



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA  
AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: EFECTO DE LA IRRADIACIÓN ULTRAVIOLETA (UV-C),  
SOBRE LA CALIDAD E INOCUIDAD DE LA LECHE EN LA  
HACIENDA “EL PRADO”**

**AUTOR: GIRALDO MORALES, HERNÁN DARÍO**

**DIRECTOR: VARGAS ARBOLEDA, MARTHA CECILIA**

**SANGOLQUÍ**

**2018**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación, ***“EFECTO DE LA IRRADIACIÓN ULTRAVIOLETA (UV-C), SOBRE LA CALIDAD E INOCUIDAD DE LA LECHE EN LA HACIENDA “EL PRADO”*** realizado por el señor ***Giraldo Morales Hernán Darío***, ha sido revisado en su totalidad por el software anti-plagio, el mismo cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por lo tanto me permito acreditarlo y autorizar a el señor ***Giraldo Morales Hernán Darío*** para que lo sustente públicamente.

**Sangolquí, 16 de marzo del 2018**

**Ing. Martha C. Vargas Arboleda, Mgs.**

**C.C 1802119634**

**DIRECTORA**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

### **AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD**

Yo, *Giraldo Morales Hernán Darío*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *Efecto de la irradiación ultravioleta (UV-C), sobre la calidad e inocuidad de la leche en la Hacienda "El Prado"* es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consécutamente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

**Sangolquí, 16 de marzo del 2018**

**Giraldo Morales Hernán Darío**

**C.C. 1713794228**

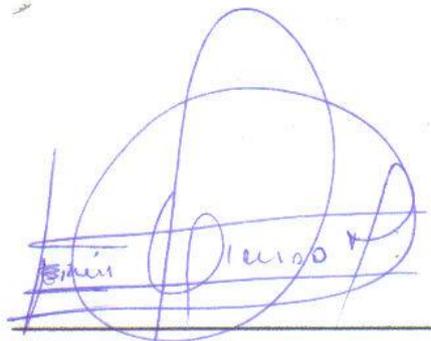


**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**AUTORIZACIÓN**

*Yo, **Giraldo Morales Hernán Darío**, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **Efecto de la irradiación ultravioleta (UV-C), sobre la calidad e inocuidad de la leche en la Hacienda “El Prado”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.*

**Sangolquí, 16 de marzo del 2018**



**Giraldo Morales Hernán Darío**

**C.C. 1713794228**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo, que ha estado lleno de retos y desafíos se lo dedico a mis padres, que me han enseñado que siempre hay algo más porque luchar y algo mejor porque vivir.

Hernán Giraldo M.

## AGRADECIMIENTO

En este mundo, considero que de forma directa o indirecta las personas siempre aportan en el desarrollo personal, porque el caerte te hace levantar, el hundirte te hace resurgir y todos los golpes que vienen en la vida te hacen ser más humano. Agradezco a quienes han sido parte de mi desarrollo.

A la Virgen Dolorosa, la madre que siempre me cuida, mis padres y su amor incondicional; mi madre que con su noble corazón y su alma aguerrida al servicio y bienestar de su familia es la luz en mi oscuridad, mi padre un roble que no sabe lo que es renunciar realza lo mejor de mi interior. Mis hermanas, las rieles en mi loco andar y por último agradezco a todas las personas que aún no logro entender cómo han podido siempre creer.

Agradezco al IASA, que ha sido más que un hogar, a la Ing. Martha Vargas por su confianza, su apoyo y su ayuda en el trayecto de esta tesis, al Ing. Diego Vela por su confianza y constante aporte, al Dr. Jorge Ron por su desinteresado interés al crecimiento de los estudiantes.

Agradezco a la empresa Inventagri y al Ing. Pedro Sais por su colaboración y el tiempo dedicado a este proyecto.

**ÍNDICE DE CONTENIDO****CARÁTULA**

<b>CERTIFICACIÓN</b> .....	<b>i</b>
<b>AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD</b> .....	<b>ii</b>
<b>AUTORIZACIÓN</b> .....	<b>iii</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>iv</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>x</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xiii</b>

**CAPÍTULO I****INTRODUCCIÓN**

1.1	Antecedentes .....	1
1.2	Justificación.....	2
1.3	Planteamiento del problema .....	4
1.3.1	El Problema .....	4
1.3.2	Los Efectos .....	4
1.3.3	Las Causas .....	4
1.4	Objetivos .....	5
1.4.1	Objetivo general .....	5
1.4.2	Objetivos específicos.....	5
1.5	Hipótesis.....	5

**CAPÍTULO II****REVISIÓN DE LITERATURA**

2.1	Introducción .....	6
2.2	Pasteurización.....	9
2.3	Luz Ultravioleta (UV-C) .....	10
2.3.1	Usos actuales de luz UV.....	12
2.3.2	Ventajas y desventajas del uso de Luz Ultravioleta .....	13
2.3.2.1	Ventajas.....	13
2.3.2.2	Desventajas.....	14

2.3.3	Uso de tecnología Ultravioleta en lácteos. ....	14
2.3.4	Propiedades Ópticas de la leche .....	15
2.3.5	Efectos de Luz Ultravioleta sobre leche.....	15
2.3.6	Problemas del uso de Luz Ultravioleta en alimentos. ....	16
2.3.6.1	Oxidación .....	16
2.3.6.2	Reactivación .....	17
2.3.7	Equipo para el uso de Luz UV. ....	17
2.4	Ekomilk .....	18
2.5	Speedy Breedy.....	19
2.6	Placas Petrifilm3M <i>Enterobactereaceae</i> .....	21

### **CAPÍTULO III**

#### **METODOLOGÍA**

3.1	Ubicación del lugar de investigación .....	23
3.1.1	Ubicación Política Hacienda “El Prado” .....	23
3.1.2	Ubicación Geográfica Hacienda “El Prado” .....	23
3.1.3	Ubicación Ecológica.....	23
3.2	Material Experimental.....	23
3.2.1	Material Complementario.....	24
3.3	Métodos .....	25
3.3.1	Flujo del proceso .....	25
3.3.2	Metodología .....	26
3.3.2.1	Instalación del ensayo .....	26
3.3.2.2	Toma de muestras.....	27
3.3.2.3	Proceso de irradiación UV .....	28
3.3.2.4	Análisis calidad de leche. ....	29
3.3.2.5	Análisis cualitativo de UFC. ....	30
3.3.2.6	Conteo de UFC.....	30
3.3.2.7	Diseño y establecimiento de protocolo equipo Irradiación .....	31
3.3.3	Diseño Experimental .....	33
3.3.3.1	Factores a probar .....	33
3.3.3.2	Tratamientos a Probar .....	33
3.3.3.3	Tipo de diseño .....	34

3.3.3.4	Características de las Unidades experimentales .....	34
3.3.3.5	Croquis del diseño .....	35
3.3.4	Análisis estadístico .....	35
3.3.5	Análisis funcional.....	36
3.3.6	Variabes medidas .....	36

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1	Resultados .....	38
4.1.1	Conteo Unidades Formadoras de Colonias - UFC .....	38
4.1.2	Calidad de leche .....	39
4.1.2.1	Porcentaje de proteína, grasa y sólidos no grasos. ....	39
4.1.2.2	Densidad, crioscopía y agua añadida .....	39
4.1.2.3	Protocolo de desinfección leche cruda con luz ultravioleta. ....	40
4.1.2.3.1	Prácticas pre-ordeño .....	40
4.1.2.3.2	Prácticas durante el ordeño.....	41
4.1.2.3.3	Prácticas post-ordeño .....	41
4.1.2.3.4	Desinfección de leche con Luz Ultravioleta .....	41
4.1.2.3.5	Prácticas manejo de leche.....	42
4.2	Discusión.....	42

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1	Conclusiones .....	45
5.2	Recomendaciones.....	46
5.3	Bibliografía.....	46

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	<i>Requisitos fisicoquímicos de leche cruda.....</i>	6
<b>Tabla 2</b>	<i>Requisitos microbiológicos de la leche cruda tomada en hato.....</i>	8
<b>Tabla 3</b>	<i>Enfermedades causadas por microorganismos asociados a leche.....</i>	9
<b>Tabla 4</b>	<i>Aplicaciones generales de luz ultravioleta.....</i>	12
<b>Tabla 5</b>	<i>Absorción de la radiación. Propiedades físico-químicas de la leche.....</i>	15
<b>Tabla 6</b>	<i>Descripción de tratamientos .....</i>	34
<b>Tabla 7</b>	<i>Análisis de varianza para un DCA con 4 tratamientos y 3 repeticiones.....</i>	35
<b>Tabla 8</b>	<i>Promedio + e.e. de Unidades Formadoras de Colonia por milímetro en muestras de leche bajo el efecto de 4 tratamientos de desinfección con irradiación UV-C.....</i>	38
<b>Tabla 9</b>	<i>Promedio + e.e del porcentaje de proteína, grasa y sólidos no grasos en muestras de leche bajo el efecto de 4 tratamientos de desinfección con irradiación UV-C.....</i>	39
<b>Tabla 10</b>	<i>Promedio + e.e de la densidad g/cm<sup>3</sup>, crioscopia (°C) y porcentaje de agua añadida en muestras de leche bajo el efecto de 4 tratamientos de desinfección con irradiación UV-C.....</i>	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Espectro de luz y curva de inactivación celular dentro de UV-C (240-280nm)...	11
<b>Figura 2</b>	a. Estructura de AND normal y ADN con dímero de timina por efecto luz UV-C b.Imagen de microorganismo y ADN afectado por UV-C .....	12
<b>Figura 3</b>	Equipo más simple para tratamiento de luz por UV .....	18
<b>Figura 4</b>	Analizador de leche EKOMILK .....	18
<b>Figura 5</b>	Ejemplo de análisis positivo de presencia para la medición de respiración de microorganismos expresado en forma gráfica, para el crecimiento y actividad microbiana.....	20
<b>Figura 6</b>	Ejemplo de identificación de colonias en placas Petrifilm 3M Enterobactereaceae. a. Colonias rojas asociadas a burbujas de gas y sin zonas ácidas.....	22
<b>Figura 7</b>	Placa Petrifilm 3M Enterobactereaceae con más de 100 colonias.....	22
<b>Figura 8</b>	Ubicación Geográfica Hacienda “El Prado”.....	23
<b>Figura 9</b>	Dispensación de leche en muestras de 150 ml en vaso de precipitación, muestras selladas con papel aluminio con tubo para irradiación e instalación de reactor de luz UV-C. ....	26
<b>Figura 10</b>	Toma de muestra directamente del tanque de almacenamiento y enfriamiento de las instalaciones de la Hacienda “El Prado” y rotulación de muestras y traslado a irradiación. ....	27
<b>Figura 11</b>	Muestras colocadas dentro del reactor en continua agitación y turbulencia mayor a 2400 Reynolds se rpm y muestras en proceso de irradiación con luz UV-C .....	29
<b>Figura 12</b>	Muestras de leche para procesamiento en Ekomilk y Visualización de resultados de análisis de calidad de leche. ....	29
<b>Figura 13</b>	Visualización de crecimiento de colonias en placas Petrifilm y conteo de UFC en placas Petrifilm. ....	30
<b>Figura 14</b>	Disposición 6 lámparas UV-C dentro de reactor, reactor de luz UV-C con espejos en periferia y agitador en el centro, instalación colector 80 lt leche, fabricación de reactor. e. Modelo 3D espiral y pruebas de fluidos virtuales, pruebas volumétricas y caudal en espiral, pruebas con espiral en altura de diseño, ubicación de reactor en proyecto de ganadería lechera IASA No.1, pruebas de capacidad y flujo de equipo instalado.....	33
<b>Figura 15</b>	Croquis del diseño experimental .....	35

<b>Figura 16</b>	UFC en muestras a. Muestras con 0 segundos de irradiación UV-C 0 segundos y muestras con 15 segundos de irradiación UV-C. ....	38
------------------	---	----

## RESUMEN

La radiación ultravioleta UV-C como tratamiento de desinfección en un sistema de producción agropecuario, es una alternativa eficiente que mejora las condiciones microbiológicas y no afecta las características físico-químicas de la leche. En el presente estudio se evaluó el efecto de la irradiación sobre la calidad e inocuidad de la leche en la hacienda “El Prado”, para lo cual el experimento se dispuso bajo un diseño completamente al azar: con un testigo y tres tratamientos de irradiación: 15, 20 y 25 segundos, en flujo turbulento ( $Re > 2400$ ) con luz UV-C, con longitud de onda de 254 nm, 1,6 Joules, y potencia de 9 voltios. Se determinó el total de unidades formadoras de colonia (UFC), densidad, crioscopía, porcentaje de grasa, proteína y sólidos totales. Los tres tratamientos fueron aplicados sobre 360 unidades experimentales de 150 ml de leche, recolectadas en la sala del proyecto de ganadería durante un mes, en el ordeño de la mañana y tarde. Se comprobó la presencia de UFC en todas las muestras, y se determinó que existen diferencias significativas entre el control y los tratamientos ( $P < 0,0001$ ) pero no entre ellos ( $P < 0,0001$ ). No hubo afectación significativa en el porcentaje de proteína ( $P = 0,5871$ ), porcentaje de grasa ( $P = 0,7503$ ), sólidos totales ( $P = 0,1677$ ), crioscopía ( $P = 0,8050$ ) y densidad ( $P = 0,7038$ ) para ninguno de los tratamientos, a mayor tiempo de irradiación existe tendencia a oxidación de grasas. Se concluye que la irradiación de la leche con luz UV-C disminuye hasta en un 78,51% el total de UFC sin afectar la calidad del producto.

### PALABRAS CLAVE

- **UFC**
- **LONGITUD DE ONDA**
- **UV-C**
- **REYNOLDS**
- **CRIOSCOPIA**

## ABSTRACT

This study sought to prove an alternative non-thermal treatment for disinfection, based on the use of ultraviolet light and its effect on the microbiological conditions of milk and the physicochemical characteristics. The experiment was arranged under a completely random design, with a control and three times of irradiation 15, 20 and 25 seconds in turbulent flow ( $Re > 2400$ ) with UV-C light of 254 nm. Wavelength powered by 9 volts. The total Colony Forming Units (CFU), percentage of fat, total solid, percentage of protein, density and cryoscopy was determined. The three treatments were applied on 360 experimental units of 150 ml of raw cow milk, collected in the milking processes of the livestock project in the “El Prado” Farm for a month at 3:00 am and 4:00 pm daily. The presence of CFU was verified quantitatively in all samples, and qualitatively it was determined that there are significant differences between control and the treatments ( $P < 0,0001$ ) –but not between them ( $P < 0,0001$ ). There was no significant effect on protein percentage ( $P = 0,5871$ ), fat percentage ( $P = 0,7503$ ), total solids ( $P = 0,1677$ ), cryoscopy ( $P = 0,8050$ ) y density ( $P = 0,7038$ ) for none of the treatments, but a tendency to oxidation of fats with longer irradiation time. In summary, the irradiation of milk in a turbulent flow within a dairy farming project for 25 seconds decreases up to 78,51% the total CFU according to this study.

## KEYWORDS

- **CFU**
- **WAVELENGTH**
- **UV-C**
- **REYNOLDS**
- **CROSSCOPY**

## CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes

En Ecuador la conquista española, trajo consigo el consumo de leche y sus derivados, en un inicio el consumo de productos lácteos se daba solamente a nivel urbano, con productos como queso fresco o maduro; debido a la dificultad de mantener la leche cruda en buenas condiciones durante su transporte, distribución y venta. El consumo de leche líquida en las ciudades empieza a desarrollarse a inicios del siglo XIX, y el proceso de pasteurización en la ciudad de Quito comienza a partir del año 1938 (Vizcarra, 2015).

La calidad de la leche que consumimos depende directamente de todas las etapas de producción, dentro de las cuales se destaca el manejo de los bovinos, las medidas de bioseguridad en el proceso de extracción, la exposición al medio ambiente y el sistema de ordeño, debido a que en estas etapas el producto lácteo tiene contacto con posibles contaminantes (Ávila Téllez, 1998). Es importante considerar que varias de las enfermedades causadas por microorganismos presentes en la leche, son zoonóticas, entre las más destacadas tenemos: brucelosis, tuberculosis y *Estafilococcus aureus*, estas enfermedades son causadas principalmente por deficientes prácticas en el proceso y un deficiente control de calidad, afectando así la salud humana y las características del producto lácteo (Cucba, 2012).

El deterioro de los alimentos por microorganismos patógenos puede ser minimizado por distintas técnicas de conservación. La pasteurización forma parte del proceso industrial actual de la leche en la industria y permite que este producto y sus derivados se vuelvan seguros para el consumo humano, además permite la conservación de las propiedades organolépticas por períodos prolongados de tiempo. A pesar de que los métodos de desinfección térmica (esterilización, pasteurización, etc.) son efectivos en la inactivación de microorganismos; tienen efectos negativos en el valor nutricional y calidad de la leche. Estas

técnicas provocan disminución en el contenido de vitaminas, cambios en las propiedades organolépticas como color, olor y sabor, inactivación de enzimas, oxidación de lípidos y desnaturalización de proteínas (Choudhary & Bandla, 2012).

Actualmente se están estudiando métodos alternativos de desinfección, que no requieren calor, como: ultrasonido (US), procesamiento con presión elevada (HPP), pulsos electromagnéticos (PEF), luz pulsátil (PL), luz ultravioleta (UV) y plasma no térmico a presión atmosférica (NTAP). Estos métodos no térmicos pueden ser efectivos en la inactivación de un amplio rango de microorganismos en alimentos líquidos y sólidos (Choudhary & Bandla, 2012). La radiación UV, es considerada uno de los métodos más eficientes en la desinfección, estudios señalan que estas nuevas técnicas evitan la desnaturalización de los diferentes componentes de interés nutricional y disminuyen los costos de producción hasta en un 60% (Oliveira, 2012).

## **1.2 Justificación**

La leche es un fluido nutritivo blanquecino, segregado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos, cuya principal función es abastecer a las crías de alimento en las primeras etapas de su desarrollo.

Debido a su valor nutricional, la leche y sus derivados, son componentes básicos en la alimentación humana; por lo que este producto debe ser íntegro, sin calostro, no adulterado, proveniente de un ordeño higiénico, continuo y regular de vacas sanas y cuyas características sensoriales de olor, sabor y consistencia, deben estar dentro de las condiciones normales (Contero, 2008).

La leche, un producto de consumo masivo, puede verse afectada por contaminantes como: antibióticos, colorantes, materias, sabores y olores extraños, además un mal manejo en la cadena productiva provoca un incremento en el contenido total de gérmenes afectando la

condición higiénica de este producto.

En la hacienda “El Prado” se utiliza un sistema mecanizado dirigido por dos operarios que realizan dos ordeños diarios, el producto obtenido es almacenado en un tanque frío de 2000 litros de capacidad. En la unidad de explotación pecuaria se presentan ciertos inconvenientes que se ven reflejados en la producción, como la falta de insumos y medicamentos (preventivos o de control). La falta de calidad en los productos y servicios básicos en un sistema impide la instauración de un proceso de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), como ejemplo; la falta de un desinfectante-sellador de ubres para el pre y post ordeño tienen una incidencia directa en la contaminación de la glándula mamaria y por ende en la leche. La falta de mantenimiento de los equipos también juega un papel importante en el aumento de microorganismos ya que al ser la leche un producto con alto contenido de grasa, tiende a acumularse en las paredes, superficies de los equipos y tuberías por donde circula, convirtiéndose en medio de cultivo ideal para la proliferación de los mismos. Otro de los problemas, es la falta de capacitación de las personas involucradas en el ordeño, cuando no tienen la debida precaución con las pezoneras y el equipo de extracción, permitiendo el ingreso de aire, agua del lavado de ubres o materia orgánica proveniente de potreros al sistema, generando contaminación de la materia prima.

Técnicas tradicionales de pasteurización son comúnmente utilizadas en procesos de desinfección de leche, sin embargo estudios han demostrado que estos métodos afectan su calidad y valor nutricional. En base a lo mencionado, es necesario el desarrollo de tratamientos alternativos que permitan obtener un producto final de buena calidad e inocuidad.

La efectividad de la irradiación ultravioleta en la inactivación de microorganismos es muy conocida, se utiliza desde hace décadas, debido a que los productos tratados mantienen

sus propiedades organolépticas y nutricionales, adicionalmente varios estudios señalan que la luz UV es más eficaz en la descomposición de toxinas que los tratamientos con calor (Falguera et al., 2011).

Con el presente estudio se evaluó la efectividad del uso de luz ultravioleta en el tiempo, para el control de poblaciones microbianas en la leche, manteniendo de esta forma la calidad e inocuidad del producto.

### **1.3 Planteamiento del problema**

#### **1.3.1 El Problema**

El alto contenido de unidades formadoras de colonia (UFC) en la leche de la hacienda “El Prado”, reflejado en la calidad y precio del producto.

#### **1.3.2 Los Efectos**

- Alto contenido microbiano.
- Producción de toxinas.
- Producto de menor calidad para procesos agroindustriales
- Menor rentabilidad del producto.

#### **1.3.3 Las Causas**

- Estrés del animal.
- Problemas nutricionales.
- Mal manejo del hato.
- Falta de higiene.
- Falta en la implementación de BPA.
- Falta de insumos y medicamentos.
- Problemas de calidad de servicios básicos (agua no potable).
- Falta de mantenimiento de equipos.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de la irradiación ultravioleta (UV-C), sobre la calidad e inocuidad de la leche en la hacienda “El Prado”.

### **1.4.2 Objetivos específicos.**

- a) Medir el efecto de exposición a radiación ultravioleta en el conteo de carga microbiana en leche en tres tiempos.
- b) Determinar la calidad nutricional (densidad, porcentaje de grasa, proteína y sólidos no grasos) y el número de UFC en la leche pre y post-tratamientos con irradiación.
- c) Elaborar un protocolo para desinfección de leche cruda con UV-C en base al mejor tratamiento obtenido, de acuerdo al volumen de producción y capacidad instalada.

## **1.5 Hipótesis**

**H<sub>0</sub>:** La luz ultravioleta UV-C no tiene efecto sobre el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), ni en las propiedades fisicoquímicas de leche cruda.

**H<sub>1</sub>:** La luz ultravioleta UV-C tiene efecto sobre el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) y en las propiedades fisicoquímicas de leche cruda.

## CAPÍTULO II REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Introducción

La leche es el líquido secretado por la glándula mamaria de los mamíferos, pudiendo variar su composición entre diferentes especies y dentro de la misma especie, por efecto de factores tales como: raza, tipo y frecuencia de ordeño, estaciones climáticas, alimentación, temperatura ambiental, edad, etc. Pero en general la composición promedio de leche proveniente de ganado vacuno es: agua 87%, grasa 3,5%- 3,7%, lactosa 4,9%, proteínas 3,5% y minerales 0,7% (Páez & López, 2002).

Para el procesamiento agroindustrial, se considera de suma importancia la calidad de la leche, y según la norma INEN 9:2012 del Instituto Ecuatoriano de Normalización, la leche cruda debe cumplir con los requisitos físico-químicos indicados en la Tabla 1 para ser considerada dentro de procesos agroindustriales.

**Tabla 1**  
*Requisitos físicoquímicos de leche cruda*

REQUISITOS	UNIDAD	MIN	MAX	METODO DE ENSAYO
Densidad relativa a 15°C	-	1,029	1,033	NTE INEN 11
a 20°C		1,028	1,032	
Materia grasa	% (fracción de masa)	3	-	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	-	-
Cenizas	% (fracción de masa)	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de Congelación	°C	-0,512	-0,512	NTE INEN 15
	°C	-0,555	-0,53	
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	-	NTE INEN 16

CONTINUÍA

Ensayo de reductasa	N	3	-	NTE INEN 018
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización. No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68% de peso o 75% en volumen; y para leche destinada a ultrapasteurización. No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71% en peso o 78% en volumen.			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes	-	Negativo		NTE INEN 1500
Grasas vegetales	-	Negativo		NTE INEN 1500
Suero de Leche	-	Negativo		NTE INEN 1500
Prueba de Brucelosis	-	Negativo		NTE INEN 2401
Residuos de Medicamento Veterinarios	ug/l	****	MRL, establecidos en Codex alimentarius CACMRL 2	Los establecidos en métodos de análisis identificados como idóneos para respaldar los LMR del codex

Fuente: (INEN, 2012).

En el proceso de pasteurización se debe utilizar leche cruda, la cual no debe haber sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no debe haber superado la temperatura de 40°C después de ser extraída de la ubre. Dentro de la misma normativa se encuentra establecido los límites del recuento de microorganismos aerobios  $1,5 \times 10^6$  UFC/cm<sup>3</sup> y para el recuento de células somáticas un total máximo de  $7 \times 10^5$  células somáticas/ cm<sup>3</sup>, (INEN, 2012), en la (Tabla 2.) se puede apreciar el alarmante rango de aceptabilidad para la calidad del producto que se comercializan en el país.

**Tabla 2**  
*Requisitos microbiológicos de la leche cruda tomada en ható.*

Microorganismo	Caso	N	c	M	M	Método de ensayo
Recuento de colonias aerobias	2 <sup>a</sup>	5	2	2x10 <sup>4</sup>	5x10 <sup>4</sup>	NTE INEN 1529-5
Enterobacteriaceae (UFC/g)	6 <sup>b</sup>	5	1	10	10 <sup>2</sup>	NTE INEN-ISO 21529
<i>S. aureus</i>	7 <sup>c</sup>	5	2	10	10 <sup>2</sup>	NTE INEN 1529-14

Fuente: (INEN, 2012).

Actualmente las industrias de productos líquidos, incluida la leche, utilizan diferentes métodos de pasteurización para desinfectar y extender la vida útil de materias primas y productos terminados. La mayoría de estos métodos son muy efectivos al momento de inactivar microorganismos, pero los más utilizados (tratamientos térmicos) afectan negativamente las propiedades y las características físico-químicas de los alimentos (Montenegro, 2002).

El deterioro de diferentes productos alimenticios debido a la presencia de microorganismo dentro de la industria es muy común, más aún cuando se trata de productos altamente perecibles como la leche. Se presentan avances en diferentes técnicas para mejorar el control y tratamiento, por medio de la utilización de productos químicos en cada una de las etapas de la cadena de producción, incluso se fumigan sustancias en las etapas de empaque previo almacenamiento. Los productos más utilizados son compuestos en base a cloro (hipoclorito de sodio, dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno, entre otros) que ya ha sido reportado por la Agencias de Protección Ambiental de los EE.UU (EPA 2011) como posibles carcinógenos humanos (Ruplal & Srinivasarao, 2012).

En la búsqueda de calidad en los productos alimenticios, el uso de tecnología es fundamental y los procesos de pasteurización deben ir innovando técnicas, a fin de garantizar estabilidad en la calidad microbiana de la leche.

## 2.2 Pasteurización

La pasteurización es un proceso que surgió originalmente en Francia como método de conservación de vinos por Luis Pasteur y se expandió a inicios del siglo XX para preservación de leche que fue introducido originalmente en Alemania en 1895 y a Estados Unidos en 1907 (Smith, 2000).

La pasteurización de la leche es de gran importancia ya que éste es uno de los alimentos naturales más completos que existe, debido a su alto contenido proteico, vitaminas y sales minerales, sin embargo es uno de los principales medios de cultivo para la mayoría de microorganismos, benéficos y perjudiciales para la salud humana (Tabla 3).

**Tabla 3**  
*Enfermedades causadas por microorganismos asociados a leche*

MICROORGANISMO	TIPO	ENFERMEDAD
<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i>	Enterobacterias	Gastroenteritis, Tifoidea
<i>Yersinia enterocolitica</i> (psicrotrófico)	Bacterias gram-negativas	Gastroenteritis
<i>Campylobacter jejuni</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<i>Bacillus cereus</i> (psicrotrófico)	Gram-positivos formadores de esporas	Gastroenteritis
<i>Clostridium botulinum</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocos Gram-positivos	Intoxicación hemética
<i>Listeria monocytogenes</i> (psicrotrófico)	Otras Bacterias	Listeriosis
<i>Mycobacterium bovis</i>		
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>		Tuberculosis
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>		Tuberculosis
<i>Coxiella burneti</i>		Enfermedad de Johne (Paratuberculosis).
Enterovirus, poliovirus, rotavirus	Virus	Fiebre Q
Virus de la hepatitis		Infección Entérica
Entamoeba histolytica	Protozoarios	Hepatitis Infecciosa
Giardia lamblia		Amebiasis
		Giardiasis

Fuente: Adaptado de (Hayes & Boor, 2001).

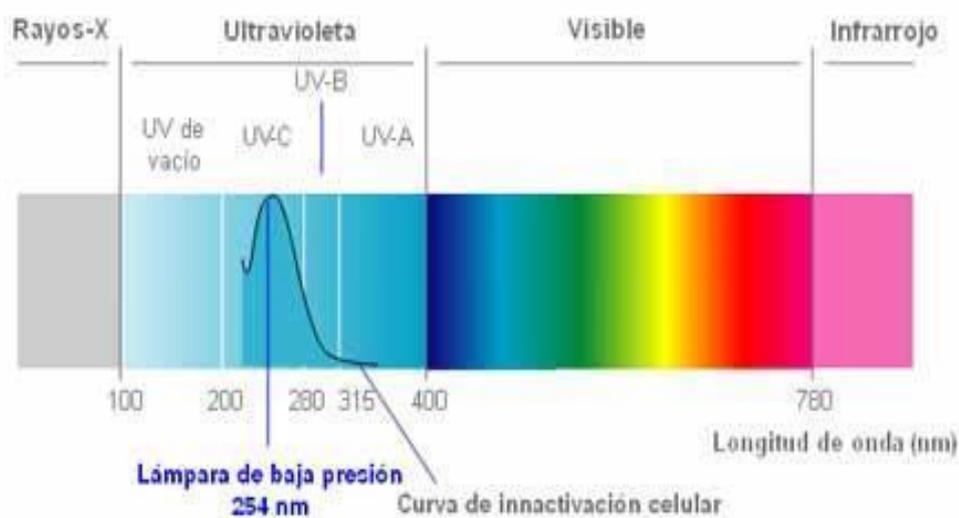
En el proceso de pasteurización, se presentan cambios en la composición química y nutricional de la leche: los lípidos, se ven menos afectados a la exposición térmica en especial a los tratamientos de alta temperatura (High Temperature Short Time HTST), mientras que las sales de fosfatos y el carbonato de calcio son los más afectados por la temperatura, provocando menor solubilidad de estos minerales (Fox & McSwenney, 1998), lo que a largo plazo genera una acumulación de proteínas desnaturalizadas conocidas también como piedras de leche. De acuerdo a (Fox & McSwenney, 1998) los principales componentes afectados por el calor, son las proteínas, la lipoproteína lipasa (LPL) es prácticamente inactivada, por consiguiente la actividad de la plasmina aumenta, la inmunoglobulina es desnaturalizada, a partir de los 70°C, mientras que la caseína presenta mayor termoestabilidad.

De acuerdo a (Smith, 2000), los factores que más afectan el proceso de pasteurización son: la calidad de la leche cruda, las condiciones del proceso de extracción, contaminación pos-procesamiento y la temperatura de almacenamiento (>4 °C).

### **2.3 Luz Ultravioleta (UV-C)**

En el año de 1877 Downes y Blunt descubrieron la luz ultravioleta proveniente del sol. A partir del siglo XIX se desarrollaron las primeras lámparas UV para tratamientos de agua, pero, fue solo hasta 1955 que surgieron las primeras plantas de tratamientos en Austria y Suiza, debido a problemas operacionales y al bajo precio del tratamiento con cloro. A partir del descubrimiento de la cantidad de residuos posteriores a la cloración, el uso de luz ultravioleta se diseminó rápidamente a nivel mundial en la década de los años 80, tanto así que para el año 2000 existían alrededor de 400 centros de tratamiento usando tecnología UV para tratamiento de agua (EPA, 2011).

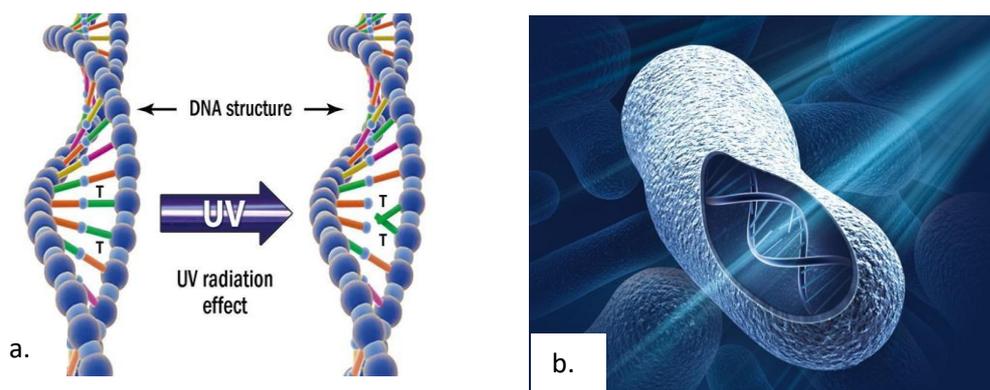
La mayor eficacia demostrada por la tecnología ultravioleta en inactivación celular, se encuentra entre 240 y 280 nm de longitudes de onda, dentro de este rango es más efectiva para el tratamiento de bacterias, virus, mohos y esporas. De acuerdo a la longitud presentada dentro del espectro electromagnético corresponden a la región denominada UV-C (Figura 1.)(Xylem, 2011).



**Figura 1** Espectro de luz y curva de inactivación celular dentro de UV-C (240-280nm).

Fuente: (LIT, 2013).

La luz ultravioleta en su región germicida comprendida entre los 200 -280 nm o UV-C, expresa mayor eficiencia en la inactivación de microorganismos, representado en una curva acampanada (Figura 2.) donde el mayor efecto ocurre aproximadamente en el rango de 254 a 264 nm. Las lámparas comunes de mercurio liberan un máximo de 254 nm, y varios estudios sugieren que la destrucción de microorganismos (Figura 2b.) ocurre debido a la penetración del rayo UV-C en la membrana celular, causando daño en el ADN, al formar dímeros de timina en la hebra (Figura 2a.), de tal manera que se impide la replicación y la multiplicación celular limitando la patogenicidad del microorganismo.



**Figura 2** a. Estructura de AND normal y ADN con dímero de timina por efecto luz UV-C. b. Imagen de microorganismo y ADN afectado por UV-C (240-280nm).

Fuente: (LIT, 2013).

### 2.3.1 Usos actuales de luz UV

Los principales usos de radiación ultravioleta en la industria están relacionados a procesos de desinfección, tanto en la industria alimenticia como en procesos para mejorar las condiciones sanitarias del agua, entre otros.

En la Tabla 4 se muestran las aplicaciones generales de la luz UV en la industria actualmente.

**Tabla 4**

*Aplicaciones generales de luz ultravioleta*

APLICACIÓN	USO
Purificación de agua	Agua para residencias, instituciones públicas o privadas
Industria de Alimentos	Agua libre de bacterias (sin uso de cloro que afecta el sabor). Pureza de agua para jugos, vinos, cerveza, etc.
Agua sin Cloro, desionizada y/o carbón activado.	Industria electrónica, agua ultra pura Industria farmacéutica e cosmética. Laboratorios Hospitales
Control de polución industrial	Tratamiento de efluentes antes de descarga.

Fuente. Adaptado de(Mone, 1983).

## **2.3.2 Ventajas y desventajas del uso de Luz Ultravioleta**

### **2.3.2.1 Ventajas**

En la búsqueda de proporcionar productos de mejor calidad para satisfacer la necesidad del mercado, los productos lácteos tienen que procurar conservar sus condiciones físico-químicas, esto incluye ofrecer productos con menor número de aditivos y preservantes, asegurando de esta manera el consumo de un producto saludable, de aquí que el uso de luz ultravioleta, es una técnica que viene ganando fuerza y tiene mayor aceptación conforme se hace público el poder germicida de la misma. Teniendo en cuenta que el establecimiento de esta tecnología también representa un bajo costo en comparación con otros equipos y es más amigable con el planeta, al ser una técnica eficiente y segura, que limita el uso de químicos y de recursos como el agua (Howarth, 2007).

Existen varias compañías dedicadas a trabajar en procesos de desinfección con la utilización de luz ultravioleta, Infralight es una de ellas y afirma que cualquier industria que precise de un producto químico como cloro para desinfección, está generando gastos que pueden llegar a ser alarmantes, tanto por el precio de compra, transporte almacenamiento y la dependencia que se crea del producto para la realización de las actividades. Por lo tanto aseguran que los procesos por tecnología UV tienen grandes beneficios, entre los más importantes tenemos que no genera residuos tóxicos, es un sistema rápido, no produce olores, no requiere de almacenamiento de sustancias tóxicas, no requiere de espacios grandes para el equipo, causa un mínimo impacto ambiental y adicionalmente el uso de tecnología UV inactiva bacterias patogénicas como *Cryptosporidium* o *Giardia*.

### **2.3.2.2 Desventajas**

Una de las principales desventajas de los sistemas que utilizan luz UV de acuerdo con (López-Malo & Palou, 2005) es que la radiación UV, no es tan penetrante, por lo tanto la desinfección puede verse afectada por la presencia de sólidos o partículas, lo cual generaría la necesidad de dosis más elevadas (como mínimo  $400 \text{ J/m}^2$ ), mientras que (Koutchma, Forney, & Moraru, 2009) señala que existen pocas aplicaciones para esta tecnología principalmente por la poca cantidad de equipos disponibles en el mercado y pocos estudios de la acción de UV en diferentes sustancias.

De acuerdo a lo mencionado, el tratamiento UV es interesante ya que mantiene las propiedades nutricionales y organolépticas de los alimentos, pero si se presenta problemas de penetración de luz debido a la turbidez, las dosis excesivas de luz pueden generar una foto oxidación que provocarían cambios indeseables en las características sensoriales de la leche.

### **2.3.3 Uso de tecnología Ultravioleta en lácteos.**

Actualmente la tecnología ultravioleta, está más enfocada en otro tipo de industrias, especialmente en tratamiento de agua, o de superficies. En la parte agroindustrial y específicamente en lácteos no se han realizado mayores estudios, siendo uno de los avances más promisorios el uso de UV-C para la desinfección de leche para consumo humano. (Christen *et al.*, 2013). Este estudio revela las diferencias entre un tratamiento estándar de pasteurización holdder ( $62^\circ \text{ C}$  por 30 minutos) técnica utilizada anteriormente, con la irradiación de UV-C obteniéndose como resultados, los mismos niveles de inocuidad, pero sin ninguna pérdida nutricional de los componentes de la leche, cabe recalcar que esta tecnología está siendo aplicada en bancos de recolección y procesamiento de leche humana.

### 2.3.4 Propiedades Ópticas de la leche

La leche no presenta absorción característica en la parte de espectro de luz visible, que corresponde a una longitud de onda entre 400 a 700 nm. Al ser un líquido no coloreado, los pigmentos se encuentran en mínima concentración, por lo que no generan respuesta a la capacidad de transmitancia. Sin embargo, la leche contiene sustancias orgánicas que generan bandas de absorción características por debajo de los 300 nm, que también es conocido como la zona ultravioleta y por encima de los 750 nm o zona infrarroja (Tabla 5.) (Alais & Lacasa Godina, 2003).

Es necesario comprender además que la leche contiene partículas, y la dispersión de éstas, al igual que su tamaño genera pérdidas en la energía luminosa, que se añade a la energía absorbida. Este efecto se reduce cuando la longitud de onda con la que es irradiado el producto, es superior al diámetro de las partículas, por ejemplo las micelas de caseína hasta 200 nm, glóbulos grasos hasta 10000 nm.

**Tabla 5**  
*Absorción de la radiación. Propiedades físico-químicas de la leche.*

Longitud de Onda (nm)	Causa de la absorción	Componente de la leche
200	Enlace peptídico (-CONH-)	Proteínas
2800	Estructura cíclica (Aminoácidos aromáticos)	Proteínas
3450 – 5800	Grupo Carbonilo (-CO-)	Materia grasa
6500	Enlace Peptídico	Proteínas
9600	Grupo Hidroxilo (-OH-)	Lactosa

Fuente: Ciencia de la Leche, pag. 276. (Alais & Lacasa Godina, 2003).

### 2.3.5 Efectos de Luz Ultravioleta sobre leche

Según (Koutchma, Forney, & Moraru, 2009) los efectos de luz ultravioleta pueden ser medidos de dos formas: por sus características sensoriales y por medio de análisis físico-químicos que se puede realizar por espectrofotometría y análisis de contenido vitamínico. Por lo tanto si la aplicación de UV tuvo algún efecto foto oxidativo sobre alguno de los

componentes como vitamina A, vitamina B, vitamina D, vitamina E, vitamina K, ácido fólico, triptófano, ácidos grasos insaturados, etc. van a ser detectados.

Usando lámparas con 644 J/pulso y 0,5 Hz, en los tratamientos, no existió variación de pH, ni viscosidad de la leche. Otra tecnología que se ha probado para la conservación de la leche es el proceso con luz UV-C en flujo turbulento, que no genera cambios en el perfil de ácidos grasos o proteínas. Tampoco se observaron variantes en ácidos oleicos conjugados y la disminución de vitaminas no fue significativa de acuerdo (Matak, 2005). Por lo que la irradiación UV se considera una buena alternativa no térmica para la pasteurización de la leche (Ramírez, 2015).

### **2.3.6 Problemas del uso de Luz Ultravioleta en alimentos**

#### **2.3.6.1 Oxidación**

Estudios demuestran que la irradiación con luz UV induce a la generación de componentes que inician la oxidación de alimento. Esto podría implicar problemas muy serios, puesto que no sólo se modifican de las características organolépticas del producto, sino que además, ésta implica una alteración del alimento (Fine & Gervais, 2004).

Ante esta expectativa no parecía que el tratamiento fuese lo suficientemente interesante. No obstante, cuando se aplica de forma pulsada, el escaso tiempo de exposición limita la presencia de estas sustancias, lo que permite evitar este efecto secundario indeseable. Tras el análisis de los alimentos tratados con pulsos de elevada intensidad de rayos ultravioleta, no se detectan modificaciones químicas del producto, lo que indudablemente permite que el alimento sea estable durante más tiempo, sin manifestar cambios en sus características y poder nutritivo (Fine & Gervais, 2004).

### 2.3.6.2 Reactivación

La radiación UV produce cambios fotoquímicos que tienen un efecto letal sobre los microorganismos. La radiación absorbida por los nucleótidos provoca la formación de dímeros ciclobutil pirimidina, que interfieren en el apareamiento normal de las bases, produciendo un bloqueo en la síntesis de ADN y consecuentemente quedan afectadas las funciones celulares, provocando muerte celular. No obstante, es posible que ocurra una reactivación, dado que el ADN puede ser reparado por factores proteínicos (enzima fotoliasa que monomeriza los dímeros). Las células reactivadas pueden ser más resistentes y será más complicado eliminarlas en tratamientos posteriores. Estudios señalan que es necesaria una dosis mayor de radiación para lograr una reducción de células foto reactivadas (Ramírez, 2015).

### 2.3.7 Equipo para el uso de Luz UV

Según (Koutchma *et al.* 2009) actualmente, existen dos tipos de reactores utilizados en tratamientos con lámparas de luz ultravioleta en la industria alimenticia; los de flujo laminar y los de flujo turbulento, los de flujo laminar están dados por un numero de Reynolds (Re) menor que 2000 y los de flujo turbulento por valores mayores a 2400.

El número de Reynolds se define por:

$$Re = \frac{\rho v_s D}{\mu} \text{ Equivalente a: } Re = \frac{v_s D}{\nu}$$

Donde:

$\rho$  densidad del fluido

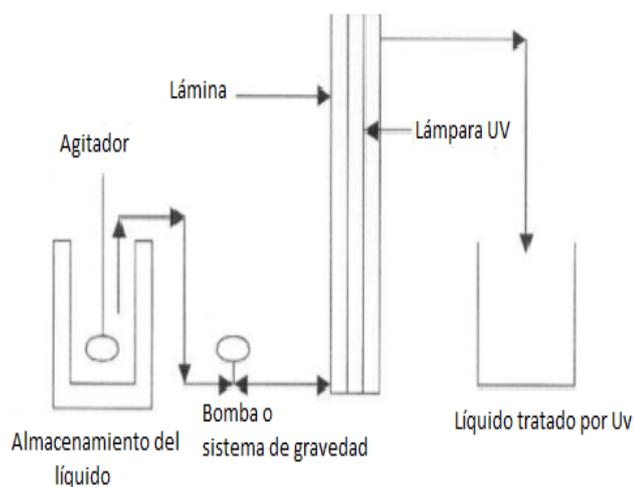
$v_s$  velocidad característica del fluido

$D$  diámetro de la tubería a través de la cual el fluido o longitud característica del sistema.

$\mu$  viscosidad dinámica del fluido ( $m^2/s$ )

Al tener un flujo turbulento en un fluido, estamos garantizando que el movimiento desorganizado y caótico de cada partícula, brinda uniformidad en la irradiación (Figura 3).

En adición, logrando un número de Reynolds mayor a 2400, se forman pequeños remolinos dentro del flujo proporcionando condiciones idóneas para irradiación uniforme de todo el producto.



**Figura 3** Equipo más simple para tratamiento de luz por UV.

Adaptado de: (Oliveira, 2012).

## 2.4 Ekomilk

Es un analizador de leche por ultrasonido denominado EKOMILK, permite obtener valores exactos y rápidos acerca del estado de la muestra de leche.



**Figura 4** Analizador de leche EKOMILK  
Fuente: Eon Trading (2013)

La densidad es una variable que determina la relación que hay entre la masa y el volumen de una sustancia, por lo tanto, la densidad de la leche está directamente relacionada con la cantidad de grasa, sólidos no grasos y agua que ésta contenga. La muestra de leche se introduce en el analizador, donde se determinará la densidad de la leche y la temperatura, el equipo está calibrado a una temperatura de 15°C, en caso de que la muestra esté a una temperatura diferente, se deberá hacer la corrección correspondiente. La densidad se expresa en gramos por centímetro cúbico (g/cm<sup>3</sup>) o en kilogramos por litro (Kg/l).

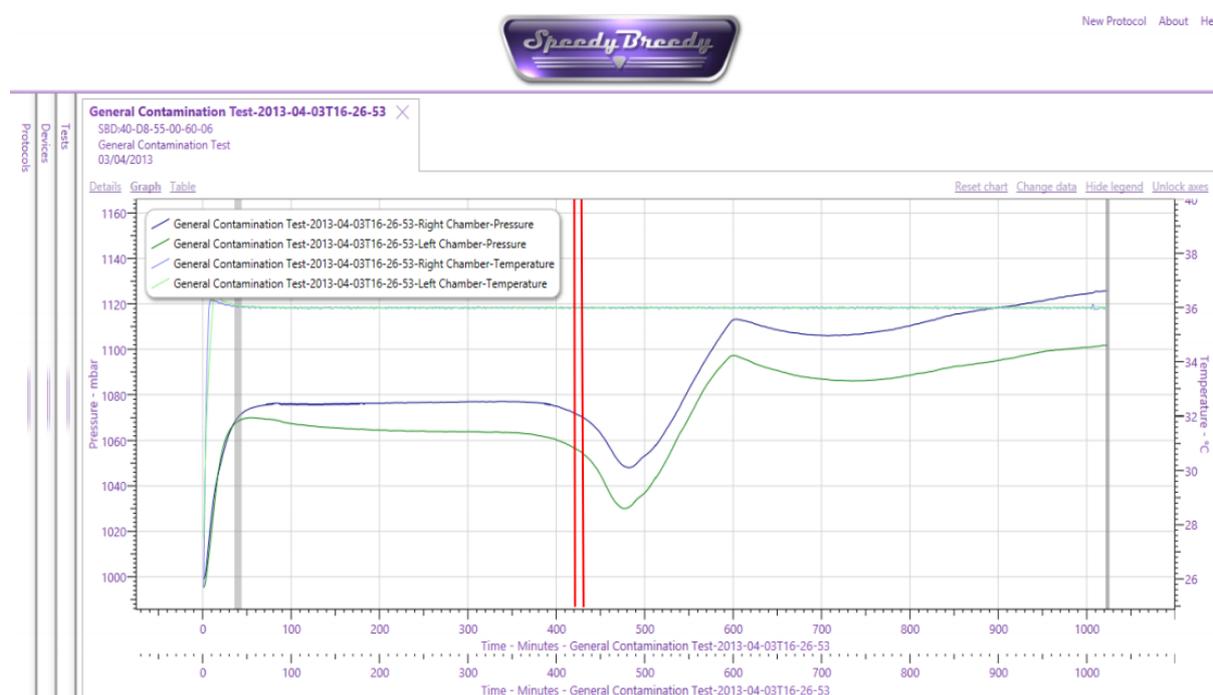
## **2.5 Speedy Breedy**

De acuerdo al sitio oficial de Speedy Breedy (Price, 2014) es un respirómetro, compacto y muy sensible, con la capacidad de detectar y monitorear la actividad microbiana. La detección de la actividad microbiana, como consecuencia de la presión relacionada a los cambios en la concentración de gases dentro de una cámara de 50 ml de volumen, permite estimar de manera muy precisa el total de microorganismos presentes en la muestra.

Las muestras son colocadas en una cámara que contiene un medio específico para microorganismos, la tecnología avanzada con la que trabaja el equipo se basa en mezclar y homogenizar la muestra dentro del envase y proporcionar las condiciones adecuadas para un rápido crecimiento de microorganismos y un intercambio gaseoso eficiente al realizar distintas variaciones de presión, por lo tanto no permite la detección de transiciones causadas por el proceso metabólico en el que bacterias y microorganismos están involucrados.

Investigaciones en microbiología siguen innovando y mejorando técnicas desde hace unos 130 años, en los que ya se utilizaba el crecimiento en medios nutritivos y platos Petri para posteriormente realizar un conteo. A pesar de ser un método bastante seguro y confiable, requiere de intenso trabajo y no permite un proceso de automatización en un laboratorio

pequeño. Por lo tanto, existe un mecanismo en el que se utilizan aún los protocolos de crecimiento, pero adicionalmente muestra cómo se da el crecimiento bacteriano y la forma en la que ellas respiran mientras se desarrollan. Speede Breedy monitorea rangos de respiración, usando avanzados sensores de presión, permitiendo una visualización técnicamente en tiempo real por medio del software, expresado en gráfico o números.



**Figura 5** Ejemplo de análisis positivo de presencia para la medición de respiración de microorganismos expresado en forma de gráfico, para el crecimiento y actividad microbiana.

Fuente: USP ORG (2015)

Speedy Breedy está revolucionando la microbiología, por primera vez se puede producir crecimiento bacteriano en ambiente controlado, es un sistema amigable y sencillo de usar, con dos cámaras independientes que pueden proporcionar un rápido y confiable test bacteriano.

## 2.6 Placas Petrifilm 3M *Enterobacteriaceae*

La placa Petrifilm MR para recuento de *Enterobacteriaceae* es un sistema de medio de cultivo listo para ser usado, que contiene los nutrientes del medio VRBG modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias (3M Research, 2009)

En función de la productividad de la fase de laboratorio, permitiendo una optimización de recursos y mano de obra, facilitando la estandarización del procedimiento de siembra y la metodología, las placas petrifilm permiten disminuir la variabilidad en este estudio

En un estudio comparativo desarrollado en la industria alimentaria con 6 tipos de productos, entre los cuales se encuentra queso cheddar, leche, harina, brócoli congelado y conservas de nuez, y con la creciente necesidad de métodos más completos y eficientes 12 laboratorios realizaron la comparación entre métodos tradicionales de SMEDP (Métodos estándar para el análisis de productos lácteos por sus siglas en inglés) versus placas petrifilm, determinando que no existen diferencias en el uso de las dos tecnologías.

Un indicador en la placa colorea a todas las colonias de rojo. La película superior atrapa el gas si éste es producido por las bacterias. Las bacterias que producen ácido aparecen como colonias rojas rodeadas por una zona amarilla (Figuras 6 a y b).

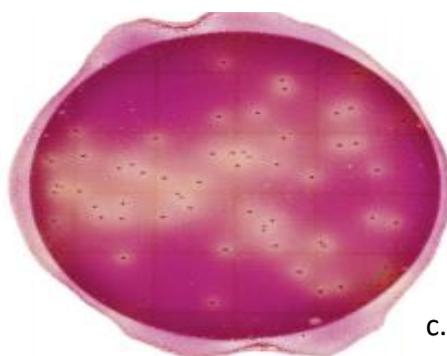
Las bacterias productoras de gas y/o ácido son consideradas presuntamente *Enterobacteriaceae*.



**Figura 6** Ejemplo de identificación de colonias en placas Petrifilm 3M *Enterobacteriaceae*. a. Colonias rojas asociadas a burbujas de gas y sin zonas ácidas.

Fuente: (3M Research, 2009).

De acuerdo a especificaciones del fabricante, el rango estimado para realizar conteo de *Enterobacteriaceae* es entre 15 a 100 unidades formadoras de colonias. Por lo tanto para determinar la cantidad, en el caso de encontrar más de 100 (Figura 7c,) se procede a contabilizar y promediar la cantidad de cuadros representativos y se multiplica por 20 cuadros del total de cuadros de la placa.



**Figura 7** Placa Petrifilm 3M *Enterobacteriaceae* con más de 100 colonias.

Fuente: (3M Research, 2009)

## CAPÍTULO III METODOLOGÍA

### 3.1 Ubicación del lugar de investigación

#### 3.1.1 Ubicación Política Hacienda “El Prado”

Provincia: Pichincha

Cantón: Rumiñahui

Parroquia: San Fernando

#### 3.1.2 Ubicación Geográfica Hacienda “El Prado”

Latitud: 0°23'1.99"S

Longitud: 78°24'51.79"O

#### 3.1.3 Ubicación Ecológica



*Figura 8* Ubicación Geográfica Hacienda “El Prado”

Altitud: 2722 m.s.n.m.

Temperatura media: 13.50 °C

Precipitación anual: 1093.6 mm

Zona ecológica: Bosque montano bajo

Región: Bosque húmedo-montano.

### 3.2 Material Experimental

- Reactor diseñado para tratamiento de muestra de luz ultravioleta UV-C de 8,7 a 9 watts de poder, 110 voltios.
- Alimentador de poder voltaje 110.
- Lámpara germicida con tope de emisión de 253.7 nm, con 505 nm de dimensión de arco y 15 nm de diámetro externo.

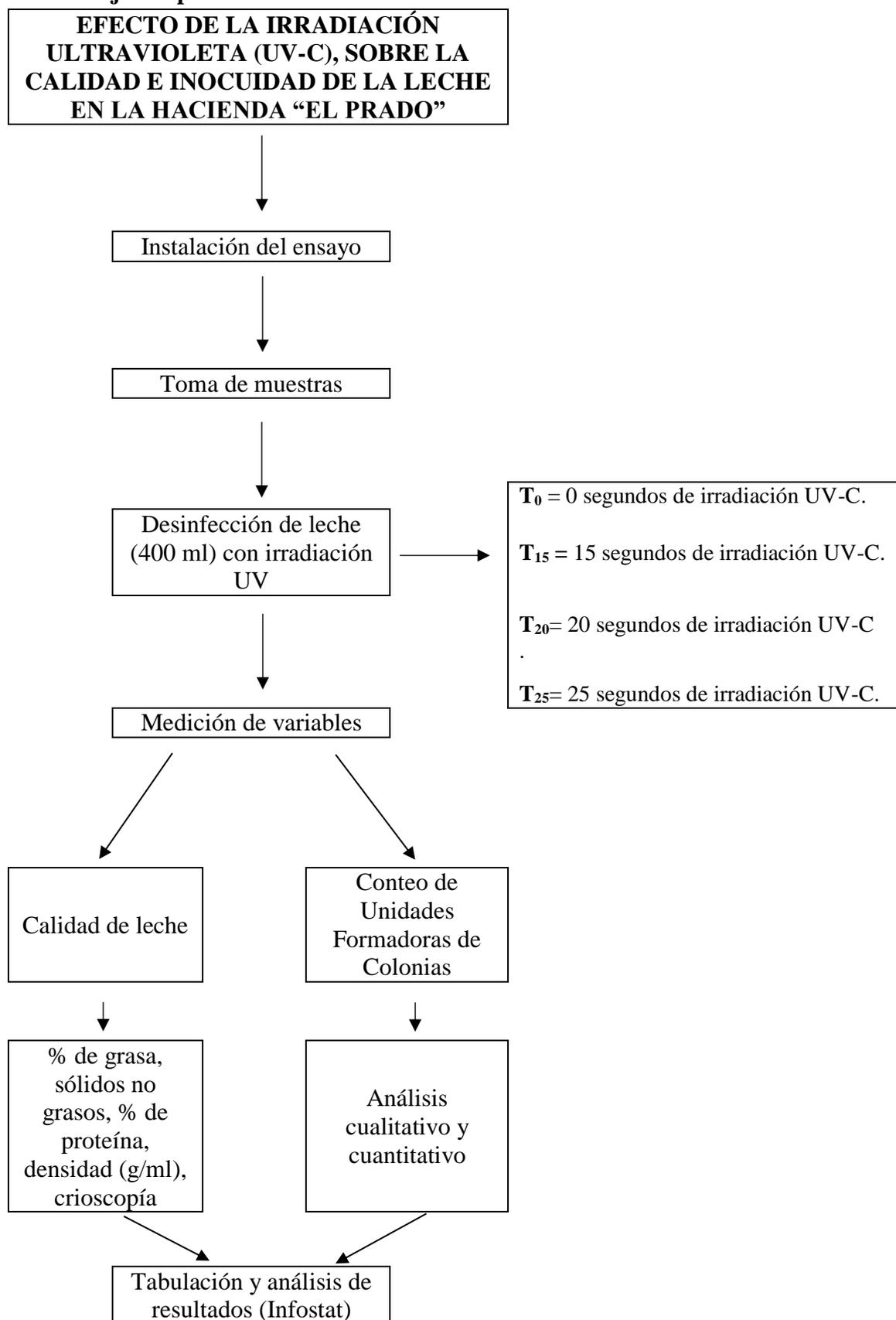
- Tanque de recolección de acero inoxidable de 2000 litros de capacidad
- Envases recolectores estériles
- Medidor de volumen
- Termómetro digital
- Tubo de cuarzo para aislar foco UV-C
- Reactor luz UV (Diseño del autor)
- Agitador y Heater para controlar temperatura
- Tubos de ensayo
- Espiral de vidrio flujo turbulento ( $Re > 2400$ )
- Cronómetro
- Ekomilk 180
- Speede Breedy
- 400 Placas pet
- Cámara de flujo laminar Thermo Phorma/ 21849 – 22810967
- Incubadora Shell Lab. VWR/1545

### **3.2.1 Material Complementario**

- Envases esterilizados para colecta de muestras
- Etiquetas para rotulación
- Cinta de sellado de muestra
- Recipiente térmico para trasportar muestras
- Libreta de registro
- Hojas de muestreo
- Base de datos digital – EXCEL
- Sistema de análisis Estadístico INFOSTAT
- Laptop

### 3.3 Métodos

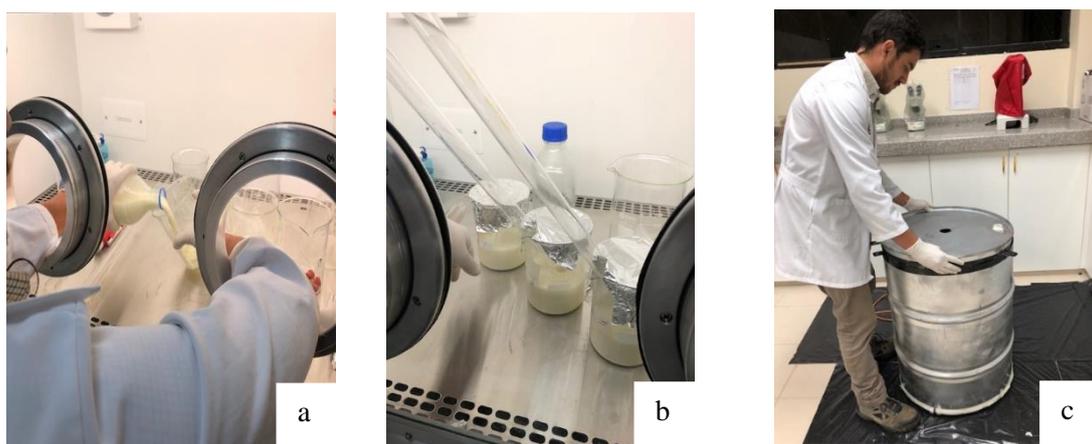
#### 3.3.1 Flujo del proceso



### 3.3.2 Metodología

#### 3.3.2.1 Instalación del ensayo

Se tomó en total 1,8 litros de cada uno de los ordeños (mañana y tarde), la recolección se realizó en 2 envases herméticos de 1000 ml cada uno, previamente esterilizados. Dentro de la cámara de flujo laminar Thermo Phorma 21849 – 22810967, el volumen fue dispensado en 12 muestras de 150 ml cada una, en vasos de precipitación (Figura 9a) y posteriormente sellado con papel aluminio (Figura 9b). Para el reactor de luz UV-C, se utilizó un cilindro de 0,89 m de diámetro en el cual se colocaron 6 lámparas de luz ultravioleta de 9 voltios, conectados a tres balastos de 24 voltios. Para potenciar dichas lámparas se ubicó sobre un fondo negro y sellado para evitar pérdidas luz, ingreso de contaminantes y contacto directo con la irradiación, también se forró la periferia interna del cilindro con espejos de 70 cm de largo por 14 cm de ancho, formando así una cámara de luz ultravioleta que nos permite aprovechar al máximo las ondas emitidas dentro del reactor (Figura 9c). Se realizó agitación a 6000 revoluciones por minuto, para obtener la misma turbulencia que se obtiene dentro de un espiral de 2 cm de diámetro interno y 4mm de inclinación entre cada vuelta.



**Figura 9** a. Dispensación de leche en muestras de 150 ml en vaso de precipitación  
b. Muestras selladas con papel aluminio con tubo para irradiación c. Instalación de reactor de luz UV-C.

### 3.3.2.2 Toma de muestras

El muestreo de la leche en el ordeño, se llevó a cabo diariamente, durante 30 días consecutivos 2 veces por día. Las muestras de leche fueron obtenidas en el del proyecto de ganadería lechera de la hacienda “El Prado”, (4 am y 3 pm diariamente), se recolectó un volumen de 1800 ml para el análisis. La toma de muestra se realizó directamente del tanque de almacenamiento y enfriamiento después de su homogenización y estabilización a 4 °C de temperatura, en un envase sellado, previamente esterilizado (Figura 10a).

La muestra de 1800 ml recolectada, se trasladó al laboratorio de Sanidad Animal, y se trabajó dentro de la cámara de flujo laminar, donde se encontraban los vasos de precipitación estériles para dosificar las muestras de leche. Se rotuló cada muestra y posteriormente se llevaron hacia el reactor para la irradiación para cada uno de los tratamientos (Figura 10b). Se irradiaron las 3 muestras por tratamiento, simultáneamente, mientras el control permaneció dentro de la cámara de flujo, hasta que los 12 envases pasaron por el proceso en el reactor.



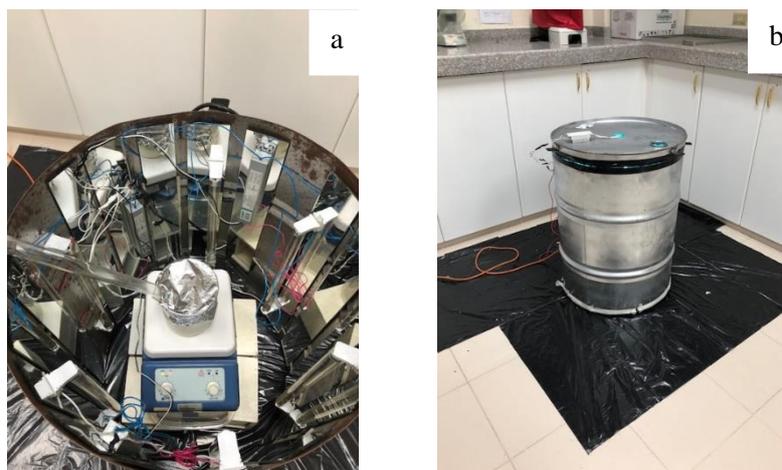
**Figura 10** a. Toma de muestra directamente del tanque de almacenamiento y enfriamiento de las instalaciones de la Hacienda “El Prado” b. Rotulación de muestras y traslado a irradiación.

### 3.3.2.3 Proceso de irradiación UV

Previo a la irradiación del producto, se dejó encendida la luz UV-C en el reactor por un período de 10 minutos post limpieza con alcohol al 98%. De acuerdo a las especificaciones del proveedor de focos ultravioleta UV-C, estos tienen un rango de efectividad de hasta 1,20 metros, sin embargo son más eficientes a los primeros 0,70 metros desde el punto de emisión. Al combinar 6 tubos en un reactor confinado con espejos refractivos, se garantizó una irradiación homogénea a todas las partículas de leche. Se ingresó un tubo de cuarzo con el que se aisló la lámpara UV-C que fue introducida en las muestras y se encontraba sincronizada con los focos del perímetro del reactor, proporcionando la irradiación de acuerdo al tratamiento. Para generar una turbulencia mayor a 2400 Reynolds, se programó el agitador de 3 cm de diámetro a 6000 revoluciones por minutos (rpm), dentro del reactor, para irradiar las muestras de acuerdo a los tiempos establecidos en los tratamientos (Figura 11a).

Una vez sellado el reactor se activó el agitador y luego de 4 segundos se activaron los focos periféricos del reactor y la lámpara de irradiación, que se encontraba dentro de la muestra (Figura 16b). Las tres muestras de cada tratamiento fueron irradiadas simultáneamente y se aplicaron los tratamientos con el uso de un temporizador, controlando: 15, 20 y 25 segundos de exposición, correspondientes a los tratamientos establecidos.

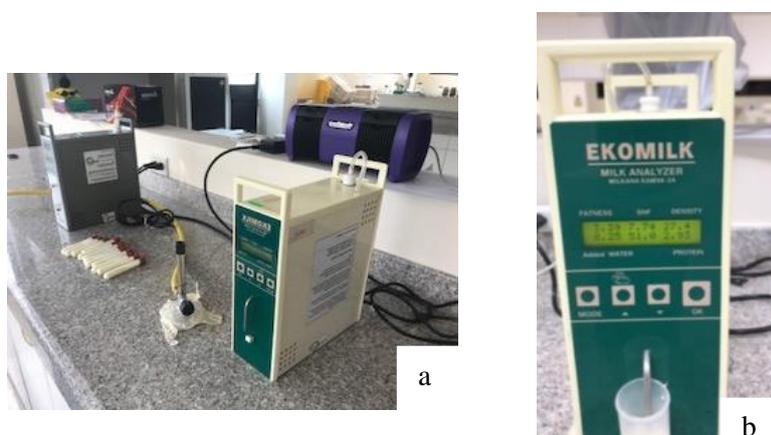
Para el caso del control, las muestras permanecieron dentro de la cámara de flujo previamente selladas, hasta tener el total de muestras (12 tratamientos) y se procedió a realizar la siembra para los análisis posteriores.



**Figura 11** a. Muestras colocadas dentro del reactor en continua agitación y turbulencia mayor a 2400 Reynolds se rpm b. Muestras en proceso de irradiación con luz UV-C

#### 3.3.2.4 Análisis calidad de leche

Las muestras sometidas a los tratamientos de irradiación se procesaron utilizando el equipo EKOMILK 120® (Figura 12a), equipo diseñado para análisis fisicoquímico de la leche, el cual succiona 40 ml muestra de leche y la somete al paso de una onda de ultrasonido, un microprocesador traduce los resultados midiendo porcentaje de grasa, sólidos totales, porcentaje de proteína, densidad y crioscopía (Figura 12b). El equipo tarda 1 minuto y 20 segundos, aproximadamente, en desplegar los resultados de cada análisis, y requiere de enjuague con 120 ml de agua destilada para proceder a la siguiente muestra.



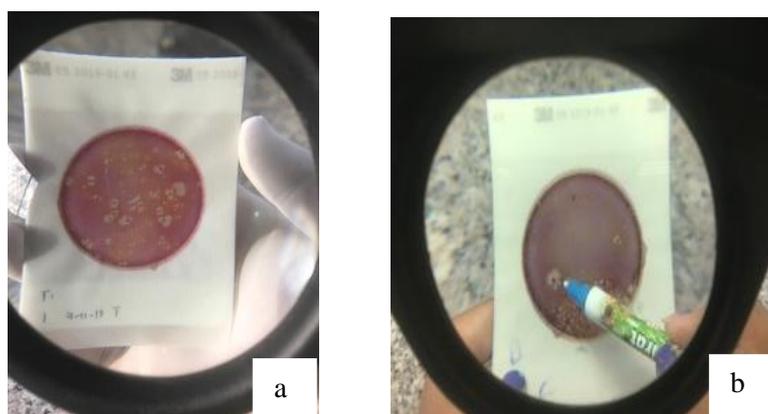
**Figura 12** a. Muestras de leche para procesamiento en Ekomilk b. Visualización de resultados de análisis de calidad de leche.

### 3.3.2.5 Análisis cualitativo de UFC

El análisis cualitativo fue desarrollado, utilizando el equipo SPEEDY BREEDY®, inyectando un volumen de 50 ml en cada cámara con medio selectivo, proporcionando las condiciones de temperatura y presión ideales, se determinó la presencia significativa de UFC en el control de cada una de las muestras tratadas, el equipo permitió analizar 2 muestras simultáneamente, las cuales expresaban el resultado en un tiempo aproximado de 6 horas.

### 3.3.2.6 Conteo de UFC

La identificación y conteo de unidades formadoras de colonias, se aplicó a las 360 muestras, utilizando placas 3M Petrifilm *Enterobactereaceae*, que contiene nutrientes del medio VRBG modificado (Figura 13a) Se utilizó una micropipeta de 1ml para dispensar el volumen requerido en la parte central de la placa, se cubrió con la lámina protectora, evitando formar burbujas de aire. Se incubaron durante 24 horas, a una temperatura de 37°C. Las placas permitieron determinar el número de colonias coloreadas, ya que eran identificadas por la coloración rojiza o rojiza amarillenta y se rodean de una burbuja de gas capturado por la película que protege el medio de cultivo inoculado (Figura 13b).



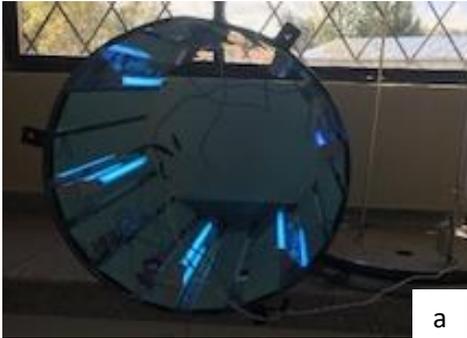
**Figura 13** a. Visualización de crecimiento de colonias en placas Petrifilm b. Conteo de UFC en placas Petrifilm.

### 3.3.2.7 Diseño y establecimiento de protocolo equipo Irradiación

En el área de ganadería especializada en producción lechera de la hacienda “El Prado”, se probó el equipo en espiral capaz de mejorar la calidad de la leche, con el fin de estandarizar un proceso y determinar el mejor uso de una herramienta con alto potencial esterilizante como es la luz ultravioleta (Figura 14g).

Se diseñó un espiral de vidrio templado, grado alimenticio con un diámetro interno de 2 cm y longitud de 1,8 m, cada tubo que se moldeó y fue injertado hasta lograr una longitud total de 9,3 metros, dispuestos en espiral de 4 mm de separación por vuelta, generando una inclinación de 3% en un diámetro interno de 0.40 cm (Figura 14 e y f). Este se acopló a un tanque colector con capacidad de 80 litros por medio de mangueras y válvulas de  $\frac{3}{4}$  pulgada para permitir o restringir el flujo de acuerdo a la necesidad (Figura 14b). Estas medidas fueron calculadas para garantizar un flujo laminar turbulento (mayor a 2400 Reynolds), con un caudal promedio de 12 litros por minuto en base a las características del sistema de ordeño, el cual consta de 8 puestos y trabaja con una presión de 40 psi, en un sistema de abastecimiento directo en espina de pescado al tanque de almacenamiento en frío, se desarrollaron pruebas virtuales en modelos tridimensionales (3D) de acuerdo a la viscosidad del fluido para analizar el comportamiento del mismo y evaluar el flujo turbulento teóricamente (Figura 14d). Se calculó con un caudal de 18 litros por minuto, a nivel experimental se probó hasta con 16 litros por minuto, sin ningún inconveniente en el equipo (Figura 14h).

El reactor de luz UV-C, está compuesto de un cilindro de 0,89 m de diámetro en el cual se colocaron equidistantemente 6 lámparas de luz ultravioleta de 9 voltios en la periferia, conectados a tres balastos de 24 voltios produciendo una potencia total de 1,6 Joules (Figura 14 a y c).



a



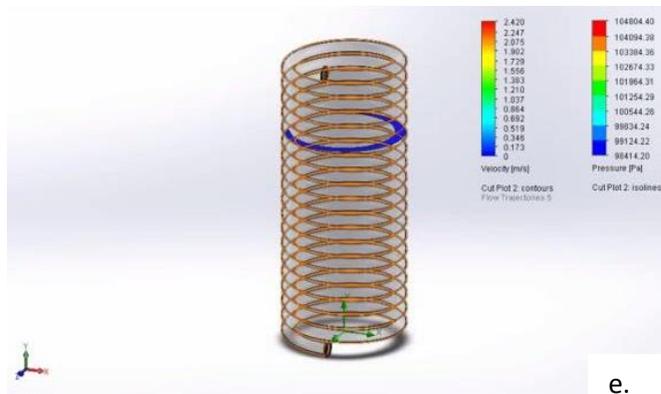
b



c.



d.



e.



f.



g.



**Figura 14** a. Disposición 6 lámparas UV-C dentro de reactor. b. Reactor de luz UV-C con espejos en periferia y agitador en el centro. c. Instalación colector 80 litros leche cruda. d. Fabricación de reactor. e. Modelo 3D espiral y pruebas de fluidos virtuales f. Pruebas volumétricas y caudal en espiral. f. Pruebas con espiral en altura de diseño. g. Ubicación de reactor en proyecto de ganadería lechera IASA No.1 f. Pruebas de capacidad y flujo de equipo instalado.

### 3.3.3 Diseño Experimental

#### 3.3.3.1 Factores a probar

El factor evaluado en esta investigación, fue el tiempo óptimo de irradiación UV-C con longitud de onda de 254 nm a un voltaje de 9 vatios. Los niveles establecidos de acuerdo a referencias (Oliveira, 2012) y (Falguera *et al.*, 2011) en desinfección alimenticia con luz UV, fueron 15, 20 y 25 segundos.

#### 3.3.3.2 Tratamientos a Probar

Los tratamientos para la evaluación sobre la inocuidad y calidad de la leche cruda en la hacienda “El Prado”, se detallan en la Tabla 6.

**Tabla 6**  
*Descripción de tratamientos*

<b>Tratamiento</b>	<b>Niveles de irradiación</b>
	(Muestras de 150 ml)
T <sub>1</sub>	0 segundos de irradiación UV-C
T <sub>2</sub>	15 segundos de irradiación UV-C
T <sub>3</sub>	20 segundos de irradiación UV-C
T <sub>4</sub>	25 segundos de irradiación UV-C

### 3.3.3.3 Tipo de diseño

Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) unifactorial con 3 repeticiones.

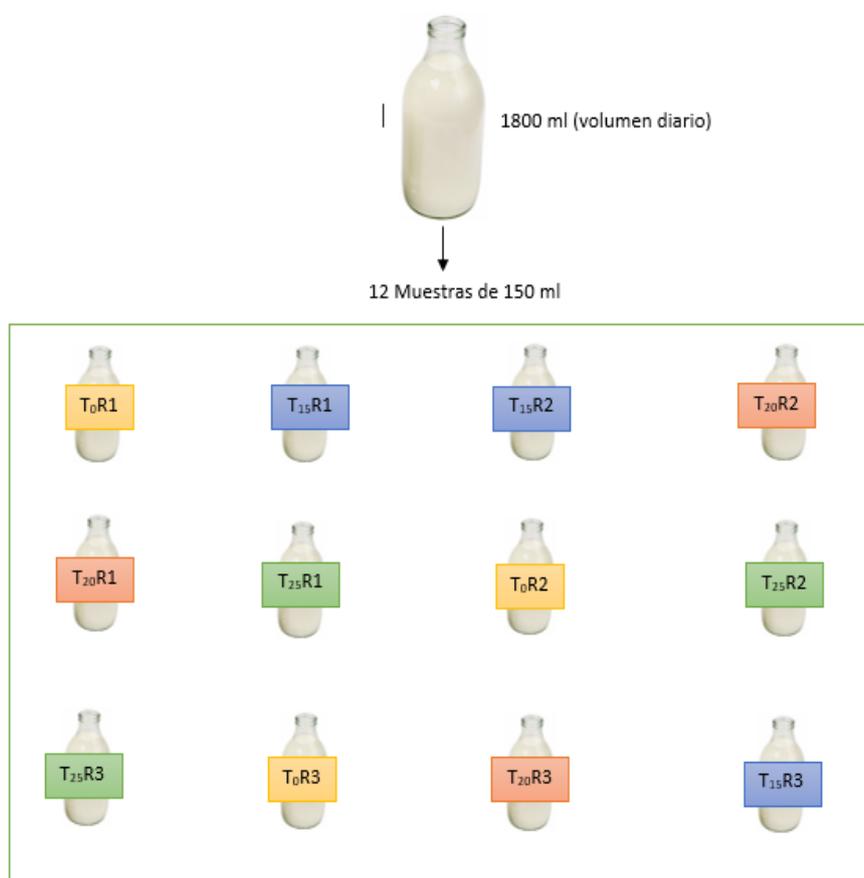
### 3.3.3.4 Características de las Unidades experimentales

La unidad experimental fue la muestra de 150 ml de leche cruda obtenida del tanque frío una vez estabilizada la temperatura a 4°C. Se obtuvieron 360 muestras durante un mes de muestreo en las dos jornadas de ordeño.

Las doce muestras fueron distribuidas de manera aleatoria para cada uno de los tratamientos. Estas fueron trasladadas de acuerdo al tratamiento asignado hacia el reactor para ser colocadas en los agitadores. Se selló el reactor para impedir la salida de luz UV-C y poder activar los interruptores que dieron inicio a cada uno de los tratamientos.

Las muestras fueron tratadas con los 3 tiempos de irradiación (15, 20 y 25 segundos), mientras se proporcionaba una turbulencia constante mayor a 2400 Re garantizando un movimiento caótico de las partículas y pequeños remolinos que permitieron irradiar todo el volumen de manera uniforme. Al completar las 12 muestras fueron dispuestas en los recipientes y placas para los análisis fisicoquímicos y microbiológicos respectivamente

### 3.3.3.5 Croquis del diseño



**Figura 15** Croquis del diseño experimental

### 3.3.4 Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico Infostat 2015, con un diseño completamente al azar con 3 tratamientos, un testigo y 3 repeticiones.

**Tabla 7**

*Análisis de varianza para un DCA con 4 tratamientos y 3 repeticiones.*

Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos	3
Error experimental	8
Total	11

El modelo matemático del diseño para la investigación fue:

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

$y_{ij}$  : Variable de respuesta en el contenido de UFC.

$\mu$ : media general

$\tau_i$  : Efecto del tratamiento  $i$ -ésimo nivel de irradiación UV-C

$E_{ij}$ : Error experimental

### 3.3.5 Análisis funcional

Para la evaluación de las variables y la presentación de resultados se utilizó un análisis de varianza (ANAVA), con el sistema informático estadístico InfoStat 2015 versión libre. Para el caso de las variables conteo total de UFC, se realizó la transformación de los valores con la función raíz cuadrada y se realizó el análisis de varianza utilizando el modelo lineal general y mixto al igual que para crioscopía o punto de congelamiento, posteriormente se utilizó la función de homogeneidad de varianzas VARPONER.

Para el caso de porcentaje de proteína, porcentaje de grasa, sólidos totales y densidad no fue necesario realizar transformaciones, se aplicó análisis de varianza de identidad.

Se realizó el análisis de varianza y la prueba de significancia según la prueba  $t$  de Student a un nivel  $\alpha=0,05$ ; con un 95% de confiabilidad. Y se realizó la prueba LSD Fisher para comparación de medias.

### 3.3.6 Variables medidas

La calidad de leche fue evaluada con el análisis físico químico de la leche cruda, porcentaje de grasa, sólidos totales, porcentaje de proteína, densidad (g/ml).

La inocuidad de leche, fue determinada de acuerdo a la presencia significativa y al conteo total de colonias (UFC) inoculadas en Placas 3M Petrifilm de *Enterobactereacea*, después del período de incubación respectivo

## CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Resultados

#### 4.1.1 Conteo Unidades Formadoras de Colonias - UFC

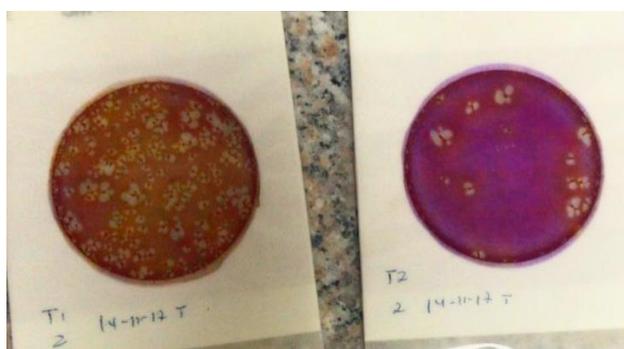
Las muestras de leche no irradiadas presentaron mayor cantidad de UFC que el resto de las muestras ( $F_{3,8} = 165,82$ ;  $p < 0,0001$ ) (Tabla 8). El tratamiento con 0 segundos de irradiación UV-C, al volumen de la muestra de 150 ml, fue el que mayor cantidad de UFC registró. En la Figura 19 se aprecian las UFC en muestras no irradiadas e irradiadas durante 15 segundos. En las muestras irradiadas se observa la disminución de UFC, después del tratamiento de irradiación con luz ultravioleta.

**Tabla 8**

*Promedio  $\pm$  e.e. de Unidades Formadoras de Colonia por milímetro en muestras de leche bajo el efecto de 4 tratamientos de desinfección con irradiación UV-C.*

Tratamiento	UFC/ml
T <sub>1</sub>	111,36 $\pm$ 4,73 a
T <sub>2</sub>	26,88 $\pm$ 2,18 b
T <sub>3</sub>	24,54 $\pm$ 2,19 b
T <sub>4</sub>	23,93 $\pm$ 2,33 b

(1)Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ), mientras que medidas con diferente letra son significativamente diferente al 5% según LSD Fisher.



**Figura 16.** Unidades Formadoras de Colonias en muestras a. Muestras con 0 segundos de irradiación UV-C 0 segundos b. Muestras con 15 segundos de irradiación UV-C.

## 4.1.2 Calidad de leche

### 4.1.2.1 Porcentaje de proteína, grasa y sólidos no grasos.

El porcentaje de proteína, porcentaje de grasa y el porcentaje de sólidos no grasos en las muestras de leche no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ( $F_{3,8} = 0,64$ ;  $p = 0,5871$ ), ( $F_{3,8} = 0,40$ ;  $p = 0,7503$ ), ( $F_{3,8} = 1,70$ ;  $p = 0,1677$ ) respectivamente (Tabla 9 y Anexo 13).

**Tabla 9**

*Promedio  $\pm$  e.e del porcentaje de proteína, grasa y sólidos no grasos en muestras de leche bajo el efecto de 4 tratamientos de desinfección con irradiación UV-C.*

Tratamiento	Proteína %	Grasa %	Sólidos no grasos %
T <sub>1</sub>	3,03 $\pm$ 0,00 a	3,36 $\pm$ 0,02 a	8,00 $\pm$ 0,01 a
T <sub>2</sub>	3,04 $\pm$ 0,00 a	3,37 $\pm$ 0,01 a	8,02 $\pm$ 0,01 a
T <sub>3</sub>	3,02 $\pm$ 0,01 a	3,38 $\pm$ 0,01 a	8,03 $\pm$ 0,01 a
T <sub>4</sub>	3,04 $\pm$ 0,01 a	3,35 $\pm$ 0,01 a	8,02 $\pm$ 0,01 a

(1) Medias con la misma letra indican no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ), 5% según LSD Fisher.

### 4.1.2.2 Densidad, crioscopía y agua añadida

La densidad, crioscopía (punto de congelamiento) y porcentaje de agua añadida en las muestras de leche, no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ( $F_{3,8} = 0,47$ ;  $p = 0,7038$ ), ( $F_{3,8} = 0,33$ ;  $p = 0,8050$ ), ( $F_{3,8} = 0,98$ ;  $p = 0,4550$ ) respectivamente (Tabla 10 y Anexo 16).

**Tabla 10**

*Promedio  $\pm$  e.e de la densidad g/cm<sup>3</sup>, crioscopia (°C) y porcentaje de agua añadida en muestras de leche bajo el efecto de 4 tratamientos de desinfección con irradiación UV-C.*

<b>Tratamiento</b>	<b>Densidad (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Crioscopia (°C)</b>	<b>Agua añadida %</b>
<b>T<sub>1</sub></b>	28,20 $\pm$ 0,06 a	-0,55 +0,00 a	0,00 $\pm$ 0,00 a
<b>T<sub>2</sub></b>	28,22 $\pm$ 0,06 a	-0,54 +0,00 a	0,01 $\pm$ 0,00 a
<b>T<sub>3</sub></b>	28,29 $\pm$ 0,05 a	-0,55 +0,00 a	0,00 $\pm$ 0,00 a
<b>T<sub>4</sub></b>	28,22 $\pm$ 0,05 a	-0,54 +0,00 a	0,01 $\pm$ 0,00 a

(1) Medias con la misma letra indican no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ), 5% según LSD Fisher.

#### **4.1.2.3 Protocolo de desinfección leche cruda con luz ultravioleta.**

Para obtener los mejores resultados se dispusieron una serie de pasos que garantizan disminución significativa de contenido microbiano en la leche de la hacienda “El Prado”. Este protocolo se apoyó en prácticas pre y post ordeño ya que es en el procedimiento de extracción donde existe el mayor riesgo de contaminación.

##### **4.1.2.3.1 Prácticas pre-ordeño**

- Utilice las barreras necesarias (guantes, cofia, delantal impermeable, botas de caucho), así como cuidar de la salud y limpieza de los operadores.
- Realice un control periódico a los cuartos mamarios para evitar problemas de salud de los animales (test de California Mastitis Test CMT) y lleve un registro de productividad y de sanidad de cada vaca.
- No arroje leche al suelo, vierta los 2 o 3 chorros de leche de cada pezón en un jarro de despunte y examine la leche por si hay coágulos, cambios de coloración u otras inconsistencias)
- Estandarice el proceso de ordeño (hora, orden de animales, limpieza, etc.), los animales enfermos se dejarán para el final del proceso para evitar contaminación cruzada entre ellos.

- Desinfecte y seque los pezones antes del ordeño (nunca se deberá usar el mismo papel o toalla para más de una vaca)

#### **4.1.2.3.2 Prácticas durante el ordeño**

- Compruebe el nivel de vacío, la frecuencia y la relación de pulsación deben estar de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.
- Coloque la unidad de ordeño adecuadamente evitando la entrada de aire durante la colocación y compruebe la posición de la unidad de ordeño antes de pasar al siguiente animal.
- Evite el sobre-ordeño
- Retire la unidad de ordeño correctamente, desconectando el sistema de vacío hasta que descienda totalmente antes de retirar la unidad de ordeño.

#### **4.1.2.3.3 Prácticas post-ordeño**

- Realice el sellado de pezones (sumerja los pezones en el sellador en cuanto se haya retirado la unidad de ordeño).
- Limpie y desinfecte todo el equipo de ordeño, utilizando detergentes recomendados y en base a las instrucciones de dosificación, rutina y temperatura
- Treinta minutos antes de iniciar el ordeño desinfecte el sistema.
- Retire las unidades de ordeño de las velas de lavado y deje que el sistema y las unidades de ordeño se sequen.

#### **4.1.2.3.4 Desinfección de leche con Luz Ultravioleta**

- Active el sistema de Luz UV-C una vez que se encienda el equipo de ordeño.

- Revise horas de funcionamiento, registre los datos en formato de control y mantenimiento.
- Revise que no existan impurezas o taponamientos para garantizar flujo turbulento dentro del espiral de irradiación  $Re > 2400$
- Irradie por un tiempo mínimo de 15 seg para garantizar desinfección de 70%
- Active temporizador de lámparas UV- C en tanque frío con encendido automático cada 30 segundos por 1 minuto.

#### **4.1.2.3.5 Prácticas manejo de leche**

- Asegure un correcto enfriamiento de la leche (4°C)
- Limpie los tanques de enfriamiento y almacenamiento de leche inmediatamente después de vaciarlos, con detergentes aprobados.
- Controle regularmente los resultados del ordeño de acuerdo a la información emitida por planta procesadora.
- Realice un mantenimiento preventivo sistemático, incluyendo la sustitución de pezoneras, tubos y otros repuestos.

## **4.2 Discusión**

Este estudio generó como resultado una disminución en el total de UFC de 75,86% para T2 (irradiación de 15 segundos), 77,97% para T3 (irradiación de 20 segundos) y de 78,51% para T4 (irradiación de 25 segundos) (Tabla 3). Estos resultados concuerdan con lo reportado por (Makt *et al.* 2007) que indica una disminución de  $2,3 \times 10^2$  UFCmL<sup>-1</sup> u 80% menos UFCmL<sup>-1</sup> después de un proceso de irradiación de leche en platos Petri.

En el estudio realizado por (Choudhary & Bandla, 2012) se obtiene una disminución de cerca al 60% al aplicar luz ultravioleta UV-C usando lámparas con 644 J y números de Reynolds de 713 en un reactor, sin embargo esta diferencia de efectividad puede haber sido

menor a la del estudio realizado por la falta de turbulencia en el flujo que debe ser mayor a 2400 Reynolds y la potencia de 1,6 Joules con la que fueron irradiadas las muestras.

En este estudio al igual que en el reportado por (Christen, Tat Lai, Hartman, Hartman, & Geddes, 2013) no existe afectación en las características físico-químicas de la leche ( $P > 0,05$ ), se puede asegurar que el uso de luz genera mejores condiciones de inocuidad de la misma, sin causar daños en la calidad del producto. Sin embargo existe una ligera tendencia de la leche a sufrir oxidación de las grasas, mientras la exposición a irradiación sea más prolongada, presentando concordancia con (Fine & Gervais, 2004) que afirman que la irradiación puede causar problemas muy serios, ya que no sólo se produce una modificación de las características organolépticas del producto, sino que además ésta implica una alteración del alimento.

Una lámpara insertada dentro del fluido más las lámparas periféricas generan un bombardeo constante a todas las muestras con 1,6 Joules durante los tiempos requeridos por tratamiento, llegando desde 111,36 UFC/ml de la muestra control a 26,88 UFC con apenas 15 segundos de tratamiento C (Tabla 3). Sin embargo, la apreciación de (Koutchman *et al.* 2007), manifiesta que la leche contiene partículas de diferentes tamaños y la dispersión de estas genera pérdidas en la energía irradiada, por tanto los fluidos más opacos no tendrán una buena desinfección por su turbidez.

Los resultados significativos para la disminución del conteo de colonias al realizar aplicaciones de Luz Ultravioleta, coinciden según Lukas Christen (2013) director de estudios de irradiación en leche humana para bancos de almacenamiento en Europa, logrando hasta un 98% de desanexión, a la vez promueve el uso de la tecnología UV en la leche y otros productos dentro de la industria alimentaria.

El estudio realizado y afines al mismo generan mayores beneficios para las explotaciones lecheras del país, ante la constante preocupación por la calidad de producto que se comercializa día a día según datos de (MAGAP, 2015) llegando hasta a  $5 \times 10^6 \text{UFCml}^{-1}$  en leche cruda dentro de la región sierra.

La capacidad de conservar los beneficios que los productos poseen naturalmente, de tal manera que los procesos agroindustriales eviten alteraciones en las características físico-químicas, según (Murphy, 2011) deberían incluirse dentro de la normativa legal alimentaria de cada nación. Por lo tanto la irradiación de leche con luz UV-C se considera una buena alternativa no térmica para la pasteurización de la leche.

## CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

Al evaluar el efecto de luz UV-C de 254 nm con una potencia de 9 voltios como desinfectante de la leche en la Hacienda “El Prado” se generó una disminución de hasta 78,51% de UFC para las muestras analizadas, siendo el tratamiento con mayor tiempo de exposición (25 segundos) el que presentó mayor efectividad en la inactivación de microorganismos.

La calidad nutricional fue determinada en base a análisis físico-químicos de las muestras de cada uno de los tratamientos y el control, concluyendo que ésta no es afectada por la irradiación, ya que no se registraron diferencias significativas en el porcentaje de proteína, porcentaje de grasa, porcentaje de sólidos no grasos, crioscopía y densidad, sin embargo, la que más sensibilidad a la irradiación presenta fue el porcentaje de de grasa. Por otro lado en cuanto al conteo total de UFC existieron diferencias significativas entre el control y los tratamientos ( $P < 0,0001$ ) pero no entre ellos ( $P < 0,0001$ ), de tal manera que las condiciones microbiológicas de la leche tratadas mejoran con el uso de la tecnología UV-C.

De acuerdo al estudio realizado, el sistema de irradiación en espiral con el que se llevaron a cabo las pruebas directamente en el sistema de ordeño de la Hacienda “El Prado”, beneficia la calidad de la leche almacenada y entregada a plantas procesadoras, generando ingresos más altos, tanto para el productor como para la industria, garantizando un producto de mayor calidad, dentro del mercado nacional. Las empresas dedicadas a la distribución y comercialización de leche y productos lácteos fortificados, exigen cada vez productos inocuos y que provengan de manejo sanitarios más eficientes, por lo tanto se ha generado un protocolo de desinfección tomando en cuenta la rutina en las jornadas de ordeño, la capacidad instalada y la infraestructura con la que cuenta la institución.

## 5.2 Recomendaciones

Se recomienda capacitación constante en buenas prácticas de manejo, uso de tecnología UV-C y cuidado animal, con información calificada. Cualquier tipo de innovación, viene acompañada de un proceso de transición, en el que se debe precautelar el bienestar animal y del personal que permite desarrollar todas las actividades en el campo.

Para la adaptación de un sistema de desinfección, y al ser éste, el primer estudio realizado en esta rama, se obtuvieron excelentes resultados con los 3 tiempos de irradiación 15 s, 20 s y 25 s, por lo que se debería profundizar en métodos similares para aprovechar de mejor manera la energía disponible, utilizando métodos alternativos de bajo impacto ambiental y de gran apoyo para el fortalecimiento de la industria láctea.

Se recomienda también homogenizar la leche utilizando presión a través de una rejilla de 180 -200 nm con lo cual se garantiza que las partículas tengan un tamaño uniforme, que permita un flujo de luz más admisible y una mejor absorbancia de este modo se podría reducir el consumo energético y de suministros para el funcionamiento del reactor y del sistema de desinfección.

### 5.3 Bibliografía

- Alais, C., & Lacasa Godina, A. (2003). *Ciencia de la leche: principios de técnica lechera*. París: Reverté S.A.
- Ávila Téllez, S. (1998). UNAM. Facultad de Veterinaria y Zootecnia:  
<http://vaca.agro.uncor.edu/~pleche/material/Material%20II/A%20archivos%20internet/Maquinainstala/capli5.pdf>.
- Avnimelech, Y. (26 de 11 de 2012). *Biofloc Technology - A Pratical Guide Book*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States: 2. Ed. Obtenido de The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
- Choudhary, R., & Bandla, S. (2012). *Ultraviolet Pasteurization for Food Industry. International Journal of Food, Science and Nutrition engeniering, 12-15.*
- Christen, L., Tat Lai, C., Hartman, B., Hartman, P., & Geddes, D. (2013). *Ultraviolet - C Irradiation: A novel Pasteurization Method for Donor Human Milk. OPEN ACCESS, 1-6.*
- CONAPROLE. (2009). *Uso y Mantenimiento Equipo de ordeño. INIA, 1-18.*
- Contero, R. (2008). *La calidad de la Leche: un desafío en el Ecuador. . La Granja, 25-28.*
- Cucba, L. (3 de 11 de 2012). *Universidad de Guadalajara*. Obtenido de Red universitaria de Jalisco - Alumnos Egresados Académicos Administrativos:  
<http://www.udg.mx/es/noticia/frecuentes-enfermedades-transmisibles-por-la-leche>
- EPA. (5 de 2 de 2011). *Ultraviolet disinfection guidance manual for the final long term to enhanced surface water treatment rule. USA: Enviromental Protection Agency. .* Obtenido de <http://www.epa.gov/dwreginfo/long-term-2-enhanced-surface-water-treatment-rule-docu>
- Falguera, e. a. (2011). *Ultraviolet processing of liquid food: A review: Part 2: Effects on microorganisms and on food components and properties*. Food Research Intenational, 1580-1588.
- FAO. (11 de 23 de 2012). *Visión general del sector acuícola nacional, Ecuador*. Obtenido de [http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_ecuador/es](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_ecuador/es)
- FAO. (21 de 11 de 2016). Obtenido de <http://www.fao.org/aquaculture/es/>
- FAO. (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y nutrición para todos, 8-23.*

- Fine, F., & Gervais, P. (2004). *Efficiency of Pulsed UV Light for microbial decontamination of Food Powders*. *Food Protect*, 787-792.
- Fox, P., & McSwenney, P. (1 de 2 de 1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Nova Iorque. Obtenido de <http://link.springer.com/book/10.1007%2F978-3-319-14892-2>.
- García, E. (2009). *Riunet*. Obtenido de Recuperado el 2016 de 3 de 8, de Universidad Politécnica de Valencia:  
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/38380/Eva%20Garc%C3%ADa.%20Calidad%20leche-2014.pdf?sequence=1>
- Hayes, M., & Boor, K. (2001). *Applied Dairy Microbiolog*. En E. Marth, & J. STEELE, *Applied Dairy Microbiology* (pág. 745). New York: Marcel Dekker.
- Howarth, C. (2007). *UV disinfection shows promise*. .Disponible en:  
<http://www.hanovia.com/uv-technology/>.
- INEN. (2012). Recuperado el 6 de 08 de 2016, de Instituto Ecuatoriano de Normalización :  
<https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0009.2008.pdf>.
- Infostat. (2015). *Infostat*. Recuperado el 11 de Marzo de 2015, de InfoStat Software Estadístico: <http://www.infostat.com.ar/>.
- INFRALIGHT. (2008). *Ingraligth*. Recuperado el 9 de 1 de 2016, de Apllications of Ultraviolet Light: [http://www.infralight.com.au/Ultraviolet\\_Technology.html](http://www.infralight.com.au/Ultraviolet_Technology.html).
- Koutchma, T., Forney, L., & Moraru, C. (2009). *Utraviolet light in food technology*. Principles and applications. CRC Pres, 296.
- LIT. (2013). *LIT ultraviolet technology*. Recuperado el 06 de 1 de 2016, de Technology:  
<http://www.lit-uv.com/technology/>.
- López, B. (26 de 11 de 2011). *Elaboración de un probiótico a base de microorganismos nativos y evaluación de su efecto benéfico en el proceso digestivo de la tilapia roja en estapa de engorde en la zona de Santo Domingo*. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/211/10/03%20AGP%2085%20REVICION%20LITERARIA.pdf>
- López-Malo, A., & Palou, E. (2005). *Ultraviolet light and food Preservation*. En G. Barbosa, & G. Cánovas, *Novel Food Processing Technologies* (págs. 405-419). Disponible en: <http://books.google.com.br/books?id=fpZ1Vpf17JkC&pg=PA414&lpg=PA414&dq=Shama,+G.+>
- MAGAP. (11 de 23 de 2015). *Estado actual y proyección de la Acuicultura continental en el Ecuador*. Obtenido de <http://acuicultura.espe.edu.ec/wp-content/uploads/2016/05/1->

Estado-y-Proyecci% C3%B3n-de-la-Acuicultura-Ecuatoriana-Alejandro-de-la-Roche.pdf

- Matak, K. E., & Pierson, M. D. (2005). *Efficacy of UV light for the reduction of Listeria monocytogenes in goat's milk*. Journal of Food Protection, 68 (10): 2212-2216.
- Michalski, M.-C., Briard, V., & Michel, F. (2001). Optical parameters of milk fat globules. *INRA EDP Science*, 786-792.
- Mone, J. (1983). *Ultraviolet Water Purification. Pollution Engineering Magazine, Vol. no 12*.
- Montenegro, J. (2002). *Inactivation of E. coli 0157:H7 using a pulsed nonthermal plasma system*. Journal of Food Science, 646-648.
- Murphy, S. (2011). Fluid Milk Vitamin Fortification Compliance in New York State. *ELSEVIER Journal of Dairy Science*, 2813- 2820.
- Oliveira, P. (2012). *Efeitos do tratamento do leite por radiação ultravioleta (UV) em comparação a pasteurização. JUIZ DE FORA: UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA*.
- Páez, L., & López, N. (2002). *Características físico-químicas de la leche cruda en las zonas*. CIENTÍFICA, 4-7.
- Price, D. (2014). *Speede Breedy*. Recuperado el 28 de 6 de 2016, de <http://www.speedybreedy.com/community/>.
- Ramírez, M. (2015). *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos*. México DF: Omnia Publisher SL.
- Ruplal, C., & Srinivasarao, B. (2012). *Ultraviolet Pasteurization for Food Industry*. International Journal of Food Science and Nutrition Engineering, 4-12.
- Saavedra, M. (26 de 11 de 2006). *Introducción al Cultivo de Tilapia. Coordinación de Acuicultura*,. Obtenido de Coordinación de Acuicultura, Departamento de Ciencias Ambientales y Agrarias, Universidad Centroamericana. Managua, Nicaragua: [http://pdf.usaid.gov/pdf\\_docs/Pnadk649.pdf](http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/Pnadk649.pdf)
- Sastry, S. K., Datta, A. K., & Worobo, R. W. (2000). *Ultraviolet light. In Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Methods*. Journal of Food Science Supplement, 65 (s8): 90-92.
- Smith, G. (2000). *Dairy processing – improving quality*. Recuperado el 6 de 1 de 2016, de CRC Press: [http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?\\_EXT\\_KNOVEL\\_DISPLAY\\_bo o kid=915](http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bo o kid=915).

Vizcarra, R. (2015). *La Lecha del Ecuador - Historia de la Lechería Ecuatoriana*. Quito: Efecto Studio.

Xylem. (2011). *Xylem Water Solutions*. Recuperado el 9 de 1 de 2016, de Xylem Lest's solve water : <http://www.xylemwatersolutions.com/scs/spain/es-es/Xylem%20Espa%C3%B1a/Paginas/default.aspx>.