



DEPARTAMENTO DE POSTGRADOS

MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

**Investigación y control de levaduras en una línea de producción
de bebidas**

**Tesis para la obtención del título de Magíster en Gestión de la
Calidad y Seguridad Alimentaria.**

Diana Cabrera Becerra

Directora: María Fernanda Rosales Mgt.

Cuenca, Ecuador

2014

DEDICATORIA

A mi mami por su apoyo y a mi hija Sofía.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad del Azuay por permitirme tomar esta maestría, a mi directora y compañera Fernanda Rosales por su apoyo incondicional.

RESUMEN

Las bebidas son productos alimenticios que por sus componentes tienden a ser el lugar ideal para el desarrollo de microorganismos como mohos y levaduras que utilizan los azúcares propios o adicionados para su crecimiento. Para que se desarrollen estos microorganismos es necesario se sumen condiciones como diseño de equipos, tuberías, instalaciones y ambiente de producción. Para esta investigación se utilizó como escenario una empresa en donde se producen bebidas y en la que por dos ocasiones se generó el retiro de producto del mercado debido a contaminación por levaduras presentes y que generaron la fermentación del producto. Se realizaron mejoras en las instalaciones, proceso de limpieza de tuberías y equipos que contribuyan al control de los microorganismos encontrados en este estudio.

Palabras clave: Mohos, Levaduras, Bebidas, Sanitizado, Validación, Costos.

ABSTRACT

Drinks are food products that due to its components tend to be ideal for the growth of microorganisms such as yeasts and molds, which use their own or added sugar for their growth. In order to develop, these microorganisms need a sum of conditions such as equipment design, pipelines, facilities and production environment. We used as a research scenario a beverage company whose products had been withdrawn from the market for two occasions due to contamination caused by the presence of yeasts that generated product fermentation. The facilities were improved, and the piping and equipment went under a cleaning process so as to contribute to the control of microorganisms found when this study was conducted.

Keywords: Molds, Yeasts, Drinks, Sanitizing, Validation, Costs.




Translated by
Lic. Lourdes Crespo

TABLA DE CONTENIDOS

Introducción	9
Proceso de elaboración de refrescos	10
Levaduras deterioradoras de alimentos	11
CAPÍTULO I	13
MATERIALES Y MÉTODOS	13
1.1 OBJETIVO DEL ESTUDIO	13
1.2 LUGAR DEL ESTUDIO	13
1.3 MUESTREO	13
1.4 IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS	14
1.5 IDENTIFICACIÓN DE PUNTOS DE CONTAMINACIÓN EN LÍNEA DE ENVASADO.	16
1.6 DISEÑO HIGIÉNICO	16
1.6.1 Ausencia de depósitos	16
1.6.2 Facilidad de desmantelamiento y montaje	16
1.6.3 Accesibilidad	17
1.6.4 Drenaje	17
1.6.5 Superficies exteriores	17
1.7 DESCRIPCIÓN DE EQUIPOS DE PROCESO	17
1.7.1 Equipo de osmosis inversa	17
1.7.2 Tanques de almacenamiento de agua, mezcla, jarabe	17
1.7.3 Filtro prensa	18
1.7.4 Tubería de transporte	18
1.7.5 Equipo de Rinseado de botella	18
1.7.6 Envasadora	18
1.8 PUNTOS DE CONTAMINACIÓN	18
1.9 DESCRIPCIÓN Y EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE LIMPIEZA ANTERIOR (NO EFICIENTE)	22
1.9.1 Pre-Enjuague:	22
1.9.2 Limpieza alcalina:	22
1.9.3 Desinfección:	22
1.9.4 Enjuague Final:	22
1.10 REGISTRO DE ESTADO ACTUAL	22
1.10.1 Infraestructura del sistema de limpieza:	23
1.10.2 Parámetros de operación:	23

1.10.3	Tipos de residuo a eliminar:	23
1.10.4	Soluciones de limpieza y concentraciones:	23
1.11	REQUERIMIENTO DEL SISTEMA DE LIMPIEZA PROPUESTO	24
1.11.1	Equipos:	24
1.11.2	Detergentes y sanitizantes	24
1.11.2.1	Detergente:	¡Error! Marcador no definido.
1.11.2.2	Sanitizante:	25
1.12	ANÁLISIS DE COSTOS	26
CAPITULO II		27
ANÁLISIS COMPARATIVO Y RESULTADOS		27
2.1	IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS	27
2.1.1	Características de microorganismos	28
2.2.1	Agua de enjuague de botella	31
2.2.2	Almacenamiento de agua para mezcla	32
2.2.3	Interior tanque de preparación	32
2.2.4	Válvulas de llenado	33
2.2.5	Tuberías de transporte de producto	34
2.3	TRATAMIENTO TÉRMICO EN PRODUCTO TERMINADO	35
2.4	VALIDACIÓN DE CONCENTRACION DE SANITIZANTE	36
2.5	EVALUACIÓN COMPARATIVA DE COSTOS DE LIMPIEZA ANTERIOR Y ACTUAL	38
CAPÍTULO III		41
DISCUSIÓN		41
ANÁLISIS DE RESULTADOS DE VALIDACIÓN		41
ANÁLISIS DE MÉTODOS DE LIMPIEZA		41
ANÁLISIS COSTO BENEFICIO		42
CONCLUSIONES		43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		44
ANEXOS		45
INDICE DE TABLAS		46

INDICE DE FIGURAS

47

INVESTIGACIÓN Y CONTROL DE LEVADURAS EN UNA LÍNEA DE PRODUCCIÓN DE BEBIDAS

Introducción

Refresco es una bebida preparada, con agua, endulzantes que pueden ser naturales (azúcar) y/u obtenidos de forma química (sucralosa, acesulfame de potasio), acidulantes, colorantes, antioxidantes, estabilizadores de acidez y conservantes como sorbato de potasio y benzoato de sodio. Por los componentes descritos anteriormente y en especial el azúcar los microorganismos que ocasionan la degradación de este producto son las levaduras y los mohos en menor proporción, este tipo de microorganismos se desarrollan en productos cuyos valores de pH son menores a 4 y su contenido de azúcares expresados en Brix sobrepasan los 2°.

Existen levaduras como *Z. bailii* que son extraordinariamente resistentes a los conservantes puede crecer en concentraciones de hasta 700 mg/l de ácido sórbico o 1200 mg/l de ácido benzoico, además crece en pH de hasta 2,8 y resiste concentraciones de azúcar de 50° Brix.

Saccharomyces cerevisiae, es otro tipo de levadura que resiste pH de 2.8 y concentraciones de azúcar de 50° Brix, esto debido a que poseen sistemas enzimáticos productores de solutos compatibles.

Las especies de levaduras presentes con mayor frecuencia en jugos y bebidas sin alcohol contaminados son:

Brettanomycesbruxellensis, *Candidatropicalis*, *Candidastellata*, *Debaryomyceshansenii*, *Hanseniasporauvarum*, *Issatchenkiaorientalis*, *Pichiaanomala*, *S.*

cerevisiae, *Torulasporadelbrueckii*, *Z. bailii* y *Zygosaccharomyces rouxii*. Otras especies contaminantes son:

Citeromycesmatritensis, *Metschnikowiapulcherrima*, *Pichiajadinii*, *Pichiasubpelliculosa* y *Rhodotorulaglutinis*. (Rev. Argentina de microbiología 2006)

Para que exista el desarrollo de estos microorganismos existen varios factores que ayudan a su proliferación como son:

- Condiciones de limpieza de tuberías y equipos de envasado no adecuadas.
- Ambiente en el que se desarrolla el proceso.
- Frecuencias de limpieza
- Estado de tuberías y equipos por los que se transporta el producto.

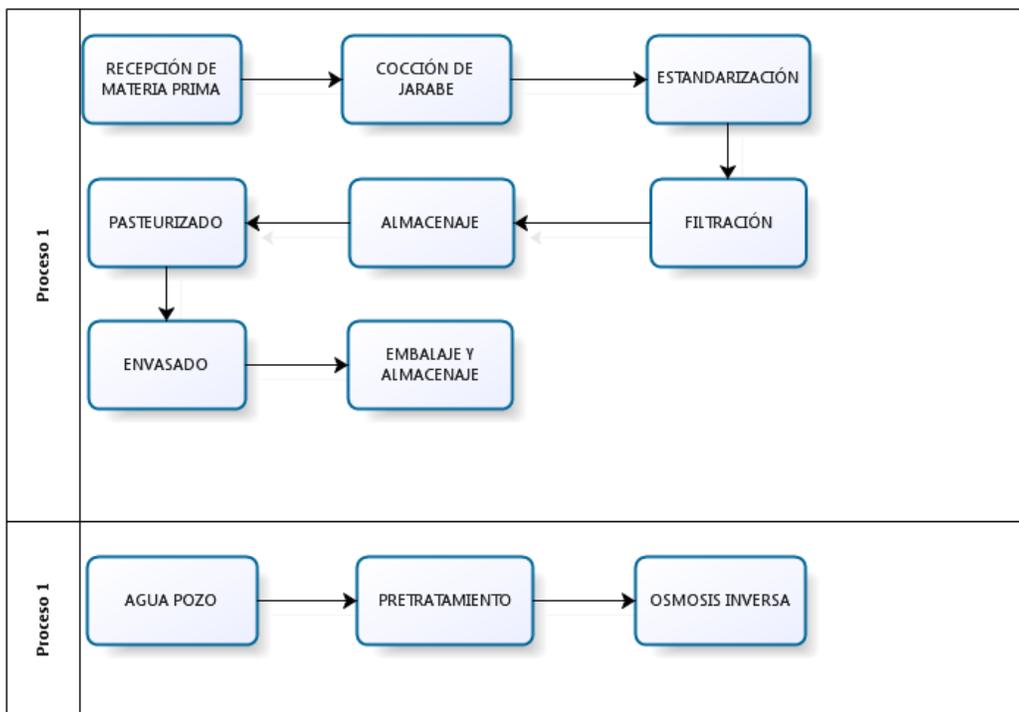
Proceso de elaboración de refrescos

Para la elaboración de refrescos la materia prima más importante y que representa más del 90% de la bebida terminada es el agua por lo que se requiere que la calidad microbiológica de esta sea óptima.

Además del agua, en la elaboración de refrescos interfieren otros componentes como saborizantes, edulcorantes como azúcar y sucralosa, ácidos, reguladores de acidez y conservantes de los que se espera sean de la mejor calidad microbiológica.

A continuación en la Figura 1, se detalla el proceso que se lleva a cabo para la producción de bebidas.

Figura 1: Diagrama de elaboración de Bebidas RTD



Por el tipo de alimento que se elabora en la planta industrial y teniendo en cuenta sus características ya mencionadas como pH, y brix los microorganismo que generalmente deteriora este alimento son los mohos y levaduras, sumado a las condiciones de producto si tenemos una inadecuada limpieza o si esta no se la efectúa en el momento oportuno los residuos tanto orgánicos como inorgánicos se vuelven contaminantes y pueden degradar el producto final o afectar su calidad sensorial.

Los microorganismos más comunes que se encuentran en una planta de envasado de refrescos son:

- Bacterias como *Cándida pelliculosa* que forman filamentos, sedimentos, turbidez y otros efectos desagradables como aumento de presión ocasionando que cuando se abra el envase genere excesiva espuma, y olor fermentado.
- Levaduras especialmente del género *Saccharomyces*, causantes de la formación de sabores desagradables (fenólicos), y aumento de la presión interna de la botella.
- Menos común es encontrar hongos como el *Aspergillus niger*, éste generalmente se encuentra en el ambiente cuando no se ha realizado un proceso de limpieza efectivo.

Levaduras deterioradoras de alimentos

Se denomina levadura al microorganismo capaz de descomponer compuestos orgánicos como azúcares o hidratos de carbono en distintas sustancias, este microorganismo es generalmente conocido por sus beneficios en la industria de vinos, panificación, cerveza, sin embargo son capaces de deteriorar los alimentos como bebidas, refrescos o zumos de frutas convirtiendo a la fermentación en un proceso indeseado en esta industria ocasionando grandes pérdidas económicas a las mismas. (Casas, 1999)

Las levaduras son microorganismos que pueden crecer en distintas condiciones de pH, actividad de agua, acidez, presencia de conservantes (sorbato de potasio, benzoato de sodio) e incluso a la pasteurización.

Una manifestación de presencia de levadura en un refresco puede ser la formación de biomasa que va acompañada con la formación de turbidez. Cuando existe presencia de biomasa esta puede deberse al producto del metabolismo de las levaduras como es la

formación de CO₂ que causa deformación de los envases, además de la presencia de olores y sabores provocados por la formación de alcoholes, ácidos orgánicos y ésteres. (Martorell, 2006)

En la Tabla 1, se detalla las levaduras causantes del deterioro de bebidas, refrescos y zumos de fruta.

Tabla 1.- Hongos y levaduras causantes del deterioro de refrescos y zumos de frutas (Martorell 2006)

Especie levadura	Alimento alterado
<i>Dekkera intermedia</i>	Refrescos
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Refrescos, zumos de fruta
<i>Saccharomyces exiguus</i>	Refrescos
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Refrescos
<i>Zygosaccharomyces bisporus</i>	
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Jarabe concentrado, zumo de fruta

Como se mencionó en párrafos anteriores de acuerdo a las características del producto se da el crecimiento de una o varias especies de levaduras que podrían llegar a afectar la calidad de la bebida, entre estas características tenemos el contenido de azúcar, una bebida rica en azúcar es el sustrato ideal para el crecimiento de levaduras, sumada a estas unas condiciones de higiene no estrictas que permitan la acumulación de microorganismos y posteriormente su proliferación.

En la industria alimentaria en general además de asegurar las condiciones de limpieza se deben implementar controles de rutina en la materia prima, materiales y durante todo el proceso productivo permitiendo detectar una posible contaminación cuando ésta se encuentra en los niveles más bajos para control y evitar así el deterioro de producto terminado que se resume en grandes pérdidas económicas para la empresa.

El género más relacionados con el deterioro de bebidas con alto contenido de azúcar es *Zygosaccharomyces bailii*, *rouxii* que además son resistentes a pH inferior a 4 e incluso a los conservantes como sorbato de potasio, benzoato de sodio.

CAPÍTULO I

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 OBJETIVO DEL ESTUDIO

El presente estudio tiene como objetivo controlar las levaduras presentes en una línea de producción de refrescos, mediante un análisis de los procesos y métodos utilizados para la limpieza y desinfección, validación de la dosificación de los desinfectantes y el costo beneficio que representa para la empresa el uso adecuado de un sistema de limpieza previamente evaluado.

1.2 LUGAR DEL ESTUDIO

El estudio se lleva a cabo en una planta procesadora de refrescos ubicada en la Ciudad de Guayaquil, el lugar en donde se lleva a cabo el estudio enfrentó durante los años 2012 y 2013 una contaminación de producto de aproximadamente 90000 cajas que representó una grave pérdida para la empresa.

Para los análisis de identificación de microorganismos se cuenta con dos laboratorios:

1. Laboratorio propio de la empresa, en el que se realizará la siembra de los puntos de muestreo y en caso de tener resultados positivos se procederá a aislarlo para su posterior identificación.
2. Para el proceso de identificación se cuenta con los servicios de un laboratorio externo NQAC – Cayambe (Nestlé.)

1.3 MUESTREO

Teniendo en cuenta el proceso que aplica a la elaboración de refrescos y las condiciones que se tienen en la planta de envasado se definen varios puntos de muestreo que nos permiten visualizar y tener datos sobre los lugares donde se pueda tener posibles contaminaciones, los puntos definidos para muestreo microbiológico son:

Tabla 2: de Puntos de muestreo aplicada al proceso.

FRECUENCIA	#	PUNTOS DE MUESTREO	TIPO DE MUESTREO	LÍMITES
Durante producción antes de limpieza (semanal)	1	Cerca alimentación de botella	Ambiente exposición 15 minutos	< 100 UFC
	2	Sobre llenadora		Ausencia
	3	Cerca de rinseadora de botella		
	4	Tapas: 20 muestras	Enjuague y filtración de membrana	Prom: 10 UFC/100mL Max: 50 UFC/100 mL
	5	Agua de enjuague de botellas	Filtración de membrana	Ausencia
	6	Almacenamiento de agua para mezcla		
	7	Botella rinseada		
Al finalizar limpieza	8	Empaque de tubería de transporte de producto	Enjuague y filtración de membrana	Ausencia
Después de cada turno de limpieza	9	Interior de tanque de mezcla	Hisopo seco	Ausencia
	10	Válvulas de llenado 5 muestras	Hisopo seco	Ausencia
	11	Agua de enjuague de línea (5 válvulas)	Enjuague y filtración de membrana	Ausencia
	12	Ambiente zona de mezcla	Ambiente exposición 15 minutos	< 100 UFC
Una vez por semana	13	Botella antes de rinseado	Enjuague y filtración de membrana	Prom: 10 UFC/100mL Max: 50 UFC/100 mL
Cada lote	14	10 botellas de producto durante producción (3 inicio, 4 medio, 3 fin)	Filtración de membrana	Max: 5 UFC/100 mL

Los puntos de muestreo así como los límites que se detallan en la Tabla 2, están basados en el procedimiento 0680.GER.PRO.000 Procedimiento de operación y control de Bebidas RTD, de la empresa multinacional Nestlé, quien posee su propia normativa para los límites de los análisis de ambientes, superficies y aguas de enjuague

Se definen puntos de muestreo que abarquen ambientes de producción, superficies de proceso, puntos de la línea donde la probabilidad de contaminación y crecimiento de microorganismos es la más alta (por ejemplo, válvulas de llenado, tanque de almacenamiento intermedio si fuera el caso), los muestreos deben ser realizados al inicio y al final de producción, se tomarán muestras de material de empaque que está en contacto directo con el producto, además del producto terminado.

Para cada punto de muestreo se ha definido como se puede observar en la Tabla 2, el tipo de muestreo que aplica y los límites que se han definido por parte de la empresa.

1.4 IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS

La identificación es una técnica en la que se tiene en cuenta las características fisiológicas, bioquímicas y morfológicas que permite conocer el tipo de microorganismo contaminante.

Para la identificación de los microorganismos existentes se utilizó el Test API (Analytical Profile Index), la batería de pruebas es un sistema de identificación rápida para bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y otras bacterias Gram – y levaduras, consta de varias pruebas bioquímicas estandarizadas y miniaturizadas, y una base de datos. Este sistema presenta las ventajas de ser rápido, eficaz y de permitir realizar numerosas pruebas a la vez. Cada tira de API contiene 20 microtubos o pocillos con distintos sustratos deshidratados. Cada tubo es una prueba bioquímica distinta (BioMérieux. 2010)

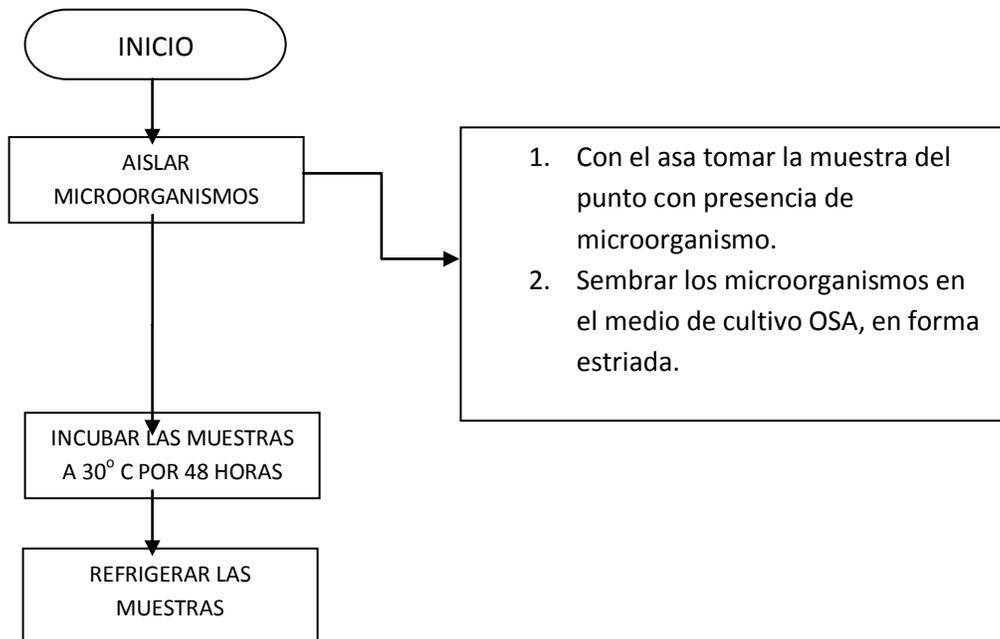
Previo la identificación de microorganismos se realiza la siembra de puntos de muestro establecidos en el perfil microbiológico que se especificará más adelante, para siembra de estos punto se aplicó la técnica de membrana filtrante, aplicado a muestras líquidas.

Este método consiste en determinar el número y tipo de microorganismos presentes en una muestra líquida por medio de la filtración de la misma a través de una membrana filtrante con poros de tamaño adecuado (0.45 μm de diámetro para bebidas y agua y 0,20 μm de diámetro para agua de enjuague de envase), los microorganismo son retenidos en el filtro utilizado, sembrados en el cultivo requerido que en nuestro caso es consiste en el medio OSA, para luego incubarlos a una temperatura de 30° C por cinco días, durante los cinco días se realiza una lectura preliminar al día 3 tiempo en el que se da el desarrollo de los microorganismos, los

días 4 y 5 son necesarios para el crecimiento y poderlos definir si son mohos o levaduras, cabe mencionar que para determinar el tipo de microorganismo presenta en nuestra muestra es necesario la identificación.

Las muestras analizadas son enviadas a identificar en un laboratorio externo, para este proceso se tiene el siguiente procedimiento:

Flujograma 1: Siembra para identificación de microorganismo



Para el presente estudio se utilizó el medio OSA (Orange Serum Agar), el mismo que está compuesto de: suero de naranja (200mL), Extracto de levadura (3g), Enzima digestiva de caseína (10g), Dextrosa (4g), Fostato de potasio (2,5g).

Este medio está diseñado para cultivo y recuento de microorganismos acidúricos asociados principalmente con el deterioro de jugo de frutas, en especial cítricos o cuyo pH esté por debajo de 3.5. Este medio se fundamenta en el uso de la enzima digestiva y extracto de levadura como fuentes de nitrógeno, aminoácidos, péptidos y vitaminas, la dextrosa es el hidrato de carbono fermentable y el suero de naranja proporciona un ambiente ácido favorable para el desarrollo de microorganismos tolerantes a las condiciones de acidez. Entre los microorganismos causantes del deterioro de jugos de frutas y refrescos se conoce las especies de *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Leuconostoc* y hongos entre otras las cuales tiene un desarrollo satisfactorio en el método usado. Este medio de cultivo tiene como pH final $5.5 \pm 0,2$, para efectos de mejores resultados

se acidifica el medio con el uso de ácido clorhídrico solución 1N hasta llegar a pH 3.5 como máximo ya que es el valor por el que bordean las bebidas producidas.

1.5 IDENTIFICACIÓN DE PUNTOS DE CONTAMINACIÓN EN LÍNEA DE ENVASADO.

En todo proceso industrial un papel importante dentro del mismo juegan los equipos con los que se cuenta para la elaboración del alimento y sobre todo el diseño de los mismos, en este capítulo se describirán los equipos utilizados para la elaboración de bebidas y los posibles puntos de contaminación que existe en la línea de proceso, iniciaremos con una descripción de cómo deben ser diseñados los equipos y accesorios que intervienen en el proceso.

1.6 DISEÑO HIGIÉNICO

1.6.1 Ausencia de depósitos

Evita la acumulación de la bebida en depósitos u otras zonas muertas en los que pueda generarse un crecimiento bacteriano. Por ello, las superficies en contacto con el alimento deben ser no porosas, lisas y pulidas. En principio, la rugosidad de las superficies en contacto con los alimentos debe ser $Ra = 0,8 \mu m$. Pueden aceptarse rugosidades mayores siempre que estén claramente especificadas, dando por supuesto que los tiempos de limpieza deben aumentarse. Así mismo, debe indicarse que en la industria de bebidas se admiten rugosidades de hasta $Ra = 1,6 \mu m$

Por otra parte, hay que evitar los ángulos, grietas y cortes mediante la curvatura adecuada que evite la acumulación del alimento y facilite la limpieza.

Además, las soldaduras que se realicen serán continuas y lisas y se evitarán los finales muertos y los tubos en T. Por último, no debe permitirse la utilización de tornillos en las zonas en contacto con los alimentos pues propician su acumulación.

1.6.2 Facilidad de desmantelamiento y montaje

Se pretende que el diseño permita un fácil desmantelamiento de las partes principales y generar una limpieza, en tiempos relativamente cortos, seguida del nuevo montaje del equipo. Por ello, el número de piezas de trabajo del equipo de procesado debe ser el menor posible. Así mismo, para facilitar la limpieza, se utilizarán sistemas fáciles de soltar, como por ejemplo palomillas y tornillos de paso de rosca ancho o también abrazaderas y muelles de unión.

1.6.3 Accesibilidad

Las superficies y componentes de la maquinaria de elaboración de alimentos deben ser fácilmente accesibles para su inspección, de forma que al ser sometidos a los procedimientos establecidos de limpieza y desinfección se consiga un resultado adecuado. En este sentido, si el sistema de limpieza es automático, su eficacia debe ser similar al sistema manual.

1.6.4 Drenaje

El diseño del equipo en contacto con los alimentos tiene que ser de tal forma que facilite el drenado total, no sólo de los alimentos, sino también de los productos o agentes de limpieza, al objeto de evitar zonas de acumulación que generarían el correspondiente peligro sanitario.

Los sistemas de drenaje se diseñarán de forma que eviten salpicaduras, se puedan limpiar fácilmente y dispongan de la inclinación adecuada para posibilitar la salida de efluentes.

1.6.5 Superficies exteriores

Estas superficies tienen la función primordial de protección por lo que, como siempre, su diseño evitará la acumulación de suciedad y facilitará la limpieza.

1.7 DESCRIPCIÓN DE EQUIPOS DE PROCESO

1.7.1 Equipo de osmosis inversa

Equipo utilizado para el tratamiento de agua que será utilizado en el proceso de elaboración de bebidas, enjuague de botella y en las limpiezas de equipos. Este equipo es último paso que se emplea en el sistema de tratamiento de agua, tiene una frecuencia de limpieza establecida cada 3 meses. Su limpieza se basa en el uso de una solución alcalina y una ácida, generalmente la limpieza de este equipo se la realiza tubo a tubo para lograr una mayor eficiencia.

1.7.2 Tanques de almacenamiento de agua, mezcla, jarabe

Los tanques utilizados para el proceso de elaboración de bebidas están contruidos de acero inoxidable, a continuación se describirán los tanques utilizados y su capacidad:

Tanque 25000L, usado para la elaboración y almacenamiento del producto previo a su envasado, estos tanques no cuentan con bolas de limpieza, su limpieza es manual, la frecuencia establecida para la limpieza del mismo es luego de cada lote.

Tanque de 50000L, usado para el almacenamiento de agua de proceso (agua producto de ósmosis inversa), este equipo tiene una frecuencia de limpieza semanal, al igual que el tanque anteriormente descrito no posee bolas de limpieza.

Marmita 5000L, equipo utilizado para la preparación de jarabe (agua, endulzantes, ácidos), este equipo cuenta con bolas de limpieza y su frecuencia de limpieza es luego de terminado el jarabe para un lote.

1.7.3 Filtro prensa

Equipo utilizado para la filtración del producto, este proceso se lo realiza utilizando papel filtro, para este proceso de filtración se cuenta con 24 bandejas, entre las cuales se coloca el papel filtro, la frecuencia de cambio de este material dependerá de la variación de presión de entra y salida del producto la misma que no debe ser superior a 2Pa. La frecuencia de lavado de este equipo es luego de terminada la filtración de un lote que generalmente corresponden a 25000 L.

1.7.4 Tubería de transporte

La tubería está construida en acero inoxidable, por esta circulan los diferentes fluidos como agua, jarabe, bebida terminada.

1.7.5 Equipo de Rinseado de botella

Este equipo es utilizado para el lavado de botella previo a su llenado, por este equipo circula una solución de cloro de alrededor de 6 ppm. La frecuencia de lavado de este equipo es semanal.

1.7.6 Envasadora

Este equipo de llenado isobárico está compuesto por un tazón en el que se almacena el producto que va a ser llenado y 40 válvulas, la frecuencia lavado del mismo es al cambio de producto y su desmontaje y limpieza manual se ha establecido cada dos meses.

1.8 PUNTOS DE CONTAMINACIÓN

Como base para la identificación y control de los posibles puntos en los que se acumulen los microorganismos que están causando el deterioro de las bebidas de la empresa analizada, se ha realizado una evaluación de los equipos, soldaduras y efectos mecánicos de la limpieza que se tiene establecida.

Como es de conocimiento general en todo proceso CIP influyen 4 parámetros importantes:

1. Acción química
2. Tiempo
3. Temperatura
4. Acción mecánica

Los tres primeros factores pueden ser aumentados o disminuidos, siendo la acción mecánica parte intrínseca del diseño del sistema y generalmente permanece fija.

Para tener una idea más clara de la acción mecánica es importante conocer que los fluidos en movimiento forman una capa límite entre el líquido en movimiento y la pared de la tubería donde la velocidad es cero; cuyo espesor depende de la rugosidad del material y es inversamente proporcional a la velocidad a que está circulando.

Cualquier punto que ofrezca condiciones para que el fluido no ejerza acción mecánica adecuada es conocido como punto muerto.

Para el estudio e investigación de los posibles puntos muertos que se tienen a lo largo de la línea de proceso se contó con el apoyo de una empresa con experiencia en estos estudios y en sistemas de limpieza. En el estudio se utilizó dos equipos para determinar los puntos muertos, como: Cámara con fibra óptica y convencional (Figura 2) y un Flexómetro (Figura 3).

Figura 2. Cámara con fibra óptica y convencional



Figura 3. Flexómetro

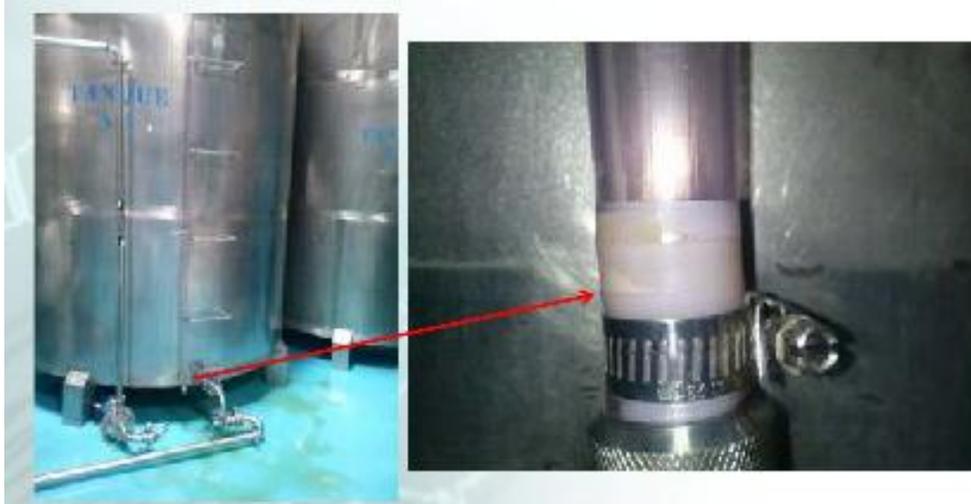


El procedimiento consiste en la inspección por videoscopía de los punto de soldadura, evaluación de posibles puntos muertos (geometría), evidencia de mangueras con acoples estriados.

Los punto muertos serán identificados bajo la condición del factor Largo/diámetro no puede ser mayor a 2 medida demanera axial o radial e inferior y de 1,5.

A continuación se detallan algunos hallazgos realizados durante la evaluación de la línea de envasado.

Figura 3: Visor en tanque de proceso



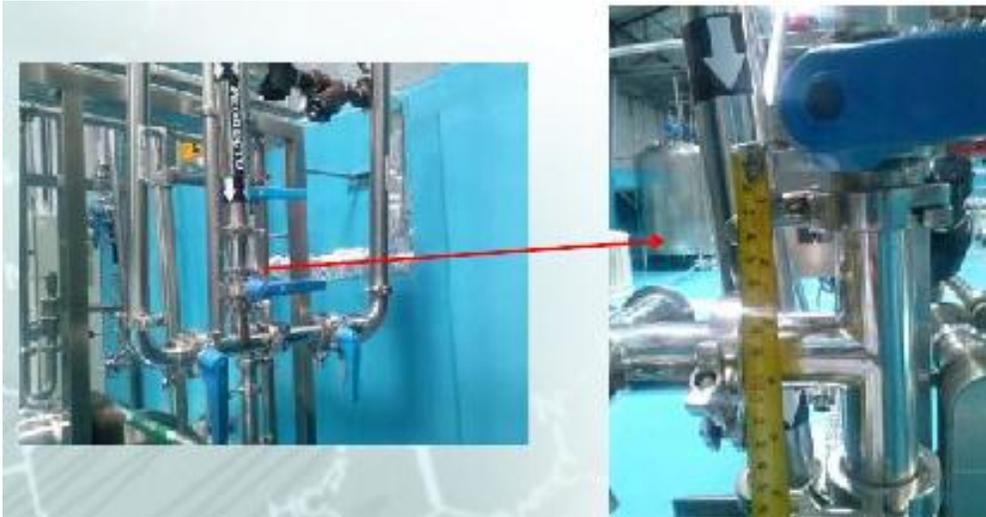
En la Figura 3, se puede observar una conexión no higiénica realizada en el visor del tanque de proceso, este tipo de uniones permite la acumulación de residuos propios del producto y por consiguiente el crecimiento de microorganismos deterioradores de la calidad.

Figura 4: Puntos de acumulación



En la Figura 4, se pueden observar dos puntos en los que se encontró residuo de producto (Refresco), que debido a la distribución de la tubería hace imposible que se logre vaciar todo el contenido de la tubería.

Figura 5: Medición para determinar si es punto muerto



En la Figura 5, se observa la medición realizada a las tuberías para determinar si es un punto muerto en donde exista acumulación de residuos de producto.

Figura 6: Visualización de punto de suelda



En la Figura 6, se puede observar un cordón de suelda irregular que se encuentra en una tubería de ingreso de producto, este tipo de soldadura permite que se dé la acumulación de residuos de producto (azúcares, proteína), provocando la formación de biofilm.

1.9 DESCRIPCIÓN Y EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE LIMPIEZA ANTERIOR (NO EFICIENTE)

En la empresa en la que se realizó el estudio se utilizaba un sistema de limpieza mixto debido a que no se cuenta con un equipo para CIP automático. Pero debido a los múltiples problemas suscitados con la contaminación de producto terminado se realizó un estudio de evaluación del sistema de limpieza que se utiliza para conocer el estado y si este es eficiente en el proceso asignado.

Para este proceso de limpieza se utilizó el siguiente método, el cual no cuenta con un sistema CIP automático:

- 1.9.1 Pre-Enjuague:** El objetivo es remover los residuos de producto que se quedan en la línea de envasado (tuberías), y llenadora luego del envasado de refrescos, esto se aplica también al inicio de la producción. Para esta actividad se utiliza agua tratada por ósmosis inversa a una temperatura entre 20 a 30° C, por la zona de ubicación de la fábrica de envasado, el tiempo que se circula agua es aproximadamente 5 minutos.
- 1.9.2 Limpieza alcalina:** El objetivo de este proceso es remover los residuos de mayor adherencia, se utiliza una solución alcalina clorada preparada a temperatura ambiente entre 20 y 30° C, la concentración utilizada es de acuerdo a la recomendación del proveedor.
- 1.9.3 Desinfección:** Este proceso tiene como objetivo eliminar la población microbiana a niveles aceptables o de acuerdo a las especificaciones de calidad e higiene establecidas por la empresa. El proceso de desinfección se aplica por 10 minutos y la solución es preparada a temperatura ambiente, para este proceso se utiliza un desinfectante a base de ácido per acético.
- 1.9.4 Enjuague Final:** Consiste en eliminar los residuos de desinfectante, para este punto es importante utilizar agua tratada y de buena calidad microbiológica.

1.10 REGISTRO DE ESTADO ACTUAL

Se valuó las condiciones del sistema de limpieza utilizado en los siguientes puntos:

1. Infraestructura del sistema de limpieza y equipos
2. Parámetros de operación considerando las 4T que se deben aplicar a todo sistema, Tiempo, Temperatura, Concentración, Caudal utilizado en el paso de las soluciones.
3. Tipos de residuo a eliminar
4. Soluciones de limpieza y concentraciones de estas.

1.10.1 Infraestructura del sistema de limpieza: La línea de envasado tiene una capacidad de 400botellas por minuto, el tipo de llenado es isobárico, no se cuenta con tanques para la preparación de soluciones, para estas actividades se utilizan los tanques para preparación de refrescos luego de que estos han sido limpiados bajo el mismo esquema que ya se describió.

Los tanques utilizados para la elaboración de productos no cuentan con bolas de limpieza, esta se la hace de forma manual.

1.10.2 Parámetros de operación:Las soluciones desinfectantes circulan por la línea de envasado utilizando la misma bomba que transporta el producto. En la evaluación realizada para identificarlos posibles puntos de contaminación se determina que el flujo dado por la bomba no cumplen con el valor establecido en la relación largo diámetro, otro punto importante que influye en los parámetros de operación es la concentración de las soluciones aplicadas las cuales son preparadas a temperatura ambiente. El sistema de limpieza enjuague y desinfección se aplica al inicio de la producción y en cambios de sabor, la cantidad de solución preparada está alrededor del 3000L y no se dispone de instalaciones de tubería que permitan recircular las sustancias de limpieza incumpliendo en su totalidad con las 4T (tiempo, temperatura, concentración y caudal), necesario para un CIP efectivo.No se tiene establecido un programa de desmontaje de tuberías y equipo de llenado (válvulas, tanque de llenadora, cambio de empaques de tuberías y tubos de llenado)

1.10.3 Tipos de residuo a eliminar:Se trata de residuos con composición de azúcares, aminoácidos, almidones que se depositan en las paredes de las tuberías y equipo de envasado.

1.10.4 Soluciones de limpieza y concentraciones:Al no tener considerado la correcta aplicación de caudal y equipos para la limpieza y desinfección las concentraciones aplicadas no resultan eficientes, además se debe tener en cuenta que las concentraciones no fueron validadas, se usa de acuerdo a las recomendaciones del proveedor.

Además de los parámetros descritos se tiene también como punto importante las condiciones ambientales, la planta de proceso tiene una altura de aproximadamente 10 metros lo que permita que se generen puntos de difícil acceso para limpieza y no se cuenta con un plan en el que se especifique la frecuencia para limpieza, junto a la planta se encuentra la bodega de abastecimiento lugar de tránsito de montacargas que funcionan a gas, el único lugar protegido es la llenadora pues cuenta con cabina en la que se trabaja con presión positiva.

Con todos los puntos que mencionamos y los resultados obtenidos en la identificación de microorganismo se plantean algunos puntos de mejora aplicables al procedimiento de limpieza especialmente.

1.11 REQUERIMIENTO DEL SISTEMA DE LIMPIEZA PROPUESTO

Una vez realizada la evaluación del método anterior de limpieza y desinfección, se determino que para lograr la mejora en el sistema de limpieza se deben realizar varias modificaciones al sistema abarcando equipos, formulación de detergentes y sanitizantes con su previa validación, reordenamiento de tuberías.

1.11.1 Equipos: Para el proceso de limpieza a desarrollar se requiere la instalación de tubería para recirculación de soluciones de limpieza, tanques que permitan la preparación y almacenamiento de las soluciones de limpieza, bomba que mantenga el caudal constante y la velocidad de flujo de 1.5 m/s, hasta el punto más lejano de la línea de proceso.

Sumado a estos requerimientos de equipos se plantea como frecuencia de lavado y desmontaje de tuberías, cambio de empaque, desmontaje de válvulas de llenado, en una frecuencia bimensual, esta operación consiste en la limpieza manual de los equipos usando las soluciones desinfectantes. Se plantea también la colocación de bolas de limpieza en los tanques utilizados para elaboración de productos.

1.11.2 Detergentes y sanitizantes

1.11.2.1 **Detergente:** Para el sistema de limpieza propuesto se utilizó el hidróxido de sodio, que es un detergente alcalino comúnmente utilizado en la limpieza de tuberías, su forma de presentación es en granos, escamas o de forma líquida. El hidróxido de sodio o Soda tiene su campo de acción sobre las proteínas haciendo que éstas se rompan y disuelvan, además saponifica la materia grasa cuando es aplicado a temperaturas altas. (Alzate, 2011).

Teniendo en consideración las composición del producto que es: 92.9% de agua, 7% de azúcares y 0.015% de proteína, el hidróxido de sodio es uno de los detergentes más eficientes en este tipo de industrias, en las que el objetivo es eliminar todo tipo de materia orgánica para evitar problemas de contaminación.

Para la preparación de la solución con Sosa al 2%, se realiza la dilución en agua con temperatura sobre los 80° C, esta solución es utilizada para limpiar los equipos de proceso, tanques de almacenamiento, línea de envasado.,

En esta etapa de aplicación del detergente se tiene como objetivo remover todos los microorganismos alojados en las superficies (tuberías, válvulas de llenado, tanque de envasadora), la solución debe recircular por la línea de envasado alrededor de 30 minutos, esta solución será recuperada y reactivada a la concentración establecida.

Para el control de la concentración de las soluciones utilizadas es necesaria una solución ácida que permita comprobar su concentración final para el paso a la limpieza.

Como procedimiento adicional una vez por semana se plantea el uso de ácido nítrico, este compuesto inorgánico tiene la particularidad de eliminar incrustaciones de calcio además de actuar como desinfectante. La concentración a utilizar es al 1%.

1.11.2.2 **Sanitizante:** Para este proceso se utiliza como sanitizante ácido peracético, Este sanitizante es una mezcla de ácido acético y peróxido de hidrógeno en solución acuosa. Es un líquido transparente sin capacidad espumante y con un fuerte olor característico a ácido acético.

La actividad desinfectante del ácido peracético radica en su capacidad oxidante sobre la membrana externa de las bacterias, endosporas y levaduras. El mecanismo de oxidación consiste en la transferencia de electrones de la forma oxidada del ácido a los microorganismos, provocando así su inactivación o incluso su muerte. Ejerce su actividad al descomponerse en ácido acético, peróxido de hidrógeno y oxígeno (productos no dañinos).

Es considerado un desinfectante de alto nivel. A bajas concentraciones (0.01-0.2%) posee una rápida acción biocida frente a todos los microorganismos.

Es activo frente a bacterias, hongos, levaduras, endosporas y virus. A concentraciones inferiores a 100 ppm inhibe y mata a bacterias Gram positivas, Gram negativas, micobacterias, hongos y levaduras en 5 minutos o menos. Algunos virus son inactivados por 12-30 ppm en 5 minutos, mientras que otros requieren 2000 ppm (0.2%) durante 10-30 minutos.

Es más activo sobre las esporas cuando se combina con peróxido de hidrógeno. Se ha demostrado que la combinación de 21 ppm de ácido peracético y 2813 ppm de peróxido de hidrógeno elimina todos los microorganismos de fibras porosas tras 2-3 horas de contacto.

La concentración a utilizar en nuestro sistema está alrededor de 100 a 200 ppm, el valor de pH requerido está entre 3 y 6, el uso de este compuesto es a temperatura ambiente, es biodegradable, soluble en agua y puede o no ser enjuagado.

En el anexo 1, se detalla le POES correspondiente a Superficies de limpieza.

1.12 ANÁLISIS DE COSTOS

El análisis de costos se basa en la comparación entre los métodos de limpieza, el aplicado durante el año 2013 y el que se propone para el 2014 con sus mejoras.

CAPITULO II

ANÁLISIS COMPARATIVO Y RESULTADOS

Este análisis se lo realizará entre los métodos de limpieza, el que se utilizaba en planta frente a l que se propone, para esto utilizamos como parámetros de control los resultados obtenidos en los análisis que se tienen para liberación de equipos de proceso y llenado luego de las limpiezas. También se evaluará el costo beneficio del uso del sistema de limpieza propuesto.

2.1 IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Para definir los puntos de muestreo se consideró ambientes y superficies a en donde una limpieza deficiente puede ocasionar la acumulación de microorganismos que van a afectar al producto terminado, el muestreo se lo realizó luego de las limpiezas realizadas para evaluar si están siendo efectivas para la eliminación de mohos y levaduras. El muestreo de los puntos descritos en el perfil microbiológico se lo realiza cada semana, luego de los sanitizados y el de producto terminado corresponde a cada lote de producción, de los puntos definidos se obtienen los siguientes resultados en la identificación.

Tabla 3: Resultados de identificación de microorganismos en puntos de muestreo de perfil microbiológico.

NO.	PUNTO DE MUESTREO	IDENTIFICACIÓN
1	Cerca de alimentación de botella	<i>Cándida famata</i>
2	Sobre llenadora	<i>Cándida pelliculosa, Cándida parapsilopsis</i>
3	Cerca de rinseadora	No reportado
4	Tapas	No reportado
5	Agua de enjuague de botellas	<i>Cándida parapsilopsis, Rhodotorulaglutinis</i>
6	Almacenamiento de agua para mezcla	<i>Rhodotorula mucilaginoso, Penicillumglabrum</i>
7	Botella enjuagada con agua de la rinseadora	<i>Cándida parapsilopsis, Cryptococcus laurentii</i>
8	Empaque de tuberías	No reportado
9	Interior de tanque de	<i>Cándida parapsilopsis, Cryptococcusterreus;</i>

	preparación	<i>Stephanoascusiferrii</i>
10	Válvulas de llenado	<i>Candidaparapsilopsis</i>
11	Agua de enjuague	<i>Candidaparapsilopsis</i> , <i>Candidafamata</i> , <i>Candidaboidinii</i> , <i>Rodhotorula mucilaginoso</i> , <i>Cryptococcusalbidus</i> , <i>Candidaguillermundii</i> , <i>Stephanoascusiferrii</i> , <i>Trichosporonmucooides</i> , <i>Stphanoascusiferrii</i> , <i>Clodosporium Sphaerospermun</i> , <i>Cryptococcus Laurentii</i> , <i>Cryptococcus Albidus</i>
12	Ambiente área de preparación	No reportado.
13	Botella antes de Rinseado	<i>Candidaparapsiopsis</i> , <i>Cryptococcuslaurentii</i>

2.1.1 Características de microorganismos

Zygosaccharomyces bailii: Osmotolerantes, resistente a la carbonatación moderada, resistente al frío, no tolera temperaturas sobre los 40 ° C, es sensible a la irradiación como tratamiento de conservación. Es altamente fermentativa. No es capaz de fermentar sacarosa ni puede emplear los ácidos benzoico y sórbico como fuente de carbono, aunque suele crecer en concentraciones de hasta 700 mg/l de ácido sórbico o 1200 mg/l de ácido benzoico. Parte de las levaduras 'killer' secretan polipéptidos tóxicos para otras especies de levaduras del mismo género, que además suelen inhibir a otros organismos.

Resiste a pH entre 2.2 a 3.0, su fuente de energía es la fructosa, su fuente de nitrógeno son los aminoácidos y requieren de Vitamina B para su desarrollo. Se da su presencia en superficies con procesos de limpieza deficientes.

Cándida boidinii: Forman una película llamada biofilm, crecen en metanol, y fermentan bebidas o refrescos. Parte de las levaduras 'killer' secretan polipéptidos tóxicos para especies de levaduras del mismo género, que además suelen inhibir a otros organismos.

Cándida pelliculosa: Parte de las levaduras 'killer' secretan polipéptidos tóxicos para otras especies de levaduras del mismo género, que además suelen inhibir a otros organismos.

Cándida famata: Tolerante a la sal, parte de las levaduras 'killer' secretan polipéptidos tóxicos para otras especies de levaduras del mismo género, que además suelen inhibir a otros organismos. Se encuentra en el aire, suelo, plantas y es considerada como patógeno poco común.

Candida parapsilopsis: Poco fermentativa, tolerante a la sal, resistente a la presencia de agentes quelantes, sensible al calor. No forma biofilm. Poco fermentativa. Parte de las levaduras 'killer' secretan polipéptidos tóxicos para otras especies de levaduras del mismo género.

Cryptococcus laurenti: Es un identificador de higienes, no produce spoilage. Parte de las levaduras 'killer' secretan polipéptidos tóxicos para otras especies de levaduras del mismogénero, que además suelen inhibir a otros organismos.

Cryptococcus terreus: Parte de las levaduras 'killer' secretan polipéptidos tóxicos para otras especies de levaduras del mismo género, que además suelen inhibir a otros organismos.

Rhodotorula glutinis: No fermentativa, es un indicador de higiene.

Penicillun glabrum: Moho aislado de bebidas con bajo contenido de gas.

2.2 COMPARATIVO DE SISTEMAS DE LIMPIEZA

Los parámetros que se tomarán en cuenta para evaluar la calidad y eficiencia de los sistemas de limpieza son los siguientes:

1. Físico Químicos
2. Microbiológicos
3. Organolépticos

Tabla 4: Resultado promedio de los 2 métodos de limpieza, No eficiente y propuesto.

NO.	PUNTO DE MUESTREO	PROMEDIO 2013	PROMEDIO 2014	LÍMITES
1	Cerca de alimentación de botella	MNPC	14 UFC	<100 UFC
2	Sobre llenadora	MNPC	<1	AUSENCIA
3	Cerca de rinseadora	30UFC	<1	Ausencia
4	Tapas	-	6UFC	Max 50 UFC/100mL
5	Agua de enjuague de botellas	20 UFC	<1	Ausencia
6	Almacenamiento de agua para mezcla	2UFC	<1	Ausencia
7	Empaque de tuberías	<1	<1	Ausencia
8	Interior de tanque de preparación	5 UFC	<1	Ausencia
9	Válvulas de llenado	4 UFC	<1	Ausencia
10	Agua de enjuague	50 UFC	<1	Ausencia

11	Ambiente área de preparación	MNPC	13 UFC	< 100UFC/100mL
12	Botella antes de Rinseado	8 UFC	4 UFC	Max 50 UFC/100mL

MNPC: Muy Numeroso para contar

UFC: Unidad Formadora de Colonia

La tabla 4 muestra los resultados generales que se obtuvieron en el perfil microbiológico durante el año 2013 que se utilizaba la limpieza no eficiente, además no se tenían las condiciones para cumplir con las 4T especificadas en el capítulo anterior frente a los resultados que se obtienen al aplicar el método de limpieza mejoras y los cambios que se generan durante este 2014 en la línea de proceso.

Tabla 5: Resultados de mohos y levaduras en el sistema de limpieza no eficiente.

MONITOREO DE MOHOS Y LEVADURAS UFC/100MI						
LUGAR DE MUESTREO	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4	PROMEDIO	SATISFACCION
Agua de enjuague de botella	13	32	15	19	20 UFC	80%
Almacenamiento de agua para mezcla	4	2	<1	3	2UFC	98%
Empaque de tubería	<1	<1	<1	<1	<1	100%
Interior tanque de preparación	<1	<1	<1	20	5 UFC	95%
Válvulas de llenado	1	1	15	1	4 UFC	96%
Agua de enjuague	46	59	65	30	50 UFC	50%

La tabla 5 muestra los resultados obtenidos durante 4 semanas de monitoreo en la que se aplicaba el método de limpieza que no considera las 4T, que son necesarias para una CIP efectivo.

Para el cálculo de satisfacción de los resultados se realiza el siguiente cálculo:

Agua de enjuague de botella, Resultado promedio 20 UFC

Se califica como 100% el caso de efectividad <1 UFC = 100

Resultado: $100 - 20 = 80$ que equivale a 80% de satisfacción en el punto analizado.

TABLA 6: Resultado de mohos y levaduras en sistema de limpieza propuesto.

MONITOREO DE MOHOS Y LEVADURAS UFC/100mL						
LUGAR DE MUESTREO	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4	PROMEDIO	SATISFACCION
Agua de enjuague de botella	1	<1	<1	<1	<1	100%
Almacenamiento de agua para mezcla	<1	<1	<1	<1	<1	100%
Empaque de tubería	<1	<1	<1	<1	<1	100%
Interior tanque de preparación	<1	<1	<1	<1	<1	100%
Válvulas de llenado	<1	<1	<1	<1	<1	100%
Agua de enjuague	<1	1	<1	<1	<1	100%

En las tablas 5 y 6 se puede observar la diferencia de resultados obtenidos en la aplicación de los dos sistemas de limpieza, que se describieron en el capítulo anterior, se califica cada punto con el porcentaje de 100% cuando está cumpliendo con el límite establecido.

Como complemento a los cambios propuestos en el sistema de limpieza se generan cambios en los equipos, instalaciones (tuberías) que no tenían un acabado higiénico y que contribuían a la formación de biofilm dando como resultados producto final con contaminación. Los cambios generados y resultados del análisis de las instalaciones se detallan a continuación.

2.2.1 Agua de enjuague de botella

Se implementó el período de frecuencia para el cambio de mangueras que transportan el agua para rinseado, el tiempo de cambio que se determina según revisiones visuales realizadas cada semana determina el tiempo de 6 meses.

Para esto se tomó como muestra 10 mangueras que fueron monitoreadas desde diciembre 2013 hasta mayo 2014, a más de la inspección visual se realizan controles de ATP, se tiene como límite máximo de aceptación 35 URL, para determinar que el valor de URL mencionado es adecuado para liberación se contrastó con ensayos microbiológicos en los que se tuvieron

resultados en mohos y levaduras <1 UFC con lecturas inferiores a 35 URL., en caso de tener lecturas sobre este valor se debe proceder a la limpieza o cambio inmediato.

Tabla 7: Resultados obtenidos en el análisis para determinar tiempo de cambios de mangueras de rinseado.

Nro. Manguera	Promedio Diciembre 2013		Promedio Enero2014		Promedio Febrero 2014		Promedio Marzo 2014		Promedio Abril 2014		Promedio Mayo 2014	
	VISUAL	ATP	VISUAL	ATP	VISUAL	ATP	VISUAL	ATP	VISUAL	ATP	VISUAL	ATP
1	OK	3	OK	2	OK	10	OK	13	OK	20	-	34
2	OK	1	OK	2	OK	8	OK	20	OK	29	OK	29
3	OK	0	OK	0	OK	2	OK	18	OK	18	-	30
4	OK	4	OK	0	OK	13	OK	15	OK	20	-	36
5	OK	0	OK	0	OK	6	OK	18	OK	26	-	40
6	OK	0	OK	0	OK	2	OK	9	OK	16	OK	35
7	OK	1	OK	0	OK	8	OK	14	OK	15	-	34
8	OK	1	OK	0	OK	14	OK	20	OK	20	-	33
9	OK	2	OK	3	OK	7	OK	9	OK	17	OK	37
10	OK	0	OK	1	OK	5	OK	14	OK	26	-	32

De las mangueras distribuidoras de agua de rinseado se determina que el 70% de las muestras al sexto mes tiene valores fuera o que están cercanos al límite establecido en los parámetros determinados para inspección que es 35 URL, con estos datos obtenidos se determina que la frecuencia de cambio debe ser cada 6 meses.

2.2.2 Almacenamiento de agua para mezcla

Posterior al tratamiento por medio de ósmosis inversa, en el agua que se almacenará para la preparación de bebidas se coloca ozono O₃, que es un gas inerte que tiene el poder de ser un desinfectante 3000 veces superior y más rápido que el cloro, es natural y no deja residuos tóxicos, además es efectivo contra gérmenes, virus, bacterias, hongos, etc. Este sistema de ozonización influye en el siguiente punto de muestreo que es la botella enjuagada, el agua que se almacena para producción es la misma agua que se utiliza para los diferentes procesos de limpieza de equipos como de material en contacto directo con el producto.

2.2.3 Interior tanque de preparación

Los tanques utilizados para la elaboración de refrescos tienen una capacidad de 25000 L, son elaborados de acero inoxidable, pero no disponen de bolas de limpieza, accesorio requerido para que el proceso de limpieza sea eficiente. Con este antecedente se instalan en los

tanquede mezcla bolas de limpieza que permiten mejorar el proceso de limpieza. Estos accesorios para los tanques de proceso fueron calculados en base a la capacidad, altura y diámetro de los equipos que se disponen en el área de proceso.

Tabla 8: Resultados obtenidos en la limpieza de tanques con la instalación de Bolas de limpieza.

MONITOREO DE MOHOS Y LEVADURAS UFC/100ml							
LUGAR DE MUESTREO	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4	PROMEDIO	SATISFACCIÓN	
Interior tanque de preparación	<1	<1	<1	<1	<1	100%	

2.2.4 Válvulas de llenado

En el sistema propuesto aplica el detergente a temperaturas sobre los 70° C, se realiza el cambio de empaques los mismos que son elaborados de materiales que resistan altas temperaturas, sumado a esto se determina por medio del monitoreo semanal, la frecuencia con la que deben ser desmontadas las válvulas de llenado para realizar la limpieza manual, cambio de empaque y accesorios que permitan un llenado eficiente.

Para esto se realiza un muestreo semanal de 5 válvulas de llenado, las cuales son desmontadas del equipo luego de la limpieza y previo la acción del sanitizante para verificación visual de presencia de partículas que no puedan se eliminadas por la acción de NaOH al 2%. Se obtienen los resultados descritos en la tabla adjunta.

Tabla 9: Resultados de control microbiológico de válvulas de llenado.

INSPECCION VISUAL	NÚMERO DE VÁLVULAS - ANÁLISIS DE MOHOS Y LEVADURAS POR ISOPADO																																																								
	SEMANA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40																
1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1																																															
2												<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1																																				
3																							<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1																					
4																																												<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1				
5	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1																																														
6												<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1																																				
7																								<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1																		
8																																																<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1

De los resultados que se detalla en la tabla 8, se puede observar que la limpieza es eficiente y que no existe acumulación de materia orgánica producto de la naturaleza de producto, sin embargo existe deterioro de los empaques por las altas temperatura a las que se expone la línea en el momento del sanitizado Fotografía 1 y 2.

Figura 7: Tazón de llenado y válvulas



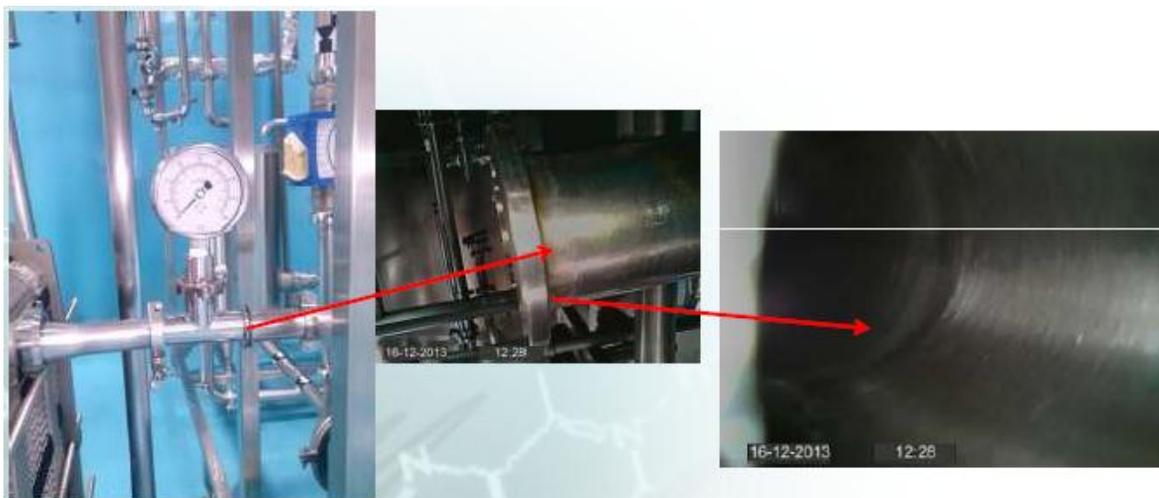
Figura 8: Válvula de llenado, empaques deteriorados



2.2.5 Tuberías de transporte de producto

Teniendo en cuenta el concepto de diseño higiénico que determina que los equipos e instalaciones que intervienen en los procesos de elaboración de alimentos y bebidas deben ser accesibles, desmontables y de fácil limpieza, se realizan correcciones a las soldaduras de las tuberías que como se pudo observar en el capítulo anterior no cumplen las especificaciones de ser lisas. Se corrigen aproximadamente 150 cordones de suelda soldaduras desde el área de proceso hasta la llenadora.

Figura 9: Corrección de cordón de suelda.



Se instala la tubería de retorno desde la llenadora hacia el área de proceso, para completar el circuito, se instala tubería de 1 ½". Ver Anexo 2. Instalaciones.

2.3 TRATAMIENTO TÉRMICO EN PRODUCTO TERMINADO

Con el objetivo de preservar el producto final, mediante una adecuada relación entre tiempo y temperatura, se implementa el proceso de pasteurización de producto terminado previo al envasado.

En las bebidas con pH <4,5, la pasteurización tiene como objetivo la inactivación de microorganismos relativamente termosensible como bacterias no esporuladas, levaduras y mohos. En la tabla 10 se detallan los tipos de alimentos y el resultado que obtiene al someterlo a procesos de pasteurización.

Tabla 10. Objetivos de la pasteurización de diversos alimentos (Fellows, 1996)

Objetivos de la Pasteurización de Diversos Alimentos			
Alimento	Objetivo Principal	Objetivo Secundario	Condiciones mínimas de tratamiento
Refrescos y zumos de fruta pH <4.5	Inactivación enzimática	Dstrucción de gérmenes causantes de alteraciones (Levaduras y Hongos)	65 °C por 30 min 77°C por 01 min 88°C por 15 seg
Cerveza	Dstrucción de microorganismos causantes de alteraciones (<i>Levaduras</i> , <i>Lactobacillus</i>)	—	65 - 68 °C por 20 min en botella 72 - 75°C por 1 a 4 min a 900Kpa

Leche pH >4.5	Dstrucción de gérmenes patógenos <i>M. tuberculosis</i>	Dstrucción de enzimas y gérmenes causantes de alteraciones	63 °C por 30 min 72°C por 15 seg
------------------	--	--	-------------------------------------

Con referencia a los datos de la Tabla 10, la temperatura aplicada para la pasteurización es de 90° C con un tiempo de retención de 15 segundos.

Con la aplicación de esta medida preventiva se tiene resultados aislados de presencia de mohos y levaduras, los resultados positivos obtenidos no sobrepasan del 5 UFC/100ml en lo que va del 2014. Según la normativa ecuatoriana INEN 2304, Refrescos. Requisitos, los límites establecido para el parámetro Recuento de mohos y levaduras plantea como nivel de aceptación 5×10^1 UPC/cm³.

La empresa en la que se realiza el estudio propone valores más estrictos basados en la experiencia de los dos casos de contaminación y retiro de producto en los que las liberaciones de producto se realizaron con parámetros establecidos en la norma INEN (Anexo 3), los rangos definidos para liberar producto terminado según norma interna es máximo 5 UFC/100 ml de Mohos y Levaduras, de una muestra de 10 botellas de producto terminado.

Tabla 11: Resultados promedio obtenidos durante el 2014 aplicando tratamiento térmico UFC/100ml

PRODUCTO	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	PROMEDIO
Refresco sabor a limón	1	0	1	0	0	0,4
Refresco sabor a manzana	0	0	1	0	0	0,2
Refresco sabor a mora	2	0	1	0	0	0,6
Refresco sabor a naranja	0	0	0	0	0	0

La tabla 11 muestra los resultados promedio obtenidos durante las producciones de año 2014, considerando todas las mejoras propuestas.

2.4 VALIDACIÓN DE CONCENTRACION DE SANITIZANTE

Se realiza la validación de sanitizante en los puntos más importantes del perfil microbiológico y en los que el resultado de presencia de microorganismos debe ser Ausencia.

- Para este proceso de validación se aisló los microorganismos que se encontraron en los diferentes puntos de muestreo.
- Se utiliza el sanitizante en 3 diferentes concentraciones y durante el tiempo de contacto sugerido por el proveedor, 10 minutos.
- Se parte con una concentración de microorganismo que aproximadamente va de 10^7 a 10^8 de carga inicial. Los microorganismos a eliminar son mohos y levaduras.
- Es sanitizante evaluado es el ácido per acético.

A continuación se detallan los resultados obtenidos en los puntos evaluados.

Tabla 12: Detalle de validación de sanitizante a diferentes concentraciones

MOHOS Y LEVADURAS UFC/mL			
Tiempo de exposición: 10 minutos			
PUNTO DE MUESTREO	50 PPM	100 PPM Dosis sugerida	200 PPM
Agua de enjuague de botella	120	Ausencia	Ausencia
Almacenamiento de agua para mezcla	25	Ausencia	Ausencia
Empaque de tubería	76	Ausencia	Ausencia
Interior tanque de preparación	200	10 UFC	Ausencia
Válvulas de llenado	54	Ausencia	Ausencia
Agua de enjuague	89	Ausencia	Ausencia

Tabla 13 Detalle de validación de dosis de choque aplicada cada 2 meses en línea de envasado

MOHOS Y LEVADURAS UFC/mL			
Tiempo de exposición: 10 minutos			
Concentración: 4%			
PUNTO DE MUESTREO	Enero	Marzo	Junio
Agua de enjuague	Ausencia	Ausencia	Ausencia

En la tabla 12 se detallan los resultados que se obtienen cuando se aplica las dosis de choque que consiste en una solución de ácido peracético al 4%, esta solución circula por el lugar de proceso y se lo realiza cada dos meses o en caso de desviaciones microbiológicas.

2.5 EVALUACIÓN COMPARATIVA DE COSTOS DE LIMPIEZA ANTERIOR Y ACTUAL

AGUA (L)	LIMPIEZA NO EFICIENTE			LIMPIEZA MEJORADA		
	CANTIDAD	COSTO UNIT. (\$)	COSTO TOTAL (\$)	CANTIDAD	COSTO UNIT. (\$)	COSTO TOTAL (\$)
Enjuague inicial	3000	0,02	60,00	3000	0,02	60,00
Detergente	2000	0,02	40,00	2000	0,02	40,00
Enjuague detergente	1000	0,02	20,00	1000	0,02	20,00
Ácido nítrico	0	0,02	0,00	2000	0,02	40,00
Enjuague ácido	0	0,02	0,00	1000	0,02	20,00
Sanitizante	2000	0,02	40,00	2000	0,02	40,00
Enjuague final	3000	0,02	60,00	2500	0,02	50,00
Enjuague para arranque	2000	0,02	40,00	2000	0,02	40,00
Costo Total			260,00			310,00
DETERGENTE (Kg)	LIMPIEZA NO EFICIENTE			LIMPIEZA MEJORADA		
	CANTIDAD	COSTO UNIT. (\$)	COSTO TOTAL (\$)	CANTIDAD	COSTO UNIT. (\$)	COSTO TOTAL (\$)
Sosa	0	0	0	40,82	0,66	26,94
Detergente clorado	20	3,08	61,54	0	0	0,00
Detergente ácido	0	0,00	0,00	29,411	0,76	22,35
Costo Total			61,536			49,29
Ahorro						-12,24
DESINFECTANTE (Kg)	LIMPIEZA NO EFICIENTE			LIMPIEZA MEJORADA		
	CANTIDAD	COSTO UNIT. (\$)	COSTO TOTAL (\$)	CANTIDAD	COSTO UNIT. (\$)	COSTO TOTAL (\$)
Peracetico	10	7,18	71,8	10	7,18	71,8
Esterilización agua (L)	0	0	0	3000	0,02	60
Costo Total			71,8			131,80
COSTO TOTAL DE LIMPIEZA	LIMPIEZA NO EFICIENTE			LIMPIEZA MEJORADA		
Costo semanal (\$) x 2			786,67			982,19
Costo mensual (\$) X 4			3146,69			3928,75
Costo Anual (\$) x 12			37760,26			47144,98

Tabla 14: Comparativo de costos de limpieza

Los costos que se presenta en el tabla 14 hacen referencia a un sistema de limpieza semiautomático en el que el control de agua y soluciones de limpieza se resulta dificultoso

debido a que se realizan adaptaciones para simular un proceso automático de CIP, en el proceso con el que se realiza la limpieza no cuentan con todos los equipos que permiten la recuperación de sustancias de limpieza, aguas de enjuague lo que significarían ahorro de energía y tiempo.

Si bien se puede observar que el costo de la limpieza Mejorada resulta más costoso que el que se aplicaba durante el año 2013 que consistía en un proceso no eficiente, en el que se presentaron dos casos de contaminación de producto,

En un análisis que se presentará a continuación Tabla 15, evaluaremos el costo que implica un retiro de producto, además de las pérdidas ocasionadas por el no vender producto; existen costos que están ocultos pero generan gasto a la empresa.

CASO 1 DICIEMBRE 12 - ENERO 13				
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO (\$)	PRECIO TOTAL (\$)
Costo por deficiente proceso de limpieza	Botellas	1464000	0,75	1098000,00
Costos de retiro de producto	Días	5	2,38	950,00
Costo de hora adicionales de personal para desechar producto defectuoso	Días	20	2,38	7125,00
Costo de inspección de entidades externas	Horas	4	-	740,00
Costo de mantener la planta sin producción por 7 días	Personas	57	150,00	8550,00
Costo de imagen de producto	-			
COSTO TOTAL				1115365,00
CASO 2 OCTUBRE 13				
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO (\$)	PRECIO TOTAL (\$)
Costo por deficiente proceso de limpieza	Botellas	720000	0,50	360000,00
Costos de retiro de producto	Días	3	2,38	570,00
Costo de hora adicionales de personal para desechar producto defectuoso	Días	15	2,38	5343,75
Costo de inspección de entidades externas	Horas	4	-	740,00
Costo de mantener la planta sin producción por 5 días	Personas	57	150,00	6000,00

Costo de imagen de producto	-		
COSTO TOTAL			372653,75
COSTO TOTAL CASO 1 + CASO 2			1488018,75

Tabla 15: Costo de casos de contaminación de producto

CAPÍTULO III

DISCUSIÓN

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE VALIDACIÓN

Analizando los resultados obtenidos en la validación de microorganismos se puede determinar lo siguiente:

- En la prueba utilizando a concentración de 50% de lo sugerido por el proveedor que equivale a 100ppm, no se logra lo deseado que es eliminar el 100% de microorganismos con un resultado de ausencia. A pesar que el proveedor sugiere que se pueden aplicar concentraciones por debajo de 0.5%.
- La concentración validada durante el proceso y que cumple con los límites establecidos de ausencia en la mayoría de puntos de muestreo es la recomendada por el proveedor que consiste en aplicar 05% de Ácido per acético y equivale a 200ppm.
- La tercera concentración de sanitizante que corresponde al 200% de lo recomendado por el proveedor (400 ppm de ácido per acético) es muy eficiente pero incrementa el costo del sanetizado que es aplicado cada 48 horas en cada de producciones sin cambio de sabor o se la debe aplicar luego de cada cambio o al inicio de semana. El punto en el que se aplica esta concentración corresponde al lavado de tanques del área de proceso en el que la concentración recomendada por el proveedor no es eficiente.

ANÁLISIS DE MÉTODOS DE LIMPIEZA

Método de limpieza anterior

- Los análisis microbiológicos obtenidos durante el año 2013 en el que se presentaron dos casos de contaminación masiva con levaduras y se recurrió al retiro de aproximadamente 61000 cajas de producto en el primer caso (diciembre 2012 – enero 2013) y de 30000 cajas de producto en el segundo caso de octubre 2013, demuestran la deficiencia del sistema de limpieza que no cumplía con los requisitos básicos de Tiempo, temperatura, concentración de soluciones, y una parte importante como es la turbulencia.
- Los datos obtenidos en el análisis realizado por la empresa externa sobre puntos muertos detalla la deficiencia en la instalación de tuberías, en puntos como cordones de suelda que se observan en las fotografías del capítulo 1.

- En el método de limpieza anterior no se logra eliminar todos los residuos que deja el producto como es azúcar y gomas debido a que no cumple con requisito de Turbulencia.

Método de limpieza actual

- Al aplicar nuevas soluciones de limpieza como Hidróxido de sodio, ácido nítrico y evaluar la concentración efectiva de sanitizante se tiene una mejora considerable en los resultados obtenidos en el perfil microbiológico, sumado a estos cambios la mejora de varios aspectos como corrección de tuberías, instalación de tubería de retorno para realizar re-circulado de soluciones de limpieza, implementación de frecuencias de limpieza manual con desmontaje en períodos más cortos permite que se tenga mayor control en la proliferación de microorganismos causantes del deterioro de las bebidas.
- Con el método de limpieza actual se propone también nuevas frecuencias de limpieza y sanitizado que se aplican cada 48 horas en el caso de que se tengan producciones de un solo sabor durante la semana, en caso de que se tengan varios sabores y no se cumplan las 48 horas en el cambio se realizan de igual forma limpiezas y sanitizados siguiendo el mismo esquema. Al finaliza la semana se realizan limpieza con ácido nítrico.

ANÁLISIS COSTO BENEFICIO

- Es evidente que con el método de limpieza propuesto se han incrementado los costos de producción, debido a que se ha incrementado 2 horas más para la limpieza de tuberías desde el área de proceso hasta la llenadora, con el sistema de limpieza anterior se utilizaban 2 horas para completar con el proceso.
- Se incrementa consumos por la frecuencia de uso de NaOH, Ácido nítrico, ácido peracético.
- A más de los costos incrementados en la limpieza para líneas de envasado, se realizan procesos específicos en el área de mezcla como son limpiezas especializadas de tanques, filtros utilizando sustancias que permitan la limpieza del área externa de equipos además de instalaciones como paredes y pisos.

CONCLUSIONES

- Se realiza la evaluación de los métodos y procesos utilizados para la elaboración de refrescos y del método de limpieza utilizado.
- A través de análisis de producto desviado se han identificado levaduras causantes de la fermentación como *Cándida boidinii*, *Cándida magnoliae* y *Cándida colliculosa*, las cuales según la literatura provienen de ambientes con limpiezas ineficientes. También se detecta *Zygosaccharomyces bailii*, levadura intolerante a temperaturas sobre los 40°C pero extremadamente resistente a preservantes.
- Con los resultados microbiológicos obtenido durante el 2014 se evidencia el control de la presencia de mohos y levaduras.
- El sistema de limpieza propuesto presenta mayores costos debido a que se incrementa el consumo de varias sustancias que se describen en capítulos anteriores, además del incremento del consumo de agua por lo enjuagues realizados, este incremento se vuelve irrelevante frente a la fuerte pérdida que tuvo la empresa durante el año 2013 por la contaminaciones de producto que fueron aproximadamente de 1'478.000,00 dólares, a lo que se debería sumar costos no visibles como el gasto generado por retiro de producto, la imagen de la marca debido a la contaminación que se presentó, la paralización de la planta procesadora por el tiempo aproximado de 3 semanas debido a limpiezas y planificación de reordenamiento.
- Se logra validar las concentraciones de sanitizante que deben ser utilizados en cada área de limpieza, que son de 0,5% y 1% para tanques y equipos de proceso.
- Se definen las frecuencias de limpieza manual y desmontaje de equipo que se deben realizar con evaluaciones durante períodos reales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Wildbrett Gerhard, 2000. Limpieza y desinfección en la industria alimentaria. EditorialAcribia, S.A. Zaragoza, España.
- EHEDG, Criterios para el diseño higiénico de equipos, Editorial Ainia Segunda edición 2004, Valencia, España.
- Casa Alcantarilla Esperanza, 1999. Microorganismos responsables de alteraciones en alimentos altamente azucarados, Universidad Complutense de Madrid, Facultad Ciencias biológicas, Departamento de Microbiología, España.
- DeakTibor – Beuchat Larry, Handbook of Food Spoilage Yeast, Contemporary Food, Science CRC Press, Second Edition.
- QuerolAmparo, Fleet Graham, 2006. Yeas in food and Beverages, Springer, Germany.
- Y Sakai, P A Marshall, A Saiganji, K Takabe, H Saiki, N Kato and J M Goodman, 1995. The Candida boidinii peroxisomal membrane protein Pmp30 has a role in peroxisomal proliferation and is functionally homologous to Pmp27 from Saccharomyces cerevisiae, Journal of Bacteriology.
- Ancasis E. G., Carillo L, BenitezAhrendts R, 2006. Mohos y levaduras en agua envasada y bebidas sin alcohol, Revista Argentina de Microbiología. Argentina.
- Alzate Tamayo Luz María, 2011, Limpieza y desinfección en la Industria de alimentos.
- MartorellGuerola Patricia, 2006. Desarrollo y aplicación de sistemas rápidos para la detección, identificación y caracterización de levaduras alterantes de alimentos. Universidad de Valencia.

ANEXOS

1. POES, Superficies de contacto.
2. Diagrama de reordenamiento de tuberías
3. Norma INEN 2304. Refrescos. Requisitos

INDICE DE TABLAS

1. Tabla 1.- Hongos y levaduras causantes del deterioro de refrescos y zumos de frutas
2. Tabla 2: de Puntos de muestreo aplicada al proceso
3. Tabla 3: Resultados de identificación de microorganismos en puntos de muestreo de perfil microbiológico
4. Tabla 4: Resultado promedio de los 2 métodos de limpieza, No eficiente y propuesto.
5. Tabla 5: Resultados de mohos y levaduras en el sistema de limpieza no eficiente.
6. Tabla 6: Resultado de mohos y levaduras en sistema de limpieza propuesto.
7. Tabla 7: Resultados obtenidos en el análisis para determinar tiempo de cambios de mangueras de rinseado.
8. Tabla 8: Resultados obtenidos en la limpieza de tanques con la instalación de Bolas de limpieza.
9. Tabla 9: Resultados de control microbiológico de válvulas de llenado.
10. Tabla 10. Objetivos de la pasteurización de diversos alimentos
11. Tabla 11: Resultados promedio obtenidos durante el 2014 aplicando tratamiento térmico UFC/100ml
12. Tabla 12: Detalle de validación de sanitizante a diferentes concentraciones
13. Tabla 13 Detalle de validación de dosis de choque aplicada cada 2 meses en línea de envasado
14. Tabla 14: Comparativo de costos de limpieza
15. Tabla 15: Costo de casos de contaminación de producto

INDICE DE FIGURAS

1. Figura 1. Diagrama de elaboración de Bebidas RTD
2. Figura 2 Cámara con fibra óptica y convencional
3. Figura 3. Flexómetro
4. Figura 4. Puntos de acumulación
5. Figura 5. Medición para determinar si es punto muerto
6. Figura 6. Visualización de punto de suelda.
7. Figura 7. Tazón de llenado y válvulas
8. Figura 8. Válvula de llenado, empaques deteriorados.
9. Figura 9. Corrección de cordón de suelda.