

Tamaño muestral para determinación de esporas termófilas responsables de acidez plana en leche en polvo

Sample size determination of thermophilic spores responsible for flat acidity in milk powder

Yelitza Aguas-Mendoza¹, Linda Chams², Katia Cury-Regino¹, Rafael Olivero-Verbel³ y Ana Martínez¹

RESUMEN

El objetivo fue evaluar una modificación del método Covenin 2948 de 1992 que cumpla con los protocolos establecidos por la norma internacional, para determinar la presencia de esporas termófilas responsables de *flat sour* (FS) en leche en polvo. Se realizó una investigación de tipo evaluativa de corte transversal, donde se estudió la leche en polvo entera elaborada en una planta procesadora de lácteos. Los resultados del método modificado de 10 lotes de leche en polvo entera, fueron comparados con el método establecido en la norma Covenin 2948 de 1992, empleando la prueba estadística de Wilcoxon. Se observó que los recuentos de esporas presentaron valores estadísticamente iguales entre el método modificado y el método Covenin 2948.

Palabras clave: productos lácteos, descomposición ácida, microorganismos, Covenin.

ABSTRACT

The aim was to evaluate a modification of the method Covenin 2948 of 1992, that meets the protocols established by the international standard, to determine the presence of thermophilic spores responsible for flat sour (FS) in milk powder. An evaluative research of cross section, where whole milk powder manufactured in a dairy processing plant was performed. The results of the modified method of 10 batches of whole milk powder were compared with the method set out in Covenin 2948 of 1992 standard, using the Wilcoxon statistical test. It was noted that spores counts statistically equal values between the modified method and Covenin 2948 method.

Key words: dairy products, acid decomposition, microorganisms, Covenin.

Introducción

Uno de los productos lácteos de mayor comercialización es la leche en polvo. Para su obtención, se procesan aproximadamente 2.000.000 L de leche semanales, en una planta procesadora de lácteos ubicada en el municipio de Planeta Rica, Departamento de Córdoba (Colombia), lo que conlleva a que este producto sea uno de los principales para esta industria, debido a que es de los más apetecidos en el mercado por los consumidores. Sin embargo, su calidad e inocuidad puede ser afectada por esporas termófilas responsables de la acidez *flat sour* (FS), terminología americana que traduce acidez plana, ocasionada por la acción de anaerobios facultativos que elaboran ácido láctico, fórmico o acético a partir de carbohidratos, sin formación de gas. Las esporas termófilas (FS) se caracterizan por producir acidez plana en la leche después de reconstituida, haciéndola no apta para el consumo humano. La importancia de su determinación, radica en la capacidad que tienen estas esporas de producir ácido sin formación de gas en alimentos

que han sido sometidos a procesos térmicos, causando una alteración en el producto (Karl y Kent, 2001; Amiot, 1991).

Las bacterias termófilas formadoras de esporas, son de especial interés para quienes participan en la elaboración de alimentos. Estas esporas están presentes en casi todos los ambientes, y las instalaciones de procesamiento de alimentos no son la excepción. Cuando las bacterias que forman esporas se encuentran en un medio bajo en nutrientes y condiciones no óptimas para su crecimiento, se activa en ellas el proceso de esporulación, estado de resistencia e inactividad metabólica. Las esporas termófilas (FS) presentes en el producto, pueden germinar a estado vegetativo cuando la leche en polvo se reconstituye, causando deterioro del producto y riesgo a la salud del consumidor (Castellano *et al.*, 2008).

En Colombia, la determinación de esporas termófilas (FS) en la leche en polvo no está contemplada dentro del marco legal del Decreto 616 de 2006 (Ministerio de la Protección Social), el cual está relacionado con el reglamento técnico de

¹ Facultad de Ingeniería, Universidad de Sucre. Sincelejo (Colombia). yelitza.aguas@unisucra.edu.co

² Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Córdoba. Montería (Colombia).

³ Facultad de Ingeniería, Universidad del Atlántico. Barranquilla (Colombia).

requisitos que debe cumplir la leche de animales bovinos, bufalinos y caprinos destinada para el consumo humano. Teniendo en cuenta que Colombia es un país con fortaleza en la exportación de productos cárnicos y lácteos, el objetivo de esta investigación fue implementar una modificación en el tamaño de la muestra del método tradicionalmente utilizado, que cumpliera los protocolos establecidos por la norma internacional para determinar la presencia de esporas termófilas responsables de acidez *flat sour* en leche en polvo. Además, el beneficio para la empresa procesadora de lácteos se vería reflejado en asegurar la calidad de la leche en polvo para convertirse en un producto de exportación, debido a que cumpliría con los parámetros internacionales para su comercialización en otros países. En adición, genera confianza en el consumidor y seguridad de adquirir un alimento de alta calidad e inocuidad.

Materiales y métodos

Se realizó una investigación tipo evaluativa de corte transversal, donde se estudio la leche en polvo entera elaborada en la planta procesadora de lácteos, ubicada en el municipio de Planeta Rica, departamento de Córdoba (Colombia), situado geográficamente en las coordenadas 8°25'N y 75°34'W, a 25 km de la ciudad de Montería, altitud de 100 msnm, temperatura y humedad relativa promedio de 30°C y 80%, respectivamente.

En primer lugar, se procedió a validar la modificación del método establecido en la norma Covenin 2948 de 1992, la cual establece que el análisis de las muestras debe hacerse con 20 g del alimento. La modificación del método consistió en disminuir de 20 a 10 g la cantidad de alimento para ser analizada, para esto se compararon los resultados de ambos métodos muestreando 10 lotes de leche en polvo durante el proceso de secado, tomando de cada lote 6 muestras por triplicado de 10 g y 20 g cada una, con un intervalo de 6 h entre las muestras con tres repeticiones del experimento, para un total de 1.080 muestras.

Después se analizaron 21 lotes de leche en polvo durante el proceso de secado por el método modificado, tomando de cada lote 6 muestras de 10 g por triplicado cada una, con un intervalo de 6 h entre las muestras, con tres repeticiones del experimento para un total de 1.134 muestras analizadas. Se consideraron colonias de esporas termófilas (FS) a aquellas que fueran compactas, que asemejaban puntos de alfiler y estaban rodeadas por un halo amarillo; para el conteo se sumaron el total de colonias en las 5 cajas sembradas por muestra y se expresaron en UFC g⁻¹. Los resultados de los dos métodos se compararon mediante la prueba estadística

de Wilcoxon. El tiempo de estabilidad del alimento se determinó analizando los resultados y verificando si estos superaban o no los límites superiores establecidos para esporas termófilas (FS), según lo expresado en la norma internacional. El análisis descriptivo de los resultados se realizó en el programa Microsoft Excel versión 2007.

Resultados y discusión

Se pudo determinar que los recuentos obtenidos en ambos métodos fueron similares, el mayor recuento para el método Covenin (1992) fue de 244 UFC g⁻¹ y para el método modificado con 240 UFC g⁻¹, mientras que el menor recuento obtenido en ambos métodos fue de 8 UFC g⁻¹ para el Covenin y 6 UFC g⁻¹ para el método modificado, lo que permitió establecer que la utilización de 20 g o 10 g en el estudio no fue determinante en los resultados de los métodos. En las figuras 1 y 2 se puede observar el análisis estadístico realizado a cada uno de los métodos aplicados, mostrando que no hay diferencias significativas entre los métodos, porque la diferencia del CV entre ellos fue solo del 1%. También se observó la similitud entre la media y la mediana de ambos métodos, lo que significa que entre ellos no existe diferencias significativas, por lo cual se puede utilizar el método modificado para el análisis de esporas termófilas

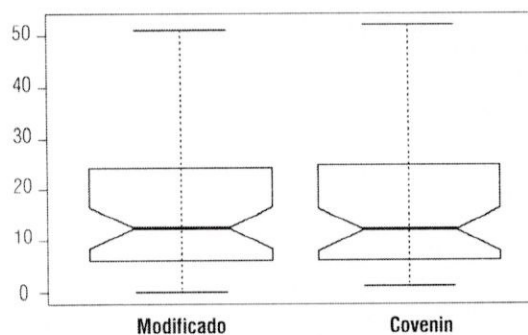


FIGURA 1. Boxplot método modificado vs. Covenin.

La comparación de los dos métodos mediante la prueba estadística de Wilcoxon mostró que no hubo diferencias significativas en los recuentos obtenidos, como se observa en la tabla 1.

Los recuentos de esporas (FS), obtenidos en los 21 lotes de leche en polvo analizados en el estudio por el método modificado, muestra que el recuento de esporas es directamente proporcional al tiempo de proceso, resultados que posiblemente estén relacionados con factores como el ensuciamiento del equipo, contribuyendo este hecho a la

tendencia de aumento en el recuento de las esporas. Larissa (2006), mostró que el aumento de HRS (*Heat resistant spore-reformers*) en la producción de leche se debía a la suciedad del equipo a medida que avanzaba el proceso, ya que se va adhiriendo a las paredes ocasionando un cambio en el valor del coeficiente global de transferencia de calor, que normalmente se hace más pequeño y con ello, no se garantiza en todos los puntos del producto la temperatura deseada.

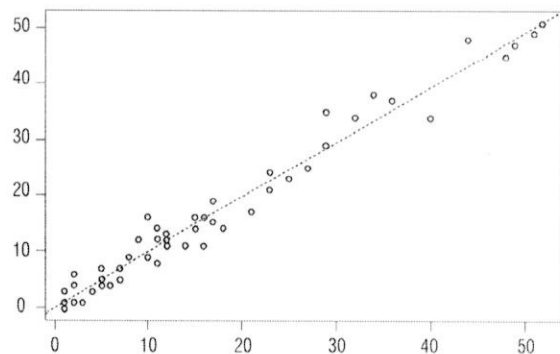


FIGURA 2. Dispersión método modificado vs. Covenin.

TABLA 1. Comparación de métodos por la prueba estadística de Wilcoxon.

Covenin		Modificado	
CV1	84%	CV	85%
Mediana	12,0	Mediana	12,5
Media	17,28	Media	16,98
Máximo	52	Máximo	51

¹Coeficiente de variación.

Otro factor posiblemente relacionado con el aumento en el recuento de esporas termófilas (FS), es la calidad de la materia prima (leche) que es un excelente medio para el desarrollo bacteriano. El ambiente posee una amplia variedad de microorganismos capaces de producir enfermedad, tanto en las ubres de las vacas como en medios de transporte, temperatura de conservación y reconstitución por parte del consumidor, así pues, los microorganismos tienen diferentes rutas de acceso al producto, y una manera de obtener una leche en polvo de excelente calidad es controlando la carga microbiana de la materia prima.

El resultado del recuento al final del proceso no fue igual para todos los lotes, hecho que posiblemente puede indicar

que la carga microbiana en la leche utilizada para ser procesada era mayor en algunos lotes, resultados similares fueron reportados por Simpson *et al.* (2000). Los recuentos obtenidos en la validación de la modificación del método, fueron similares en los 10 lotes de leche en polvo analizados, utilizando la técnica Covenin 2948 de 1992 y el método modificado. Los recuentos de esporas termófilas (FS), obtenidos en los 21 lotes de leche en polvo analizados en el estudio por el método modificado, son directamente proporcionales al tiempo de proceso. El aumento en el recuento de esporas termófilas (FS) puede estar relacionado con el ensuciamiento del equipo, debido a la adherencia de la leche en polvo a las paredes del mismo ocasionando un cambio en el valor del coeficiente global de transferencia de calor. La calidad de la materia prima (leche) es otra variable que posiblemente puede afectar, de manera positiva o negativa, el recuento de esporas (FS) en el producto final procesado. Ninguno de los 21 lotes analizados por el método modificado sobrepasó las 1.000 UFC g⁻¹, límite de recuento de esporas termófilas (FS), permitido por las normas internacionales.

Literatura citada

- Amiot, R.J. 1991. Ciencia y tecnología de la leche. Principios y aplicaciones. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Castellano, P.B., C. Belfiore, S. Fadda y G. Vignolo. 2008. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Sci.* 3, 483-499. Doi: 10.1016/j.meatsci.2007.10.009
- Karl, E. y M. Kent. 2001. Thermophilic flat sour sporeformers. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, Washington DC.
- Larissa, M. 2006. La estabilización de la leche UHT. Mundo lácteo y cárnico. En: http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MLC011_ESTABUHT_L.pdf; consulta: abril de 2016.
- Ministerio de la Protección Social. Decreto 616 de 2006. Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expendia, importe o exporte en el país. En: https://www.invima.gov.co/images/stories/aliamentos/decreto_616_2006.pdf; consulta: abril de 2016.
- Covenin. 1992. Norma venezolana 2848:1992. Alimentos. Método para recuento de esporas termófilas responsables de acidez plana "Flat Sour". Caracas.
- Simpson, R., M. Jiménez, M. Vega, A. Romero y M. Costa. 2000. Evaluación de leches UHT comerciales y optimización del proceso industrial. *ALAN* 4, 353-360.