

Homogeneización de Leche Materna por Ultrasonido durante proceso de Pasteurización

Christopher O. Arévalo Martínez
 Universidad Nacional de Asunción,
 Facultad Politécnica
 Grupo de Investigación en Electrónica y
 Mecatrónica
 San Lorenzo, Paraguay
 christopher889@hotmail.com

Luís Raúl Gibernau Cazal
 Universidad Nacional de Asunción,
 Facultad Politécnica
 Grupo de Investigación en Electrónica y
 Mecatrónica
 San Lorenzo, Paraguay
 lgibernau@gmail.com

Norma Graciela Silva Ortiz
 Universidad Nacional de Asunción,
 Facultad Politécnica
 Grupo de Investigación en Electrónica y
 Mecatrónica
 San Lorenzo, Paraguay
 giem@pol.una.py

Resumen— El estudio de los ultrasonidos en el proceso de conservación de alimentos es algo nuevo y el método de homogeneización de leche materna por ultrasonido sería un aspecto muy importante dentro del proceso de pasteurización en los Bancos de Leche. La homogeneización por agitación manual es un procedimiento con alta posibilidad en que la pasteurización no sea eficiente, además de la tarea tediosa de remover los frascos de leche durante el proceso. La investigación realizada demuestra el uso del ultrasonido para la agitación de la leche y de esa forma los glóbulos de grasa en la leche pueden ser rotos en tamaños más pequeños disminuyendo la formación de nata, viabilizando mayor eficiencia en la pasteurización. La técnica utilizada para obtener dicho resultado consiste en irradiar energía ultrasónica a una frecuencia de 28 kHz y potencia de 300 W a los frascos de leche, de modo a obtener la agitación de las muestras y evitar la acumulación de grasa. El buen funcionamiento del prototipo, las pruebas y comparaciones realizadas en el Banco de Leche del Materno Infantil San Pablo, permitieron comprobar la eficiencia y la posibilidad de aplicar la técnica de ultrasonido en las muestras, con la automatización de todo el proceso de pasteurización.

Palabras clave—homogeneización; leche; microorganismo; pasteurización; ultrasonido

I. INTRODUCCIÓN

A medida que la investigación sobre la lactancia materna avanza, el conocimiento sobre conservación del mismo se incrementa. En su aplicación como alimento se observa la superioridad y los múltiples beneficios en la salud infantil tales como el desarrollo intelectual, desarrollo en la motricidad y menor riesgo de padecer enfermedades crónicas [1]. Los diferentes métodos de alimentación alternativos se ven reducidos en razón de todos estos parámetros.

Como los métodos tradicionales utilizados en los bancos de leche humana son el tratamiento térmico y la agitación mecánica, se buscó una nueva tecnología para la agitación de la muestra de leche materna, la cual es la homogeneización por ultrasonido, objetivo principal de esta investigación.

Para la homogeneización de la leche, la misma es radiada con transductores de ultrasonido de 100W de potencia y 28 kHz de frecuencia de resonancia por muestra de leche, el tipo de homogeneización utilizada es la homogeneización

indirecta, ya que el transductor ultrasónico no se encuentra en contacto directo con la muestra, sino a través del frasco de vidrio. El objetivo de la emisión de energía ultrasónica es lograr la agitación mecánica de los frascos de leche tal cual lo suscribe el procedimiento de pasteurización [2] (agitar los frascos de leche cada 5 minutos) así como los beneficios biológicos de la emisión de esta energía en la leche, tales como la esterilización de un grupo de gérmenes por el efecto ultrasónico [3], y la disminución del tamaño de las moléculas de grasas en beneficio de la digestión del infante.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación utiliza el ultrasonido para la generación de la cavitación acústica, como método principal para la homogeneización, para lo cual se ha desarrollado un prototipo pasteurizador y homogeneizador por ultrasonido.

Los elementos principales del homogeneizador son el generador de frecuencia ultrasónica, los transductores y la batea, como se puede apreciar en la Fig. 1.

A. Generador de Ultrasonido

El generador ultrasónico es un generador de señal de potencia, el mismo produce una señal eléctrica de frecuencia sinusoidal amortiguada el cual será suministrado a los transductores de ultrasonido.

Se alimenta de la red eléctrica (110 V, 220 V de 50 Hz/ 60 Hz respectivamente), posteriormente la convierte suministrando a los transductores una señal de salida alterna de alta frecuencia (20 kHz a 40 kHz) de aproximadamente 700 – 1000 Vpp. En la Fig.2., se puede apreciar una imagen simulada de la onda de ultrasonido que entrega el equipo adquirido.

B. Transductor de Ultrasonido

El transductor ultrasónico utiliza el efecto piezoeléctrico para lograr la conversión de energía eléctrica a energía mecánica. Se compone de una cabeza de radiación, electrodo, casquillo, perno pretensado, chip piezoeléctrico y un tubo aislante, como se puede apreciar en la Fig. 3.

En el proyecto se utilizaron transductores piezoeléctricos aplicados en el campo de la limpieza ultrasónica, los mismos

son transductores del tipo PZT-4, y específicamente se adquirió el modelo 6845D-28LB PZT-4.

El transductor ultrasónico es excitado por medio del generador ultrasónico, como este último posee una potencia de salida de 300 W, se utilizaron tres transductores ultrasónicos de 100 W conectados en paralelo a la fuente, por lo tanto cada vez que la placa principal envía una señal de activación al generador, este habilita la conversión de energía, alimentando con aproximadamente 700 Vpp de señal senoidal a los tres transductores.

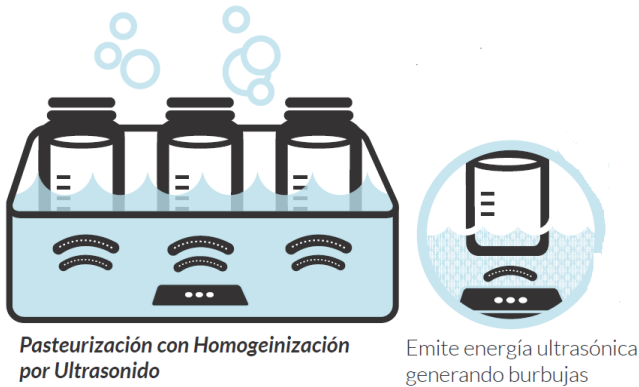


Fig. 1. Pasteurizadora con homogeneizador por ultrasonido

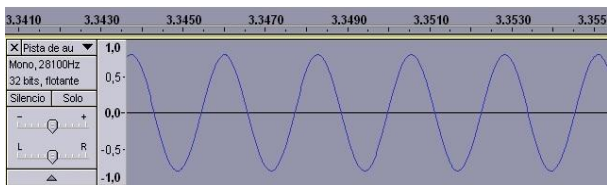


Fig. 2. Simulación de Onda de Ultrasonido entregada por el Generador.



Fig. 3. Transductor piezoeléctrico de ultrasonido

C. Cálculo de las Dimensiones Físicas de la Batea

Para el dimensionamiento de la batea se tuvieron en cuenta los siguientes puntos:

- La cantidad de frascos de leche que se plantea pasteurizar.
- La ubicación, cantidad, forma y volumen requerido por las resistencias calefactoras, así como por la bomba de agua.
- Las indicaciones del fabricante de transductores ultrasónicos adquiridos.

En la Tabla 1 se dispone de la suma de volúmenes individuales que se tuvo en cuenta para la construcción de la batea.

Se decidió realizar la batea interna de acero inoxidable soportando firmemente a los transductores ultrasónicos, y a la bomba de agua externa. El acero inoxidable ofrece excelente resistencia a la corrosión, una adecuada relación resistencia mecánica-peso, propiedades higiénicas, resistencia a temperaturas elevadas y criogénicas a largo plazo, por estas razones fue elegido para formar la batea interna del prototipo.

En la Fig. 4 se muestra el prototipo inicial de la batea diseñada.

TABLA I SUMA DE VOLÚMENES INDIVIDUALES PARA CONSTRUCCIÓN DE LA BATEA

Descripción	Volumen
Volumen destinado a muestras	15.00 litros
Volumen destinado a resistencias	3.64 litros
Volumen recomendado por el fabricante	3.12 litros
Margen de seguridad 10%	2.17 litros
Volumen TOTAL	23.93 litros



Fig. 4. Prototipo inicial de batea

D. Cálculo de la Potencia del ultrasonido por Unidad de Volumen

Para los cálculos de la potencia del ultrasonido por unidad de volumen, se tomó como referencia a las lavadoras ultrasónicas, relacionando cada modelo de la lavadora con su consecuente, entonces de esta manera se pudo generar una relación entre la potencia de ultrasonido y el volumen de agua irradiado. Las marcas utilizadas fueron las siguientes: *Cole-Parmer, RHOSE, Unique, Denimed, Testlab, UCE ultrasonic*. Se encuentra la relación en la cual la potencia ultrasónica necesaria para irradiar 1 litro de agua se encuentra en el rango de los 40 a 50 W, encontrándose esta última potencia en los transductores ultrasónicos comerciales.

Se adquirieron 6 transductores de 50 W y 3 de 100 W, luego de 7 pruebas de homogeneización realizados en el laboratorio, se llega a la conclusión que 50 W de potencia ultrasónica no fueron capaces de agitar una muestra de leche de vaca de 150 mL.

Se duplica la potencia entregada a las muestras, entonces se procede a la instalación de los transductores de 100 W, se realizaron 10 pruebas de rendimiento con los 3 transductores de ultrasonido colocados a la batea, estas pruebas arrojaron mejores resultados, se visualiza una agitación leve en la muestra de leche, necesaria para homogeneizar la muestra, evitando la formación de nata en la leche a prueba durante el proceso de pasteurización.

La agitación de la leche obtenida, a la potencia de ultrasonido irradiada no es tan agresiva, es decir, es la justa y necesaria para agitar la muestra de leche, en un rango de volumen comprobado de 150 – 300 mL, el hecho de que la potencia y por lo tanto la agitación producida sea justa y necesaria es importante para la conservación de las inmunoglobulinas de la leche, que corren el riesgo de quebrarse ante una agitación muy brusca de la leche.

Otro importante dato que nos llevó a doblar la potencia del transductor de ultrasonido, era la premisa descrita por RUSSEL: “Ningún bio-efecto es provocado por la radiación ultrasónica cuando ésta presenta intensidades inferiores a 100 mW/cm²” [5], partiendo de la misma se destaca que la utilización de la potencia mencionada pueda no demostrar efectos en relación a la seguridad microbiológica y en la homogeneidad de la leche.

E. Pruebas en Campo para la Validación de la Técnica

La primera prueba del prototipo en el Laboratorio del Banco de Leche Materna del Hospital San Pablo, fue llevado a cabo en fecha 30 de noviembre del 2012, y se realizó con el hardware equipo pasteurizador y homogeneizador ultrasónico semi-terminado Fig. 5, esta prueba consistió en la verificación completa del proceso de pasteurización, desde el descongelamiento de la muestra, precalentamiento del agua, calentamiento de la leche y posterior pasteurización de la leche materna. Al término del proceso de pasteurización se realizaron los exámenes microbiológicos pertinentes a la muestra de leche pasteurizada por el prototipo.

La segunda prueba del funcionamiento del prototipo con fines de validación de la técnica, fue llevada a cabo en fecha 12 de marzo del 2013, en el Laboratorio del Banco de Leche

del Hospital San Pablo, esta prueba contó con la presencia del equipo de pasteurización del Banco de Leche Materna conformado, por la Dra. María Emilia Berganza Brusquetti, y dos ayudantes. En aquella ocasión la prueba fue realizada, con el hardware y el software (control automatizado del proceso de pasteurización), completamente terminado, como se puede apreciar en la Fig. 6., la misma consistió en la verificación de la efectividad del proceso de pasteurización, para lo cual se utilizó una muestra inoculada con bacterias.

El agente contaminante fue del tipo Enterobacteria Gram negativa E. coli, la cual fue colocado en la muestra mencionada.



Fig. 5. Primera Prueba del Prototipo en el Banco de Leche



Fig. 6. Segunda prueba del Prototipo en el Banco de Leche

F. Resumen de la Primera Prueba realizada en el Laboratorio.

Se realizó la prueba teniendo en cuenta las normas que se aplica en el Banco de Leche [4], se colocaron los frascos en la pasteurizadora tradicional y uno en el prototipo de batea para iniciar el proceso de precalentamiento del agua.

Una vez que el agua de la batea alcanza la temperatura de precalentamiento, el módulo de control proporcional integral derivativo PID empezó a trabajar modulando la salida de la resistencia calefactora, y por lo tanto tratando de mantener la temperatura del agua a 65 °C, entonces empieza el proceso de homogeneización por ultrasonido, radiando la muestra con ultrasonido durante 1 minuto cada 5 minutos, al minuto 15 se observó que la homogeneización estaba agitando las gotas de grasa en la superficie, por lo que se procedió a mantener activa la radiación ultrasónica en forma constante, entonces comenzamos a observar una agitación más brusca de la leche materna, y por lo tanto la separación de las gotas de grasa que se encontraban en la superficie, culminado este tiempo, se pasa al proceso de pasteurización, en el cual el módulo PID mantiene la temperatura del agua a 65 °C +/- 0,1 °C, el proceso de pasteurización se realiza durante 30 minutos continuados, con la radiación de ultrasonido activada permanentemente. Al término de los 30 minutos se verifica la condición de la muestra visualmente, la cual carecía de grumos o cualquier otra formación densa de capa de grasa.

G. Resumen de la Segunda Prueba realizada en el laboratorio

Se sugiere realizar un segundo ensayo, en la cual la muestra de leche sea inoculada con bacterias de propósito, para comprobar la efectividad del proceso de pasteurización en el equipo con homogeneizador ultrasónico, de esta manera se espera que la prueba de incubación luego del proceso de pasteurización sea negativa, lo que indicaría que el proceso de pasteurización es efectivo ya que se esterilizó una muestra inducida.

La idea de la segunda prueba, es validar la técnica de homogeneización por ultrasonido implementado en el proceso de pasteurización.

La cantidad de muestras procesadas en el equipo fueron de 2 frascos con leche, una de ellas era leche normal extraída de la cadena de conservación de frío y la otra también extraída pero inoculada con bacterias contaminantes para el propósito de la comprobación de la efectividad de la pasteurización del equipo en prueba. El agente contaminante fue del tipo *Enterobacteria Gram negativa E. coli*, la cual fue colocado en la muestra mencionada.

Se procede a las etapas de precalentamiento, pasteurización e homogeneización por ultrasonido teniendo y cumpliendo las normas técnicas para tal efecto. Una vez culminado el proceso, el equipo envía los registros de temperatura grabados en memoria a la PC a través del puerto serial. Estos registros fueron visualizados en la *notebook*, a través de un programa específico generado para este fin. Luego de este paso se da por terminado el proceso de pasteurización y se procede a la descarga del agua caliente de

la batea mediante la función del programa, culminando por completo la prueba realizada.

III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

A. Discusión del equipo profesional del Banco de Leche – Primera Prueba

Se realizó el procedimiento según las normas técnicas establecidas, y se procedió a la verificación de los resultados de la pasteurización por el método de incubación de 48 h, donde no encontró población bacteriana confirmando una pasteurización efectiva, el hecho que el resultado sea negativo, no es un resultado definitivo pues la leche materna de por sí puede que no haya presentado contaminación desde la colecta. Por la cual se realiza una segunda prueba.

B. Discusión del equipo profesional del Banco de Leche – Segunda Prueba

Los procedimientos se realizaron nuevamente según las normas técnicas establecidas, y se procedió a la verificación de los resultados de la pasteurización por el método de incubación de 48 h, donde no se encontró población bacteriana confirmando que la pasteurización es efectiva y que el equipo funciona como debería ser eliminando patógenos que puedan encontrarse en la Leche Materna.

C. Técnica Empleada y Resultados

Técnica: Aislamiento de cultivo

Medios y reactivos: Agar nutritivo en placa

Método: Se toma la placa con agar nutritivo y con un rotulador, sobre la base de la placa, se divide en cuartos que se numeran del 1 al 4. Se toma la cepa y se siembra en la placa (en este caso muestra de la leche contaminada pasteurizada) con un asa curva haciendo una estría en el primer cuarto, luego se esteriliza el asa, y después de enfriarla, se pasa por el final de la estría del primer cuarto y se hace una nueva estría en el segundo, y así sucesivamente hasta llegar al cuarto. Luego se incuba durante 24 h a 37 °C.

D. Resultados Laboratoriales

Resultados de las muestras analizadas al final de las 72 h de incubación:

Primera Práctica: NEGATIVA

Segunda Práctica: NEGATIVA

Resultados: Ambas pruebas realizadas en fechas diferentes tanto la pasteurizada en forma cotidiana y la inducida a la contaminación dieron resultados negativos a la proliferación de bacterias, lo que se concluye que ambas pasteurizaciones resultaron exitosas y el prototipo funciona como debe ser.

IV. CONCLUSIONES

Se ha logrado, optimizar la técnica manual convencional y con mínima intervención del operador, el tratamiento de la Leche Materna Humana en el proceso de Pasteurización ajustando a las exigencias de normas internacionales adoptadas en el país. Mediante las pruebas experimentales realizadas en conjunto con el departamento de Banco de Leche

Humana del Hospital San Pablo se ha comprobado la eficacia del método innovador introducido por lo que las ventajas con las automatizaciones de la ingeniería de electrónica aplicada sobrepasan en beneficios y optimizan la convencional.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Hospital Materno Infantil de San Pablo y a la Dra. Martha Herrera por el apoyo y el asesoramiento técnico y así mismo a todo el plantel del Banco de Leche para la realización del proyecto.

REFERENCIAS

- [1] Cuantificación de los beneficios de la lactancia materna: reseña de la evidencia. División de Promoción y Protección de la Salud (HPP) de la Organización. Disponible en: <http://www.linkagesproject.org/media/publications/BOBsp.pdf>
- [2] NORMAS TÉCNICAS REDBLH-BR PARA BANCOS DE LECHE HUMANA: Pasteurización. FEB 2005 BLH-IFF/NT- 34.05 p 6. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília : Anvisa, 2008. 160 p. ISBN 978-85-88233-28-7, p 136
- [3] Effects of human milk homogenization on fat absorption in very low birth weight infants. Author. Thomaz A.C.P. · Goncalves A.L. · Martinez F.E. Year. 1999.
- [4] ALMEIDA, JAG. “*Qualidade do leite humano coletado e procesado em bancos de leite*”. [Dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 1986.
- [5] AHMED, F.I.K., RUSSEL, C., “*Sinergism between ultrasonic waves and hydrogen peroxide in the killing of microorganisms*”. Journal of Applied Bacteriology, v 39, pp. 31-40, 1975.