calor de los microorganismos, aparte de un aumento de viscosidad en el producto terminado. El empleo del azúcar en forma de jarabe permite realizar en el mismo una razonable esterilización, condicionada siempre por la inversión del azúcar, por lo cual no es conveniente sobrepasar los 100° C. En nuestras condenserías suele incorporarse la sacarosa en forma de jarabe en la última fase de la condensación.

La sacarosa a utilizar debe reunir un mínimo de requisitos, estar exenta de impurezas, y poseer una riqueza microbiana pequeña, especialmente, de esporas de mohos, levaduras, y bacterias productoras de ácido y gas. En nuestros ensayos sobre microbiología de la sacarosa hemos obtenido cifras que todas ellas se aproximan a los 80.000 microorganismos por gramo. Un 40 por 100 de esta cifra está representado por gérmenes del género *Micrococcus*, un 25 por 100 por levaduras, en especial del género *Zygosaccharomyces*, un 15 por 100 por especies bacilares de diversos géneros, y el 20 por 100 restante por esporas de diferentes mohos.

La esterilización del jarabe se suele realizar en la industria en cubas abiertas, con camisa o serpentín de calefacción de vapor. Las cifras encontradas por nosotros en jarabes estériles industriales, han sido del orden de 25-500 gérmenes por gramo, con ausencia de colis y anaerobios, levaduras y mohos.

En ensayos de laboratorio, hemos encontrado en jarabes con 30

minutos de ebullición, cifras que oscilan entre 100 y 140 gérmenes por gramo, con ausencia en un gramo de *Esch. coli*, anaerobios, mohos y levaduras. Con esterilización a 120° durante diez minutos, hemos logrado jarabes totalmente estériles.

Como se puede observar en las cifras reseñadas, si la esterilización del jarabe se realiza bien, simplemente por calentamiento a 100°, la mayoría de los gérmenes y en su totalidad levaduras y mohos quedan destruidos. Solamente sobreviven los gérmenes esporulados, y algunas escasas especies termoresistentes. Si el jarabe sufre una filtración posterior a la esterilización es conveniente hacer purgar a través del filtro vapor, al objeto de esterilizarlo. El depósito de esterilización y las tuberías de conducción del jarabe deben ser perfectamente higienizados una vez realizado el trasvase.

Si todas las operaciones precedentes se han realizado bien, las leches condensadas obtenidas a la salida del evaporador suelen poseer un bajo contenido microbiano. Nuestros ensayos nos han dado cifras que oscilan entre los 100 y 5.000 gérmenes por gramo, con ausencia de levaduras y mohos en un gramo de producto.

CRISTALIZACION FORZADA

Después de la evaporación, la lactosa se encuentra en estado de sobresaturación en la leche condensada. Para evitar que cristalice en forma de gruesos cristales, se somete a la leche a una cristalización forzada con lo que se logra un gran número de pequeños cristales que pasan desapercibidos a la degustación.

La cristalización forzada se logra enfriando rápidamente la leche a 30° C., serían de desear temperaturas más bajas pero en este caso la viscosidad de la leche sería demasiado elevada y la velocidad de cristalización se vería afectada. A veces puede ser acelerada la cristalización mediante la adición de una pequeña cantidad de lactosa anhidra a la leche en vías de enfriamiento.

Esta operación se realiza en la industria en tanques encamisados y con agitación. Los modelos modernos suelen ser de acero inoxidable cerrados y con toma de vacío.

Las únicas posibilidades de contaminación de la leche en esta fase del proceso se encuentran en la deficiente limpieza y esterilización

de los tanques al finalizar la operación anterior, y las posibles fugas en la camisa si el tanque no está construido en acero inoxidable. Los gérmenes contaminantes pertenecerán pues en el primer caso a los géneros *Bacillus* o *Clostridium* y en el segundo a la flora heterogénea del agua.

ENVASADO

En el proceso de envasado de la leche, debemos estudiar dos apartados, de enorme interés desde el punto de vista higiénico, esterilización de los envases y envasado del producto.

a) *Esterilización de los envases.*—Los botes empleados en el envasado de la leche condensada están construidos en hojalata, y se moldean en la misma factoría a partir de planchas procedentes de la industria siderúrgica. El bote una vez construido contiene una flora microbiana, variable cuantitativa y cualitativamente, y dependiente de la limpieza del local de almacenamiento. En general la flora microbiana de los botes, es la flora microbiana del polvo y del aire ambiente. Nosotros hemos encontrado en botes procedentes de esta clase de industrias, las cifras extremas siguientes: Gérmenes entre 20 y 40 por bote, mohos entre 10 y 20, y levaduras entre 0 y 3.

La esterilización de los botes, se realiza en la industria por medio del vapor, pero varía según el modelo de esterilizador. En algunos, de tipo rotativo, se proyecta vapor a 120° sobre el bote durante un tiempo aproximado de un minuto. Otras industrias realizan la esterilización de los envases en autoclaves, a temperatura de 120° con tiempos variables entre cinco y quince minutos.

Hemos podido comprobar en esterilizaciones experimentales de envases, que después de una esterilización por proyección de vapor a 120° durante un minuto quedan destruidos todos los gérmenes no esporulados, pero sobreviven el cinco por ciento de los esporulados y el 0,2 por ciento de mohos y levaduras.

Sin embargo es suficiente en autoclave, una esterilización a 120° C durante cinco minutos, para destruir la totalidad de los microorganismos del envase.

b) *Envaseado y cerrado del bote.*—Los botes una vez esterilizados son llevados, bien manualmente o por medio de cinta transportadora, a la máquina llenadora, donde automáticamente son llenados del pro-

ducto terminado. A continuación la máquina cerradora coloca la tapa al envase, se etiqueta, se empacan en cajas de madera y pasan al almacenamiento.

El envasado de la leche condensada, máquinas llenadoras y ambiente, es la mayor fuente de contaminación de levaduras, mohos y microrganismos. La máquina llenadora puede actuar como foco contaminante de la leche en el momento del envasado, por insuficiente limpieza y desinfección de la misma al finalizar la última operación. Pequeñas cantidades de leche adheridas al circuito interno de la misma, pueden fermentar entre uno y otro envasado, y por arrastre mecánico de la nueva leche contaminar todos los botes. Es necesario al terminar la operación, desarmar la máquina y limpiar e higienizar perfectamente todas las piezas de la misma.

El ambiente puede contaminar más o menos, dependiendo siempre del contenido microbiano mayor o menor del mismo, a los envases durante el transporte desde el esterilizador a la llenadora y desde ésta a la cerradora. Es conveniente, para evitar contaminaciones, que el circuito a seguir por los botes esté protegido para evitar se depositen polvo, y que el local dedicado a envasado sea una cámara completamente aparte del resto del local de la condensería. No es necesario acondicionar una cámara estéril, simplemente basta con una cámara limpia, procurando evitar condensaciones de agua en techo y paredes donde prosperan fácilmente los mohos.

LOCALES Y SERVICIOS GENERALES

En este apartado vamos a analizar brevemente dos puntos que pueden jugar un preponderante papel en la calidad higiénica del producto final, nos referimos a los locales de la condensería, y al agua de aprovisionamiento de la factoría.

En los locales debemos procurar que posean piso resistente a los ácidos, amplios desagües, y ventilación abundante para evitar condensaciones de vapor en paredes y techos. El mayor peligro en las condenserías es la propagación de mohos y levaduras y en techos y paredes, es necesario establecer una verdadera barrera contra los mismos, la cual podemos realizar, o bien empleando pinturas fungicidas o mediante limpiezas y desinfecciones periódicas de las zonas infectadas. Las pinturas

fungicidas, a base de compuestos de cobre, naftanatos o quinolinolatos, de fenol, pentaclorofenol y otros clorofenoles, sulfatos de oxiquinolina, fenil-mercuriales, etc., no resuelven totalmente el problema. La Industria no dispone todavía de una pintura fungicida perfecta. La limpieza y desinfección de las zonas afectadas debe realizarse en el momento que comiencen a aparecer las primeras manchas. Si se encuentran localizadas sobre pinturas lavables bastará eliminar el crecimiento micelial con un paño húmedo, si se trata de paredes encaladas se rasparán y encalarán a continuación. La desinfección se realizará seguidamente, por impregnación con compuestos de amonio cuaternario en solución acuosa con lo que se consigue la destrucción de los mohos y la formación de una ligera película protectora en la pared.

Es conveniente comprobar al comienzo del trabajo, especialmente en la zona de envasado, el contenido microbiano del aire de los locales. Una técnica sencilla y de muy buenos resultados consiste en exponer placas, con agar nutritivo o agar corazón, durante diez minutos al aire del local, y realizar el contejo de colonias tras una incubación a 30° y 37° durante 24 horas a cada temperatura. Si los contejos fueran excesivos se puede disminuir el contenido microbiano total, mediante medidas preventivas encaminadas a evitar la formación de polvo, y desinfectantes, por medio de aerosoles de compuestos de amonio cuaternario.

El agua de aprovisionamiento de la condensería deberá de reunir un mínimo de condiciones higiénicas, sea cual fuere el uso de la misma en la factoría. La destinada a preparar el jarabe de la sacarosa deberá ser lo más pura posible. Si el número de gérmenes por c.c. fuera mayor de 1.000, y el número de colis por litro superior a 50, el agua deberá ser depurada bacteriológicamente. Los únicos procedimientos utilizados en ese menester en la industria lechera, son el tratamiento con cloro, y en algunas naciones mediante el empleo del ozono.

LIMPIEZA Y DESINFECCION DE LA MAQUINARIA

Una vez terminadas las diversas operaciones de la fabricación, es necesario realizar una amplia limpieza y una perfecta desinfección de aparatos y tuberías del circuito de leche y jarabe, al objeto de eliminar cualquier posible foco de contaminación en la fabricación siguiente.

Los métodos de limpieza pueden ser diversos según el aparato de

que se trate y del material en que esté construido. Los aparatos de acero inoxidable, en los que se pueda establecer un circuito continuo, tuberías pasteurizadoras, etc., es aconsejable, previo enjuagado con agua tibia, limpiar con detergentes alcalinos a 100°, seguido de un tratamiento a 80° con ácidos nítrico o fosfórico diluidos, terminando con un enjuagado con agua caliente. En aparatos que no estén construidos en acero inoxidable, se utilizará la misma técnica anterior, pero suprimiendo el tratamiento con ácido. En los bidones de aluminio, se incorporará a los detergentes un tres por mil de ortosilicato o metasilicato de sodio para evitar la corrosión.

En la esterilización, si es posible, se empleará el vapor; si no se dispusiera en cantidad suficiente, puede realizarse con compuestos de cloro, en concentraciones de 250 ppm. en cloro activo, o con compuestos de amonio cuaternario al 1/5.000.

ALMACENAMIENTO

Desde el punto de vista bromatológico es conveniente el almacenamiento a temperaturas inferiores a los 10° C, a fin de evitar el aumento de viscosidad. Sin embargo desde el punto de vista higiénico, si la leche se ha fabricado con arreglo a las normas descritas anteriormente, y no ha habido contaminación por microorganismos gasógenos, poca influencia tiene la temperatura de almacenamiento, e incluso los contejos suelen ser bastante más pequeños en los botes almacenados a temperatura ambiente, que en los mantenidos a temperatura alrededor de los cinco grados. En nuestros ensayos sobre contenido microbiano del mismo lote de fabricación almacenados a diferentes temperaturas durante un período de tres a cuatro meses, hemos podido comprobar que a medida que transcurre el almacenaje el contenido microbiano de los botes almacenados a temperatura ambiente, previo un incremento inicial, va decreciendo a medida que transcurre el tiempo, hasta encontrar a los 3-4 meses cifras del orden del 10-20 por ciento de la cifra primitiva. En los botes almacenados en cámara frigorífica a cinco grados, el número de gérmenes viables, disminuye más lentamente, encontrando al final del almacenamiento cifras del 50 al 80 por ciento de la cifra primitiva.

Sin embargo, y a fin de evitar posibles abombamientos por microorganismos gasógenos, es conveniente almacenar la leche a tempera-

turas inferiores a los 10° C, con lo que además evitaremos el acrecimiento de la viscosidad de la leche y la aparición de color pardusco en la misma.

RESUMEN

Se ha realizado un estudio de las posibles fuentes de contaminación de la leche condensada durante el proceso de fabricación.

En primer lugar se analizan los fundamentos de la conservación, estudiando a continuación la flora microbiana del producto final, habitat de los diversos microorganismos y alteraciones a que pueden dar lugar.

Se preconizan diversas técnicas, como más idóneas, para la investigación microbiana en las diversas fases del proceso de fabricación.

En los métodos microscópicos directos de conteo de gérmenes para leches crudas se aconseja, por su sencillez y efectividad, el método de BREED con la coloración de ERB, y en las leches calentadas una técnica original de diferenciación de gérmenes vivos y muertos. En los métodos de conteo bacterianos indirectos se propone el medio agar triptona glucosado como más rápido y efectivo; el agar malta a pH 4,5 para investigación de mohos y levaduras; y en las colimetrías, en las pruebas de probabilidad, el caldo formiato ricinoleato sódico, y los medios de Levine o Endo en las de confirmación.

Se analizan las posibilidades de contaminación de la leche y los resultados de los controles microbiológicos realizados, en las diversas fases del proceso de fabricación, concluyendo que para obtener un producto lo más amicrobiano posible, es preciso contar con una recepción de leche higiénica, pobre en gérmenes, especialmente esporulados, y que todas las operaciones del proceso se realicen con arreglo a las más depuradas normas de fabricación, teniendo muy en cuenta que la mayoría de las contaminaciones son originadas:

- a) Por pequeños focos de leche fermentada de fabricaciones anteriores en tuberías, evaporadores, tanques de cristalización y máquinas llenadoras, a causa de la deficiente limpieza y desinfección de los mismos.
- b) Por el aporte microbiano de los envases, por insuficiente esterilización, y
- c) Por el medio ambiente, gérmenes del aire, esporas de mohos

y levaduras procedentes de crecimientos mohosos en paredes y techos, en el momento del envase.

RESUME

On a fait une étude sur les possibles sources de contamination du lait concentré sucré durant le procès de sa fabrication.

Tout d'abord on analyse les fondements de la conservation du lait, puis on étudie la flore microbienne du produit terminé ou final, habitat des divers microorganismes et des altérations qui peuvent avoir lieu à cause de ceux-ci.

On préconise plusieurs techniques, comme plus propres, pour l'investigation microbienne dans les diverses phases du procès de fabrication.

Dans les méthodes microscopiques directes de comptage de germes ou microbes dans du lait cru on conseille employer la méthode de BREED, à cause de sa simplicité et de son efficacité, avec la coloration d'ERB, et dans les laits qui ont été chauffés une technique de différenciation de germes vivants et morts personnelle. Dans les méthodes de comptages bactériens indirectes on propose d'employer le milieu agar triptone glucosé comme le plus rapide et efficace, et l'agar de malta à pH 4,5 pour l'investigation des moisissures et des levures; en colimétrie le bouillon au formiate ricinoléate de soude pour les essais de probabilités et le milieu de Levine ou d'Endo pour les essais de confirmation.

On analyse aussi les possibilités de contamination du lait et les résultats des déterminations ou contrôles microbiologiques effectués dans les diverses phases du procès de fabrication, en concluant que pour obtenir un produit qui soit le moins contaminé possible, il faut compter avec du lait hygiénique, pauvre en germes, spécialement sporulés, et que toutes les opérations du procès s'effectuent d'après les règles les plus appropriées, compte rendu de ce que la plupart des contaminations sont occasionnées:

- a) Par de petits foyers de lait fermenté dans les tuyauteries, les évaporateurs, les cuves de cristallisation et les machines à mettre le lait dans des boîtes, à cause de manque de propreté et une désinfection incomplète, dans des fabrications précédentes.
- b) Par les microbes contenus dans les boîtes, à cause d'une stérilisation incomplète.

c) Par l'air ambiant ou environnement, germes qui sont dans l'air, spores de moisissures et levures provenant de croissements moisissus sur les murs et les plafonds au moment de mettre le lait dans les boîtes.

SUMMARY

A study on the possible sources of the contaminations in sweetened condensed milk during the manufacture procedure has been carried out.

We firstly have analyzed the fundaments of the preservation of sweetened condensed milk and then studied the microbic flora of the finished product which is the habitat of the various microorganisms and alterations which may occur due to these microorganisms.

We indicate several techniques, as the most suitable and competent, in microbic research in the different steps of the manufacture procedure.

In the direct microscopic methods of bacterial count in raw milk it is advisable, due to its simplicity and effectiveness, to use the BREED method with the ERB coloration, and in heated milk a private technique of differentiation between living and dead bacteria will be adequate.

In the indirect methods of bacterial count we advise to use Tryptone Glucose Extract Agar, as a more rapid and effective medium, and Malt Agar pH 4.5 for research of molds and yeasts; in colimetry we advise to use Formate Ricinoleate Broth in presumption test and Levine Agar or Endo Agar in confirmation tests.

We also have analyzed the possibilities of the contamination of milk and the results of the microbiological determinations and controls carried out in the various steps of the manufacture procedure, deducing that in order to obtain a product which will be the least contaminated as possible, it is necessary to have good hygienic milk, with very few bacteria in it, specially sporulated, and that all the operations of the procedure must be carried out according to the most depurated manufacturing regulations regard being had that most of the contaminations of milk are caused.

a) Through small phoces of fermented milk in the pipes, vacuum pans, crystallizing tanks and filling machines, from previous

manufactures, due to a deficient cleanliness and incomplete desinfection of same.

b) Through microorganisms contained in the cans because of a deficient or incomplete sterilization, and.

c) Through surrounding environment, bacteria in the air, spores of molds and yeasts proceeding from moldy growths on the walls and the ceilings while milk is canned.

BIBLIOGRAFIA

- AGENJO, C. 1948.—*Industrias Lácteas*. Madrid.
BUCELLI, A. 1956.—*Igiene e Sanità Pubblica*, 12, 249.
CARROL, W. 1958.—*Food Microbiology*. New York.
DAVIS, J. G. 1955.—*Laboratory Control of Dairy Plant*. London.
DORNER, DEMONT y CHAVANNES. 1945.—*Microbiologie Lactière*. Lausanne.
FOSTER, NELSON, SPECK, DOETSCH y OLSON. 1957.—*Dairy Microbiology*. New Jersey.
GEORGE, E., OLSON, J. C., JEZESKI, J. J. y COULTER, S. T. 1959.—*Journal of Dairy Science*, 42, 816.
HAMMER, B. W. y BABEL, J. 1957.—*Dairy Microbiology*. New York.
HUNZIKER, O. F., 1949.—*Condensed Milk and Milk Powder*. Laggange, III.
JOHNS, C. K. 1959.—*Journal of Dairy Science*, 42, 1625.
LODDER, J. L. KREGER-VAN RIJ, N. J. W. 1952.—*The Yeasts*. New York.
MC CULLOCH, E. C. 1946.—*Disinfection and Sterilization*. Philadelphia.
OLIN BALL, C. y OLSON, F. C. W. 1957.—*Sterilization in food Technology*. New York.
OVEJERO, S., DIEZ, M. y PASCUAL, M. R. 1954.—*Revista Española de Lechería*, 12, 83.
ROSELL, J. M. y DOS-SANTOS, I. 1952.—*Métodos Analíticos de Laboratorio Lactológico*. Madrid.
ROSELL, J. M. y GOMEZ, J. 1960.—*Manual de Análisis Lactológicos*. La Coruña.
SANTAMARIA, J. 1958.—*Revista Española de Lechería*, 28, 75.
VEISSEYRE, R. 1957.—*Techniques Laitières Modernes*. París.
ZOLLIKER, E. 1956.—*Revista Española de Lechería*, 19, 11.

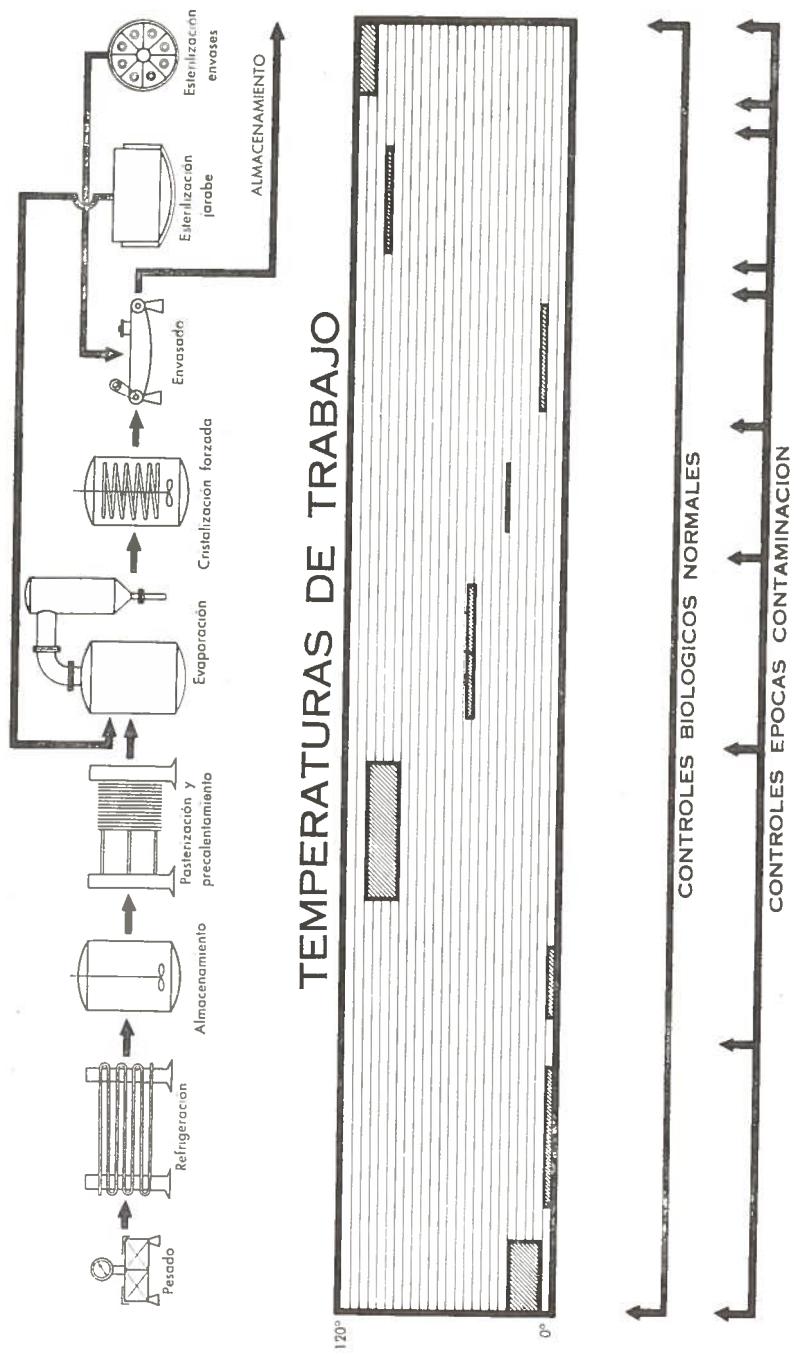


Fig. 1
Esquema del Proceso de Fabricación, Temperaturas de trabajo, y Controles microbiológicos a realizar durante el proceso.