



Evaluar la radiación UV para la higienización de la leche en la producción artesanal de queso de hoja en la organización de lácteos La cascada en el municipio de Güicán

Karen Andrea Valero Toro

11231818407

Universidad Antonio Nariño

Programa Ingeniería Ambiental

Facultad de Ingeniería Ambiental y Civil

Bogotá, Colombia

2023

## **Evaluar la radiación UV para la higienización de la leche en la producción artesanal de queso de hoja en la organización de lácteos La cascada en el municipio de Güicán**

### ***Evaluate UV radiation for sanitation and artisanal production of leafy cheese in the organization of dairy La Cascada in the municipality of Guican***

**Valero Toro, Karen Andrea**

Universidad Antonio Nariño, Colombia, Kvalero75@uan.edu.co

#### **Resumen:**

El queso de hoja se fabrica en La empresa “lácteos la cascada” ubicada en el municipio de Guican, tiene una producción media de 750 kilos por semana de queso de hoja, pero no cuenta con los permisos sanitarios requeridos por el INVIMA, sin embargo, beneficia a más de 200 familias de la región por ello, el proyecto pretende generar un método de bajo costo que pueda disminuir la carga bacteriana para que se pueda cumplir con la resolución 2674 de 2013.

Se realizó una canaleta con una lámpara de radiación UV por donde pasó la leche en distintos tiempos, donde la canaleta se encontraba en un lugar de esterilización para evitar mayor carga bacteriana, después de eso se generó una serie de diluciones y siembra en un medio LB para luego realizar el conteo de UFC (unidades formadoras de colonias) para ver si hubo disminución de bacterias y que esta permita una adecuada higienización con fin de elaborar un queso de hoja artesanal y sin tanta carga bacteriana, con el fin de cumplir con los permisos que se necesitan en el INVIMA. Al final sí hubo disminución de UFC con el mayor tiempo de exposición en la radiación UV, en este caso fue de 5 y 10 minutos de exposición, se evidencio que la leche tratada ya contenía menos microorganismos que en el análisis inicial, indicó que la radiación UV fue efectiva.

**Palabras claves:** Queso artesanal, higienización, bajo costo

#### **Abstract:**

The sheet cheese is manufactured in The company "dairy la cascade" located in the municipality of Guican, has an average production of 750 kilos per week of sheet cheese, but does not have the sanitary permits required by INVIMA, however, It benefits more than 200 families in the region, therefore, the project aims to generate a low-cost method that can reduce the bacterial load so that resolution 2674 of 2013 can be complied with.

A trough was made with a UV radiation lamp through which the milk passed at different times, where the trough was found in a sterilization place to avoid a greater bacterial load, after that a series of dilutions and sowing in an LB medium was found. to then carry out the CFU (colony-forming units) count to see if there was a decrease in bacteria and that this allows adequate sanitation in order to make an artisanal cheese without so much bacterial load, in order to comply with the permits that are needed in INVIMA. In the end, if there was a decrease in CFU with the longest exposure time in UV radiation, in this case it was 5 and 10 minutes of exposure, it was evidenced that the treated milk already contained fewer microorganisms than in the initial analysis, indicating that the radiation UV was effective.

Translation of the abstract into English or Portuguese, the third person narrative grammatical structure must be preserved.

**Key words:** Artisanal cheese, hygiene, low cost

## INTRODUCCIÓN

Los consumidores y pequeños productores buscan alimentos seguros en Colombia y que todo alimento que se expenda directamente al consumidor tenga el correspondiente permiso de comercialización que estipula el INVIMA, cuyo objetivo es cumplir con los requisitos sanitarios de las personas que ejercen actividades de producción, fabricación, envasado, almacenamiento (Resolución 2674).

Los productos lácteos como el queso son alimentos que cuentan con un alto riesgo para la salud pública y más cuando no tienen un buen manejo en la producción (Producción y productos lácteos: Peligros para la salud, s/f); el queso de hoja es un producto artesanal elaborado tradicionalmente con leche cruda de vaca, es clasificado como un sub lácteo criollo. Este queso de hoja se fabrica en la empresa “lácteos la cascada” ubicada en el municipio de Güicán (Boyacá), tiene una producción media de 750 kilos por semana de queso de hoja, pero no cuenta con los permisos sanitarios requeridos, sin embargo, beneficia a más de 200 familias de la región. Por ello el proyecto pretende generar un método de bajo costo para el cumplimiento de la resolución 2674 de 2013, a través de tecnologías de bajo costo que permitan cumplir con la eliminación o reducción de patógenos que se encuentra en la leche y poder higienizarla para obtener queso de hoja con atributos organolépticos que caracterizan al queso de hoja artesanal, además que garantice las condiciones de higiene de la leche para que sea un proceso productivo que beneficie a las comunidades de la zona.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La presente investigación se enfocó en el estudio de la leche cruda al momento de la fabricación del queso de hoja para la higienización a bajo costo y que el producto sea reglamentado por la autoridad sanitaria.

Los pequeños productores no cuentan con asistencia técnica suficiente en la zona, no tienen los capitales requeridos para cumplir con las exigencias de las autoridades de salud y de ambiente, generando una incertidumbre económica para la economía familiar y regional. En ese sentido, el proyecto de grado pretende contribuir con una investigación que garantice las condiciones de higiene de la leche para que sea un proceso productivo que beneficie a las comunidades de la zona. La región de Güicán está ubicada a una altura promedio de 3000 msnm en la provincia de Gutiérrez, la segunda más pobre del departamento de Boyacá, adicionalmente está en la zona de las reservas ecológicas del Nevado del Cocuy, siendo ecosistemas estratégicos para el cambio climático.

La resolución 0719 del 2015 establece la clasificación de alimentos para consumo humano de acuerdo con el riesgo en salud pública (tabla 1). Primero tocó identificar la categoría del riesgo para el producto en este caso el queso, según el Anexo de la Resolución 0719 de 2015. Luego una vez identificada la clasificación del riesgo de su producto tenga en cuenta que si corresponde a un riesgo alto requiere RSA, si es riesgo medio requiere PSA o si es riesgo bajo requiere NSA, según el Artículo 37 de la Resolución 2674 de 2013 y Resolución 3168 de 2015.

Tabla 1 Clasificación de alimentos para el consumo humano.

**CLASIFICACIÓN DE ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO DE ACUERDO CON EL RIESGO EN SALUD PÚBLICA**

GRUPO	CATEGORÍA	SUBCATEGORÍA	RIESGO		
			A	M	B
1 LÁCTEOS Y PRODUCTOS DE IMITACIÓN ADICIONADOS O NO DE NUTRIENTES U OTROS BIOPROCOMPONENTES, DIFERENTES A LOS DEL GRUPO 2	1.1 Leche y derivados lácteos bebibles o cuchareables (se excluyen los productos de 1.5)	1.1.1 Leche líquida (cruda, pasteurizada, ultrapasteurizada, esterilizada). UHT,	X		
		1.1.2 Derivados lácteos bebibles o cuchareables, saborizados y/o fermentados (por ejemplo yogur, kumis, kéfir, leches cultivadas con bifidobacterias).	X		
	1.2 Leche evaporada, leche condensada	1.2.1 Leche evaporada	X		
		1.2.2 Leche condensada	X		
	1.3 Crema (nata), aceite (manteca) de mantequilla, grasa de leche anhidra "ghee"	1.3.1 Crema (nata), enteras o no; aceite de mantequilla; grasa de leche anhidra "ghee"	X		
			X		
	1.4 Leches en polvo, crema de leche en polvo y demás derivados o productos con adición de leche en polvo	1.4.1 Leches en polvo y cremas de leche en polvo	X		
		1.4.2 Derivados lácteos en polvo	X		
		1.4.3 Otros productos con adición de leche en polvo cuyo contenido de la misma no es menor al 20% m/m, distintos a los de 1.4.2	X		
	1.5 Quesos	1.5.1 Quesos frescos (no madurados)	X		
		1.5.2 Quesos madurados o semimadurados	X		
		1.5.3 Quesos fundidos	X		
		1.5.4 Quesos diferentes a los de 1.5.1; 1.5.2 y 1.5.3	X		

Fuente: Resolución 0719 del 2015

La empresa recibe 400 l al día de leche que se pasa a una caneca de 70-80 litros y se bate con un palo para que se vaya cuajando en un tiempo de 30 minutos con cuajo marschall y la dosis de esta se necesitaría por 10 litros de leche 1 g de cuajo, la cual de los 400 litros de leche solo quedaría 100 lb de cuajada, ésta se queda en la parte del fondo de la caneca por medio de la decantación y el suero queda en la superficie. Luego pasa por un proceso de lavado y prensado que demora entre 30 a 45 min para que se retire todo el suero que quedó después del lavado.

Posteriormente al prensado se pasa a una caneca para realizar la aplicación de sal, la cual no cuenta con una cuantificación exacta. Después de la sal pasa por un molino y al final solo quedan 85 lb de pasar por todos los procesos, luego se pasan a los moldes que son de distintas dimensiones (50 g, 180g, 230g, 260g, 350 g, 380 g y 430 g) y luego se ponen a la venta, el tamaño que más se comercializa es el de 260 gramos. Figura 3.

Para este análisis se contó con el apoyo de un convenio con el centro de desarrollo agropecuario y agroindustrial del SENA de Duitama bajo la cobertura del proyecto de investigación UAN: “Caracterización Del Proceso De Elaboración Del Queso De Hoja E Identificación De Puntos Críticos Y Manejo Logístico Del Producto De La Provincia De Gutiérrez Del Departamento De Boyacá.

Donde el informe muestra que el queso que ellos fabrican tiene una gran cantidad de patógenos como se puede ver en la Tabla 2, esto no permite que cumplan con los requerimientos necesarios para tener el registro INVIMA, por lo que se buscaron alternativas de bajo costo que permitan la reducción de los microorganismos en la elaboración de quesos artesanales. El manejo que se tiene al recolectar la leche Figura 1 no es la más adecuada ya que ese material que se está implementando puede contener muchas bacterias, es preferible cambiarlo por uno de aluminio.

*Figura 1. manipulación de la leche*



*Fuente: proyecto lácteos la cascada*

Después de agregar el cuajo la leche se bate para que la leche se vaya cortando como se puede ver en la figura 2. El problema es que lo baten con un palo de madera el cual absorbe la humedad y pueden tener gran cantidad de bacterias.

*Figura 2 agregación del cuajo a la leche.*




*Fuente: proyecto lácteos la cascada*

*Figura 3 moldes para el queso de hoja*



*Fuente: proyecto lácteos la cascada*

Tabla 2. Resultado análisis Microbiológico

	CENTRO DE DESARROLLO AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL INFORME DE ANÁLISIS FISCOQUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO MUESTRAS DE QUESO - DOCUMENTO DE APOYO -	SEPT. 2022

<b>Solicitante</b>	Universidad Antonio Nariño	<b>Radicado</b>	NO APLICA
<b>Atención</b>	Andrea Alfonso Piragua	<b>Dirección</b>	SENA- CEDEAGRO
<b>Fecha de Ingreso</b>	05-09-2022	<b>Fecha del Informe</b>	19-09-2022
<b>Teléfono</b>	3195916117	<b>Correo</b>	<a href="mailto:aalfonso@sena.edu.co">aalfonso@sena.edu.co</a>
<b>Análisis solicitados</b>	Análisis Microbiológico: Recuento de Coliformes fecales y totales, Hongos y levaduras y Mesófilos. Análisis Físicoquímico: Humedad y Porcentaje de proteína.		
<b>INFORMACIÓN DE LA MUESTRA</b>			
<b>Empaque primario</b>	Bolsa Ziploc	<b>Temperatura de Recepción</b>	Congelada
<b>Tipo de Muestra</b>	Queso de hoja	<b>Identificación de las muestras</b>	Guican 5
<b>NORMATIVIDAD</b>			
NTC 5894 - Productos Lácteos. Queso fresco. NTC 750 - Productos lácteos. Queso			

Requisitos	Unidad De Medida	Método referente de Análisis	Resultados	
			Guican 5	Parámetro de Aceptación
Recuento coliformes Totales	UFC/g	NTC 4458	664000	Buena Calidad: $\leq 1000$ Calidad aceptable $\leq 5000$
Recuento coliformes Fecales	UFC/g	Recuento en VRB a 45°C	71500	Buena Calidad: $\leq 50$ Calidad aceptable $\leq 100$
Recuento Mohos y Levaduras	UFC/g	NTC 4132	372000	Buena Calidad: $\leq 500$ Calidad aceptable $\leq 5000$
Recuento de mesófilos aerobios	UFC/g	NTC 4519	818000	No aplica

Análisis realizados por:

*Andrea Alfonso P.*

Andrea Alfonso Piragua  
 Profesional de apoyo laboratorios Físicoquímica y Microbiología  
 SENA CEDEAGRO Duitama

Fuente: Centro de desarrollo agropecuario y agroindustrial



La finalidad que tienen los productos que son tratados térmicamente pueden llegar a modificar sus características, tanto sensoriales, como nutricionales del alimento (Del Pilar & Díaz, s/f). Este puede ser muy costoso y las personas del municipio de Güicán no cuentan con los recursos económicos, por eso se buscaron alternativas que no requieran un proceso térmico y que sea factible. Uno de esos métodos es la radiación UV germicida que tiene como objetivo disminuir la carga microbiana y evitar su incremento en los alimentos. Es una alternativa diferente de los tratamientos convencionales y que puede favorecer a varias familias que se SUSTENTAN de este producto y que no cuentan con los suficientes recursos económicos para la higienización térmica.

## ESTADO DEL ARTE

Hoy en día, los consumidores buscan alimentos seguros que cumplan con los estándares de calidad, pero al mismo tiempo que sea mínimamente procesado y que mantenga un alto valor nutricional, que es muy demandado. Este tipo de alimentación ha motivado algunos nuevos estudios de tecnologías que permitan satisfacer esas necesidades y obtener alimentos con propiedades sensoriales muy similares a los alimentos no procesados.

Se realizó un estudio para inactivar las esporas de *B. subtilis* con UV-C. Para poder obtener las esporas se incubaron a 30 °C de 7 a 21 días hasta lograr la máxima esporulación. Los dispositivos utilizados en este estudio tienen de 1 a 2L de capacidad, alimentados por una bomba peristáltica, es capaz de regular la velocidad y el tiempo requerido para que el fluido se mueva a través de la luz UV-C, que consta de dos lámparas tubulares concéntricas y cada lámpara tiene una potencia de 55W y densidad de radiación de 41 mW/cm<sup>2</sup> a una longitud de onda de 254 nm. El líquido circula por el reactor formando una capa con un espesor de 1 mm. Volumen que puede ser irradiado simultáneamente por cada lámpara que es de aproximadamente 70 ml. (Guevara Lozano, 2018)

La temperatura se controló mediante un interruptor térmico entre 0 y 90 °C. luego de cada tratamiento, se recolectaron en tubos de 15 ml y se almacenaron a 4 °C hasta el respectivo análisis. Se inoculó la leche UHT con esporas de *B. subtilis* expuestas a diferentes dosis de radiación UV-C (20, 40, 80, 100, 120 y 160 J/ml) y con una velocidad de flujo de (1300 y 500 rpm) por equivalente de caudal ml/s a 20 °C. En leche cruda de vaca lograron una reducción de 2,65-Log<sub>10</sub> utilizando una dosis de 107,6 J/ml. Se ha demostrado que la radiación UV-C de la leche es eficaz para inactivar las esporas microbianas, aunque es necesario utilizar una dosis de al menos 100 J/ml y un caudal de 300 rpm para lograr la reducción. (Guevara Lozano, 2018)

En este estudio, se utilizaron 12 lotes de leche para determinar la reducción por medio de tratamiento de UV-C, con el objetivo de recircular la leche que se había almacenado a menos de 6 °C, durante el tratamiento UV con un intercambio de calor. con un tubo de acero inoxidable de 38 mm y 1,5 pulgadas en espiral, se colocó en un baño de agua con hielo (Rossitto et al., 2012).

El dispositivo cuenta con cuatro lámparas UV de 22 W 254 nm, una manga de cuarzo que separaba la leche de la lámpara UV, la leche se procesaba en un canal de 0,9-1,6 mm por encima de la camisa de cuarzo 4000 litros/h. la leche recibió tres tratamientos en la unidad SP-4: 0, 880 y 1760 J-litro. Después del tratamiento, la leche se filtró y se colocó en botellas de polietileno estériles llenas de 0,5 L. Las botellas de muestras de leche se almacenaron a 4 °C (almacenamiento adecuado) y 7 °C (abuso de temperatura) a 0, 7, 14, 21, 28 y 35 días después del tratamiento UV. Las muestras fueron expuestas a temperaturas de 4 y 7 °C y tiempos (0, 7, 14, 21, 28 y 35 días). Las muestras se diluyeron en tampón de fosfato de Butterfield y luego se

contaron en placa en agar de soja tríptico (TSA) para bacterias mesófilas a 30 °C durante 24 a 48 h y en agar leche para bacterias psicotróficas. bacterias a 6,5 °C durante 7 días.

Con un reactor UV que utiliza un sistema de flujo turbulento que se realizó con un láser pulsador a 248 nm para provocar una mezcla eficiente de la leche, lo que permite una distribución más uniforme de la dosis de UV. para mejorar la turbidez de la leche, lo que evita la penetración de los rayos UV, pudo lograr una reducción de 3 log en el número de mesófilos aerobios en la leche con una dosis de 1,5 kJ, litro. El sistema de flujo turbulento provoca una mezcla eficiente de la leche, lo que permite una distribución más uniforme de la dosis de UV.

En experimentos con leche fortificada, el número de bacterias disminuyó, lo que indica que a dosis superiores a 1760 J litro<sup>-1</sup> se detiene y la reducción del número decimal no aumenta, mientras que a dosis inferiores a 880 J litro<sup>-1</sup> el efecto es despreciable, por eso es recomendable estar en el rango de 800 a 1600 J litro<sup>-1</sup>. (Rossitto et al., 2012)

Un estudio realizado en Alemania se realizó experimentos con leche cruda de una granja, que se mantuvo a 4 °C para los experimentos y se compró en el mercado local leche UHT con diferentes grasas, el prototipo fabricado consta de una lámpara de mercurio con una potencia total de 20 W y una potencia UV-C de 6 W, que emite un pico de radiación a 254 nm. La leche fluye en 3,1 mm y una longitud aproximada 34,6 cm entre la pared de acero inoxidable y el cilindro de vidrio de cuarzo y las tasas de flujo que fueron de 30 y 100 l/h que pasaron a través del reactor, estos estaban regulados por una bomba peristáltica. (Gök et al., 2021)

Se utilizaron dos cepas de microorganismos para estudiar su efecto en el tratamiento. Las cuales son la bacteria *E.coli* y *Listeria innocua*, cultivadas en caldo nutritivo estándar, agitando suavemente en una incubadora con agitación a 150 rpm durante la noche. Los microorganismos fueron inoculados con diferentes tipos de leche en concentraciones de aproximadamente 10<sup>8</sup> y 10<sup>9</sup> UFC/ml. El caudal fue controlado por una bomba peristáltica y la dosis fue obtenida por el caudal y número de pases del reactor. Para cada ciclo, el líquido inoculado se bombeaba por completo a través del reactor. La leche tratada con UV-C se diluyó en una serie de diluciones de diez veces y se inoculó en agar nutritivo estándar. El recuento inicial de microorganismos relevantes fue de aproximadamente 1,31 × 10<sup>5</sup> UFC/ml en leche cruda antes del tratamiento UV-C. Reducción de 3 log de leche cruda de vaca a un caudal 4000 l/h después de la dosis UV-C estimada de aprox. 1,4 kJ/l. Se lograron resultados similares a la reducción de 3 log en este estudio con un caudal de 30 L/h después de la dosis calculada UV-C 3,6 kJ/l. El uso de energía UV-C es una tecnología no térmica prometedora que se aplica a muchas áreas. Sin embargo, aún quedan algunos desafíos por superar, uno de estos desafíos es mediante la inyección de baja energía UV en alimentos líquidos altamente absorbentes como la leche. (Gök et al., 2021)

De la siguiente investigación se obtuvo leche de un productor local en la ciudad de Beyyazi, provincia de Afyonkarahisar para determinar el efecto de la luz UV-C a diferentes temperaturas 4-25 °C en la reducción del recuento de bacterias en la leche. Se tomaron muestras de leche, se transfirió la leche a botellas de vidrio estériles y se ajustó la temperatura de las muestras de leche a 4, 8, 11, 16, 17, 21 y 25 °C mediante baño maría y refrigerador, cada muestra. Fueron expuestos a la radiación UV-C a diferentes temperaturas. (Atik & Gumus, 2021)

Se evaluaron dos factores que son el caudal que varía de 5-18 ml/min y su temperatura (4-25 °C), estas temperaturas determinan la efectividad del tratamiento UV-C y sus condiciones al ser refrigerados. El estudio se realizó en 18 muestras (Tabla 3) que incluían un control positivo, que era leche pasteurizada, y un control negativo, que era leche cruda.

Tabla 3 muestras de leche a diferentes temperaturas.

Test	Sample code	Flow rate (mL/min)	Temperature °C
1	UV11a	18	25
2	UV11b	18	25
3	UV10a	18	11
4	UV10b	18	11
5	UV9	15	17
6	UV8a	15	4
7	UV8b	15	4
8	UV7	12	25
9	UV6	11	16
10	UV5	10	8
11	UV4	8	21
12	UV3a	5	25
13	UV3b	5	25
14	UV2	5	15
15	UV1a	5	4
16	UV1b	5	4

Fuente: Atik & Gumus, 2021

Cada muestra está marcada con un código para su fácil identificación, el reactor UV-C cuenta con una unidad de acero inoxidable con un volumen de 2L, una bomba peristáltica, una columna con luz UV-C, su potencia de radiación es de 253.7 nm fue de 18 W. y tubos de conexión. El reactor tiene una doble pared por la que pasa agua fría para mantener la temperatura constante durante el tratamiento. (Atik y Gumus, 2021)

Para saber qué tan grande es la dosis de radiación UV-C, se calculó teóricamente en base al flujo de leche a través de la columna y la potencia total de la lámpara 18W.

Dosis (J/ml) = potencia de salida UV-C total (W) / caudal (ml/s)

$W = J/s$

Las muestras de leche se sellaron después de la inoculación. La viabilidad de las bacterias inoculadas después del tratamiento con UV-C se contó y determinó en agar Man Rogosa Sharpe a 30 °C después de 72 h de incubación. Las colonias representativas se contaron al final del período de incubación y los resultados se calcularon en unidades UFC/ml. La eficacia de la desactivación microbiana de UV-C puede variar en función de la carga inicial de microorganismos, la dosis de radiación utilizada y la densidad del producto. La mayor inactivación del recuento bacteriano se observó con una dosis de tratamiento de 107,8 J/ml con una reducción logarítmica de 2,69. Se encontró que la dosis de inactivación más baja (reducción logarítmica de 1,47) era de 60 J/ml. Se ha sugerido que la UV-C no debe usarse como una opción independiente, sino como una opción adicional para reducir el recuento de bacterias.

Con una velocidad de flujo de 5 ml/min y una temperatura de 25 °C, se vio que el recuento era log 10 3,25 ufc/ml. Con el mismo caudal, el recuento a 15 °C fue de log 10 3,22 ufc/mL mientras que a 4 °C fue de log 10 3,20 ufc/mL. El efecto de la temperatura en el conteo con UV no tuvo cambios significativos estadísticamente. Por el contrario, cuando se redujo la velocidad de flujo, se observó que el conteo disminuyó significativamente. El recuento mínimo de log 10 2,60 ufc/ml se alcanzó a un caudal de 10 ml/min. (Atik y Gumus, 2021)

El dispositivo consistió en cinco lámparas emisoras germicidas que se encuentran ubicadas en el techo del recipiente de radiación, se encerraron en una incubadora para que se pueda reflejar la radiación UV-C manteniéndola en temperatura ambiente (25 °C). La distancia que hay entre las lámparas y la bandeja es de 10 cm y el tiempo de tratamiento es de 1 min. La bandeja cuenta con unas dimensiones de 50x50, las lámparas tenían un tamaño de filamento de 0,01 mm y con una separación de 1 cm, y la radiación es de 3,04 mW / cm<sup>2</sup>. Antes de su uso, las lámparas UV se estabilizarán encendiéndose durante al menos 15 minutos. Luego se envasaron en cuatro tipos distintos PET, PVC, PP, PE; para evaluar la inactivación con luz UV de bacterias patógenas en queso envasado, las muestras inoculadas se sellaron al vacío. Las muestras empaquetadas se trataron durante 1 min a 25 °C para evaluar la eficacia de la luz UV. (Ha et al., 2016)

Para poder enumerar los patógenos presentes se cogieron 25g de muestra tratada y se transfirieron en bolsas estériles que contenían 225 ml de agua tamponada de peptona y se homogeneizaron durante 2 min, se sacó una muestra de 1 ml de alícuota y se diluyó diez veces en 9 ml de agua tamponada de peptona y 0,1 ml de muestra se extendieron en cada medio selectivo. El agar MacConkey, el agar Xilosa Lisina Desoxicolato y la Base de Agar Oxford con suplemento antimicrobiano.

Las películas de grosor del PP y PE que se usaron son de 0,07 mm, 0,10 mm y 0,13 mm para ver en cuál tiene mayor reducción de patógenos por incidencia del rango de longitud de onda de la UV. La transmisión de luz en el rango UV-C 200-280 nm a través de PET y PVC fue mínima. Sin embargo, PP y PE permitieron una amplia transmisión de luz UV-C. A 254 nm, el rango que se utiliza para la desinfección en los alimentos es del 80,4% y el 59,6% de UV-C fue transmitido por PP y PE, las poblaciones de E.coli disminuyeron en una relación logarítmica de 3.36 y 3.12 después de 1 min de exposición, en cambio los PET Y PVC no tuvieron un cambio significativo ya que estos tienen propiedades de absorción UV por su estructura química. El 80,4 % y el 59,6 % de luz UV fue transmitido por PP y PE, respectivamente. Estos resultados muestran que la radiación UV-C penetra eficazmente a través de las películas del PP y PE. Por ende, el grosor del envasado cambia con respecto a la longitud de onda. (Ha et al., 2016)

En la planta de lácteos Molestina se evaluaron distintas concentraciones de lisozima para la elaboración de queso se usaron 25 l de leche, que se dividieron en 32 unidades experimentales cada una con 4 l de leche, trabajando con dos unidades experimentales por semana. (Villa et al., 2017). Para ver las características microbiológicas se utilizaron muestras de 200g. Para este tratamiento se utilizaron distintos niveles de lisozima al (5, 10 y 15%), se realizó una comparación con un conservante químico (ácido sórbico) el cual es un conservante alimenticio seguro y el conservante natural (lisozima), este se agregó al momento de que se va solidificando la leche con el cuajo, para los análisis microbianos se tomaron muestras de 200 g de cada unidad para determinar la presencia y carga microbiana de coliformes fecales, mohos, levaduras, esto se realizó después de 21 días para establecer su calidad; a los 21 días se determinó la presencia de coliformes 12 UFC/g esta cantidad se fue reduciendo a medida que se fue reemplazando por la lisozima, ya que al emplearse el 5, 10 y 15% fue disminuyendo la cantidad de UFC/g. se realizó un análisis de beneficio y costo para ver cual fue más efectivo y se dedujo que al reemplazar el 15 % del conservante químico con lisozima. (Villa et al., 2017)

La actividad antimicrobiana que contiene la lisozima de huevo para mejorar la calidad de los productos, específicamente en el queso y el flan que fueron tratados con la lisozima en distintas concentraciones. En el caso del queso se aplicó después del desuerado y en caso del flan se aplicó en la superficie. Se realizaron 80 muestras de las cuales 40 muestras fueron de queso blanco y las otras 40 son del flan, las primeras 40 muestras se analizaron en un mes, es decir 10 muestras por semana analizando 2 al día, una con lisozima y otra sin esta. De cada una de las muestras realizadas se pesó 10 g que se homogeneizaron por 1 min en una solución de citrato de sodio al 2%, a partir de esta se realizaron diluciones decimales en agua peptonada al

0.1% y luego se sembraron en distintos medios de cultivos para determinar los microorganismos que se incubaron a 35°C. (Salvador, 2017)

En la primera semana no se detectó *S.aureus* para la muestra de queso con lisozima al 1%, en la semana 4 fue donde se registraron 16 de 20 muestras, donde se puede ver que pudo controlar en un 45% la proliferación de *S.aureus* en el queso. Se ve una reducción en los productos del flan y el queso, pero no es tan efectiva como se desearía ya que su cantidad no es la adecuada al momento de realizar las pruebas puesto que su concentración fue del 1% de lisozima. (Salvador, 2017)

## MARCO REFERENCIA

Los pequeños productores de leche, que a menudo también son vendedores de productos lácteos, son responsables de garantizar la seguridad alimentaria a lo largo de la cadena alimentaria. Puesto que los productos lácteos representan una gran parte en la alimentación de las personas. La contaminación de alimentos puede ocurrir en cualquier parte de la cadena de suministro de alimentos, incluido el comercio minorista, debido a la contaminación cruzada que puede resultar de muchos alimentos ofrecidos en mercados abiertos, la manipulación inadecuada de alimentos, equipo contaminado y mala higiene personal. Muchos de los microcomponentes de la leche, como los oligosacáridos, las inmunoglobulinas, las proteínas y enzimas que se unen a metales, cumplen funciones protectoras. (Thompson et al., 2008)

Los seres humanos han utilizado la leche en su dieta durante unos 8.000 años, y se ha desarrollado una importante industria para procesar la leche de varias especies, en particular la leche de vaca, búfalo, oveja y cabra, para el consumo humano. El procesamiento de la leche se utiliza en ciertas características fisicoquímicas de la leche que se practica en todo el mundo, especialmente en Europa y América del Norte. La leche es una materia muy fácil que a partir de ella se elabora una gran variedad de productos, incluidos unos 1400 tipos de queso. Actualmente, la producción de leche registrada es de unas  $600 \times 10^6$  toneladas por año, de las cuales alrededor del 85 % son bovinos, el 11 % son de búfalos y alrededor del 2 % son de ovejas y cabras. (Thompson et al., 2008)

Al momento de tener malas prácticas en el ordeño puede provocar varios riesgos de contaminación como las ubres de una vaca pueden contener altas cargas bacterianas y algunos de los cuales pueden contener patógenos (Del Pilar & Díaz, s/f)

Garantizar la seguridad alimentaria de la cadena láctea es muy importante, ya que comienza con la calidad de la leche cruda. Debido al riesgo para la salud, las personas pueden comer este alimento sin saber qué impurezas microbiológicas y químicas puede contener esta leche. Los patógenos tradicionales como (*E.coli*, *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp y *Staphylococcus* spp) son un motivo de gran preocupación. (The Brands Group, 2022)

De la leche se pueden sacar varios productos, como el queso este cuenta con una amplia variedad ya que existen más de 2000 tipos de queso en todo el mundo y cada uno de ellos tienen características que los diferencia y que los hace únicos. En este caso hay un tipo de queso que es catalogado como un sub lácteo criollo que no necesita un tratamiento térmico, ya que este se produce de manera artesanal, se elabora a partir de la leche cruda sin pasar por ninguna temperatura y se empaca en una hoja. Pero este tipo de queso no cuenta con una buena calidad como lo reglamenta el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) quien ha establecido que, por su alto riesgo, deben contar con registro sanitario.

Existen varios tipos de higienización para la leche tales como, esterilización, pasteurización o ultra pasteurización. Cada uno de estos métodos son muy favorables para la eliminación de microorganismos como la esterilización, este método se obtiene al someter la leche a una temperatura de al menos 115 °C, que debe conservarse durante al menos 15 minutos para destruir todos los microorganismos sin alterar significativamente su valor nutricional ni sus propiedades fisicoquímicas o propiedades organolépticas.

Este también es un tratamiento térmico para reducir la cantidad de organismos en la leche, que permite un almacenamiento más prolongado antes del procesamiento. Las condiciones del tratamiento térmico son 62-65°C durante 15-20 segundos. Al usar temperaturas más bajas que la pasteurización, conserva más su sabor original. (Agroganadera, 2021)

Para garantizar una buena esterilización en los productos que se fabrican de la leche se utiliza la pasteurización ya que este es el método más convencional que tienden a utilizar las empresas de lácteos, Ya que al momento de elevar a temperaturas los microorganismos van muriendo y esto permite que los productos no tengan tanta carga de microorganismos, este método consiste en elevar la temperatura a 72 °C 15 seg para inhibir todos los microorganismos (Tortora, Funke, & Case, 2007). Existen varios tipos de pasteurización dependiendo de su temperatura como se puede ver en la (Tabla 4).

*Tabla 4 diferentes tipos de pasteurización*

TIPOS	TEMPERATURA-TIEMPO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Pasteurización lenta de baja temperatura	se calienta hasta 65°C, se mantiene entre 5 y 30 minutos. Posteriormente se deja enfriar hasta los 6°C, luego se envasa y se sella.	.Conserva mejor el valor nutritivo de la leche. .Elimina mohos, levaduras y la mayor parte de las formas vegetativas de las bacterias.	Es muy extenso para el tratamiento de volúmenes grandes de leche. .La eficacia de eliminación de microorganismos es menor. .El tratamiento es muy lento
Pasteurización rápida de alta temperatura	Se lleva a la leche a una temperatura de 72°C durante 15 a 20 segundos y luego se enfría a 6°C. Esto se realiza con un pasteurizador.	No modifica la naturaleza física, química y nutritiva de la leche. .Garantiza la destrucción del 100% de las bacterias patógenas.	.Debe mantenerse refrigerada para evitar el crecimiento de los gérmenes. .Una vez abierto el envase, debe consumirse en un plazo máximo de 3-4 días.
	Se lleva a una temperatura de 72°C durante 15 a 20 segundos y luego se enfría a 6°C, pero entre dos placas o dos tubos de metal, llamados intercambiadores de calor.	.El proceso es empleado a partir de 1.000 a 10.000 l/h de leche. Se puede reutilizar por lo menos el 75% del calor empleado en el calentamiento de la leche.	.Se necesita contar con personal cualificado para la realización del trabajo, y de controles estrictos durante todo el proceso de producción.
Ultra pasteurización, UHT	La leche se hace pasar por el pasteurizador UHT a una temperatura de 135°C- 150°C entre 2 y 10 segundos. De una vez se enfría a 4 °C. Se pasa a una máquina, ubicada por debajo del ultra pasteurizador, que llena y sella.	.Asegura la destrucción de los microorganismos patógenos y esporas. .No requiere refrigeración posterior. .Tiempo de conservación aproximadamente 6 meses. .No afecta las grasas.	.Necesita equipo complejo, planta para empaque aséptico, operarios altamente cualificados. .Pierde características organolépticas a la leche. .Se destruyen algunas vitaminas, se desnaturalizan proteínas.

Fuente: propia

Existen otros métodos más naturales como la lisozima, esta contiene actividades antimicrobianas de la clara huevo para mejorar la calidad de los productos, específicamente en el queso haciéndolas atractivas y como nuevas alternativas para controlar los microorganismos patógenos. (Gálvez-Iriqui et al., 2020)

## OBJETIVOS

### GENERAL

Evaluar un prototipo de radiación UV de bajo costo para la higienización de la leche para la producción artesanal de queso de hoja en la organización de lácteos la cascada en el municipio de Güicán.

### ESPECÍFICOS

- Caracterizar el proceso productivo para determinar los puntos críticos en la producción artesanal de queso de hoja en la organización lácteos la cascada.
- Determinar las tecnologías de bajo costo para la higienización de la leche que se puedan implementar para el proceso productivo de la producción de queso artesanal.
- Analizar la eficiencia de esterilización de las tecnologías seleccionadas en la producción artesanal en relación con el costo beneficio.

## METODOLOGÍA Y DISEÑO MUESTRAL

### MATERIALES

- **PROTOTIPO**
  - Canaleta Grande
  - Canaleta Pequeña
  - Lámpara UV Germicida de 18W, 100-130V, 60 Hz
  - Adaptador de corriente 12V
  - Cinta aislante
  - Vidrio
  - Amarres plásticos
  - Manguera flexible de silicona
  - Jeringa de 50 ml
  - Segueta
  - Silicona
- **MICROORGANISMOS**
  - Cloruro de Sodio
  - Yeast extract agar (Extracto de levadura)
  - Peptone from casein, pancreatic digest (Peptona)
  - Agar Bacteriological
  - Sln salina

- Vidrio de reloj
- Pala
- Balanza
- Botellas de vidrio
- Embudo
- Tubos Falcón
- Tubos de ensayo
- Beakers
- Cajas de petri
- Asa de vidrio
- Pipeteador
- Gradilla
- Papel Kraft

## **METODOLOGÍA**

### **CONSTRUCCIÓN DEL PROTOTIPO**

Se cortó con segueta la canaleta grande con medidas de 70cm de largo, 6 cm de ancho y 4 cm de alto; también se cortó la canaleta pequeña con medidas de 63 cm de largo, 4 cm de ancho y 4 cm de alto. Se utilizaron pedazos de la canaleta para tapar las partes que quedaron expuestas.

Se utilizó un adaptador de corriente de 12V y se cortó para hacer la conexión con la lámpara UV germicida que se compró, esta se colocó en la canaleta pequeña y se pegó con silicona. El vidrio se cortó con unas medidas de 70 cm de largo y 6 cm de ancho, se colocó en la canaleta grande en el pliegue que tiene esta y se sostuvo con amarres plásticos. Finalmente, las dos canaletas se unieron con amarres de plástico. Se realizó en SolidWorks un modelo en 3D con su planta y perfil (Figura 4) para ver cómo quedaría el prototipo.



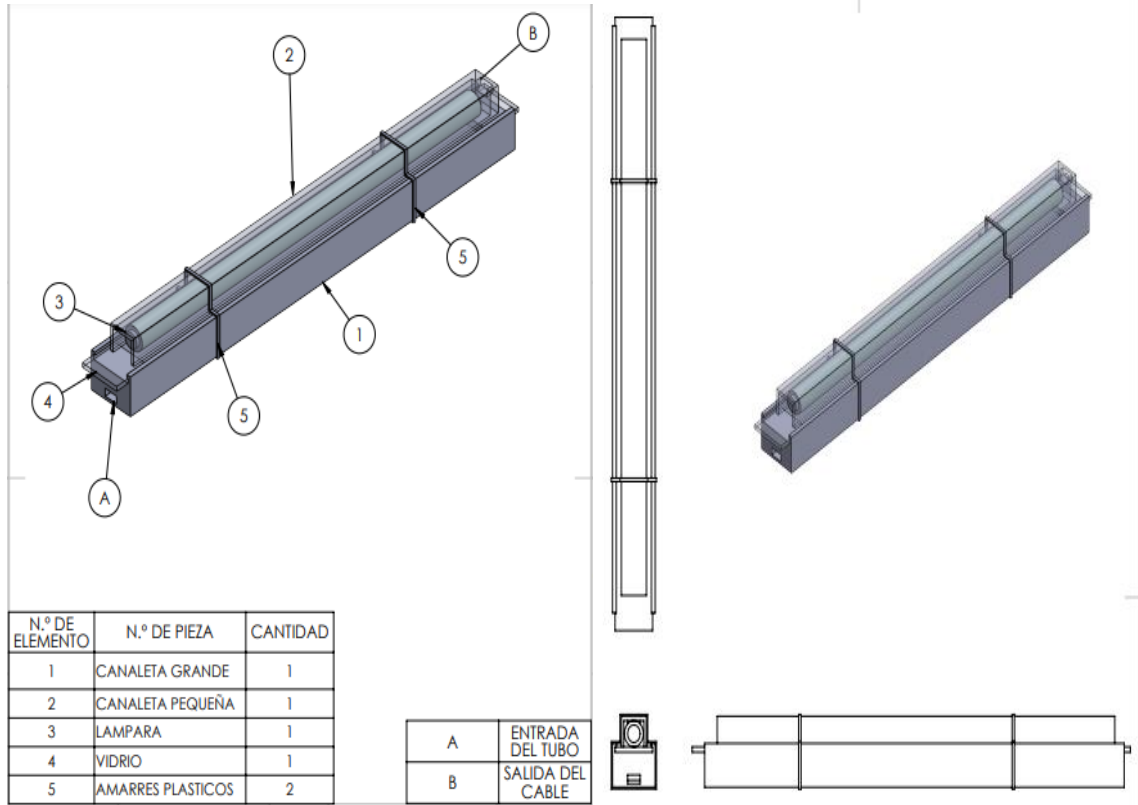
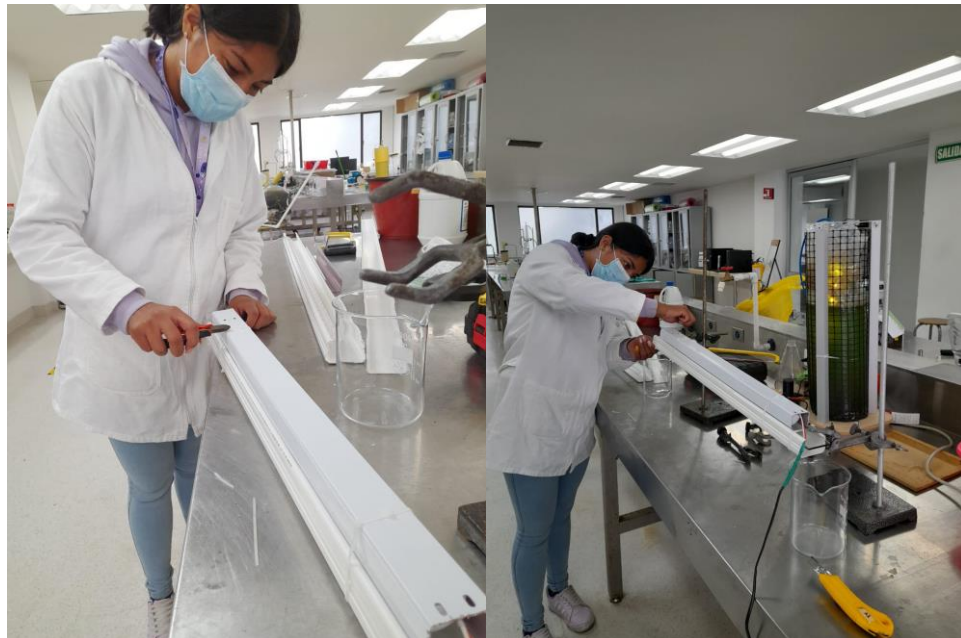


Figura 4 partes de la canaleta con su planta y perfil

Fuente: propia

Figura 5 estructuración de la canaleta



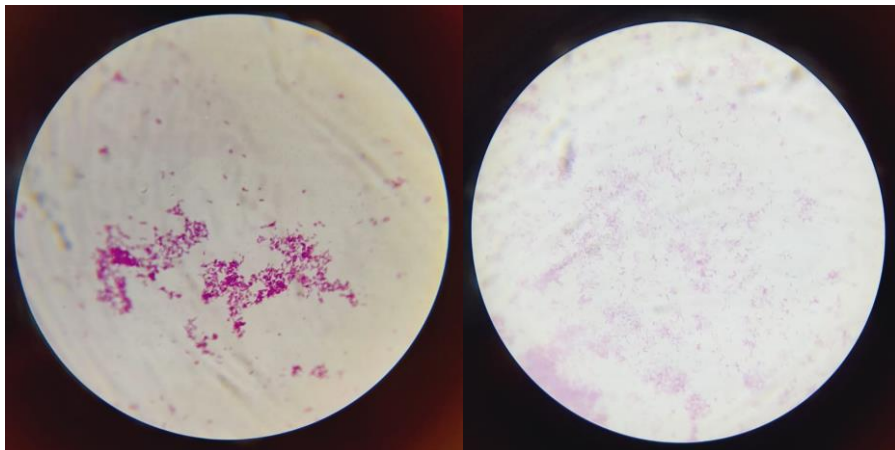


Fuente: propia

La canaleta se realizó en los laboratorios de ingeniería ambiental en la sede circunvalar de la universidad Antonio Nariño.

## MICROORGANISMOS

Se utilizó la bacteria *E.coli* como modelo para realizar la prueba de leche con el fin de ver si se elimina con la luz UV. Se tomó un inóculo de la *E.coli* en los laboratorios de ingeniería ambiental y se realizó una tinción de Gram para rectificar lo que se estaba sembrando.

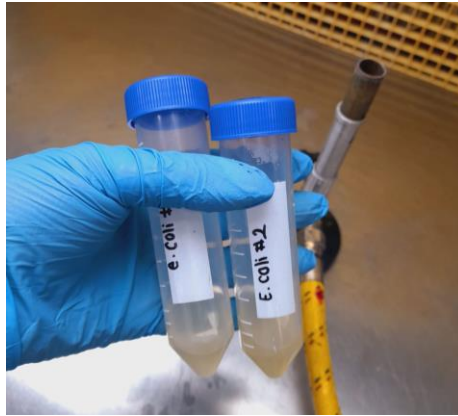


*Figura 6 tinción de Gram de los inóculos de la bacteria E.coli*

Fuente: propia

En dos tubos Falcon se realizaron los inóculos con la *E.coli* en 10 ml de Sln salina y luego se incubaron por 24 horas. Luego de las 24 horas se vio el crecimiento de la *E.coli* el cual tomó un color turbio.

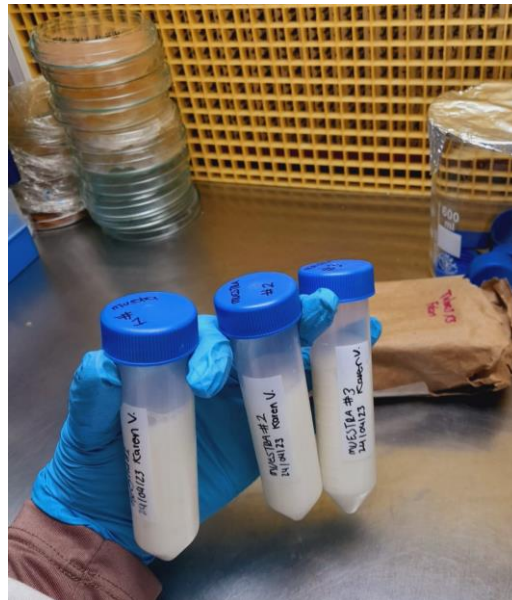
*Figura 7 crecimiento de la bacteria E.coli*



Fuente: propia

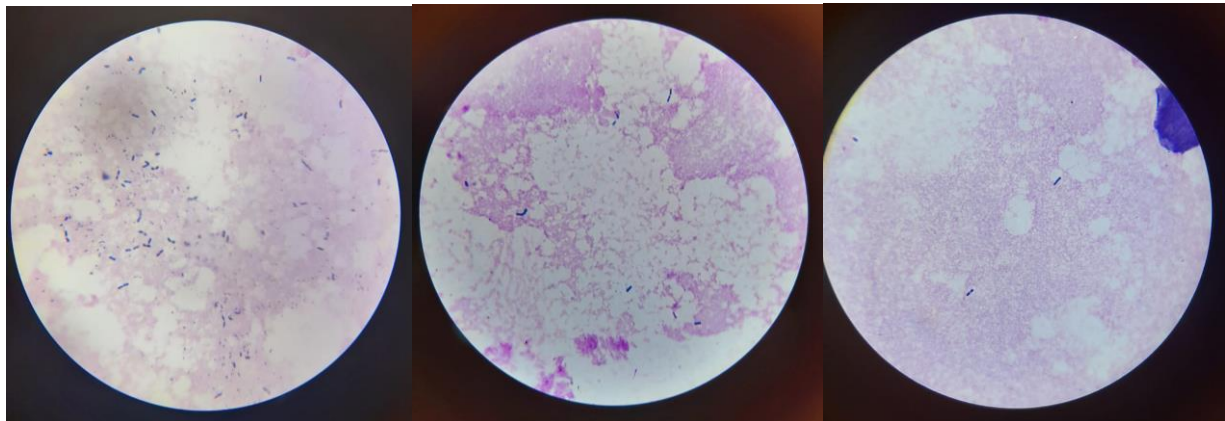
Se tomaron tres muestras distintas de leche con 35 ml (figura 8) y se les agregó 100 µl del cultivo de *E.coli* a cada una, luego se llevó a incubar por 24 h a 37°C.

*Figura 8 Muestras de leche contaminadas con la bacteria E.coli.*



Se realizó una tinción de Gram a cada muestra para rectificar el crecimiento. En cada muestra hubo bacilos Gram positivos como negativos.

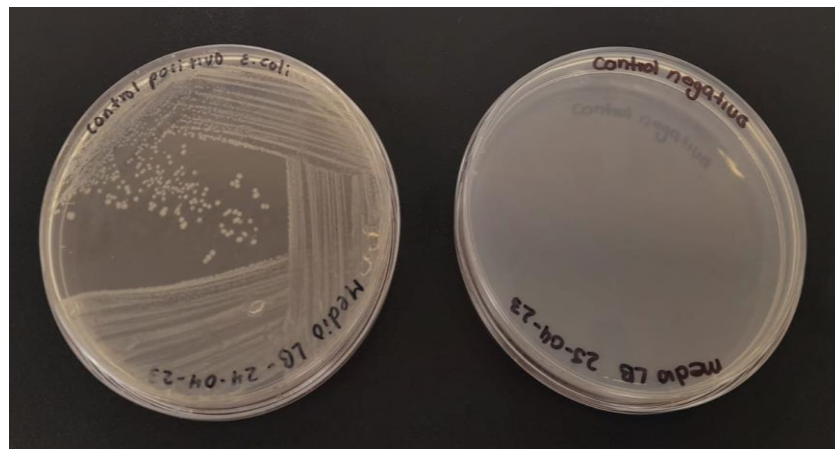
Figura 9 Tinción de Gram a la muestra 1, 2 y 3 de izquierda a derecha.



Fuente: propia

Se realizó un control positivo para confirmar lo que se espera de las siembras y saber con mayor claridad como es el crecimiento de la bacteria para realizar el conteo y que no sea contaminación y un control negativo libre de microorganismos para ver que no hay crecimiento.

Figura 10 Control positivo y negativo



Fuente: propia

Para realizar la siembra se utilizó un medio LB ya que este contiene peptona de caseína y extracto de levadura que proporciona los nutrientes necesarios para el cultivo de bacterias. Se realizaron los cálculos respectivos para saber cuántas cajas de Petri y medio LB se necesitan. Cada caja de Petri contiene 25 ml y estos se multiplican por la cantidad de cajas que se van a utilizar.

$$25ml * 96cajas = 2400ml = 2,4l$$

Para realizar el medio LB de la figura 11 se sacaron los cálculos de cada producto necesario para 2,4 litro de agua, realizamos la conversión y despejamos litros.

$$10 \frac{g}{l} * 2,4l = 24gNaCl$$

$$5 \frac{g}{l} * 2,4l = 12gextractodelevadura$$

$$5 \frac{g}{l} * 2,4l = 12gpeptona$$

$$\frac{3g}{x} * \frac{100ml}{2400ml} = 72gagarbacteriological$$

cloruro de sodio 10 g/l	24g
extracto de levadura 5 g/l	12g
peptona 5 g/l	12g
agar bacteriological 3g/100ml	72g

Figura 11 Elaboración de medio LB.



Fuente: propia

Luego de pesar y diluir en agua destilada se sirvió en botellas de vidrio, se llenó menos de la mitad para que no se regara en la autoclave, se autoclavó por 30 min a una temperatura de 121°C y luego se sirvió en las cajas de Petri.

Cada caja de Petri en la parte inferior se marcó con el medio del cultivo, concentración y fecha.

*Figura 12 El líquido del LB se pasó a las cajas de Petri*



*Fuente: propia*

Luego se utilizaron 96 tubos de ensayo que se agruparon de a cuatro con papel kraft, los cuales se introdujeron en la autoclave para su respectiva esterilización. Cada tubo va con 10 ml de sln salina al 0,85%.

$$\frac{480ml}{100ml} * \frac{x}{0,85gNaCL} = 4,08gNaCL$$

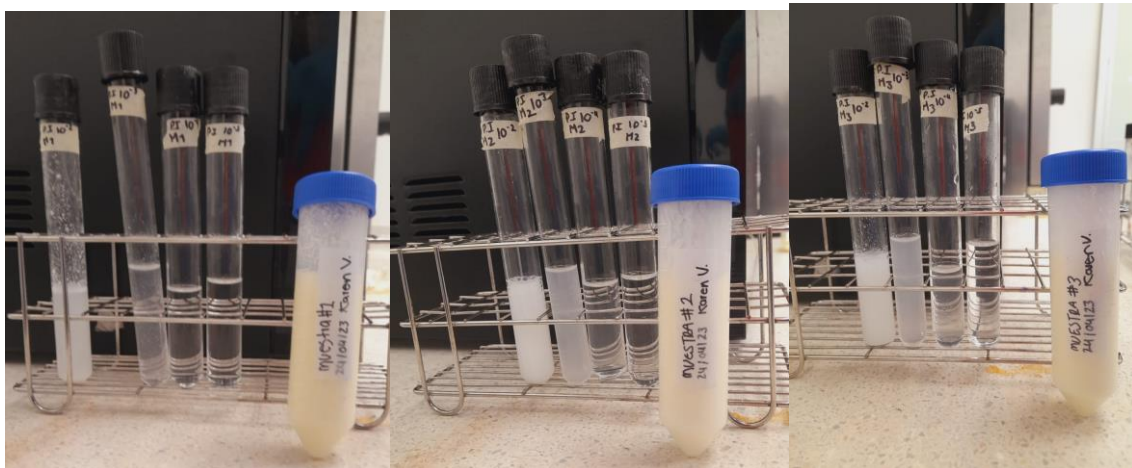
son los gramos que se usaron para la sln salina.

## **ANÁLISIS INICIAL ANTES DE LA ESTERILIZACIÓN CON RADIACIÓN UV**

Se emplearon tres tipos de leche para ver si el método funciona y si la naturaleza de esta afecta o no en la disminución de microorganismos con radiación UV.

Se realizó diluciones de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  para cada tipo de leche y una siembra por duplicado por cada dilución para la muestra inicial (Figura 13) antes del tratamiento, para hacer conteo de UFC que se encontraban en las muestras de leche.

Figura 13 Diluciones de las muestras iniciales.



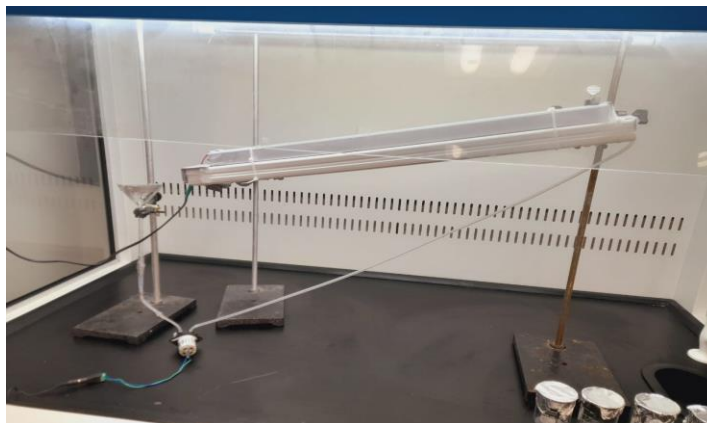
Fuente: propia

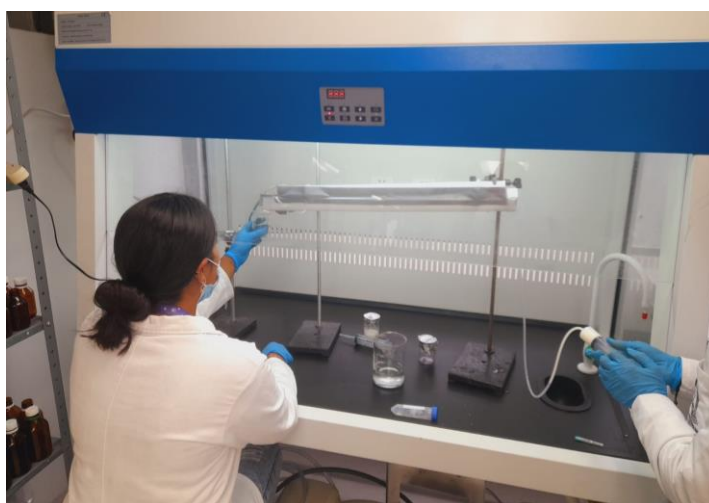
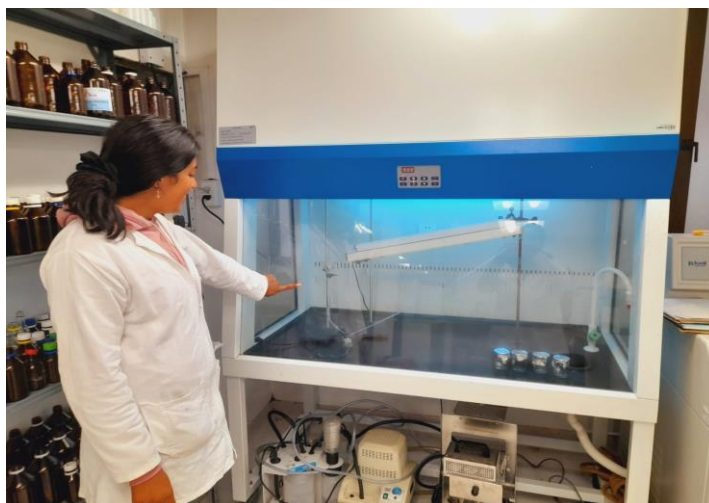
Se agregó 100 microlitros en la caja de petri para hacer una siembra masiva, luego se esparció con una espátula de Drigalsky o asa de vidrio con movimientos en espiral, se llevó a incubación por 24 horas para luego hacer el conteo de UFC.

#### DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO DE HIGIENIZACIÓN DE LA LECHE

El prototipo se ingresó a una cabina de esterilización UV (Figura 14) por 1 hora con 3 beakers de 50 ml, luego de eso se empezaron a hacer las pruebas en la cabina. Se encendió la lámpara del prototipo durante 15 min antes de pasar las muestras de leche por la canaleta; cada muestra de leche se sometió a tres intervalos de tiempo: 1 min, 5 min y 10 min.

Figura 14 Cabina con luz UV para la esterilización de la canaleta.





*Fuente: propia*

La canaleta se mantuvo en la cabina por cuestiones de esterilización, ya que si esta se sacaba volvía a contaminarse.

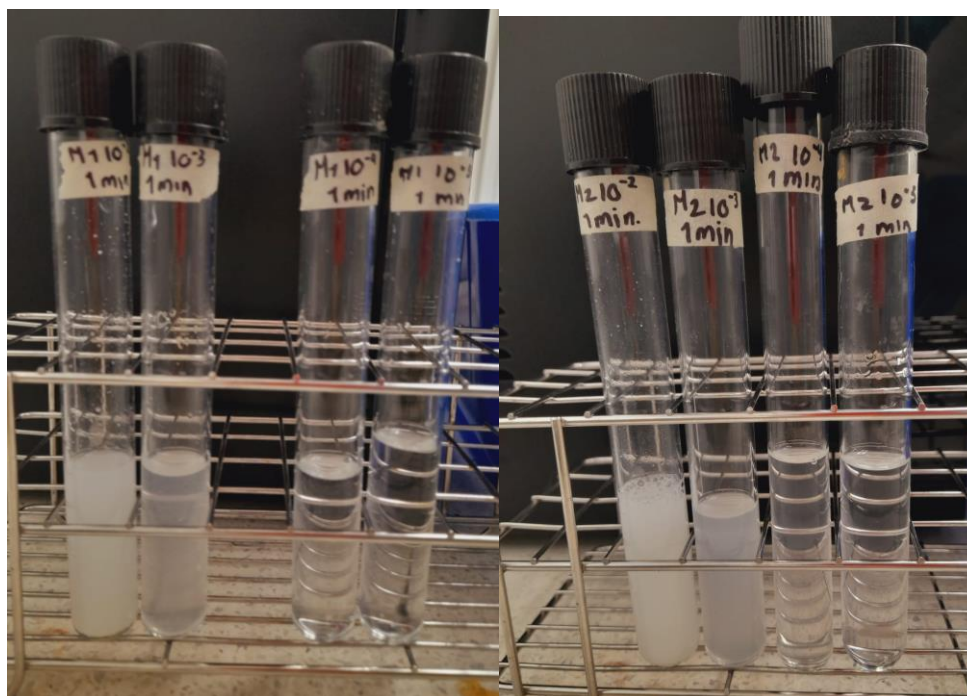
## **PRUEBAS DE ESTERILIZACIÓN CON RADIACIÓN UV**

Las muestras de leche que estaban en los tubos Falcón se succionaron con una jeringa de 50ml y está se colocó en una manguera flexible de silicona por donde se expulsó cada muestra por la canaleta. Luego de pasar el tiempo requerido la leche se depositó en un beaker de 50 ml para luego realizar su respectiva dilución en los tubos de ensayo (Figura 15) y siembra en las cajas de Petri.

Para realizar las posteriores pruebas en el prototipo, se hicieron de tres a cuatro lavados con agua destilada a la canaleta, manguera y a la jeringa para retirar los residuos que quedaron de la prueba anterior y repetir el proceso con los tiempos necesarios.



Figura 15 Diluciones después de las pruebas de esterilización con la radiación UV.



Fuente: propia

Luego de hacer las pruebas de radiación UV con sus respectivos tiempos, se tomó un mililitro de la leche con el pipeteador y este se puso en el primer tubo de ensayo de  $10^{-2}$ , luego se agitó para tomar 0,1 mililitro y pasarlo al tubo siguiente siempre cambiando la punta del pipeteador y se realizó así sucesivamente hasta terminar con las diluciones de cada muestra.

Después se sembró al lado del mechero 0,1 mililitros en la caja de Petri esparciéndose con un asa de vidrio. Luego de terminar la siembra se apilaron y envolvieron con papel vinipel para ponerlos en incubación por 24 horas. Este proceso se realizó con cada muestra en diferentes tiempos de exposición con la radiación UV.

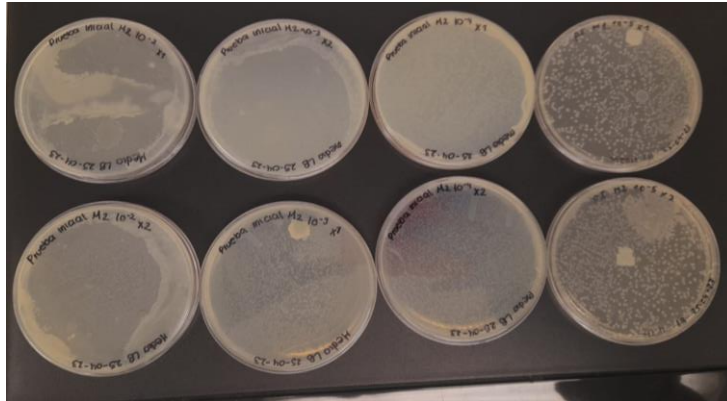
## RESULTADOS

### ANÁLISIS INICIAL DEL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS

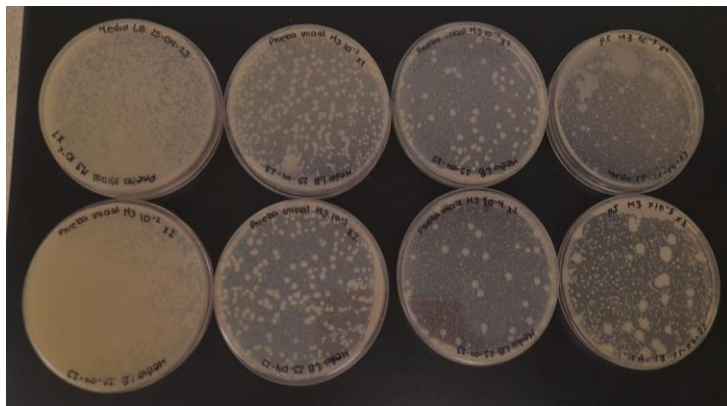
En la (figura 16) se puede ver el crecimiento de la bacteria *E.coli* que hay en las cajas de Petri, esta muestra no ha pasado por ninguna radiación y al momento de hacer las diluciones se ve que todavía hay muchas colonias.

Figura 16 Crecimiento de la bacteria *E.coli* en el análisis inicial

Muestra 2



Muestra 3



Fuente: propia

Nota: En el análisis inicial de las muestras 2 y 3 que es el tiempo cero, se ve que hay una gran cantidad de microorganismos de la bacteria *E.coli*.

Al momento de hacer los duplicados en las cajas de cada dilución se corría el riesgo de que se hubiese contaminado el cultivo por factores ambientales o mala práctica en la siembra. Se sabe que una caja está contaminada porque hay colonias que no tienen una similitud con el control positivo: si habían formas diferentes a la *E.coli* del control positivo se descartaron como contaminación.

Como se realizó un duplicado por cada dilución, al momento de sacar el total de UFC se hizo un promedio de las dos cajas (Tabla 5 y 6) para sacar el número total, así se hizo con cada muestra con su respectivo tiempo. Estas diluciones se realizaron en microlitros entonces tocaba pasarlos a mililitros.

Se sembraron 100µl pero se necesitan en ml para hacer el conteo en UFC/ ml, se multiplicaron las colonias por la cantidad de diluciones que se hicieron 10<sup>-4</sup> y 10<sup>-5</sup>, se realizó una regla de tres para saber cuántos ml hay en cada dilución que se realizó.

$$\#decolonias * \#dediluciones = \#decoloniasUFC/100\mu l$$

luego de eso se despeja µl y lo pasamos a ml.

$$\#decoloniasUFC/100\mu l * \frac{1000\mu l}{1ml} = \frac{UFC}{ml}$$

Se realizó una desviación estándar en todos los procesos que se realizaron para calcular la variación o dispersión que hay entre los datos individuales. Como podemos ver la desviación es baja y esto indica que los datos están muy cerca a la media.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (xi - X)^2}{n - 1}}$$

xi: variable

$\bar{X}$ : promedio

n: número de datos

*Tabla 5 Concentración de microorganismos del análisis inicial en el tiempo 0 min y desviación estándar.*

ANÁLISIS INICIAL			(xi-X) ^2	
UFC/ml Muestras	10^-4	10^-5	10^-4	10^-5
M1	77400	44300	55751111	587778
M2	85600	44600	245444444	1137778
M3	46800	41700	535151111	3361111
valor medio	69933	43533		
		SUMA	836346667	5086667
		DESVIACIÓN	20449	1595

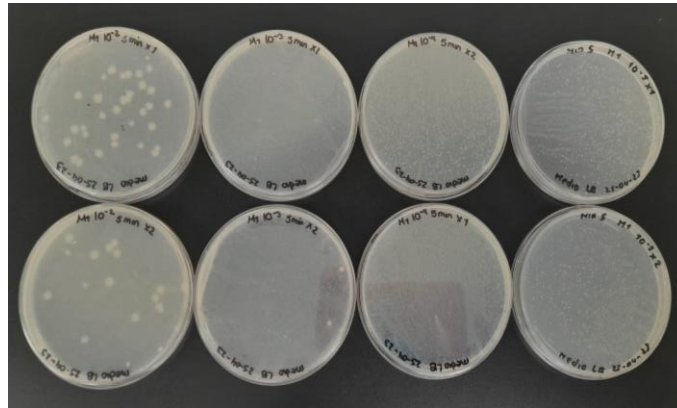
Fuente: propia

Fuente: propia

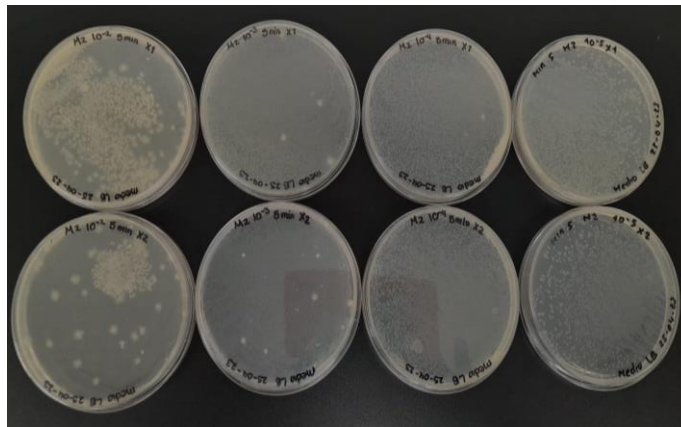
## DISMINUCIÓN DE MICROORGANISMOS CON DIFERENTES TIEMPOS DE EXPOSICIÓN A RADIACIÓN UV

Figura 17 Crecimiento de la bacteria *E.coli* en diferentes tiempos de exposición con radiación UV.

Muestra 1 (5 min)



Muestra 2 (5 min)



Fuente: propia

Tabla 5 Concentración de microorganismos de la prueba en tiempo de 1 min con radiación UV.

PRUEBA DE 1 MINUTO CON RADIACIÓN UV			$(x_i - X)^2$	
UFC/ml Muestras	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
M1	57080	40000	21825137 8	36000000

M2	42640	33000	111111	1000000
M3	27200	29000	22821137 8	25000000
valor medio	42307	34000		
		SUMA	44657386 7	62000000
		DESVIACIÓN	14943	5568

*Tabla 6 Concentración de microorganismos de la prueba en el tiempo de 5min con radiación UV y su desviación estándar.*

PRUEBA DE 5 MINUTO CON RADIACIÓN UV			$(xi-X)^2$	
UFC/ml Muestras	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
M1	37600	28500	69222400	35601111
M2	56800	37800	118374400	11111111
M3	43360	37100	6553600	6934444
valor medio	45920	34467		
		SUMA	194150400	53646667
		DESVIACIÓN	9853	5179

*Fuente: propia*

*Tabla 7 Concentración de microorganismos de la prueba en el tiempo de 10 min con radiación UV.*

PRUEBA DE 10 MINUTO CON RADIACIÓN UV			(xi-X) ^2	
UFC/ml Muestras	10^-4	10^-5	10^-4	10^-5
M1	20160	15000	21282844	4987778
M2	24240	21600	284444	19067778
M3	29920	15100	26488178	4551111
valor medio	24773	17233		
		SUMA	48055467	28606667
		DESVIACIÓN	4902	3782

*Fuente: propia*

En cada desviación que se realizó de las muestras ninguna está muy lejos de la otra esto quiere decir que sus rangos son muy similares. presentó un comportamiento similar durante todos los muestreos realizados.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

La efectividad de la inactivación microbiana por UV-C puede variar dependiendo de la carga inicial de microorganismos y el tiempo de exposición con la UV (Guevara Lozano, 2018), con la poca radiación en el tiempo de un minuto no se vio un cambio significativo (tabla 5) ya que la leche posee un elevado coeficiente de absorción (Guevara Lozano, 2018), por lo que se requieren altas dosis de UV para poder inactivar las bacterias.

Por otro lado, las pruebas de 5 y 10 minutos si tuvieron una disminución significativa; se realizó una tabla con los porcentajes de efectividad de cada una de las muestras, se tomó como el 100 % el cultivo inicial sin exposición a UV (tabla 4) y a partir de ese se calcularon los porcentajes para los tiempos de 5 y 10 ya que estas tienen menor carga microbiana. Se realizó una regla de tres para sacar los porcentajes.

$$\frac{77400}{37600} * \frac{100\%}{?}$$

ANÁLISIS INICIAL		
UFC/ml Muestras	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
M1	77400	44300
M2	85600	44600
M3	46800	41700

Aunque el porcentaje proviene de la misma información, se puede relacionar para mirar qué tan efectivo puede ser el tratamiento.

*Tabla 9 porcentaje de microorganismos con diferentes tiempos de exposición a radiación UV.*

PRUEBA DE 10 MINUTO CON RADIACIÓN UV		
UFC/ml Muestras	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
M1	26%	34%
M2	24%	34%
M3	43%	36%

PRUEBA DE 5 MINUTO CON RADIACIÓN UV		
UFC/ml Muestras	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
M1	49%	64%
M2	44%	64%

M3	80%	68%
----	-----	-----

*Fuente: propia*

Luego de sacar los porcentajes se observa que en la prueba de exposición de 5 minutos hubo mayores porcentajes, lo que indica que en ese lapso de 5 min la radiación penetró más en la leche. una de las causas puede ser porque a la prueba de 10 min le entró aire y tal vez eso causó una contaminación (Byrns et al., 2021). también puede ser porque no se limpiaron bien los materiales y se utilizaron en la siguiente prueba.

La radiación UV es una muy buena alternativa de bajo costo para higienizar la leche, dependiendo de los tiempos de exposición con la radiación, con el fin de eliminar los microorganismos estos se deben someter a tiempos mayores de 5 minutos.

Las tres muestras de leche empezaron con la misma carga de microorganismos en el tiempo 0 y al pasar los tiempos de exposición en la radiación UV se puede ver una notable disminución en las bacterias. Para los experimentos de 5 y 10 minutos las muestras tienen una similitud al momento de contar los microorganismos luego del proceso para reducir su capacidad reproductiva.

Se realizaron mediciones de la intensidad para varios intervalos de tiempo de exposición en el rango de 220-275 nm de 5 y 10 min con concentraciones de  $10^4$  y  $10^5$  (Byrns et al., 2021). Se realizó un total de 8 ensayos de  $10^5$  donde cambiaban la altura de la lámpara, en todas las pruebas que se realizaron tuvo una reducción log inferior a 4, aunque la intensidad de la luz disminuye al aumentar la distancia, pero requiere exposiciones más prolongadas. Pasó lo mismo con la dilución de  $10^4$  hubo una reducción de log 3, demostrando que a una distancia de 12.7 cm con un tiempo de exposición de 10 min tuvo un ataza óptima. (Byrns et al., 2021).

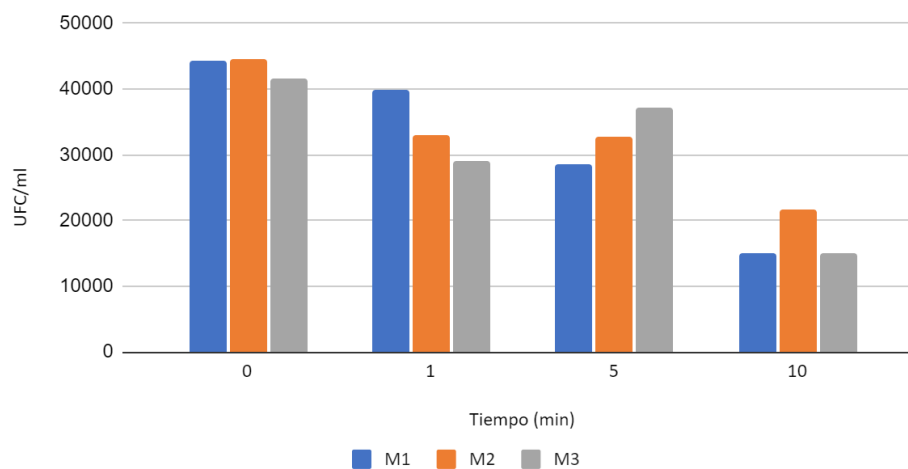
Las diluciones donde se notaron la reducción fueron de  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ , en los otros casos no se pudieron contar. En la (tabla 10) se puede ver como al pasar el tiempo la exposición con la radiación UV, va decreciendo la cantidad de microorganismos.

*Tabla 10 tiempo de exposición en dilución  $10^{-5}$*

minutos	$10^{-5}$ UFC/ml		
	M1	M2	M3
0	44300	44600	41700
1	40000	33000	29000
5	28500	32800	37100
10	15000	21600	15100



Disminucion de microorganismos con diferentes tiempos de exposicion a radiacion UV.



*Fuente: propia*

La naturaleza de la leche no afecta en la disminuci3n de microorganismos ya que cada una de las muestras son muy similares al momento de hacer el conteo, luego pasarla por radiaci3n

## PROCESO PRODUCTIVO PARA LA ELABORACI3N DE QUESO DE HOJA

La elaboraci3n de queso artesanal consiste desde el orde1o hasta el proceso final que es el empaquetado (Figura 18) cada uno de los procesos debe cumplir con una buena pr1ctica de manufactura y de establecimiento.

Figura 18 Proceso productivo para la elaboración del queso de hoja



Fuente: propia

Cada uno de los procesos tiene fallas de salubridad por que no cuentan con los implementos necesarios para una buena higiene, ya que la mayoría son de plástico y estos tienen gran porosidad donde se va acumulando microorganismos.

### ANÁLISIS DE COSTOS

Su objetivo es determinar si una próxima inversión es rentable o no para una empresa. Se sacaron unos pros y contra de costos que pueden favorecer o no a la empresa. Primero se sacaron los costos del prototipo que se implementaría (Tabla 11), pero se realizaría un valor aproximado para la fabricación de esta.

Tabla 11 Costos de la canaleta ( prototipo)

Material	Cantidad	Precio \$	Total
Canaleta Grande	1	30000	30000
Canaleta Pequeña	1	25000	25000
Lampara UV Germicida de 18W, 100-130V, 60 Hz	1	75000	75000
Adaptador de corriente 12V	1	12000	12000
Cinta aislante	1	5000	5000
Vidrio	1	10000	10000
Amarres plásticos	2	5000	10000
Manguera flexible de silicona	1	8500	8500
Jeringa de 50 ml	1	2500	2500
Segueta	1	3300	3300
Silicona	1	21000	21000
		Costos Totales	202300

#### Costos:

Costo de adquisición e instalación de la canaleta con radiación ultravioleta.

Costo de energía eléctrica para alimentar la canaleta.

Costo de mantenimiento y reemplazo de las lámparas de radiación ultravioleta.

Costo de capacitación para el personal que utilizará la canaleta.

#### Costos potenciales:

Costo de instalación: La instalación de una canaleta con radiación ultravioleta requeriría la compra de equipo y la contratación de un profesional para su instalación. Esto podría ser costoso, dependiendo del tamaño y complejidad de la instalación.

Costo de energía: La radiación ultravioleta requiere energía eléctrica para funcionar, lo que podría aumentar los costos de energía de la instalación.

Reemplazo de las lámparas UV: Las lámparas UV necesitan ser reemplazadas periódicamente para mantener su efectividad. El costo de reemplazo podría ser significativo, dependiendo de la frecuencia de reemplazo requerida.

Riesgos para la salud: La exposición a la radiación ultravioleta puede ser peligrosa para la piel y los ojos. Se requeriría la implementación de medidas de seguridad para evitar la exposición directa a la radiación.

#### Beneficios:

Reducción de la propagación de enfermedades al desinfectar los documentos con radiación ultravioleta.

Protección de la salud de los empleados que trabajan con la leche.

Ahorro de tiempo al no tener que limpiar los documentos manualmente.

Mejora en la eficiencia de trabajo al permitir que los empleados compartan documentos sin preocuparse por la propagación de enfermedades.

#### **Plan de implementación de la canaleta en la empresa Lácteos La Cascada:**

Evaluar la necesidad y beneficios de la canaleta con radiación ultravioleta.

Seleccionar una canaleta de radiación ultravioleta adecuada para el tamaño de los documentos a desinfectar y el volumen de trabajo.

Instalar la canaleta en un área segura y accesible para los empleados.

Capacitar al personal en el uso y mantenimiento de la canaleta.

Establecer un protocolo de limpieza y desinfección para los documentos.

#### **CONCLUSIONES**

- Se realizó el diseño de un prototipo que cumpliera con las necesidades de la empresa y que no requiera métodos térmicos para su fabricación.
- Los resultados permitieron alcanzar una mayor claridad los objetivos propuestos por que se pudo reducir la carga microbiológica que tenía la leche en el análisis inicial.
- Se analizó los puntos críticos que tenía la empresa al momento de elaborar el queso por que este puede ser un factor importante de la contaminación.
- El prototipo demostró ser funcional al momento de generar menor cantidad de microorganismos.
- Se dan a conocer las diferentes alternativas que hay para la higienización en los alimentos ya sea de manera térmica o por otro medio.

#### **CONTRIBUCIONES Y RECOMENDACIONES**

Mejorar las condiciones del lugar de trabajo en la empresa láctea, ya que no cuenta con una implementación adecuada desde el momento de ordeñar la vaca hasta empacar los quesos, estos factores pueden afectar en la carga de microorganismos por la cual es tan alta.

Es un sistema de bajo costo que puede ayudar a disminuir los microorganismos siempre y cuando tengan una buena práctica en la limpieza. Sino esto puede afectar de que no se eliminen adecuadamente.

Realizar esta prueba con recirculación de la leche ya que esta puede ayudar a mejorar la disminución microbiana. Aunque es un tratamiento de higienización no se requirió de un proceso térmico, lo que permite que el queso no tenga cambios significativos en la apariencia que caracteriza un queso de hoja.

Se recomienda que se realicen más pruebas con la distancia que hay entre la lámpara y el líquido ya que este es un factor importante al momento de inactivar los microorganismos y también con los tiempos de exposición.

Se recomienda usar otros tipos de higienización como productos que se les pueda agregar y que no cambien sus características, en el momento del cuajo se les puede agregar y esto permite que la reducción de bacterias se genere en todo el queso.

Esta tecnología puede beneficiar a una gran cantidad de familias porque ya se empezaría a tratar con grandes cantidades de microorganismos que tiene la leche para que vayan disminuyendo hasta que les puede permitir tener los permisos requeridos.

## REFERENCIAS

Agroganadera, G. (2021, 2 junio). Tratamiento Térmico de la Leche (I). Gestión Agroganadera. <https://gestionagroganadera.com/diferencias-en-la-leche-segun-su-tratamiento-termico-parte-i/>

Atik, A., & Gumus, T. (2021). The effect of different doses of UV-C treatment on microbiological quality of bovine milk. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, 136(110322), 110322. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110322>

Barut Gök, S., Vetter, E., Kromm, L., Hansjosten, E., Hensel, A., Gräf, V., & Stahl, M. (2021). Inactivation of *E. coli* and *L. innocua* in milk by a thin film UV-C reactor modified with flow guiding elements (FGE). *International Journal of Food Microbiology*, 343(109105), 109105. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109105>

Byrns, G., Barham, B. J., Yang, L., Webster, K., Rutherford, G. W., Steiner, G., Petras, D., & Scannell, M. (2021). Usos y limitaciones de la lámpara ultravioleta germicida portátil para la desinfección de superficies. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 18(sup1), S75-S85. <https://doi.org/10.1080/15459624.2021.1877057>

Del Carmen Rangel-Ortega, S., Campos-Múzquiz, L. G., Charles-Rodriguez, A. V., Chávez-González, M. L., Palomo-Ligas, L., Contreras-Esquivel, J. C., Solanilla-Duque, J. F., Flores-Gallegos, C., & Rodríguez-Herrera, R. (2023). Biological control of pathogens in artisanal cheeses. *International Dairy Journal*, 140, 105612. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105612>

Del Pilar, M., & Díaz, G. (s/f). PROCESO BÁSICO DE LA LECHE Y EL QUESO. Cloudfront.net. Recuperado el 5 de mayo de 2023, de [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/50529396/produccion\\_de\\_queso-libre.pdf?1480039243=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DProduccion\\_de\\_queso.pdf&Expires=1683326558&Signature=HD8RoXMU1T5IBRassoC91dbSx2peInkhD5llrkDBZbAUPVjUG-DEp4d3JKcLEhIEjnXiCHE9KFbGWWqsXRzayVxyCuYXaXeQXDMU09eEPS-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/50529396/produccion_de_queso-libre.pdf?1480039243=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DProduccion_de_queso.pdf&Expires=1683326558&Signature=HD8RoXMU1T5IBRassoC91dbSx2peInkhD5llrkDBZbAUPVjUG-DEp4d3JKcLEhIEjnXiCHE9KFbGWWqsXRzayVxyCuYXaXeQXDMU09eEPS-)

[GvCu-gpkJ-gog01nl0wBCFupMtO41B0bmOthrD2xUcMHWoXe2syTE-d1tph4KUqBopk0pAby3Uur-glt4UdYm3-ae3bH2KNQHoYgVim1aaCw-LiG1Y4p5Uhpbbq88cy9tUw85sdruyPOqBoWXqGzX8o7KgKJNSZ2g8Ye6ZO-DMMWjOYUisU-Jq-LrzH5zOe4uxNf--rrsB6iBslWPGhCybLwzIqCtKEzN-iLK6SbYnQ &Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-6)

Gálvez-Iriqui, A. C., Plascencia-Jatomea, M., & Bautista-Baños, S. (2020). Lysozymes: characteristics, mechanism of action and technological applications on the control of pathogenic microorganisms. *Revista Mexicana De Fitopatología*, 38(3). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-6>

Gayán, E., Álvarez, I., & Condón, S. (2013). Inactivation of bacterial spores by UV-C light. *Innovative Food Science & Emerging Technologies: IFSET: The Official Scientific Journal of the European Federation of Food Science and Technology*, 19, 140-145. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.04.007>

Gök, S. B., Vetter, E., Kromm, L., Hansjosten, E., Hensel, A., Gräf, V., & Stahl, M. (2021). Inactivation of *E. coli* and *L. innocua* in milk by a thin film UV-C reactor modified with flow guiding elements (FGE). *International Journal of Food Microbiology*, 343, 109105. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109105>

Gómez, P., Welte-Chanes, J., & Alzamora, S. M. (2011). Hurdle Technology in Fruit Processing. *Annual review of food science and technology*, 2(1), 447-465. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022510-133619>

Guevara Lozano, A. (2018). Evaluación del uso de las radiaciones ultravioleta de onda corta (UVC) como alternativa a tratamientos térmicos en la leche. <https://ddd.uab.cat/record/215667>

Ha, J., Back, K., Kim, Y., & Kang, D. (2016). Efficacy of UV-C irradiation for inactivation of food-borne pathogens on sliced cheese packaged with different types and thicknesses of plastic films. *Food Microbiology*, 57, 172-177. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.02.007>

Hijnen, W. A. M., Beerendonk, E. F., & Medema, G. J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: a review. *Water Research*, 40(1), 3-22. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.10.030>

Jeon, M., & Ha, J. (2018). Efficacy of UV-A, UV-B, and UV-C irradiation on inactivation of foodborne pathogens in different neutralizing buffer solutions. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 98, 591-597. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.030>

Kurup, A. H., Patras, A., Lila, M. A., Pendyala, B., Ravi, R., & Vergne, M. J. (2022). Influence of UV-A irradiation on the selected nutrient composition and volatile profiling of whole milk: Safety and quality evaluation. *Food bioscience*, 50, 102029. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102029>

Jo, Y., Benoist, D., Barbano, D. M., & Drake, M. (2018). Flavor and flavor chemistry differences among milks processed by high-temperature, short-time pasteurization or ultra-pasteurization. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3812-3828. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14071>

Luigi, T., Rojas, L., & Valbuena, O. (2013). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. *Salus*, 17(1), 25-33. <http://riuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/123456789/1275/1/art05.pdf>

Matak, K. E., Churey, J. J., Worobo, R. W., Sumner, S., Hovingh, E., Hackney, C., & 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. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.10.2212>

Ministerio de Salud Y Protección Social Resolución 2674 de 2013. (2013). [minsalud.gov.co. https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-2674-de-2013.pdf](https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-2674-de-2013.pdf)

MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL Resolución 0719 DE 2015. (2015, marzo 11). Gov.co. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-0719-de-2015.pdf>

- Ministerio de Salud Y Protección Social Resolución 3168 de 2013. (2015, agosto 26). minsalud.gov.co. [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%203168%20de%202015.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%203168%20de%202015.pdf)
- Nakano, H. (2009). Inactivation of Salmonella, E. coli and Listeria monocytogenes in phosphate-buffered saline and apple juice by ultraviolet and heat treatments. *Food Control*, 20(4), 443-446. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.08.008>
- Producción y productos lácteos: Peligros para la salud. (s/f). Fao.org. Recuperado el 7 de mayo de 2023, de <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/peligros-para-la-salud/es/>
- Rossitto, P. V., Cullor, J. S., Crook, J., Parko, J., Sechi, P., & Cenci-Goga, B. T. (2012). Effects of UV irradiation in a continuous turbulent flow UV reactor on microbiological and sensory characteristics of cow's milk. *Journal of Food Protection*, 75(12), 2197-2207. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-036>
- Salvador, T. G. A. (2017, October 3). Conservación de productos lácteos empleando lisozima (flan y queso). <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/22825>
- Soleno, R. (2015). Tecnologías no térmicas en el procesado y conservación de alimentos vegetales. Una revisión. *Rev. Colomb. investigando Agroindustriales*, 2(1), 73-83. DOI: <http://dx.doi.org/10.23850/24220582.172>
- Thompson, A., Boland, M., & Singh, H. (Eds.). (2008). *Milk proteins: From expression to food*. Academic Press.ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/book/9780128152515/milk-proteins>
- Villa, D., Osorio, M., Mejía, T. S., Toledo, N., Haro, J., & Quevedo, L. (2017). La Lisozima Como Conservante Natural En La Elaboración De Quesos Semi-Maduros. *European Scientific Journal*, ESJ. <https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n24p1>
- Wright, J., Sumner, S., Hackney, C., Pierson, M. D., & Zoeklein, B. W. (2000). Efficacy of Ultraviolet Light for Reducing Escherichia coli O157:H7 in Unpasteurized Apple Cider. *Journal of Food Protection*, 63(5), 563-567. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-63.5.563>