




Perfiles

Número 11
Vol. 1-2014
ISSN 1390-5740
ISSN 2477-9105

Revista Científica de la Facultad de Ciencias



Física
Química
Matemática
Estadística Aplicada
Energías Alternativas
Ciencias Ambientales
Biotecnología
Fitofarmacia
Enfermedades Infecciosas
Nutrición y Bromatología



Autoridades de La Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Ing. Rosa Elena Pino Neira
Rectora

Ing. Geovanny Novillo Andrade
Vicerrector Académico

Ing. Landy Ruiz
Vicerrectora de Investigación y Posgrado

Ing. Fausto Marcelo Donoso
Vicerrector Administrativo

Dra. Nancy Veloz
Decana Facultad de Ciencias

Revista Internacional Arbitrada
Distribución libre

CORRESPONDENCIAS Y SUSCRIPCIONES:

Revista Perfiles
Panamericana Sur, km 1 ½
Riobamba, Ecuador
Telef.: (593) (03) 2998200 ext 161
e-mail: revistaperfiles@epoch.edu.ec

PERFILES (ISSN 1390-5740) es una revista científica semestral publicada por la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH, Riobamba – Ecuador)
Año XVIII
Número 11

CUERPO EDITORIAL:

PRESIDENTE.

Dr. Celso Guillermo Recalde Moreno
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
Facultad de Ciencias (Riobamba, Ecuador). crecalde672000@yahoo.com

EDITOR GENERAL.

Dr. Manuel Morales Yuste
Universidad de Granada
Facultad de Farmacia (Granada, España). manumorayus@hotmail.com

COMITÉ EDITORIAL:

Dr. Benito del Castillo García
Universidad Complutense de Madrid
Académico Numerario de la Real Academia de Farmacia (Madrid, España)

Dr. Salvador González Carcedo
Universidad de Burgos
Facultad de Ciencias (Burgos, España)

Dr. Andrés León Leal
Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). leonand@ula.ve

Dr. Félix D. Andueza Leal
Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). anduezaf@ula.ve

Dr. Francisco Morillas Márquez
Universidad de Granada
Facultad de Farmacia (Granada, España). fmorilla@ugr.es

Dr. César A. Cisneros Ramírez
Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría
Centro de Estudios de Tecnologías Energéticas Renovables (La Habana, Cuba). cesar@ceter.cujae.edu.cu

Dr. David Jaramillo Abril
Universidad Nacional de Chimborazo
Instituto de Ciencia e Innovación, Tecnología y Saberes (Chimborazo, Ecuador). djaramillo@unach.edu.ec

Dr. Jorge L. Mírez Tarrillo
Universidad Nacional de Ingeniería. (Lima, Perú). jmirez@uni.edu.pe

Dr. Carlos F. Ávila Vega
Escuela Politécnica Nacional
Facultad de Ingeniería Mecánica (Quito, Ecuador). cavila67@caltech.edu

Dra. Jenny M. Moreno Mora
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
Facultad de Ciencias (Chimborazo, Ecuador). jennymorenom@yahoo.com

COMITÉ CIENTÍFICO:

DIRECTOR

Dr. Juan Marcelo Ramos Flores
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
Facultad de Ciencias (Chimborazo, Ecuador). jmarceloramos@gmail.com

MIEMBROS

Dr. Gerardo E. Medina Ramírez
Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). medinag47@gmail.com

Dra. Adriana C. Rincón Alarcón
Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). rinconadri@yahoo.com

Dra. Morella L. Guillén Ferraro
Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). morellaguillen@hotmail.com

Dr. José Mejía López
Pontificia Universidad Católica de Chile
Facultad de Física (Santiago, Chile). jmejia@puc.cl

Dr. Electo E. Silva Lora
Universidad Federal de Itajubá
Instituto de Ingeniería Mecánica (Itajubá, Brasil). electo@unifei.edu.br

Dr. Rubén Mario Caffera
Universidad de la República
Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay). rmcaffera@yahoo.com

Dr. John Martin Evans
Universidad de Buenos Aires
Facultad de Arquitectura (Buenos aires, Argentina). evansjmartin@gmail.com

Dr. Silvia de Schiller
Universidad de Buenos Aires
Facultad de Arquitectura (Buenos aires, Argentina). sdeschiller@gmail.com

Biofísica Natali Alejandra Chavez Oleas
Ministerio de Electricidad y Energía Renovable
Dirección de Aplicaciones Nucleares (Quito, Ecuador). natali.chao@gmail.com

Dr. Freddy Benalzar
Hospital José Carrasco Arteaga IESS (Cuenca, Ecuador). f.benalcazar@yahoo.es

DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN

Centro de Apoyo Diseño Editorial ESPOCH
William Geovanny Chicaiza Parco. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Informática y Electrónica (Chimborazo, Ecuador). williamch693@gmail.com

IMPRESIÓN

CONTENIDO:

EVALUACIÓN DE PLANTAS PROTEICAS Y SU EFECTO EN LA POBLACIÓN MICROBIAL DE METANÓGENOS Y METANOGENÉISIS RUMIAL *IN VITRO*
Daniel-Alejandro Zabala-Montesdeoca, Byron-Leoncio Díaz-Monroy, Sonia-Elisa Peñafiel-Acosta.....4

VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE LIMPIEZA TRAS LA ELABORACIÓN DEL PRODUCTO BETAMETASONA EN EL REACTOR OLSA
Fanny-Alexandra Villa-Yuquilema, Carlos Pilamunga-Campus, Víctor Guangasig.....14

DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE UN ESTERILIZADOR SOLAR POR VÍA SECA
Arcelio Hernández-Fereire.....18

FRECUENCIA DE NEOPLASIA MAMARIA MALIGNA CANINA POR ESTUDIO CITOLÓGICO
Morella Guillén, Mercedes López, Yerselli Mariño, Andrea Pérez, Morelva Toro.....25

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES.....31

EVALUACIÓN DE PLANTAS PROTEICAS Y SU EFECTO EN LA POBLACIÓN MICROBIAL DE METANÓGENOS Y METANOGÉNESIS RUMINAL *IN VITRO*

Daniel-Alejandro Zabala-Montesdeoca, Byron-Leonicio Díaz-Monroy, Sonia-Elisa Peñafiel-Acosta.

Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Panamericana Sur Km 1, Teléfono: 097192784, E-mail: holabyron@yahoo.es

Resumen

En el Departamento de Ciencias Biofisiológicas del Instituto de Ciencia Animal (ICA), Municipio “San José de las Lajas”, Provincia La Habana - Cuba, entre Septiembre 2008 a Enero 2009, se realizó la: “Evaluación de plantas proteicas y su efecto en la población microbial de metanógenos y metanogénesis ruminal *in vitro*”, determinándose como las mejores plantas proteicas *Samanea saman*, *Tithonia diversifolia* y *Albizia lebbbeck*, las cuales registraron las menores producciones de gas metano con valores de 4.31, 5.70 y 9.18 μL respectivamente; de estas plantas la que mejores resultados presentó en la ecología microbiana fue *Samanea saman* registrando una población de Bacterias Viables Totales de 34.22×10^{11} UFC/mL, densidades de Bacterias y Hongos Celulolíticos fue de 32.33×10^5 UFC/mL y 15.00×10^4 UPC/mL a las 8 horas de fermentación respectivamente; mientras que la densidad de Bacterias Metanogénicas registro una población de 11.33×10^{10} UFC/mL a la misma hora de evaluación. Por ello se recomienda utilizar la planta proteica *Samanea saman* para la implementación de bancos de proteína para bovinos en el trópico, a fin de disminuir la contaminación ambiental por gas metano y amoníaco, con un excelente incremento de bacterias y hongos celulolíticos que permitirán aprovechar de mejor manera los nutrientes aportados por los pastos.

Palabras claves: Metanógenos, ruminal, plantas proteicas, metano

Abstract

The research entitled “Assessment of the protein plants and their effect in the microbial population of methanogens and ruminal methanogenesis *in vitro*” has been carried out at the Bio-Physiological Sciences department of the Animal Sciences Institute, “San José de las Lajas”, La Habana – Cuba, from September 2008 to January 2009. The plants which recorded lower methane gas outcome were *Samanea saman*, *Tithonia diversifolia* y *Albizia lebbbeck*, with values of 4.31, 5.70 y 9.18 μL , respectively. Among the previous plants, *Samanea saman*, yielded the best results, registering a Total Viable Bacteria population of 34.22×10^{11} UFC/mL, Bacteria and Cellulolytic Fungus density of 32.33×10^5 UFC/mL and 15.00×10^4 UFC/mL respectively, after a 8-hour-long fermentation; whereas the Methanogenic Bacteria density recorded 11.33×10^{10} UFC/mL at the same time. Therefore, it is recommended that the protein plant *Samanea saman* should be used for implementing protein banks for cattle at the tropics, in order to reduce the environmental pollution caused by methane gas and ammoniac, with an outstanding increase of Bacteria and Cellulolytic Fungus, which will allow making the most of the nutrients provided by the grass.

Keywords: Methanogens, ruminal, proteic plants, methane

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, las investigaciones en nutrición animal se han encaminado a optimizar la eficiencia productiva del ganado por manipulación de la comunidad microbiana que habita en el tracto gastrointestinal de estos animales (1). El empleo de los árboles y arbustos en la alimentación animal se halla en auge, considerando que pueden ser incluidos en los sistemas ganaderos proporcionando un servicio ambiental debido a que los animales disponen de mayor confort. La suplementación con estas plantas incrementa el valor nutritivo de la dieta que consumen los animales debido a su mayor contenido en proteínas, vitaminas y minerales.

Uno de los problemas más serios a los que se enfrenta el mundo es el calentamiento global debido al incremento de emisiones de gases que provocan el denominado efecto invernadero (GEI). El metano (CH_4) es un potente GEI, ya que su potencial de absorción de la radiación es aproximadamente 21 veces superior al del CO_2 (5), si bien su concentración con respecto al CO_2 es muy baja, su contribución al efecto invernadero es importante, por lo que la disminución de su emisión puede ocasionar ventajas ecológicas considerables.

El CH_4 entérico que emiten los rumiantes no solo constituye un problema ecológico, sino que también ocasiona una pérdida considerable de la energía del alimento (6), y como consecuencia disminuye la productividad de estos animales, ya que entre el 2 y el 12% de la energía bruta de los alimentos consumidos por los animales, se pierde en forma de metano (4). De estudios precedentes se conoce que los metanógenos viven de manera endosimbiótica con los protozoos del rumen; es por ello que cualquier práctica que reduzca su población consecuentemente permitirá reducir los metanógenos y producción de metano en el rumen.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y duración del experimento

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología del Rumen del Departamento de Ciencias Biofisiológicas del Instituto de Ciencia Animal, ubicado en la carretera central a 47 $\frac{1}{2}$ km ciudad de la Habana- Cuba. La duración del trabajo de investigación fue de 120 días. La validación de la investigación se la realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal (LABIMA), de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, ubicado en la panamericana sur km 1 $\frac{1}{2}$ de la ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo-Ecuador, y tuvo una duración de 30 días. Las condiciones meteorológicas en las zonas de estudio se resumen en el cuadro 1.

PARÁMETROS	ICA – CUBA	ESPOCH - ECUADOR
Temperatura	26 °C	14 °C
Humedad	78%	60%
Vientos	15 km/h	22 km/h
Heliofanía	11 horas	10 horas

Cuadro 1. CONDICIONES METEOROLÓGICAS
Fuente: Estación Meteorológica ICA, (2008). FRN-ESPOCH, (2008).

Unidades experimentales

La investigación estuvo conformada por dos experimentos, detallados a continuación:

Primer experimento: “Evaluación de 11 plantas proteicas y su efecto en la metanogénesis ruminal *in vitro*”. Cada unidad experimental estuvo constituida por una botella de vidrio de 100 mL de capacidad, en donde se introdujo el líquido ruminal, pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*), y la planta proteica evaluada, en relación pasto estrella: árbol evaluado 70:30, siendo necesarias un total de 144 botellas para la consecución de este experimento. **Segundo experimento:** “Evaluación de las 3 mejores plantas proteicas y su efecto en la población de metanógenos ruminales *in vitro*”. Cada unidad experimental para el segundo experimento estuvo compuesta por una botella de vidrio de 100 mL de capacidad, en donde se introdujo el líquido ruminal, pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*), y las tres mejores plantas proteicas evaluadas en el experimento uno (*Samanea saman*, *Albizia lebbbeck* y *Tithonia diversifolia*), en relación pasto estrella: árbol evaluado 70:30, siendo necesarias un total de 36 botellas para la consecución de este experimento.

Tratamientos y diseño experimental

Primer experimento: Los tratamientos en este experimento estuvieron conformados por 11 plantas que fueron sometidas a digestión *in vitro* junto con el pasto estrella, las plantas integran el arboretum del Instituto de Ciencia Animal y son las siguientes:

<i>Leucaena leucocephala</i>	<i>Pithecellobium dulce</i>
<i>Gliricidia sepium</i>	<i>Cordia alba</i>
<i>Azadirachta indica</i>	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>
<i>Albizia lebbbeck</i>	<i>Guazuma ulmifolia</i>
<i>Moringa oleifera</i>	<i>Tithonia diversifolia</i>
<i>Samanea saman</i>	

El diseño experimental empleado fue completamente al azar en arreglo factorial 12 x 4 (12 tratamientos; 4 horas de muestreo 4, 8, 12 y 24 horas), para los indicadores producción de gas y metano.

Segundo experimento: Se utilizaron las 3 mejores plantas que redujeron en mayor grado la producción de metano *in vitro* del primer experimento (*Samanea saman*, *Albizia lebbbeck* y *Tithonia diversifolia*), que fueron sometidas a digestión *in vitro* junto con el pasto estrella en relación 30:70 comparados versus un grupo Control. El diseño experimental empleado fue completamente al azar en arreglo factorial 4 x 3 (4 tratamientos; 3 horas de muestreo 2, 4 y 8 horas), para los indicadores microbiológicos y fermentativos.

Análisis estadísticos y pruebas de significancia

Para los análisis estadísticos los datos fueron sometidos a los siguientes procedimientos:

Análisis de Varianza (ADEVA).

Separación de promedios por el método de rango múltiple de Duncan a un nivel de significancia de $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$.

Procedimiento experimental

Primer experimento: El experimento se condujo bajo condiciones *in vitro*, para lo cual se empleó la técnica de Theodorou, M. et al, (1994), y se utilizaron botellas de vidrio de 100 mL selladas con tapón de butilo y agrafe. En cada botella se introdujo la mezcla integrada por líquido de rumen y solución buffer en una relación de una parte de líquido ruminal, dos partes de solución buffer. El inóculo ruminal se obtuvo a partir de dos búfalos canulados en rumen, alimentados con una dieta de forraje de gramíneas sin suplementación adicional y libre acceso al agua. La muestra de líquido ruminal se recolectó a través de la cánula, con la ayuda de una bomba de vacío y se lo con-

servó en termos herméticamente cerrados hasta su traslado al laboratorio de microbiología y genética molecular del rumen, del Instituto de Ciencia Animal donde, posteriormente, se filtró a través de muselina. Para conformar la mezcla a fermentar, se utilizó el pool de líquido ruminal de los toros con el propósito de eliminar el efecto animal. El alimento base para la fermentación es pasto estrella, la misma es estimada a partir de un área sin pastorear del Instituto de Ciencia Animal. Para su preparación, se recolectaron hojas con sus pecíolos, de manera que semejen el bocado del animal. La muestra se secó en estufa a 60°C durante 48 horas. De las plantas seleccionadas para su evaluación como candidatas a reducir la producción de metano, se recogió las fracciones hojas + pecíolos + vainas verdes. La fracción a muestrear fue de 1 kg. Una vez que se obtuvo, se esparcieron las muestras sobre un plato de asfalto con el propósito de secarlas al sol durante 3 días consecutivos. Posteriormente se las molió con ayuda de un molino hasta un tamaño de partículas de 1mm.

Segundo experimento: Se empleó el mismo procedimiento que en el primer experimento. Se utilizó la técnica de cultivo de Hungate, R. (1950), en tubos roll y bajo condiciones de anaerobiosis estricta. La siembra de bacterias viables totales, y celulolíticas se efectuarán en los medios de cultivo de Caldwell, D. y Bryant, M. (1996), modificado por Galindo, J. (1998). Para el conteo de las bacterias metanogénicas se empleó el mismo método; pero se utilizó una mezcla de hidrógeno y dióxido de carbono (60:40), en la fase gaseosa. Los protozoos se preservaron en formol al 10% en una dilución 1:1 (v/v). Las muestras preservadas se guardaron en refrigerador a 4°C y se contaron, posteriormente, al microscopio óptico en cámara de Neubauer. Para ello los protozoos se tiñeron con una solución de violeta genciana al 0.01% en ácido acético glacial al 1%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PRIMER EXPERIMENTO: EVALUACIÓN DE PLANTAS PROTEICAS Y SU EFECTO EN LA METANOGÉNESIS RUMINAL *IN VITRO*

Producción de gas *in vitro*

La producción de gas *in vitro* al evaluar diferentes plantas proteicas respecto a la metanogénesis ruminal presentó diferencias estadísticas ($P < 0.01$), de esta manera el grupo control en el cual se sometió a digestión únicamente al *Cynodon nlemfuensis* presentó la mayor producción de gas obteniéndose un promedio de 20.41 mL de gas, en tanto que las menores producciones de gas se registraron mediante la utilización de *Samanea saman* con un promedio de 8.17 ml de gas; *Tithonia diversifolia* con una producción promedio de 10.75 mL de gas, seguida por *Azadirachta indica* con 12.25 mL de gas, presentando diferencias estadísticas no significativas con *Albizia lebbbeck* con un promedio de 12.33 ml de gas, las demás plantas proteicas presentaron producciones de gas superiores, por lo que no fueron consideradas para la segunda fase del estudio.

Producción de metano

Al evaluar la producción de gas metano *in vitro* de diferentes plantas proteicas respecto a la metanogénesis ruminal, estas presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.01$), registrándose la mayor producción de gas metano en el grupo control donde se sometió a digestión únicamente al *Cynodon nlemfuensis* obteniéndose una producción de metano de 65.30 μL , mientras que las menores producciones de gas metano se obtuvieron con la utilización de *Samanea saman* con una producción promedio de 4.31 μL de gas metano, seguida de *Tithonia diversifolia* con 5.70 μL de gas metano, a continuación *Azadirachta indica* con una producción de gas metano de 8.53 μL a pesar de su baja producción de gas metano esta planta es poco pala-

table para el animal por lo que *Albizia lebbbeck* con una producción de 9.18 μL de gas metano fue seleccionada para el segundo experimento de la investigación, las demás plantas proteicas presentaron producciones de gas metano superiores lo cual indica su baja actividad anti metanogénica *in vitro*, cuadro 2.

Galindo, J. (1998), informó el efecto de *Leucaena leucocephala*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Gliricidia sepium*, *Sapindus saponaria* como plantas defaunantes de protozoos en las cuales se encontraron taninos condensos aislados a partir de hojas y pecíolos, las mismas que causaron el efecto deseado al disminuir la población protozoarica y metanogénica del rumen.

PLANTAS PROTEICAS	VARIABLES	
	PDN. GAS TOTAL (mL)	PDN. CH4 (μL)
<i>Samanea saman</i>	8,17 i	4,31 l
<i>Tithonia diversifolia</i>	10,75 h	5,70 k
<i>Azadirachta indica</i>	12,25 g	8,53 j
<i>Albizia lebbbeck</i>	12,33 g	9,18 i
<i>Cordia alba</i>	13,50 f	11,71 h
<i>Leucaena leucocephala</i>	17,25 c	16,37 g
<i>Pithecellobium dulce</i>	12,83 fg	20,04 f
<i>Moringa oleifera</i>	19,17 b	25,28 e
<i>Gliricidia sepium</i>	16,00 de	29,03 d
<i>Guazuma ulmifolia</i>	16,75 cd	37,99 c
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	15,33 e	64,68 b
Control	20,41 a	65,30 a
Media	14,56	24,84
Probabilidad	0,0001	0,0001
% CV	8,60	1,17

Cuadro 2. PRODUCCIÓN DE GASES EN LA EVALUACIÓN DE PLANTAS PROTEICAS SOBRE LA METANOGÉNESIS RUMINAL "IN VITRO".

SEGUNDO EXPERIMENTO: EVALUACIÓN DE PLANTAS PROTEICAS Y SU EFECTO EN LA POBLACIÓN DE METANÓGENOS RUMINALES *IN VITRO*

Bacterias viables totales: Al determinar la densidad de bacterias viables totales en la evaluación de plantas proteicas sobre la metanogénesis ruminal "in vitro", se encontraron diferencias estadísticas significativas obteniéndose la mayor densidad para *Albizia lebbbeck* con 42.77×10^{11} UFC/mL en tanto que las menores densidades de Bacterias Viables Totales se registraron mediante la utilización de *Samanea saman* con 34.22×10^{11} UFC/mL y *Tithonia diversifolia* con 29.77×10^{11} UFC/mL hasta llegar a la menor densidad con el tratamiento control el mismo que registró un valor de 24.55×10^{11} UFC/mL, cuadro 3.

Los resultados obtenidos para esta variable en el tratamiento control posiblemente se deban a que en su totalidad la población de bacterias está representada por bacterias metanogénicas, en tanto que las poblaciones de bacterias de los tratamientos en los cuales se incluyó plantas proteicas demuestran mayores promedios por el hecho de que están representadas por bacterias celulolíticas en mayor cantidad con una marcada disminución de bacterias metanogénicas, que también se hallan contabilizadas dentro de la población total de bacterias.

PLANTAS PROTEICAS							
VARIABLES	Control	<i>Samanea saman</i>	<i>Albizia lebbbeck</i>	<i>Tithonia diversifolia</i>	X	Prob.	CV (%)
Densidad de Bacterias Viables Totales, 1×10^{11} UFC/mL	24,55 d	34,22 b	42,77 a	29,77 c	32,83	0,0001**	7,44

Cuadro 3. DENSIDAD DE BACTERIAS VIABLES TOTALES EN LA EVALUACIÓN DE PLANTAS PROTEICAS SOBRE LA METANOGENÉISIS RUMINAL "IN VITRO".

PLANTAS PROTEICAS DE ACUERDO AL TIEMPO															
Variables	2 Horas				4 Horas				8 Horas				X	Prob.	CV(%)
	C	SS	AL	TD	C	SS	AL	TD	C	SS	AL	TD			
Densidad de Bacterias Celulolíticas, 1×10^5 UFC/mL	13,00b	23,66a	13,66b	14,33b	8,00c	26,00	15,66b	17,00b	7,66c	32,33a	20,33b	31,00a	18,56	0,0001**	9,24
Densidad de Bacterias Metanogénicas, 1×10^{10} UFC/mL	74,00a	70,33a	13,66b	71,33a	78,33a	20,33c	41,33b	22,66c	84,66a	11,33c	20,66b	12,00c	48,31	0,0001**	3,98
Densidad de Hongos Celulolíticos, 1×10^4 UFC/mL	6,00a	7,66a	72,66a	6,33a	5,00c	11,00a	7,00bc	8,33b	4,00c	15,00a	8,33b	9,33b	7,86	0,0001**	9,72
Densidad de Protozoarios, 1×10^3 Especímenes/mL	91,8 a	63,07d	83,33b	72,20c	93,17a	53,50d	80,13b	62,73c	106,17a	33,27d	71,77b	52,83c	72,00	0,0001**	1,15

TIEMPO DE FERMENTACIÓN DE ACUERDO AL TIPO DE PLANTA PROTEICA															
Variables	Control			<i>Samanea saman</i>			<i>Albizia lebbbeck</i>			<i>Tithonia diversifolia</i>			Prob.	CV(%)	
	2	4	8	2	4	8	2	4	8	2	4	8			
Densidad de Bacterias Celulolíticas, 1×10^5 UFC/mL	13,00a	8,00ab	7,66b	23,66a	26,00b	32,33a	13,66b	15,66ab	20,33a	14,33b	17,00b	31,00a	0,0001**	9,24	
Densidad de Bacterias Metanogénicas, 1×10^{10} UFC/mL	74,00b	78,33b	84,66a	70,33a	20,33b	11,33c	72,66a	41,33b	20,66c	71,33a	22,66b	12,00c	0,0001**	3,98	
Densidad de Hongos Celulolíticos, 1×10^4 UFC/mL	6,00a	5,00a	4,00a	7,66a	11,00b	15,00a	6,33a	7,00a	8,33a	6,33b	8,33ab	9,33a	0,0001**	9,72	
Densidad de Protozoarios, 1×10^3 Especímenes/mL	91,8b	93,17b	106,17a	63,07d	53,50b	33,27c	83,33a	80,13b	71,77c	72,20a	62,73b	52,83c	0,0001**	1,15	

Cuadro 4. COMPORTAMIENTO DE LOS INDICADORES MICROBIOLÓGICOS Y FERMENTATIVOS, EN LA EVALUACIÓN DE PLANTAS PROTEICAS SOBRE LA METANOGENÉISIS RUMINAL "IN VITRO", DE ACUERDO AL TIPO DE PLANTAS Y TIEMPO DE FERMENTACIÓN.

C: Control; SS: *Samanea saman*; AL: *Albizia lebbbeck*; TD: *Tithonia diversifolia*; Según Duncan ($P < 0.05$ y $P < 0.01$); Prob: Probabilidad; CV (%): Porcentaje de Coeficiente de Variación; X: Media General; **: Diferencia altamente significativa entre promedios; *: Diferencia significativa entre promedios; ns: Diferencia no significativa entre promedios; Letras iguales no difieren estadísticamente.

Bacterias celulolíticas: La densidad de bacterias celulolíticas registró diferencias significativas ($P < 0.01$) dentro de los tratamientos de cada uno de los factores en estudio; asimismo se determinó interacción significativa entre factores, por lo que se exponen los siguientes resultados:

Al comparar los promedios de la densidad de bacterias celulolíticas, en función al tipo de planta proteica dentro de cada hora de evaluación, se determinaron diferencias estadísticas ($P < 0.01$), con diferentes comportamientos en la densidad de bacterias celulolíticas dentro de cada periodo de tiempo evaluado; de esta manera al comparar la densidad de bacterias celulolíticas a las 2 horas, se determinó el mayor promedio mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman* con 23.66×10^5 UFC/mL, seguido por las densidades de bacterias obtenidas mediante la incorporación *in vitro* de *Tithonia diversifolia*, *Albizia lebbbeck* así como en el grupo control en donde se determinaron densidades de 14.33, 13.66 y 13.00×10^5 UFC/mL respectivamente, cuadro 4. Por su parte a las 4 horas de evaluación, la densidad de bacterias celulolíticas obtenida mediante la incorporación de plantas proteicas *in vitro* difieren estadísticamente entre sí, siendo superior la densidad de bacterias celulolíticas mediante el empleo de *Samanea saman* alcanzando un promedio de 26.00×10^5 UFC/mL, seguida por los promedios obtenidos mediante la utilización *in vitro* de *Tithonia diversifolia* y *Albizia lebbbeck* con promedios de 17.00 y 15.66×10^5 UFC/mL respectivamente, en última instancia el grupo control presentó la menor densidad de bacterias celulolíticas con 8.00×10^5 UFC/mL. Finalmente, a las 8 horas de evaluación, existe un comportamiento similar a las comparaciones anteriormente realizadas, determinándose los mayores promedios mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman* y *Tithonia diversifolia* con 32.33 y 31.00×10^5 UFC/mL de bacterias

celulolíticas; posteriormente se ubicaron los promedios de densidades de bacterias celulolíticas mediante la incorporación *in vitro* de *Albizia lebbbeck* y por otro lado el grupo control en donde se determinaron densidades de 20.33 y 7.66×10^5 UFC/mL respectivamente.

Al comparar los promedios de la densidad de bacterias celulolíticas, en función a las horas de evaluación dentro de cada tipo de planta proteica, se determinaron diferencias estadísticas ($P < 0.01$), con diferentes comportamientos dentro de cada tipo de planta proteica evaluada y grupo control; de esta manera al comparar la densidad de bacterias celulolíticas dentro del grupo control, se determinó el mayor promedio a las 2 horas con 13.00×10^5 UFC/mL, seguido por las densidades de bacterias obtenidas a las 4 y 8 horas de evaluación en las cuales se determinaron densidades de 8.00 y 7.66×10^5 UFC/mL respectivamente.

Por su parte, mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman* la densidad de bacterias celulolíticas difieren estadísticamente en los periodos de tiempo evaluados, siendo superior la densidad de bacterias celulolíticas a las 8 horas alcanzando un promedio de 32.33×10^5 UFC/mL; seguida por los promedios obtenidos a las 4 y 2 horas de evaluación con promedios de 26.00 y 23.66×10^5 UFC/mL correspondientemente, lo cual indica un incremento en la población de estas bacterias a medida que transcurre el tiempo. Mediante la incorporación *in vitro* de *Albizia lebbbeck* se determinaron diferencias estadísticas: es así que a las 8 horas de evaluación se determinó el mayor promedio con 20.33×10^5 UFC de bacterias celulolíticas/mL, seguida por las densidades de bacterias obtenidas a las 4 y 2 horas de evaluación donde se determinaron promedios de 15.66 y 13.66×10^5 UFC/mL en su orden.

Finalmente, al incorporar de manera *in vitro* la planta proteica *Tithonia diversifolia* existe un comportamiento similar a las comparaciones anteriormente realizadas con la incorporación de plantas proteicas, determinándose el mayor promedio de bacterias a las 8 horas de evaluación con 31.00×10^5 UFC/mL de bacterias celulolíticas; posteriormente se ubicó el promedio de densidad de bacterias celulolíticas a las 4 horas con 17.00×10^5 UFC/mL y con el menor promedio la densidad de bacterias alcanzada a las 2 horas de evaluación con 14.33×10^5 UFC/mL.

Bacterias metanogénicas: Dentro de la cuantificación de bacterias metanogénicas se registraron diferencias significativas ($P < 0.01$), entre los tratamientos de los dos factores evaluados, determinándose además interacción

significativa entre factores, encontrándose los siguientes resultados:

En el contraste de promedios de la densidad de bacterias metanogénicas, en función al tipo de planta proteica dentro de cada hora de evaluación, se determinaron diferencias estadísticas ($P < 0.01$), con diferentes comportamientos dentro de cada periodo de tiempo evaluado: de esta manera al comparar la densidad de bacterias metanogénicas a las 2 horas no se determinaron diferencias estadísticas. Es así que los promedios obtenidos en el grupo control y mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman*, *Albizia lebbbeck* y *Tithonia diversifolia* presentaron densidades de bacterias metanogénicas de 74.00, 70.33, 72.66 y 71.33x10¹⁰ UFC/mL respectivamente.

A las 4 horas de evaluación, las densidades de bacterias metanogénicas obtenida mediante la incorporación de plantas proteicas *in vitro* difieren estadísticamente entre sí, siendo superior la densidad de bacterias metanogénicas obtenida en el grupo control donde no se utilizaron plantas proteicas con un promedio de 78.33x10¹⁰ UFC/mL; y determinándose una mayor eficiencia en la reducción de bacterias metanogénicas mediante el empleo de *Samanea saman* y *Tithonia diversifolia* con un promedio de 20.33 y 22.66x10¹⁰ UFC/mL, seguidas por el promedio obtenido mediante la utilización *in vitro* de *Albizia lebbbeck* con un promedio de 41.33x10¹⁰ UFC/mL. Por otro lado, a las 8 horas de evaluación existe un comportamiento similar a la comparación anteriormente realizada, determinándose las mayores eficiencias en reducción de bacterias metanogénicas mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman* y *Tithonia diversifolia* con 11.33 y 12.00x10¹⁰ UFC/mL; posteriormente en orden de eficiencia se ubicó el promedio de densidad de bacterias metanogénicas mediante la incorporación *in vitro* de *Albizia lebbbeck* con un promedio de 20.66x10¹⁰ UFC/mL; y finalmente con la mayor densidad de este tipo de bacterias se encuentra el grupo control en donde se determinó una densidad de 84.66x10¹⁰ UFC/mL respectivamente.

Al comparar los promedios de la densidad de bacterias metanogénicas, en función a las horas de evaluación dentro de cada tipo de planta proteica, se determinaron diferencias estadísticas ($P < 0.01$), con diferentes comportamientos dentro de cada tipo de planta proteica evaluada y grupo control; de esta manera al comparar la densidad de bacterias metanogénicas dentro del grupo control, se determinó el mayor promedio a las 8 horas con 84.66x10¹⁰ UFC/mL, seguido por las densidades de bacterias obtenidas a las 4 y 2 horas de evaluación en las cuales se

determinaron densidades de 78.33 y 74.00x10¹⁰ UFC/mL respectivamente. Por su parte mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman*, las densidades de bacterias metanogénicas difieren estadísticamente en los periodos de tiempo evaluados, siendo superior la densidad de bacterias metanogénicas a las 2 horas alcanzando un promedio de 70.33x10¹⁰ UFC/mL; seguida por el promedio obtenido a las 4 horas de evaluación con 20.33x10¹⁰ UFC/mL; mientras que el menor promedio se registró a las 8 horas con 11.33x10¹⁰ UFC/mL, lo cual indica un descenso en la población de estas bacterias a medida que transcurre el tiempo. Mediante la incorporación *in vitro* de *Albizia lebbbeck* se determinaron diferencias estadísticas; es así que a las 2 horas de evaluación se determinó el mayor promedio con 72.66x10¹⁰ UFC de bacterias metanogénicas/mL; seguida por el promedio obtenido a las 4 horas de evaluación con 41.33x10¹⁰ UFC/mL; mientras que el menor promedio se registró a las 8 horas con 20.66x10¹⁰ UFC/mL, lo cual indica un descenso en la población de estas bacterias a medida que transcurre el tiempo.

Asimismo al incorporar de manera *in vitro* la planta proteica *Tithonia diversifolia* existe un comportamiento similar a la comparación anteriormente realizada con la incorporación de plantas proteicas, determinándose el mayor promedio de bacterias a las 2 horas de evaluación con 71.33x10¹⁰ UFC/mL de bacterias metanogénicas posteriormente se ubicó el promedio de densidad de bacterias metanogénicas a las 4 horas con 22.66x10¹⁰ UFC/mL; y con el menor promedio la densidad de bacterias alcanzada a las 8 horas de evaluación con 12.00x10¹⁰ UFC/mL.

Hongos celulolíticos: La densidad de hongos celulolíticos registró diferencias significativas ($P < 0.01$), dentro de los tratamientos de los factores en estudio;

asimismo se determinó interacción significativa entre factores, por lo que se exponen los siguientes resultados:

En la densidad de hongos celulolíticos, en función al tipo de planta proteica dentro de cada hora de evaluación, se determinaron diferencias estadísticas ($P < 0.01$), con diferentes comportamientos en la densidad de hongos celulolíticos dentro de cada periodo de tiempo evaluado: de esta manera al comparar la densidad de hongos celulolíticos a las 2 horas de evaluación los promedios son estadísticamente iguales, registrándose promedios de 6.00, 7.66, 6.33 y 6.33x10⁴ UFC/mL para los grupos de unidades experimentales correspondientes al grupo control y aplicación *in vitro* de *Samanea saman*, *Albizia lebbbeck* y *Tithonia diversifolia* respectivamente.

Por su parte, a las 4 horas de evaluación, la densidad de hongos celulolíticos obtenida mediante la incorporación de plantas proteicas *in vitro* difieren estadísticamente entre sí, siendo superior la densidad de hongos celulolíticos mediante el empleo de *Samanea saman* alcanzando un promedio de 11.00x10⁴ UFC/mL, seguida por los promedios obtenidos mediante la utilización *in vitro* de *Tithonia diversifolia* y *Albizia lebbbeck* con promedios de 8.33 y 7.00x10⁴ UPC/mL respectivamente; en última instancia el grupo control presentó la menor densidad de hongos celulolíticos con 5.00x10⁴ UFC/mL.

Finalmente a las 8 horas de evaluación, existe un comportamiento similar a la comparación anteriormente realizada, determinándose el mayor promedio mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman* alcanzando un promedio de 15.00x10⁴ UFC/mL, seguida por los promedios obtenidos mediante la utilización *in vitro* de *Tithonia diversifolia* y *Albizia lebbbeck* con promedios de 9.33 y 8.33x10⁴ UFC/mL respectivamente; en

última instancia el grupo control presentó la menor densidad de hongos celulolíticos a esta hora de evaluación con 4.00x10⁴ UFC/mL.

Al comparar los promedios de la densidad de hongos celulolíticos, en función a las horas de evaluación dentro de cada tipo de planta proteica, se determinaron diferencias estadísticas ($P < 0.01$), con diferentes comportamientos dentro de cada tipo de planta proteica evaluada y grupo control; de esta manera al comparar la densidad de hongos celulolíticos dentro del grupo control, se determinó un comportamiento que no difiere en función del tiempo, registrando promedios de 6.00, 5.00 y 4.00x10⁴ UFC/mL a las 2, 4 y 8 horas.

Por su parte, mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman* la densidad de hongos celulolíticos difieren estadísticamente en los periodos de tiempo evaluados, siendo superior la densidad de hongos celulolíticos a las 8 horas alcanzando un promedio de 15.00x10⁴ UFC/mL; posteriormente se ubicó el promedio de densidad de hongos celulolíticos a las 4 horas con 11.00x10¹⁰ UFC/mL; y con el menor promedio la densidad de hongos alcanzada a las 2 horas de evaluación con 7.66x10¹⁰ UFC/mL, lo cual indica que la población de hongos celulolíticos se incrementa con el transcurso del tiempo. Mediante la incorporación *in vitro* de *Albizia lebbbeck* se determinó un comportamiento que no difiere en función del tiempo, registrando promedios de 6.33, 7.00 y 8.33x10⁴ UFC/mL a las 2, 4 y 8 horas. Por otro lado al incorporar de manera *in vitro* la planta proteica *Tithonia diversifolia*, se determinó el mayor promedio de hongos a las 8 horas de evaluación con 9.33x10⁴ UFC/mL; posteriormente se ubicó el promedio de densidad de hongos celulolíticos a las 4 horas con 8.33x10⁴ UFC/mL; y con el menor promedio la densidad de hongos alcanzada a las 2 horas de evaluación con 6.33x10⁴ UFC/mL.

Protozoarios: En la cuantificación de protozoarios se registraron diferencias significativas ($P < 0.01$), entre los tratamientos de los dos factores evaluados, determinándose además interacción significativa entre factores, encontrándose los siguientes resultados: para la población de protozoarios en función al tipo de planta proteica dentro de cada hora de evaluación, se determinaron diferencias estadísticas ($P < 0.01$), con diferentes comportamientos dentro de cada periodo de tiempo evaluado. De esta manera al comparar la densidad de protozoarios a las 2 horas se determinaron diferencias estadísticas: es así que la menor cantidad de protozoarios se determinaron me-

dante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman* alcanzando un promedio de 63.07×10^3 especímenes/mL; seguido por la densidad de protozoarios obtenida mediante la incorporación *in vitro* de *Tithonia diversifolia* con un promedio de 72.20×10^3 especímenes/mL; posteriormente con menor eficiencia en la reducción de protozoarios la densidad obtenida mediante la incorporación *in vitro* de *Albizia lebbbeck* con 83.33×10^3 especímenes/mL; y finalmente con la mayor población de protozoarios el grupo control con un promedio de 91.80×10^3 especímenes/mL. A las 4 horas de evaluación, las densidades de protozoarios obtenidas mediante la incorporación de plantas proteicas *in vitro* difieren estadísticamente entre sí, siendo superior la densidad de protozoarios obtenida en el grupo control donde no se utilizaron plantas proteicas con un promedio de 93.17×10^3 especímenes/mL; y determinándose una mayor eficiencia en la reducción de protozoarios mediante el empleo de *Samanea saman* con un promedio de 53.50×10^3 especímenes/mL, seguida por el promedio obtenido mediante la utilización *in vitro* de *Tithonia diversifolia* con un promedio de 62.73×10^3 especímenes/mL; posteriormente en orden de menor eficiencia en cuanto a reducción de protozoarios se ubicó el promedio obtenido mediante la utilización *in vitro* de *Albizia lebbbeck* con 80.13×10^3 especímenes/mL. Por otro lado, a las 8 horas de evaluación se determinó la mayor eficiencia en la reducción de protozoarios mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea saman* con un promedio de 33.27×10^3 especímenes/mL; seguida por el promedio obtenido mediante la utilización *in vitro* de *Tithonia diversifolia* con un promedio de 52.82×10^3 especímenes/mL posteriormente en orden de menor eficiencia en cuanto a reducción de protozoarios se ubicó el promedio obtenido mediante la utilización *in vitro* de *Albizia lebbbeck* con 71.77×10^3 especímenes/mL; finalmente con la mayor población de protozoarios el grupo control presentó una densidad de 106.17×10^3 especímenes/mL a esta hora de evaluación.

Al comparar los promedios de la densidad de protozoarios, en función a las horas de evaluación dentro de cada tipo de planta proteica, se determinó diferencias estadísticas ($P < 0.01$), con diferentes comportamientos dentro de cada tipo de planta proteica evaluada y grupo control; de esta manera al comparar la densidad de protozoarios dentro del grupo control, se determinó el mayor promedio a las 8 horas con 106.17×10^3 especímenes/mL; seguido por las densidades de protozoarios obtenidas a las 4 y 2 horas de evaluación en las cuales se determinaron densidades de 93.17 y 91.80×10^3 especímenes/mL respectivamente. Por otro lado, mediante la incorporación *in vitro* de *Samanea*

saman las densidades de protozoarios difieren estadísticamente en los periodos de tiempo evaluados, siendo superior la densidad de protozoarios a las 2 horas alcanzando un promedio de 63.07×10^3 especímenes/mL seguida por el promedio obtenido a las 4 horas de evaluación con 53.50×10^3 especímenes/mL; mientras que el menor promedio se registró a las 8 horas con 33.27×10^3 especímenes/mL, lo cual indica un descenso en la población de protozoarios a medida que transcurre el tiempo. Mediante la incorporación *in vitro* de *Albizia lebbbeck* se determinaron diferencias estadísticas: es así que a las 2 horas de evaluación se determinó el mayor promedio con 83.33×10^3 especímenes de protozoarios/mL seguida por el promedio obtenido a las 4 horas de evaluación con 80.13×10^3 especímenes/mL mientras que el menor promedio se registró a las 8 horas con 71.77×10^3 especímenes/mL lo que indica un descenso en la población de protozoarios en el paso del tiempo de fermentación. Finalmente al incorporar de manera *in vitro* la planta proteica *Tithonia diversifolia*, existe un comportamiento similar a la comparación anteriormente realizada, determinándose el mayor promedio de protozoarios a las 2 horas de evaluación con 72.20×10^3 especímenes/mL; posteriormente se ubicó el promedio de densidad de protozoarios a las 4 horas con 62.73×10^3 especímenes/mL; y con el menor promedio la densidad de protozoarios alcanzada a las 8 horas de evaluación con 52.83×10^3 especímenes/mL.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se determinó un efecto significativo en la reducción de la producción de gas total y gas metano *in vitro*, mediante la utilización de *Samanea saman*, *Tithonia diversifolia* y *Albizia lebbbeck*.

La utilización de *Samanea saman* en la digestibilidad *in vitro* permitió dismi-

nuir la población de protozoos y bacterias metanogénicas con la consecuente proliferación de bacterias y hongos celulolíticos.

Por otro lado la producción de amoniaco disminuyó al incorporar plantas proteicas *in vitro* dentro del proceso de digestibilidad del pasto estrella en el transcurso del tiempo.

Por lo que se recomienda utilizar la planta proteica *Samanea saman* para la implementación de bancos de proteína para bovinos en el trópico, a fin de disminuir la contaminación ambiental por gas metano y amoniaco, con un excelente incremento de bacterias y hongos celulolíticos que permitirán aprovechar de mejor manera los nutrientes aportados por los pastos.

Referencias

- Galindo J. & Marrero Y. 2005. Manipulación de la fermentación microbiana ruminal. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 39: 439 - 450.
- Galindo J. 1998. Efecto de la zeolita en la población de bacterias celulolíticas y su actividad en vacas que consumen ensilaje [Tesis de Doctorado]. La Habana, Cuba: Instituto de Ciencia Animal; 1998.
- Hungate RG. 1950. The anaerobic, mesophilic cellulolytic bacteria. Rev. Bacterial 14 (1): 1-49.
- Johnson DE, Johnson KA, Ward GM, Branine ME. 2001. Ruminants and other animals, Chapter 8. En: Atmospheric Methane: Its Role in the Global Environment. Edit. M.A.K. Khalil. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, 1-112.
- Moss AR, Jouany JP, Newbold J. 2000. Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. Ann. Zootech. 49: 231-253.
- Soliva CR, Meile L, Hindrichsen IK, Kreuser M, Machmuller A. 2004. Myristic acid supports the immediate inhibitory effect of lauric acid on ruminal methanogens and methane release. Anaerobe. 10 (5): 269 -276.
- Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feed. Anim. Feed. Sci. Tech. 48(3-4): 185 -187.

VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE LIMPIEZA TRAS LA ELABORACIÓN DEL PRODUCTO BETAMETASONA EN EL REACTOR OLSA

Fanny-Alexandra Villa-Yuquilema, Carlos Pilamunga-Capus, Víctor Guangasig

Facultad de Ciencias – Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Panamericana Sur km 1,5 Riobamba – Ecuador

Teléfono: 593-3-299820 ext. 163 email: fanny-su@hotmail.com; cpilamunga@es-poch.edu.ec

Resumen

Se validó el método de limpieza que se emplea en el Reactor Olsa después de la elaboración del producto Betametasona, para verificar si este permitía la reducción al máximo de trazas. Se aplicó el método de TOC (Carbono Orgánico Total) con el fin de detectar cantidades pequeñas de principio activo en dos reactores Olsa (Olsa1 y Olsa2), utilizando la técnica de muestreo el Swab con hisopos de poliéster, viales para uso TOC, agua tipo I como disolvente y el equipo de determinación de carbono TOC FUSION. Los resultados permitieron determinar que el método de limpieza empleado en ambos reactores reduce al máximo las trazas del principio activo, encontrándose las mismas bajo los 10 ppm C, en el análisis de varianzas los F calculados del reactor OLSA1 ($F=2,2547$) y OLSA2 ($F=2,7066$), son menores a los F críticos ($F_{\text{crítico}} \text{ OLSA1}= 3,6823$ y $F_{\text{crítico}} \text{ OLSA2}=4,2565$). Se demuestra que el método de limpieza es apropiado, por lo que se recomienda sea aplicado de forma permanente.

Palabras claves: Validación, limpieza, TOC fusión, Betametasona.

Abstract

A cleaning method used in the Reactor Olsa after making the product Betamethasone was validated, to verify whether the used method minimizes the product traces after its elaboration. The method TOC (Total Organic Carbon) was applied in order to detect small amounts of active principle of two reactors OLSA (OLSA 1 and OLSA 2), using the sampling technique with polyester swabs, TOC vials, type I water as a solvent and the equipment carbon determination TOC FUSION. The results allowed to determine that the cleaning method used in both reactors minimizes the maximum amount of the active principle traces, finding them under 10 ppm C, the F calculated variance OLSA 1 reactor ($F = 2.2547$) and OLSA 2 ($F = 2.7066$) are less than the critical F ($F_{\text{critical}} \text{ OLSA1}=3.6823$ and $F_{\text{critical}} \text{ OLSA2}=4.2565$). We show that the cleaning method is appropriate, so it is recommended to be applied permanently.

Keywords: Validation, cleaning, TOC fusion, Betametasona.

INTRODUCCIÓN

La industria farmacéutica es el sector industrial con mayores requerimientos, exigencias tecnológicas y de infraestructura para la elaboración de sus productos, debido a la estricta regulación con la que es monitoreada y con-

trolada. Sobre la base de la criticidad de los procesos que conforman la actividad productiva de una industria farmacéutica, las Buenas Prácticas de Manufactura

exigen la presencia de un ente de control nacional, con la finalidad de regular el funcionamiento correcto de distintas empresas farmacéuticas que se instituyan en un país. Con el propósito de conseguir un dominio total de la calidad surgen los procesos de validación que ofrecen información por escrito de la verificación de un proceso, método, equipo, que funcione de la manera correcta, garantizando que un producto cumpla los parámetros de calidad. (1, 2, 6). Para alcanzar la categoría suprema de un producto terminado se necesita que cada uno de los pasos de inicio a fin se lleve a cabo de manera idónea, haciendo que los parámetros establecidos previamente se cumplan. La validación es uno de los objetivos de las buenas prácticas de manufactura, que trata de conseguir un total dominio de la calidad, garantizando su fiabilidad. (3, 4).

La validación de los métodos de limpieza se realiza con el fin de verificar la eficacia de estos en cada una de las áreas, equipos, etc., tras la elaboración de cada producto. La elección de límites para la transmisión de trazas de productos, agentes de limpieza y contaminación microbiana, estará justificada razonablemente según los materiales empleados. Estos límites serán posibles de alcanzar y de verificar, ya que el riesgo de contaminación de los productos durante la fabricación de fórmulas farmacéuticas es alto; es por eso que las empresas emplean estrictas directrices a seguir durante el proceso de producción. (1, 4, 5).

Generalmente se validan procedimientos de limpieza para superficies de equipos que entra en contacto con los productos elaborados; sin embargo, se toman en cuenta las partes que no entra en contacto directo como paredes y ventanas, especialmente en área de producción estéril. Se validarán los intervalos entre el uso de los equipos y su limpieza, así como los métodos empleados. Comúnmente se deberán efectuar tres aplica-

ciones consecutivas del procedimiento de limpieza con resultados que se encuentren dentro de las especificaciones establecidas, para así demostrar que el método está validado. (1, 4, 5).

La validación de los métodos de limpieza se lleva a cabo para asegurarse de que los residuos de principios activos que quedan después de la fabricación o producción se eliminan antes de que otro ciclo de fabricación comience. (1, 4, 5).

Considerando la importancia de la validación para garantizar la calidad de un producto farmacéutico, se ha realizado esta investigación en un laboratorio farmacéutico. Se realizó la validación del método de limpieza y trazas de corticoides después de la elaboración del producto BETAMETASONA en los Reactores OLSA1 y OLSA2.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales utilizados en la validación del método de limpieza de los reactores OLSA fueron: balones y pipetas calibradas, viales prelavados para muestras TOC, equipo de protección personal, hisopos de poliéster bajo en contenido de carbono, etiquetas de identificación y el equipo TOC FUSION para la determinación de carbono orgánico total. Como reactivos se utilizaron ácido nítrico gr. (70%) y agua destilada tipo I (conductividad < a 3µS, carbono orgánico total <0,100 ppm C).

En la validación del método de limpieza de los reactores OLSA se aplicaron los protocolos de limpieza elaborados específicamente para el reactor. La verificación consiste en la determinación de Carbono Orgánico Total por duplicado de tres muestreos después de cada lote de producción (M1, M2, M3), en cada punto crítico del reactor (Tabla N° 1). La recolección de la muestra se hizo con hisopos de poliéster humedecidos en agua tipo I sumergiéndolos en un vial, sonicando por 30 minutos, finalmente se analizaron las muestras en el equipo TOC fusión.

OLSA 1	OLSA 2
Eje	Eje
Pared lateral media	Pared lateral media
Entrada de agua	Desagüe
Tapa (parte interior)	Tapa (parte interior)
Cuello superior	

Tabla N.º 1. Puntos críticos utilizados en el muestreo del reactor Olsa

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados promedio de carbono orgánico total (TOC) obtenidos tras la limpieza del reactor Olsa 1 luego

de tres lotes de producción continuos de Betametasona, se muestran en la Tabla N° 2.

REACTOR OLSA 1	Concentración ppm C		
	M1	M2	M3
Punto crítico			
Cuello superior	2,0852±0,1538	0,1650±0,0321	0,2078±0,0465
Pared lateral media	0,2178±0,0490	0,1799±0,0460	0,2306±0,0581
Eje	0,1183±0,0695	0,0538±0,0406	0,0194±0,0274
Entrada de agua	0,4661±0,0813	0,0974 ±0,0520	0,3904±0,0668
Boca del desagüe	0,1144±0,0468	0,1466 ±0,0598	0,0276±0,0390
Tapa (parte interior)	0,6829±0,0758	0,1521±0,0498	0,0352±0,0498
Promedio	0,6141	0,1325	0,1518
Varianza	0,7541	0,0476	0,1502

Tabla N.º2. Promedio de las concentraciones toc obtenidas en los puntos críticos del reactor Olsa1

De los TOC del primer muestreo en el reactor Olsa 1 se encuentra que existe una mayor concentración en el cuello superior (2,0851ppm), debido a que en este sitio es de mayor contacto con el producto de proceso, a diferencia de la boca del desagüe con 0,1144 ppm, que circula agua constantemente durante la limpieza, considerando como límite de aceptabilidad para TOC inferior a 10 ppm (Establecido por el laboratorio farmacéutico) se aprecia que los valores encontrados en los puntos críticos están por debajo del valor referido, consecuentemente la limpieza del reactor es adecuada.

De los valores de TOC obtenidos para el segundo muestreo en el reactor Olsa 1, se encuentra mayor concentración la Pared lateral media (0,1799 ppm C) seguido del Cuello superior (0,16504 ppmC). Del tercer muestreo se tiene los puntos críticos de mayor concentración son la Entrada de agua (0,3904 ppm C) seguido de la Pared lateral media (0,2306 ppm C); en los dos casos los contenidos son inferiores a los 10 ppm, en consecuencia la limpieza es adecuada.

De los tres muestreos realizados en el reactor Olsa 1, se encuentra que la Pared lateral media alcanza valores casi constantes, mientras que en los otros puntos críticos son variables.

Al realizar el análisis de varianza ($\alpha=0,05$) de los resultados de los tres muestreos se encuentra un valor de Fcalculado de 2,25477 y el valor de Fcrítico es 3,6823; en consecuencia no existe diferencia significativa entre los tres muestreos realizados.

Los resultados promedio de TOC obtenidos tras la limpieza del reactor Olsa 2 después de tres lotes de producción continuos de Betametasona, se muestran en la Tabla N° 3.

Puntos Críticos	Concentración ppmC		
	M1	M2	M3
Eje	0,0532±0,0752	1,6605 ±0,1324	0,2258± 0,0185
Pared lateral media	0,0332±0,0470	0,4590 ±0,2050	0,0561±0,0279
Desagüe	0,0345±0,0487	0,1492±0,0624	0,3880±0,0457
Tapa (parte interior)	0,0404±0,0572	0,5622 ±0,0697	0,6433±0,0606
MEDIA	0,0403	0,7077	0,3283
DESV. STD	0,0091	0,6589	0,2499

Tabla N.º3. Promedio de las concentraciones toc obtenidas de los puntos críticos del reactor Olsa 2

De la Tabla N° 3, se encuentra que los contenidos de carbono del primer muestreo en reactor Olsa 2, en todos los puntos críticos son bajos respecto al valor aceptado (10 ppm C) y no existe una gran dispersión, lo que indica que la limpieza del reactor fue correcta.

En el segundo muestreo la mayor concentración de carbono encontrada es en el Eje (1,6605 ppm C); en los restantes puntos críticos los contenidos son inferiores, lo que también indica que la limpieza fue adecuada.

De los datos de los contenidos de carbono encontrados en el tercer muestreo en el reactor Olsa 2, se encuentra que son inferiores a 1 ppm C en todos los puntos críticos; por lo tanto también la limpieza fue efectiva.

Del análisis de varianza ($\alpha=0,05$) de los resultados de los tres muestreos se encuentra un valor de Fcalculado de 2,7066 y el valor de Fcrítico es 4,2565; en consecuencia no existe diferencia significativa entre los tres muestreos realizados.

CONCLUSIONES

En la validación del método de limpieza que se emplea en el Reactor OLSA1 y OLSA 2 tras la producción Betametasona, se obtuvieron resultados por debajo de las especificaciones establecidas por laboratorio farmacéutico (10 ppm C),

demostrándose así que el método de limpieza es efectivo y cumple con el objetivo de eliminar al máximo los residuos después de cada lote producción. También se constató que no existe diferencia significativa al 95 % de confiabilidad entre los residuos de carbono encontrados después de la limpieza en los tres muestreos efectuados, tanto en el reactor OLSA1 como en el OLSA2.

Referencias

1. Aguirre L, et al. Validación de Métodos Analíticos y de Limpieza. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. (AEFI) 3. Ed. Bisbal. 2001; 156.
2. Ministerio de Sanidad y Política Social; Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario. Anexo 15: Cualificación y validación [Internet]. 2001 sep:1-9. Disponible en: http://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/guiaNCF/docs/anexos/28_anexo-15.pdf.
3. Contreras J, Jardines Y. 2005. Validación de un Método Analítico por HPLC para la Cuantificación del Principio Activo en Tabletas de Controfilina 200. CENIC. 36 (2): 74-81.
4. Castellanos V. Validación del Método de Limpieza de la Envasadora de Cremas COMADIS en la empresa Ginsberg S.A. mediante el método del TOC fusión. [Tesis] Riobamba: ESPOCH; 2012.
5. Hidalgo A. Validación del Método de Limpieza de la Envasadora de Polvos DOSMICRO Después de la Producción de Bencilpenicilina Sódico en BETAPHARMA S.A. [Tesis] Riobamba. ESPOCH; 2010.
6. Redacción Economía. La industria farmacéutica mejora su tecnología y mantiene su crecimiento. El Telégrafo (Guayaquil). Economía. [Internet]: 2012 ene 16. Disponible en: <http://www.telegrafo.com.ec/economia/item/la-industria-farmaceutica-mejora-su-tecnologia-y-mantiene-su-crecimiento.html>

DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE UN ESTERILIZADOR SOLAR POR VÍA SECA

Arcelio Hernández-Ferreira

Departamento de Física. Universidad de Cienfuegos, Cuba.
Carretera a Rodas Km 4, Cuatro Caminos, Cienfuegos. CP 53400. Tel. (53)
(43)500170 e-mail: archdez@ucf.edu.cu

Resumen

La esterilización es imprescindible en diversos sectores, requieren alto consumo de energía eléctrica. Se busca una alternativa para la esterilización con energía solar. Se diseñó, construyó y evaluó un esterilizador solar por vía seca de 4276 cm³ de capacidad, para consultorios médicos rurales sin suministro de energía eléctrica, puestos sanitarios militares en condiciones de campaña y estaciones experimentales de microbiología como las de reproducción de entomófagos. La evaluación incluyó la determinación de la eficiencia energética del esterilizador, evaluación económica y de seguridad biológica. Se alcanza la temperatura de esterilización para niveles de la radiación solar directa superiores a 300 W/m², lo cual se consigue en el intervalo de 8:30 a 14:30 horas en cualquier época del año, el tiempo en alcanzar la temperatura de esterilización es de 14 minutos, que corresponde a velocidad media de calentamiento de 13 °C/minuto, considerablemente superior a la de un horno eléctrico. Su eficiencia energética con intensidad de radiación solar directa de 310, 5 W/m² resultó ser 53,79 %. Las pruebas de seguridad microbiológica resultaron satisfactorias al eliminar cepas de bacterias muy resistentes. El equipo es de fácil construcción, su operación es muy sencilla y de muy bajo costo.

Palabras claves: Esterilizador solar por vía seca, diseño, construcción, evaluación.

Abstract

Sterilization is essential in various sectors require high electric power consumption. It seeks an alternative for sterilization with solar energy. It was designed, built and tested a solar Sterilizer by dry via of 4276 cm³ capacity for rural medical offices without electricity supply power, military sanitary posts in campaign conditions and microbiology experimental stations like entomophagous playback. The assessment included determining the energy efficiency of the sterilizer, economic evaluation and biosafety. It is reached the sterilization temperature for levels of direct solar radiation higher to 300 W/m², which is achieved in the range of 8:30 to 14:30 hours at any season of year, the time to reach the sterilization temperature is 14 minutes, which corresponds to average speed of heating of 13 °C/minute, significantly superior than of an electric oven. Energy efficiency with direct solar radiation intensity of 310, 5 W/m² resulted to be 53.79%. The microbiological security tests were satisfactory by eliminating highly resistant strains of bacteria. The equipment is easy to build, its operation is very simple and very low cost.

Keywords: Solar Sterilizer by dry process, design, construction, evaluation.

INTRODUCCIÓN

El uso de la energía solar está ampliamente difundido en el mundo como una necesidad para incrementar el ahorro de las fuentes convencionales de energía y la preservación del medio ambiente. A esta necesidad no escapan los países en vías de desarrollo que necesitan disminuir los consumos de energía eléctrica.

La esterilización es una actividad de vital importancia en muchos sectores y específicamente en el de la salud, pero altamente consumidora de energía eléctrica. Por tal motivo, se presenta como una alternativa el uso de la energía solar para tales efectos. A partir del diseño y confección de un concentrador cónico, y teniendo en cuenta las características fundamentales de la esterilización, se plantea dar solución a los problemas que se presentan con los esterilizadores convencionales. El equipo propuesto fue validado por el Centro Provincial de Higiene y Epidemiología de Cienfuegos, con lo que quedó demostrada la factibilidad de su uso en un consultorio del médico de familia. Se realizó una detallada evaluación desde el punto de vista económico y energético, y en ambos casos la variante propuesta resulta altamente ventajosa y muy competitiva con la variante convencional.

CARACTERÍSTICAS SOLARIMÉTRICAS

En Cuba la radiación directa sobre un plano horizontal tiene un valor medio anual de 18,16 MJ/m² al día, es decir, un 67 % del valor total; y tiene su máximo valor en abril y el mínimo en enero. La radiación directa alcanza en el mes de abril el valor de 22,79 MJ/m² al día y en enero 13,54 MJ/m² al día.

Como se puede apreciar existen niveles de radiación directa que descartan la no factibilidad del empleo de concentra-

dores solares: incluso en el mes de enero, a partir de las 8:00 a.m. se registran niveles de radiación por encima de los 400 W/m², a las 9:00 a.m. este valor supera los 500 W/m² y se mantiene por encima del mismo hasta las 2:00 p.m.

Al realizarse la evaluación del equipo se alcanzaron regímenes de trabajo como los mencionados, aun en días donde la radiación directa tenía valores de 500 W/m² y el recipiente absorbedor alcanza temperaturas superiores a 180°C; valor que se exige en la variante seca, por lo que siempre es posible disponer de al menos dos horas en estas condiciones.

Todo esto posibilita que el equipo pueda explotarse durante varias horas del día; como la esterilización no requiere de tiempos superiores a las dos horas de trabajo, esta actividad podrá realizarse repetidas veces en caso de que los volúmenes a esterilizar así lo requieran. Como una característica propia de los concentradores existe la tendencia a mantener estable la temperatura de trabajo en condiciones de intermitencia solar breve, situación que se presenta con frecuencia en nuestro territorio.

DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN Y PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO

Como uno de los propósitos era que la instalación fuera de fácil construcción se eligió un concentrador solar cónico. Esta geometría es mucho menos compleja que cualquier otra, como por ejemplo, la de un concentrador parabólico. Los parámetros geométricos necesarios para un cono particular (radios superior e inferior y el semi ángulo de apertura) se obtienen de relaciones matemáticas sencillas, y luego su confección tampoco es complicada y puede ser ejecutada por personal de calificación media. Se utilizó un concentrador cónico construido de chapa de acero recubierto con zinc mediante el procedimiento de galvanizado.

La superficie interior fue recubierta con papel de aluminio reflectante del utilizado en la impermeabilización de techos. La base soporte fue construida de tubos, planchas y barras corrugadas que permiten su orientación de norte a sur, el seguimiento de este a oeste y la declinación y además permitía su fijación en cualquier posición (Ver figura 1).



Figura 1. Esquema del esterilizador solar.

El proceso de esterilización del material se lleva a cabo en el interior de un recipiente de 1276 cm³ de capacidad, de forma cilíndrica (diámetro 16,5 cm y altura 20 cm) con tapa, que se coloca con su eje coincidiendo con el eje del cono (línea focal del concentrador). Este recipiente fue construido con una lámina de cobre de 1 mm de espesor y sometido a un proceso de niquelado electroquímico interior y exterior. La parte exterior fue recubierta con pintura selectiva negra para que aumente su eficiencia en el proceso de captación y conversión de la energía solar en térmica, y que al mismo tiempo disminuyan las pérdidas por radiación que necesariamente aparecen con el calentamiento del recipiente colector (o absorbedor). Para atenuar las pérdidas que se producen al entrar en contacto la vasija absorbidora con corrientes de aire, se le colocó una cubierta de acrílico transparente al cono. Dicha cubierta limita el movimiento de capas de aire y refleja parcialmente la radiación térmica emitida por el absorbedor. Esto contribuye a un trabajo más estable del equipo frente a corrientes de aire, y en menor medida a preservar las temperaturas para pequeñas variaciones del nivel de radiación solar incidente.

Si hubiéramos utilizado un único concentrador cónico, la radiación incidente sobre la porción superior de la superficie lateral interior del mismo llegaría a las paredes laterales del absorbedor normalmente, debido a su semiángulo de 45° y la radiación que incide sobre el resto del concentrador se proyectará sin utilidad sobre el tubo fija-

dor. Con el objetivo de usar también esta radiación, se concibió el uso de varios concentradores cónicos de dimensiones en sus radios y ángulos de apertura tales que permitieran dirigir la misma hacia el recipiente absorbedor incluyendo su fondo, y aprovecharla en calentamiento útil. Esto aumenta los parámetros de trabajo del equipo para iguales niveles de radiación comparados con la primera versión, e incluso consigue iguales valores de temperaturas con niveles inferiores de radiación.

De esta forma, haciendo uso de las leyes de la reflexión se encontraron los semiángulos de apertura de otros dos conos y se calcularon las dimensiones para su construcción (Fig. 2). Estos permitieron incrementar en más de dos veces el área de captación de la radiación solar que se proyecta sobre el absorbedor que sería de 2480 cm² de usarse un único cono y 5040 cm² con los dos conos suplementarios.

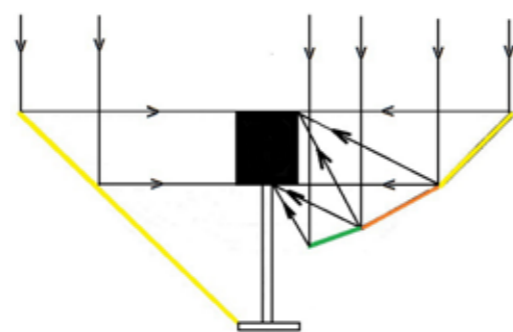


Figura 2. Comparación del uso de un solo cono con 45° de apertura o un sistema de varios conos.

El principio de funcionamiento y la operación del equipo son simples. El material a esterilizar se coloca en el interior del recipiente absorbedor y se cierra con la tapa que tiene el termómetro para la medición de la temperatura. El recipiente se fija en su base y se cubre con la tapa de acrílico. A continuación el cono se orienta con su eje paralelo a los rayos solares, esto se consigue por la coincidencia de la proyección de la sombra del fondo del recipiente con la base inferior

del concentrador. Debido al movimiento del sol el equipo requiere un ajuste en su orientación cada 15 minutos aproximadamente. Como se aprecia para esta actividad no se requiere de personal especializado.

Para la evaluación del trabajo del equipo fue preciso calcular la componente directa de la radiación que incide sobre el concentrador, midiendo la radiación total y la radiación difusa incidentes sobre un plano horizontal, lo cual se hizo con ayuda de un piranómetro y un voltímetro M 2.017 clase 0.2 en escala de 0,15 V y 150 divisiones. La temperatura ambiente se midió con un termómetro de mercurio de vidrio de escala 0-100° C y precisión de 1° C, mientras que la temperatura del interior del recipiente absorbedor se midió con un termopar Ni-Cr-Ni y un mili-voltímetro HDC-2 clase 0.5 con compensación interna para el extremo frío de los termopares en las escalas de 0-500 con precisión de 5 °C y de 0-12 mV con precisión de 0,2 mV. Como regla general las mediciones se llevaron a cabo cada 15 minutos durante las pruebas de operación y cada 1 minuto cuando se establecían los regímenes de operación del equipo.

Para la evaluación de la eficiencia del esterilizador se siguió un método convencional mediante el cual se encontraba la razón entre la energía útil obtenida y la energía solar que incidía sobre el concentrador. La energía útil, en este caso en forma de calor cedido a una cantidad de agua de masa conocida en el recipiente absorbedor, se determinó mediante el cambio de su temperatura luego de que el dispositivo fue orientado debidamente y se midió el tiempo que recibió una cierta intensidad de energía solar. La expresión empleada fue:

$$h = \frac{\text{Calor útil extraído}}{\text{Energía solar recibida}} = \frac{mC_p\Delta T}{I_{\text{solar}} \cdot \text{Área concentrador} \cdot \text{tiempo}}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El equipo alcanzó temperaturas máximas de hasta 220°C con una intensidad de radiación total de 846,7 W/m².

La velocidad de calentamiento, que determina el tiempo que tarda el equipo en alcanzar el régimen de trabajo (T > 180°C), es alta y depende de los niveles de la componente directa de la radiación solar incidente.

Según los datos técnicos del equipo con que se hizo la comparación (esterilizador de mesa modelo ASH, su temperatura aumenta en 5° por minuto, por lo que para estabilizar su trabajo requiere de un tiempo de 30 a 60 minutos. Por el contrario el esterilizador solar alcanza su temperatura de trabajo en sólo 14 minutos. Este aumento acelerado de la temperatura no afecta en nada al equipo ni la efectividad del proceso de esterilización.

En la figura 3 se muestran las gráficas de temperaturas en el interior del esterilizador como función del tiempo para diferentes niveles de la componente directa de la radiación solar (I_d), éstas revelan que la misma tiende a estabilizarse a un valor de equilibrio que es función del nivel de la radiación directa. En estas circunstancias se alcanza un equilibrio entre la energía absorbida y las pérdidas por radiación y convección fundamentalmente.

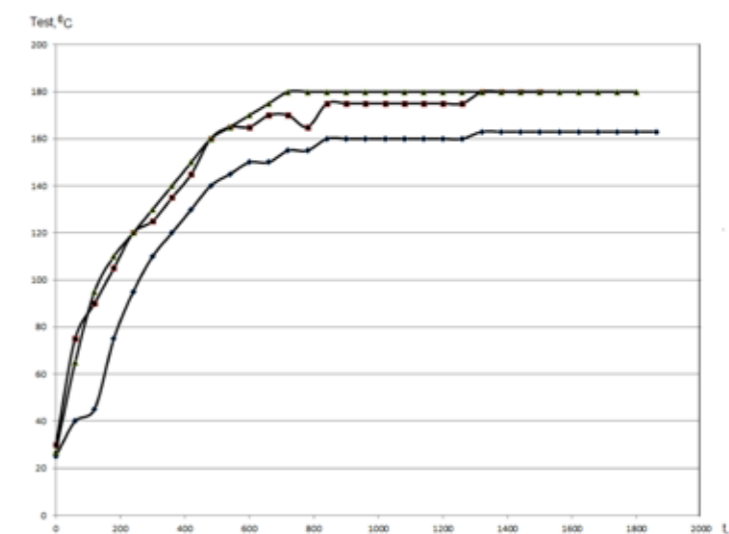


Figura 3. Gráficas de la temperatura del esterilizador en función del tiempo.

Se intentó realizar la modelación matemática de este proceso a partir de los resultados de las mediciones y el estudio de las gráficas mediante la aplicación del análisis estadístico. Las variaciones de los datos obtenidos solo nos permitieron obtener una relación aproximada para la temperatura del esterilizador. En la figura 4 se muestran las gráficas de la diferencia de la temperatura que alcanza el esterilizador en su interior menos la temperatura am-



ACREDITADA