



## PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

VERSIÓN: 00

RESPONSABLE:  
SUBGERENTE  
TÉCNICO

FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025

PÁGINA 1 DE 16

CODIGO: FAB-PRO-02

### 1. OBJETIVO

Describir de manera general los requisitos y procedimientos establecidos para realizar las pruebas microbiológicas de control para el agua y aguardientes producidos por la Fábrica de Licores del Tolima.

### 2. ALCANCE


Aplica para Agua potable suministrada por el acueducto IBAL, Agua suavizada para fabricación de aguardiente de la planta de suavización y los Aguardientes Tapa Roja Tradicional, Special, Oro y Licor de Aguardiente Tapa Roja 24 % Vol. y Aguardiente Rosado del Tolima con y sin azúcar producidos en la FLT.

### 3. INTRODUCCION

La materia prima de mayor consumo dentro de la Fábrica de Licores del Tolima es el agua, debido a que la mayor parte de sus productos tendría una participación de más del 71 por ciento en cada uno. La fábrica debe asegurar los requisitos del sistema de control y calidad del agua, regido por el Decreto 1575 y la Resolución 2115 del 2007, Artículo 10 designando las técnicas permitidas para el análisis microbiológico donde la empresa aplica “enzima sustratos y presencia-ausencia, en el Artículo 11 limitan las características para el consumo humano del agua enmarcando los valores máximos aceptables.

Técnicas utilizadas	Coliformes Totales	<i>Escherichia coli</i>
Filtración por membrana	0 UFC/100 cm <sup>3</sup>	1 UFC/100 cm <sup>3</sup>
Enzima sustrato	< de 1 microorganismo en 100 cm <sup>3</sup>	< de 1 microorganismo en 100 cm <sup>3</sup>
Sustrato definido	0 microorganismo en 100 cm <sup>3</sup>	1 microorganismo en 100 cm <sup>3</sup>
Presencia - Ausencia	ausencia en 100 cm <sup>3</sup>	ausencia en 100 cm <sup>3</sup>

Tabla 1. Características microbiológicas

		<b>PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA</b>		
VERSIÓN: 00	RESPONSABLE: SUBGERENTE TÉCNICO	FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025	PÁGINA 2 DE 16	CODIGO: FAB-PRO-02

## READYCULT COLIFORMES 100

Readycult coliformes 100 es un test simultáneo para la detección, en presencia o ausencia de *Coliformes* totales y *Escherichia coli* de acuerdo a las normas coliformes US-EPA, para el agua potable, agua suavizada y aguardientes en la Fábrica de Licores del Tolima.

Debido a su gran contenido nutricional de las peptonas y el tapón fosfato nos garantiza un rápido crecimiento de *Coliformes* mientras el Lauril Sulfato inhibe de forma sustancial la flora acompañante.

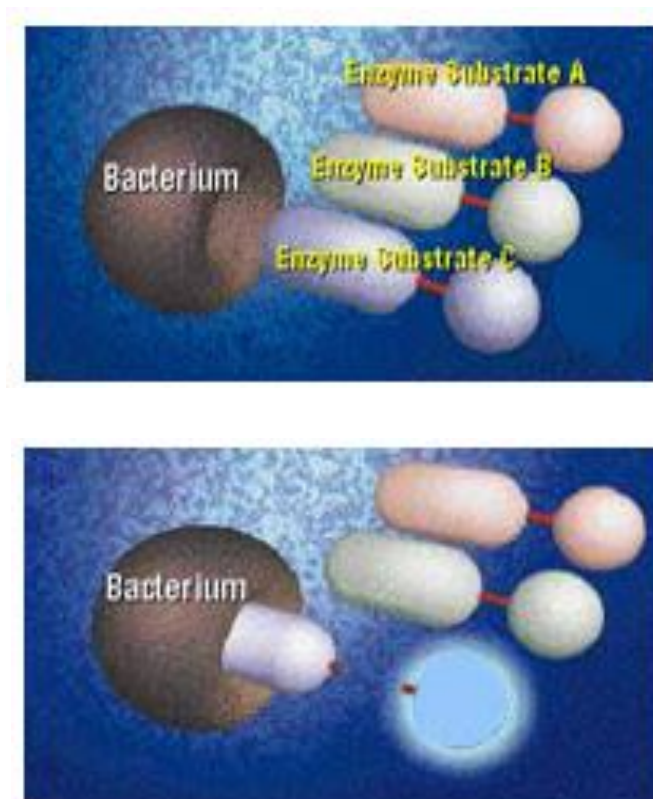


Imagen 1. Resultado positivo de luminiscencia de mesófilos con el determinado sustrato.



## PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

VERSIÓN: 00

RESPONSABLE:  
SUBGERENTE  
TÉCNICO

FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025

PÁGINA 3 DE 16

CODIGO: FAB-PRO-02

Si en la muestra hay presencia de *Coliformes*, las enzimas  $\beta$ -galactosa hidrolizan la X-GAL incolora y el cultivo viral cambia de color amarillo a azul o verde.

Si en entre los *Coliformes* hay presencia *E.coli*, la enzima  $\beta$ -glucuronidasa hidrolizan el MUG (4- metilumberifenil  $\beta$ -glucuronidasa) dando como resultado una florescencia azul que es visible a la luz UV(366 nm).



Imagen 2. Selectividad del sustrato definido para Coliformes y resultado positivo.

Cuando *E.coli* metaboliza el indicador MUG de nutrientes de Readycult coliforms 100, la muestra fluórese.



Imagen 3. Selectividad del sustrato definido para *E. coli* y resultado positivo.



## PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

VERSIÓN: 00	RESPONSABLE: SUBGERENTE TÉCNICO	FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025	PÁGINA 4 DE 16	CODIGO: FAB-PRO-02
-------------	---------------------------------------	---	----------------	--------------------


Readycult coliforms 100 puede detectar simultáneamente estas bacterias a una concentración de 1 UFC/100 ml dentro de las 24 horas, hasta en presencia de 2 millones de bacterias heterotróficas por cada 100 ml.

### **Almacenamiento:**

Almacenar entre (15 - 25) °C en un lugar seco.

### **4. REGLAS DE SEGURIDAD E HIGIENE**

- No desechar los productos biológicos sin esterilizar en el desagüe.
- Colocar todo el material contaminado dentro del desinfectante (hipoclorito de sodio al 1%) por 1 hora para luego ser esterilizar a 121°C por 20 minutos a 15 psi en la autoclave.
- Realizar antes y después de los análisis limpieza del área de trabajo con desinfectante, hipoclorito de sodio al 1% y dejar secar.
- La limpieza y desinfección de incubadoras y nevera deberá hacerse semanalmente.
- Controlar el buen funcionamiento de autoclaves y después del uso dejarlo limpio y seco para evitar el crecimiento de hongos.
- Dentro del laboratorio de la Fábrica de Licores del Tolima se encuentra designada la zona de control microbiológico.

		<b>PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA</b>		
VERSIÓN: 00	RESPONSABLE: SUBGERENTE TÉCNICO	FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025	PÁGINA 5 DE 16	CODIGO: FAB-PRO-02



**Imagen 4. Laboratorio de Microbiología.**

En la zona del laboratorio de microbiología, principalmente se manejan dos sectores:

- El sector uno se utiliza para incubar, desinfectar y analizar las pruebas microbiológicas. La incubadora es el equipo en donde se realiza la prueba de ReadyCult Coliforms 100 con un tiempo de incubación de 24 horas y el Autoclave es el equipo encargado de esterilizar el medio de cultivo producto de la operación con el ReadyCult Coliforms 100 para su posterior disposición.


		<b>PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA</b>		
VERSIÓN: 00	RESPONSABLE: SUBGERENTE TÉCNICO	FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025	PÁGINA 6 DE 16	CODIGO: FAB-PRO-02



Imagen 5. Sector 1.

- En el sector dos se trabaja la preparación de muestras y tratamiento de material contaminado, el cual



Imagen 6. Sector 2.

## 5. DOTACIÓN Y PROTECCIÓN PERSONAL

Cuando se realicen pruebas de microbiología se debe utilizar la siguiente dotación de protección personal:



## PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

VERSIÓN: 00

RESPONSABLE:  
SUBGERENTE  
TÉCNICO

FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025

PÁGINA 7 DE 16

CODIGO: FAB-PRO-02

- Bata de laboratorio
- Botas de seguridad
- Tapa boca
- Cofia
- Guantes para manejo de reactivos
- Gafas de seguridad.

### 6. MATERIALES Y REACTIVOS


#### Materiales:

- Autoclave.



Imagen 7.



		<b>PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA</b>		
VERSIÓN: 00	RESPONSABLE: SUBGERENTE TÉCNICO	FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025	PÁGINA 8 DE 16	CODIGO: FAB-PRO-02

- Incubadora



Imagen 8. Incubadora

- Cámara UV



Imagen 9. Lampara uv





## PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

VERSIÓN: 00

RESPONSABLE:  
SUBGERENTE  
TÉCNICO

FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025

PÁGINA 9 DE 16

CODIGO: FAB-PRO-02

- Frascos de 100 ml plásticos desechables



Imagen 10. frasco de 100 ml plástico.


- Frascos tapa rosca azul de 100 ml cristal



Imagen 11. frasco de 100 ml cristal.

### Reactivos

- Hipoclorito de sodio
- Cápsulas Readycult coliformes 100

		<b>PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA</b>		
VERSIÓN: 00	RESPONSABLE: SUBGERENTE TÉCNICO	FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025	PÁGINA 10 DE 16	CODIGO: FAB-PRO-02

## 7. TOMA DE MUESTRAS

Recolecte la muestra en una botella de vidrio esterilizable o plástico estéril con capacidad no menor de 100 ml, es el volumen mínimo para análisis microbiológicos con preservante (tiosulfato de sodio y/o EDTA) si lo requiere. Se toma la muestra directamente sin realizar purga del recipiente, teniendo la precaución de dejar una cámara de aire dentro de él y que el recipiente como su tapa no debe tocar ninguna superficie contaminada.

## 8. PROCEDIMIENTOS



Imagen 12. Readycult coliforms 100



Imagen 13. capsula de Readycult coliforms 100



## PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

VERSIÓN: 00

RESPONSABLE:  
SUBGERENTE  
TÉCNICO

FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025

PÁGINA 11 DE 16

CODIGO: FAB-PRO-02




Imagen 14. procedimiento de uso pruebas para control de agua.

### 9. READYCULT COLIFORMES 100

#### Procedimiento de Presencia/Ausencia (P/A)

1. Tomar un paquete instantáneo, golpee ligeramente para asegurarse de que los gránulos estén en la parte inferior. Doble la parte superior del paquete a presión hasta que se abra y tratar de no tocar la abertura para evitar la contaminación.
2. Agregar el contenido a una muestra de agua o aguardiente de 100 ml en un recipiente transparente, estéril, y con una capacidad mínima de 120 ml.
3. Agitar el recipiente para ayudar a que la muestra sea homogénea entre la muestra y el granulado.
4. Llevar el recipiente a la incubadora a una temperatura de 35-37 ° C durante un lapso de 24 +/- 1 horas.

		<b>PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA</b>		
VERSIÓN: 00	RESPONSABLE: SUBGERENTE TÉCNICO	FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025	PÁGINA 12 DE 16	CODIGO: FAB-PRO-02




**Imagen 15. Incubadora.**

5. Analizar los resultados de las pruebas para coliformes.
6. Pasar por una lampara UV (366 nm) para analizar presencia o ausencia de *E.coli*.



**Imagen 16. Lampara UV**

		<b>PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA</b>		
VERSIÓN: 00	RESPONSABLE: SUBGERENTE TÉCNICO	FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025	PÁGINA 13 DE 16	CODIGO: FAB-PRO-02

7. El procedimiento se realizará una vez por semana, en el punto de entrada de agua potable suministrada por el IBAL y al tanque de almacenamiento de agua potable de la fábrica de licores del Tolima.
8. En los productos elaborados en la fábrica de licores del Tolima esta prueba se realizará una vez por mes.

## 10. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Observar la muestra y ver qué color presenta, si es amarillo es negativo para *coliformes*, si presenta cambio de color de azul verdoso o verde marino es positiva para coliformes.

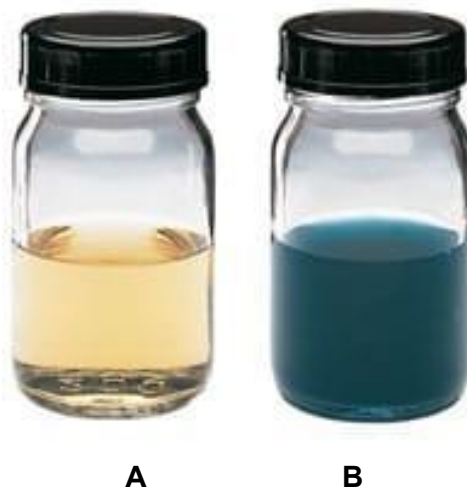


Imagen 17. A. Negativa para coliformes y B. Positiva para coliformes.



## PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

VERSIÓN: 00

RESPONSABLE:  
SUBGERENTE  
TÉCNICO

FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025

PÁGINA 14 DE 16

CODIGO: FAB-PRO-02

Para confirmar presencia de *E.coli* las muestras darán una fluorescencia ultravioleta con una lampara UV a (366 nm).



Imagen 18. Positivo para *E.coli*

### 11. LIMPIEZA DE EQUIPOS

EQUIPO	LIMPIEZA
<b>INCUBADORA</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Se le pasara un trapo con agua potable por la parte exterior.</li> <li>2. En la parte interna se limpiará con un trapo y una solución de cloro al 0,03%.</li> </ol>
<b>AUTOCLAVE</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Se le pasara un trapo con agua potable por la parte exterior.</li> <li>2. En la parte interna se limpiará con un trapo y una solución de hipoclorito de sodio al 1%.</li> </ol>
<b>LAMPARA UV</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Se le pasara un trapo con agua potable por la parte exterior.</li> </ol>

Tabla 2. Limpieza de equipos



## PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

VERSIÓN: 00

RESPONSABLE:  
SUBGERENTE  
TÉCNICO

FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025

PÁGINA 15 DE 16

CODIGO: FAB-PRO-02

### 12. MANEJO DE RESIDUOS

En un recipiente de 10 litros se mantendrá preparada una solución de un litro y medio de hipoclorito de sodio al 2% y se ubicará en la zona de desechos de reactivos.

Donde se desecharán todas las muestras realizadas en la parte microbiológica del laboratorio de la Fábrica de Licores del Tolima.

### 13. PREPARACIÓN DE MEZCLAS

SOLUCIÓN	SUSTANCIA	PREPARACIÓN
<b>Cloro 0.03%</b>	Cloro 5% y agua potable	Para preparar 500 mililitros de cloro al 0.03%, se necesitará un recipiente de 500 mililitros donde adicionaremos 3 mililitros de cloro de una concentración del 5%, en el recipiente y se completa con agua potable, rotulando hasta los 500 mililitros.
<b>Hipoclorito de sodio 1%</b>	Hipoclorito de sodio 5% y agua potable	Para preparar una solución de 500 mililitros de hipoclorito de sodio al 1%, se prepara en un recipiente de 500 mililitros agregando 100 mililitros de hipoclorito de sodio de una concentración del 5% y después se rotula con agua potable hasta llegar a 500 mililitros.

Tabla 3. Preparación de soluciones.





## PROTOCOLO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

VERSIÓN: 00	RESPONSABLE: SUBGERENTE TÉCNICO	FECHA DE INICIO/ACTUALIZACIÓN: 02/05/2025	PÁGINA 16 DE 16	CODIGO: FAB-PRO-02
-------------	---------------------------------------	---	-----------------	--------------------

### 14. DOCUMENTOS Y REGISTROS REFERENCIADOS

#### 14.1 REGISTROS

**FAB-FOR-07** Análisis microbiológico de agua.

**FAR-FOR-08** Análisis microbiológico de Aguardiente.

**FAB-FOR-09** Limpieza de equipos.

**FAB-FOR-10** Verificación de equipos.

CONTROL DE CAMBIOS				
Versión	Fecha	Elaboró	Reviso/Aprobó	Comentarios
00	02/05/2025	Subgerente Técnico/Contratista Calidad	Comité de gestión y desempeño	Creación del documento