

Detección de contaminación y establecimiento de intervalos de tolerancia en una planta productora de arepa

Pollution sensing and establishing tolerance intervals in the manufacturing process of the arepa

Eduardo Corpas Iguarán¹, Paula Henao Carmona², Sandra Villada Betancur³, Veraldin Calvo Gonzales⁴

Universidad Católica de Manizales, Manizales, Colombia

geral_811@hotmail.com

phenao@ucm.edu.co

vivianallk@hotmail.com

Resumen— Se evaluó, a partir de un modelo completamente aleatorizado, la existencia de diferencias significativas para el recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de mohos en cinco fases del proceso productivo, determinando la fase de preasado, con un promedio de 380 UFC/gr, como la más susceptible a contaminación cruzada, en contraste con las demás fases, cuyos promedios estuvieron entre 30 y 80 UFC/gr. Además, se establecieron intervalos de tolerancia a los recuentos de mohos en ambientes, superficies y manipuladores, cuyo sobrepaso futuro durante los muestreos de control, implicará la generación de medidas, para minimizar y controlar eventos de contaminación cruzada.

Arepa, Contaminación cruzada, Intervalos de tolerancia, Mohos, Unidades Formadoras de Colonias.

Abstract— Was assessed, from a completely randomized model, the significant differences for the enumeration of Colony Forming Units (CFU) of fungi in five phases of production, determining the previous phase at roast, with an average of 380 CFU, like the most susceptible to cross contamination, in contrast with the other phases, whose averages were between 30 and 80 UFC/gr. In addition, were established tolerance intervals for mold counts in environments, surfaces and manipulators, whose future bypass during control sampling, will involve the generation of actions, to minimize and control cross-contamination events.

Key Word — Arepa, Colony Forming Units, Cross-contamination, Molds, Tolerance intervals.

I. INTRODUCCIÓN

La materia prima exclusiva de la arepa es el maíz, uno de los cereales más importantes del mundo [1], y uno de los alimentos básicos de nuestra alimentación [2]. Anualmente en el país se demandan cerca de 3.100.000 toneladas de maíz [3], y dentro de sus destinaciones está la producción de arepa, producto de elevado consumo en Colombia [4], el cual se obtiene mediante un proceso de cocción parcial del grano [5], aunque en países como Venezuela, la elaboración de arepas se da a partir de harina de maíz precocida [6]. En el mercado Colombiano se procesan entre 200.000 y 250.000 toneladas anuales de maíz blanco, para elaborar masas precocidas y hacer las arepas. [3].

Durante el 2008 el tamaño del mercado de arepas precocidas alcanzó en Colombia 3,69 billones de pesos, y el consumo por hogar (de 4 personas promedio) fue de 339.767 pesos anuales [7]. Estas cifras representan el consumo masivo del producto, que además posee una importancia relacionada con su tradición en algunas zonas del país (principalmente Antioquia, triangulo del café y Valle del cauca).

Numerosas empresas productoras de arepas se enfrentan en su devenir cotidiano a la dificultad para garantizar que el producto pueda ser adquirido y consumido por el cliente durante el tiempo de vencimiento sin que sufra deterioro visual por crecimiento de mohos. Estos microorganismos proceden de la contaminación cruzada a partir de la materia prima (maíz) en almacenamiento y el ambiente del proceso productivo.

¹ Bacteriólogo, Especialista en Microbiología Industrial

² Ingeniera de alimentos, Especialista en Microbiología Industrial

³ Estudiante de Bacteriología

⁴ Estudiante de Bacteriología

El proceso productivo de la arepa es esencialmente una actividad de baja inversión tecnológica [3], y el manejo artesanal de algunas de las actividades de proceso, como el formado del producto, constituyen una ventaja diferencial determinante en el gusto y fidelización del cliente consumidor. Esto implica la necesidad de mantener la identidad del producto, pero también el compromiso de controlar las condiciones del proceso a manera de minimizar los riesgos de contaminación por mohos a partir de ambientes, superficies que entren en contacto con el producto y manipuladores.

Igualmente, las empresas productoras de arepa, después de la etapa de asado deben someter el producto a un proceso de atemperación antes de proceder al empaque. En esta fase, el producto es expuesto al ambiente por espacio de 10 – 15 minutos, lo cual implica su susceptibilidad a mohos ambientales, cuya aparición antes de la fecha de vencimiento del producto, implica consecuencias como el rechazo por parte del consumidor, deterioro de la imagen del producto y la empresa, y pérdidas económicas por devoluciones.

Una de las estrategias planteadas a la empresa objeto de estudio, es el proceso para la instauración de intervalos de tolerancia, cuyo propósito es establecer los límites permisibles en los recuentos de las poblaciones microbianas en ambientes, superficies y manipuladores, para detectar los desvíos provenientes de la contaminación cruzada [8], a manera de evitar que continúen siendo un factor de detrimento de la calidad microbiológica y sensorial (dado el deterioro visual que suscita la contaminación por hongos en el producto).

Se evaluó, a partir de un modelo completamente aleatorizado, la existencia de diferencias significativas para el recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de mohos en las cinco fases del proceso productivo (postcocción, postamasado, preasado, postenfriado y postempaque), determinando la más susceptible a contaminación cruzada, de modo que la empresa pudiera establecer condiciones de mejora. Posteriormente, se establecieron intervalos de tolerancia a los recuentos de mohos en cinco ambientes, nueve superficies y dos manipuladores, cuyo sobrepaso implique la generación de medidas preventivas y correctivas, que permitan minimizar y controlar los eventos de contaminación cruzada.

II. MATERIALES Y MÉTODO

A. Ubicación

La empresa objeto de estudio es una productora de arepas, ubicada en la zona industrial de la ciudad de Manizales (Parque Industrial Juanchito), la cual produce 6.000 a 7.000 paquetes / día. El producto es distribuido principalmente en

los departamentos del eje cafetero (Caldas, Risaralda y Quindío), Valle del Cauca y Nariño.

B. Tipo de estudio

El presente correspondió a un estudio experimental en el cual se contempló el diseño en bloques completamente aleatorizado, para determinar la fase del proceso productivo en la cual se presentaba el mayor nivel de contaminación por mohos. De igual manera, se planteó el establecimiento de intervalos de tolerancia para el control sobre los ambientes, superficies y manipuladores en el proceso productivo.

C. Desarrollo del proceso experimental.

1. Diseño experimental completamente aleatorizado (unilateral).

Es un modelo en el cual, se seleccionan muestras aleatorias de tamaño n de cada una de las k poblaciones. Las k poblaciones diferentes se clasifican sobre la base de un solo criterio, como tratamientos o grupos diferentes [9]. Este diseño experimental se aplica cuando los diferentes factores ambientales presentan alta homogeneidad y solo existe una fuente de variación [10]. El modelo es lineal y se denota de la siguiente manera:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

y_i : Variable Respuesta

μ : Efecto promedio del experimento

τ_i : Efecto causado por el i -ésimo tratamiento

ε_{ij} : i -ésimo error experimental o término de perturbación [11].

1.1 Condiciones establecidas durante el muestreo para la detección de la fase contaminante.

Para la determinación de la fase del proceso productivo en la cual se presentaba el mayor nivel de contaminación por mohos se tomaron, 10 unidades de muestra de 250 gramos de maíz posterior a la cocción, 10 unidades de muestra de 250 gramos de masa posterior al amasado (tomadas cada una del interior y superficie de la masa; 10 unidades de muestra de 250 gramos de las arepas formadas previo al asado, 10 unidades de muestra de 250 gramos correspondientes a las arepas posterior al proceso de enfriado, y 10 unidades de muestra de 250 gramos correspondientes a las arepas posterior al empaque. Se tomaron dos unidades de muestra para cada fase evaluada durante cinco diferentes días, con el objeto de obtener resultados representativos del proceso. Para mayor ilustración del diseño experimental, se expone el siguiente esquema:

Figura 1. Esquematización del diseño experimental utilizado para la detección de la fase contaminante.



2 Intervalos de tolerancia

Es un estadístico muestral que permite establecer los límites que en sentido probabilístico cubren los valores individuales de la población mediante un intervalo sobre una proporción fija de las mediciones, aplicando la fórmula $X \pm ks$, donde:

\bar{X} = Media muestral.

k = Constante que tiene en cuenta el número de muestra y el nivel de confiabilidad.

s = Desviación estándar corregida [9].

La utilización de intervalos de tolerancia se propugna bajo la posibilidad de tener en cuenta el tamaño de la muestra, la confiabilidad y la variabilidad de los datos, lo que implica una ventaja frente a los límites establecidos a partir de la desviación estándar, en cuyo proceso únicamente se considera la variabilidad de los datos [8]. Igualmente, se recomienda un total de 10 mediciones para cada parámetro a controlar, en razón a la factibilidad económica, dado que para muchas empresas el costo de los análisis microbiológicos para el establecimiento de intervalos puede considerarse significativo.

2.1 Eliminación de datos atípicos basado en el cálculo de la mediana.

La aplicación de intervalos de tolerancia implicó además, la aplicación de procedimientos estadísticos para la eliminación de datos atípicos, cuya inclusión podría derivar en la desviación de los valores de tendencia central y dispersión, como las medias y desviaciones estándar [9]. Una regla para la detección de valores atípicos está dada por señalar como datos atípicos aquellos que cumplan la siguiente condición,

$$\frac{x_i - \text{med}(x_j)}{\text{MEDA}(x_j)} > 4.5$$

Donde $\text{med}(x)$ es la mediana de las observaciones, y $\text{MEDA}(x)$ es la mediana de las desviaciones absolutas con respecto a la mediana [12].

2.2 Condiciones establecidas durante el muestreo para el establecimiento de intervalos de tolerancia.

Para el establecimiento de intervalos de tolerancia en ambientes, superficies y manipuladores se analizaron cinco ambientes, nueve superficies y dos manipuladores, tomándose para cada uno, diez repeticiones (se tomaron dos unidades de muestra durante cinco diferentes días, con el objeto de obtener resultados representativos del proceso), para luego establecer los intervalos de tolerancia a las respectivas muestras. A los diez datos tomados se les realizó el proceso de eliminación de datos atípicos basado en el cálculo de la mediana (previamente descrito), y los datos determinados como atípicos fueron posteriormente reemplazados con otros provenientes de subsecuentes procesos de muestreo y análisis, hasta lograr un número de diez datos normales.

D. Proceso de análisis

1. Análisis microbiológico para la detección de la fase contaminante.

Las muestras tomadas fueron sometidas al método de recuento de mohos en placa profunda. La temperatura y tiempo de incubación óptimos correspondieron a 22°C y 5 días, respectivamente, y el medio utilizado fue el agar Rosa de Bengala, de color rosáceo y pH neutro recomendado para el aislamiento selectivo de hongos, dado que contiene Rosa Bengala, que inhibe el crecimiento bacteriano y restringe el tamaño de los hongos evitando el solapamiento de colonias, además de cloranfenicol, que favorece la inhibición bacteriana [13]. La figura 2 ilustra el crecimiento de mohos en agar Rosa de Bengala.

Figura 2. Colonias de diferentes géneros de mohos desarrollados en agar Rosa de Bengala.

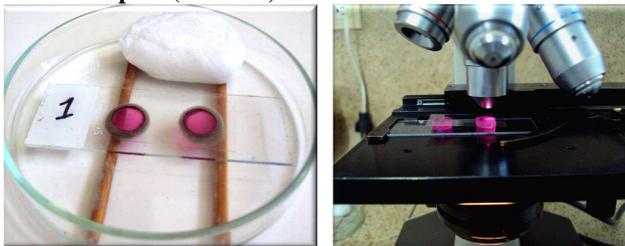


1.1 Identificación.

Los mohos desarrollados en agar Rosa de Bengala fueron sometidos a caracterización macroscópica y posteriormente a observación microscópica, utilizando como líquido de inmersión el Azul de lactofenol, solución que facilita la apreciación

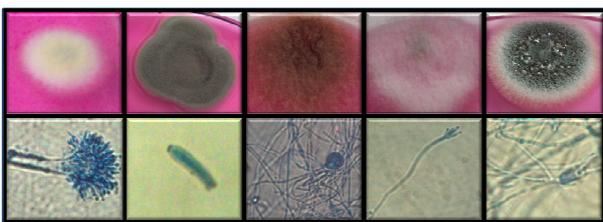
morfológica de mohos, los cuales aparecen de color azul oscuro. Dado que para algunos géneros fúngicos se dificulta la apreciación microscópica de estructuras de diferenciación, se ejecutó además, la técnica del microcultivo [14], con el propósito de efectuar el seguimiento del microorganismo en desarrollo desde el inicio de su crecimiento, puesto que la visualización de tales estructuras se facilita más en etapas tempranas. La figura 3 muestra el desarrollo del género *Cladosporium spp.* en microcultivo, tres días después de la inoculación del microorganismo.

Figura 3. Desarrollo (izquierda) y montaje microscópico (derecha) de microcultivo.



Durante la detección de la fase contaminante fueron aislados los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, y *Penicillium* (figura 4, en su orden). Algunos de estos géneros no solo son mohos comunes del ambiente, sino que además, en el caso de *Aspergillus* y *Penicillium* han sido reconocidos como potenciales contaminantes de cereales [15] y productores de toxinas acumulativas en órganos blanco [16], como el hígado, condición que amerita el control sobre la materia prima en el almacenamiento (teniendo en cuenta que las toxinas producidas pueden superar los procesos térmicos) y durante el tiempo de vida útil del producto.

Figura 4. Géneros de mohos aislados durante la detección de la fase contaminante.



3. Análisis microbiológico para el establecimiento de intervalos de tolerancia.

Para el análisis de ambientes se colocaron cajas abiertas, que contenían agar Rosa de Bengala, en las áreas predeterminadas (figura 1). En el caso de las superficies y manipuladores se utilizaron los métodos de frotis de superficie y manos respectivamente y, para ambos se usó como medio de suspensión el caldo letheen, que proporcionó condiciones de regeneración para microorganismos dañados y germinación de esporas,

debido a su contenido de peptona de caseína [13]. Las muestras de superficies y manipuladores fueron igualmente sembradas en agar Rosa de Bengala.

III. ANÁLISIS DE RESULTADOS

A. Determinación de la fase contaminante del proceso.

Para analizar los niveles de contaminación de cada fase, se tomó muestra del producto en sus diferentes fases de elaboración (postcocción, postamasado, preasado, postenfriado y postempaqué). Al realizar el análisis de mohos provenientes del producto en sus diferentes fases, se apreció un recuento promedio de 380 UFC/gr en la fase de preasado, en contraste con las demás fases, cuyos promedios estuvieron entre 30 y 80 UFC/gr. Igualmente, al efectuar el análisis de varianza respectivo, se apreciaron diferencias altamente significativas en el recuento de mohos realizado al producto en las fases preestablecidas (tabla 1), más no se encontraron diferencias significativas cuando se realizó el análisis de varianza excluyendo los datos obtenidos en esta fase, corroborándose que en la fase de preasado se presentan condiciones conducentes a aumentar el recuento de mohos, con respecto al recuento en las demás fases del muestreo.

Tabla 1. Análisis de varianza para determinar la fase contaminante del proceso.

FV	° de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabla (4,45)	
					5%	1%
Tratamientos	4	8620	2155			
Error Experimental	45	4180	92,9	23,2	2,590	3,785
Total	49					

La presencia de recuento de mohos en la fase de preasado tiene relación con eventos de contaminación cruzada de diferentes orígenes. El ambiente de esta fase tuvo varios desvíos en el recuento de mohos al establecer intervalos de tolerancia, lo cual podría estar relacionado con aumentos en la temperatura y/o humedad del ambiente. Igualmente, los recuentos mayores de mohos en esta fase podrían estar relacionados con la manipulación y contaminación cruzada a través de utensilios, puesto que en su mayoría, las actividades de formado en la industria de las arepas son en esencia artesanal.

B. Establecimiento de Intervalos de Tolerancia.

Los mayores límites para el recuento microbiológico de mohos en ambientes (tabla 2) y las mayores varianzas se obtuvieron en las fases de cocción y asado (las varianzas fueron 4.0 y 2.3 respectivamente), que coincidentalmente son las áreas donde se genera mayor temperatura ambiental, producto de los procesos térmicos respectivos. Las áreas de cocción y asado en el proceso productivo de la arepa requieren de un control apropiado de ambientes, en el cual se debe contemplar la ubicación estratégica

de suficientes extractores con filtros y sistemas de deshumidificación del ambiente.

Tabla 2. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis de ambientes.

Análisis de Ambientes					
Área del proceso evaluada					
Límites	Amasado-				
	Cocción	Moldeo	Asado	Enfriado	Empaque
	Rto. Mohos				
Límite de Alerta	15	11	12	9	8
Límite de Acción	18	12	14	10	9

En el caso de las superficies, salvo la correspondiente a la ponchera utilizada para recoger maíz después de su cocción, a partir de la cual se obtuvo una varianza de 2.5 y los escabilladores utilizados para el enfriado del producto, que tuvieron una varianza de 3.8 (estas superficies además, tuvieron los mayores límites para el recuento de mohos), las varianzas de las superficies no fueron superior a 1.0.

Tabla 3. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis de superficies.

Análisis de Superficies				
Área del proceso evaluada				
Límites	Recipiente para formado			Lona del rodillo
	Poncheras	Amasadora	para formado	Rto. Mohos
	Rto. Mohos	Rto. Mohos	Rto. Mohos	Rto. Mohos
Límite de Alerta	7	2	4	3
Límite de Acción	8	3	5	4

Límites	Tabla de teflón	Tabla de producto	Escabillador	Canasto de transporte
	Rto. Mohos	Rto. Mohos	Rto. Mohos	Rto. Mohos
Límite de Alerta	3	2	9	2
Límite de Acción	4	3	11	3

Las varianzas en los recuentos de mohos al analizar las manos de los operarios fueron de 1.4 y 1.8 para los manipuladores del proceso y empaque respectivamente, y para ambos, los límites microbiológicos fueron similares, como se puede apreciar en la tabla 4.

Tabla 4. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis de manipuladores.

Análisis de Manipuladores	
Límites	Área del proceso evaluada

	Proceso	Empaque
	Rto. Mohos	Rto. Mohos
Límite de Alerta	5	6
Límite de Acción	6	7

IV. CONCLUSIONES

La fase de preasado mostró un recuento significativamente mayor a las demás fases evaluadas, de manera que en esta fase se presentan eventos de contaminación cruzada a partir de ambientes, superficies y manos de operarios, que favorecen el aumento de mohos en el producto. Así mismo, se establecieron intervalos de tolerancia, encontrándose límites mayores de los recuentos de mohos en los ambientes, que en las superficies y manipuladores. A través del proceso de instauración de intervalos de tolerancia, se presentaron recuentos atípicos de mohos en los ambientes analizados, haciéndose necesario el desarrollo de estrategias de mejora relacionados con el control de la humedad y temperatura de los ambientes, para evitar eventos continuos de sobrepaso de los límites establecidos que deriven en contaminación del producto.

V. RECOMENDACIONES

Debido a que en la fase de preasado se presentaron recuentos significativos de mohos al analizar el producto a través de sus fases de elaboración, es importante ejercer control, sobre los ambientes. Igualmente se recomienda controlar la contaminación por manipulación y utensilios, y de ser posible, trascender hacia un proceso de formado automático.

VI. AGRADECIMIENTOS

Al Centro Institucional de Investigación, Proyección y Desarrollo de la Universidad Católica de Manizales por la financiación brindada para el desarrollo del proyecto y a las empresas privadas Alimentos Gransoli y CIA S. en C.A. por los aportes brindados para el desarrollo de la investigación.

REFERENCIAS

- [1] FAO. (1993). El maíz en la nutrición humana. Depósito de documentos de la FAO. Departamento de Agricultura. Colección de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación: *Alimentación y nutrición*. N. 25. Catalogación antes de la publicación de la Biblioteca David Lubin FAO, Roma (Italia). [Online] Disponible: <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S02.htm#Capitul%201%20Introducción> (Visitado el: 2010-01-18)

- [2] Vélez, G. (1999). Cultivos y Alimentos Transgénicos Colombia: se inicia en la Revolución Genética. Programa Semillas - Fundación Swissaid. *Revista Semillas*. N. 13. [Online] Disponible: <http://www.semillas.org.co/sitio.shtml?apc=p1f-20154758-20154758&volver=1> (Visitado el: 2010-01-19)
- [3] El País. (2009). Foro: *Las arepas de maíz, un reglón en crecimiento*. [Online] Disponible: <http://foros.elpais.com/lofi/version/index.php/t21701.htm> (Visitado el: 2010-01-18)
- [4] Hernández, B.; Guerra, M.; Rivero, F. (1999). Obtención y caracterización de harinas compuestas de endospermo — germen de maíz y su uso en la preparación de arepas. *Ciencia y tecnología de alimentos*. 19 (2). [Online] Disponible: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611999000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=es (Visitado el: 2010-01-19)
- [5] Pacheco, E. & Pena, J. (2006). Efecto del salvado de arroz sobre parámetros químicos, físicos y sensoriales de arepas precocidas y congeladas. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 23 (2), pp. 234-245. [Online] Disponible: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-78182006000200010&script=sci_arttext&tlng=es (Visitado el: 2010-01-19)
- [6] Del Real, S.; Páez, M.; Solano, L.; et al. (2002). Consumo de harina de maíz precocido y su aporte de hierro y vitamina a en preescolares de bajos recursos económicos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 52 (3), pp. 274-281. [Online] Disponible: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222002000300008&script=sci_arttext&tlng=pt (Visitado el: 2010-01-18)
- [7] Lozano, R. (2009). Mercado de arepas precocidas alcanzó en Colombia \$3,9 billones, con un crecimiento de 3% en 2008. *Revista Portafolio*. Redacción Economía y Negocios. [Online] Disponible: http://www.portafolio.com.co/negocios/empresas/2009-03-18/ARTICULO-WEB-NOTA_INTERIOR_PORTA-4883106.html (Visitado el: 2010-01-18)
- [8] Corpas, E. (2009). Procedimiento para el establecimiento de intervalos de tolerancia a partir del análisis microbiológico de ambientes, superficies y manos de operarios en empresas del sector agroalimentario. *Revista de Investigaciones - Universidad Católica de Manizales*. 13 (1), pp. 157 – 163.
- [9] Walpole, R.; Myers, R. & Myers, S. *Probabilidad y estadística para ingenieros*. 6ta ed. México: Prentice-Hall Hispanoamericana, 1998.
- [10] Marques. *Probabilidad y Estadística: Para ciencias químico-biológicas*. México: McGraw-Hill, 1991.
- [11] Montgomery, D. & Runger, G. *Probabilidad y estadística*. México: Mc Graw Hill, 1997.
- [12] Daza, G.; Suárez, J. & Castellanos G. (2009). Preproceso de datos en bioseñales: una aplicación en detección de patologías de voz. *Revista ingeniería e investigación*. 29 (3), pp. 92-96. Manizales. [Online] Disponible: http://www.revistaingenieria.unal.edu.co/Resumenes/29_3/15_861.pdf (Visitado el: 2010-02-25)
- [13] Merck. (2006). *Manual de medios de cultivo*: Indicaciones generales para el empleo de medios de cultivo deshidratados. [Online] Disponible: <http://www.merck-chemicals.com.co/> (Visitado el: 2010-05-20)
- [14] Samson, R. & Hoekstra, E. *Introduction to food and airborne fungi*. Central Buyew Vodr. 6ta Ed. Netherlands: Ponsen & Looyen, 2000.
- [15] Yousef, A. & Carlstrom, C. (2001). *Microbiología de los alimentos. Manual de laboratorio*. España: Acribia, 2001.
- [16] Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para alimentos (ICMSF). *Microorganismos en Alimentos*. España: Acribia, 1996.