

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE POSGRADO

INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

Validación de limpieza de Spray Dryer y determinación de residuos de
productos Biotecnológicos.

Autor:

Diego Hernan Tobar Perez

Director:

Ms. Kevin Xavier Huilcarema Enriquez

Milagro, 2024

Derechos de autor

**Sr. Dr.
Fabricio Guevara Viejó**
Rector de la Universidad Estatal de Milagro
Presente.

Yo, **Diego Hernan Tobar Perez** en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de Magister en Biotecnología, como aporte a la Línea de Investigación **Gestión De La Producción, De La Calidad Y De Los Procesos** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatalde Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 31 de octubre de 2024



firmado digitalmente por
**DIEGO HERNAN TOBAR
PEREZ**

Diego Hernan Tobar Perez
C.I: 1803432887

Aprobación del tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **Ms. Kevin Xavier Huilcarema Enriquez** en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, elaborado por **Diego Hernan Tobar Perez** cuyo tema es **VALIDACIÓN DEL PROCESO DE LIMPIEZA DE SPRAY DRYER Y DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS**, que aporta a la Línea de Investigación **Gestión De La Producción, De La Calidad Y De Los Procesos** previo a la obtención del Grado Magister en biotecnología, Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 31 de octubre de 2024



Kevin Xavier Huilcarema Enriquez

C.I: 0922218243

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE POSGRADO
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **ING TOBAR PEREZ DIEGO HERNAN**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "VALIDACIÓN DEL PROCESO DE LIMPIEZA DE SPRAY DRYER Y DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS.", las siguientes calificaciones:

| | |
|-----------------|------------------|
| TRABAJO ESCRITO | 56.57 |
| SUSTENTACIÓN | 39.06 |
| PROMEDIO | 95.62 |
| EQUIVALENTE | Muy Bueno |



DELIA "DOLORES"
NORIEGA VERDUGO

Dra. NORIEGA VERDUGO DELIA DOLORES
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



ALEXANDRA GABRIELA
VALENZUELA COBOS

VALENZUELA COBOS ALEXANDRA GABRIELA
VOCAL



KATHERINE LISSETTE
ROMERO VASQUEZ

Mgs ROMERO VASQUEZ KATHERINE LISSETTE
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

“Si la felicidad tuviera una forma, tendría forma de cristal, porque puede estar a tu alrededor sin que la notes. Pero si cambias de perspectiva, puede reflejar una luz capaz de iluminarlo todo.”

El presente trabajo de titulación lo dedico con amor primero a Dios, quien me ha guiado en todas las decisiones de mi vida y me ha llenado de la bendición y fortaleza para obtener mis objetivos profesionales.

A mis padres, Guido y Anabel; que con su cariño y amor me han apoyado en cada decisión tomada que con amor y comprensión me han inculcado para ser una persona de bien y ahora un profesional del cual ellos se sientan orgullosos.

A mi hermano Dennis, por ser un gran soporte durante cada paso dado siempre siendo su ejemplo y demostrando su cariño

A mi compañero inseparable de cuatro patas Didi, que con su alegría y cariño alegra todos mis días y su compañía calma mi alma.

A mis abuelos y familia, que siempre velan por mi bienestar y me han acompañado en cada paso dado en mi vida A cada uno de ustedes de todo corazón los amo.

Diego Tobar

AGRADECIMIENTOS

Cada etapa de la vida tiene un inicio y un fin, y las experiencias vividas serán el más grande aprendizaje de cada una. Agradezco a Dios por permitirme llegar cumplir mis metas y objetivos con tenacidad. De corazón agradezco a mis padres Guido y Anabel por el apoyo incondicional y su motivación de verme triunfar en la vida ha sido mi motor para continuar. Mis hermanos Dennis y Didi, por su apoyo en cada etapa de mi vida. Gracias a mis tíos, abuelitos y primos por su confianza y apoyo en los momentos difíciles.

Gracias a mi tutor Ing. Kevin Xavier Huilcarema Enriquez, M.Sc, que con su dedicación y sabiduría ha permitido que este proyecto llegue a concluirse, con su instrucción.

A Doctor Orestes López paciencia amistad he logrado abrir mi panorama en la vida y alcanzar más éxitos a futuro.

A la Universidad Estatal de Milagro por brindarme las herramientas para adquirir los conocimientos y experiencias que llevo hoy en mi corazón.

A Darwin Llumigusin y Diego Rubio por facilitarme las herramientas para concluir este proyecto.

Muchas gracias a cada persona que me ha apoyado sin saberlo y permitido que no me rinda y siga en búsqueda de mis sueños.

Diego Tobar

Resumen

La producción de productos biotecnológicos requiere de varios cuidados específicos de limpieza en su producción para garantizar la seguridad e inocuidad para los consumidores, por lo tanto es necesario contar con protocolos fiables de limpieza para equipos, en la presente investigación se evalúa el protocolo de limpieza de un equipo de secado por aspersión involucrado en la producción de colágeno hidrolizado y calostro bovino, determinando su eficiencia sobre la producción de colágeno hidrolizado y calostro bovino en polvo, para ello se planteó como objetivo general validar el protocolo vigente en una planta productora ubicada en la provincia de Cotopaxi, y como objetivos específicos se debió determinar la eficacia del protocolo para disminuir la proliferación de microorganismos medido evaluando la actividad de ATP y concentración de residuos, además de proponer acciones de mejora para el protocolo. Para ello se evaluaron 3 puntos críticos del equipo en los cuales se tomaron muestras para ser evaluadas mediante bioluminiscencia y espectrometría UV-Vis. Los resultados obtenidos indicaron una eficiencia del protocolo superior al 80% tanto para eliminar residuos como para disminuir los niveles de actividad de ATP. El presente estudio contribuye a validar y optimizar un protocolo de limpieza efectivo para la producción de productos biotecnológicos, asegurando la eliminación segura de residuos y minimizando la contaminación cruzada en entornos de fabricación industrial. Finalmente, el estudio concluye en que el protocolo de limpieza es válido para reducir los niveles de actividad de ATP y concentración de residuos donde pueden alojarse microorganismos, además que presenta un margen de mejora.

Palabras Clave: Secador por aspersión, Protocolo de limpieza, Buenas prácticas de manufactura, Actividad de ATP

Abstract

The production of biotechnological products requires several specific cleaning steps to guarantee safety and innocuousness for consumers; therefore, it is necessary to have reliable cleaning protocols for the equipment. In the present study, the cleaning protocol of spray drying equipment involved in the production of hydrolyzed collagen and bovine colostrum was evaluated. The general objective was to validate the current protocol in a production plant located in the Cotopaxi province. The specific objectives were to determine the effectiveness of the protocol in reducing the proliferation of microorganisms, measured by evaluating the ATP activity and concentration of residues, in addition to proposing improvements to the protocol. For this purpose, three critical points of the equipment were evaluated, in which the samples were evaluated by bioluminescence and UV-Vis spectrometry. The results obtained indicated an efficiency of the protocol higher than 80%, both to eliminate residues and decrease ATP activity levels. This study contributes to the validation and optimization of an effective cleaning protocol for the production of biotechnological products, ensuring the safe disposal of residues and minimizing cross-contamination in industrial manufacturing environments. Finally, the study concludes that the cleaning protocol is valid for reducing ATP activity levels and residue concentrations where microorganisms can be harbored, and that there is room for improvement.

Obligatorio, es el mismo resumen redactado en inglés y tiene las mismas características del resumen.

Keywords: Spray dryer, Cleaning protocol, Good manufacturing practices, ATP activity

Lista de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Diagrama estándar de un secador por aspersión | 10 |
| Figura 2. Normativas y Regulaciones de la industria biotecnológica | 12 |
| Figura 3. Niveles de actividad de ATP antes de aplicar el protocolo de limpieza..... | 23 |
| Figura 4. Niveles de actividad de ATP posterior de la aplicación del protocolo de limpieza | 23 |
| Figura 5. Concentración de residuos antes de aplicar el protocolo de limpieza..... | 25 |
| Figura 6. Concentración de residuos posterior de la aplicación del protocolo de limpieza | 25 |

Lista de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Operacionalización de Variables..... | 5 |
| Tabla 2. Partes de un secador por aspersión | 9 |
| Tabla 3. Técnicas comunes de análisis de residuos..... | 16 |
| Tabla 4. Etiquetas de cada área crítica evaluada | 19 |
| Tabla 5. Niveles promedio de actividad de ATP (RLU)..... | 24 |
| Tabla 6. Niveles promedio de concentración de residuos (mg/cm ²) | 26 |
| Tabla 7. Prueba de Normalidad de Actividad de ATP colágeno hidrolizado | 27 |
| Tabla 8. Prueba de Normalidad de Actividad de ATP calostro bovino..... | 27 |
| Tabla 9. Prueba de Normalidad de concentración de residuos de colágeno | 27 |
| Tabla 10. Prueba de Normalidad de concentración de residuos de calostro bovino..... | 28 |
| Tabla 11. Prueba T Prelimpieza-Postlimpieza Colágeno - Actividad de ATP | 28 |
| Tabla 12. Prueba T Prelimpieza-Postlimpieza Calostro Bovino - Actividad de ATP | 29 |
| Tabla 13. Prueba T Prelimpieza-Postlimpieza Colágeno – Concentración de Residuos | 29 |
| Tabla 14. Prueba T Prelimpieza-Postlimpieza Calostro Bovino – Concentración de Residuos | 30 |
| Tabla 15. Eficiencia del protocolo de limpieza para disminuir la actividad de ATP ... | 30 |
| Tabla 16. Eficiencia del protocolo de limpieza para disminuir la concentración de residuos..... | 31 |
| Tabla 17. ANOVA %Eficiencia Colágeno vs Calostro actividad de ATP | 31 |
| Tabla 18. ANOVA %Eficiencia Colágeno y Calostro actividad de ATP | 32 |
| Tabla 19. Prueba Tukey Eficiencia sobre colágeno actividad de ATP | 33 |
| Tabla 20. Prueba Tukey Eficiencia sobre Calostro Bovino actividad de ATP | 33 |
| Tabla 21. ANOVA %Eficiencia Colágeno vs Calostro concentración de residuos | 34 |
| Tabla 22. ANOVA %Eficiencia Colágeno y Calostro concentración de Residuos..... | 35 |
| Tabla 23. Prueba Tukey Eficiencia sobre colágeno concentración de Residuos | 36 |
| Tabla 24. Prueba Tukey Eficiencia sobre Calostro Bovino actividad de ATP | 36 |
| Tabla 25. Correlación entre Eficiencia del Protocolo y Actividad final de ATP..... | 36 |
| Tabla 26. Correlación Entre eficiencia de Protocolo y Concentración final de Residuos | 37 |

Lista de Siglas / Acrónimos

ATP: Adenosín Trifosfato

RLU: Unidades Relativas de Luz

ANOVA: Análisis de Varianza

Índice / Sumario

| | |
|--|----|
| Introducción..... | 1 |
| Capítulo I: El problema de la investigación | 2 |
| 1.1. Planteamiento del problema..... | 2 |
| 1.2. Delimitación del problema | 2 |
| 1.3. Formulación del problema | 3 |
| 1.4. Preguntas de investigación..... | 3 |
| 1.5. Determinación del tema..... | 4 |
| 1.6. Objetivo general | 4 |
| 1.7. Objetivos específicos..... | 4 |
| 1.8. Hipótesis | 4 |
| 1.9. Declaración de las variables (operacionalización) | 4 |
| 1.10. Justificación | 5 |
| 1.11. Alcance y limitaciones..... | 6 |
| Capítulo II: Marco teórico referencial | 8 |
| 2.1. Antecedentes..... | 8 |
| 2.2. Contenido teórico que fundamenta la investigación..... | 9 |
| 2.2.1 Secado por aspersion | 9 |
| 2.2.2 Aplicaciones en la industria biotecnológica | 10 |
| 2.2.3 Métodos de limpieza en equipos de producción biotecnológica..... | 11 |
| 2.2.4 Protocolos de limpieza para secadores por aspersion..... | 11 |
| 2.2.5 Normativas y estándares aplicables | 12 |
| 2.2.6 Validación de protocolos de limpieza..... | 14 |
| 2.2.7 Métodos de evaluación de la eficacia de limpieza | 15 |
| Capítulo III: Diseño Metodológico | 18 |
| 3.1. Tipo y Diseño de Investigación..... | 18 |
| 3.2. Métodos y Técnicas | 19 |

| | |
|--|----|
| 3.2.3. Cálculo de Eficiencia del protocolo de limpieza | 20 |
| 3.3. Procesamiento Estadístico de Datos..... | 21 |
| 3.3.1. Prueba de Normalidad..... | 21 |
| 3.3.2. Análisis de Comparación | 21 |
| 3.3.3. Análisis de Correlación | 22 |
| 3.3.4. Interpretación de Resultados | 22 |
| Capítulo IV: Análisis e Interpretación de Resultados | 23 |
| 4.1. Mediciones | 23 |
| 4.2. Prueba de normalidad | 26 |
| 4.3. Análisis Comparativo..... | 28 |
| 4.4. Análisis Correlativo..... | 36 |
| 4.5. Acciones de mejora..... | 38 |
| CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones..... | 40 |
| 5.1. Discusión..... | 40 |
| 5.2. Conclusiones | 41 |
| 5.3. Recomendaciones..... | 42 |
| Referencias Bibliográficas | 43 |

Introducción

Debido a que gran cantidad de alimentos se destinan a consumo humano, es obligatorio el establecer altos estándares de higiene y calidad, en los distintos procesos de producción desde la recepción de materias primas, envasado y almacenamiento.

Uno de estos peligros pueden presentarse por contaminación cruzada por alérgenos, donde los productos pueden llegar a causar reacciones de carácter alérgico a la población sensible a ellos.

Por ello la validación de la limpieza tiene como estructura, un conjunto de etapas, donde se identifican residuos críticos, métodos de limpieza adecuados según la producción, normativas nacionales e internacionales donde se establezcan límites permisibles para la presencia de residuos y de igual manera proporcionar un protocolo robusto y eficaz.

Dentro de la industria biotecnológica, los productos procesados en equipos *Spray Dryer* van desde proteínas, lácteos, frutos, soluciones complejas. Debido a su capacidad de conservar las propiedades organolépticas y nutricionales de sustancias sensibles a factores externos, con una alta eficiencia y versatilidad, evitando el riesgo de degradarse por temperaturas elevadas, protección a oxidación. En el uso de *Spray dryer*, donde se convierten soluciones líquidas en polvos, los alérgenos y residuos de distintos procesos, pueden llegar a estar presentes en recubrimientos en las superficies internas del equipo, o residuos que son de difícil eliminación durante la limpieza, dando lugar a contaminación cruzada.

Para validar este proceso, se aborda ciertos desafíos que involucran, complejidad de la estructura interna, capacidad de limpieza en áreas de acceso complicado, variabilidad en productos utilizados. Por ello es importante determinar procedimientos adecuados con una eficacia de aplicabilidad para garantizar una limpieza integral y adecuada.

En suma, validar un proceso de limpieza en equipos como el *Spray Dryer*, en una empresa dedicada a procesos biotecnológicos, es de vital importancia para garantizar la seguridad y calidad alimentaria de los productos realizados. Esta validación además de proteger el resultado final de los productos busca cumplir con las normas regulatorias y de control establecida, para evitar posibles daños a los consumidores.

Capítulo I: El problema de la investigación

1.1. Planteamiento del problema

La industria biotecnológica requiere mantener altos estándares de limpieza en los equipos de producción para evitar la contaminación cruzada y garantizar la seguridad de los productos. Uno de los equipos más utilizados en la producción es el secador por aspersión (Spray Dryer), que convierte soluciones líquidas en polvo a través de la atomización. Sin embargo, debido a la naturaleza biotecnológica de los productos procesados, la acumulación de residuos puede representar un riesgo significativo si no se eliminan de manera efectiva, lo que podría comprometer tanto la seguridad del producto final como la integridad del proceso de fabricación.

El protocolo de limpieza de estos equipos, por lo tanto, debe ser validado para asegurar que sea capaz de eliminar completamente los residuos de productos biotecnológicos y cualquier otro contaminante que pudiera afectar la calidad del siguiente lote de producción. Diversos estudios han demostrado que métodos como la espectrofotometría UV-visible y la bioluminiscencia basada en ATP son herramientas efectivas para evaluar la eficacia de los procedimientos de limpieza en industrias farmacéuticas y biotecnológicas (Coelho et al., 2019); (Greene & Hatt, 2020). A pesar de estas herramientas, las dificultades para detectar residuos en áreas de difícil acceso siguen siendo un desafío, lo que motiva la implementación de tecnologías avanzadas para mejorar la eficacia de los protocolos de limpieza (Sarwar et al., 2020).

En este contexto, el cantón de Pujilí, en la provincia de Cotopaxi, alberga una planta de producción de productos biotecnológicos donde se utiliza un secador por aspersión. La validación del protocolo de limpieza vigente es fundamental para asegurar que este equipo esté libre de contaminantes tras cada ciclo de producción, garantizando así la calidad del producto final y el cumplimiento de las normativas internacionales sobre buenas prácticas de manufactura (GMP). Estudios recientes sugieren que la validación de métodos de limpieza debe integrar procedimientos tanto de extracción como de análisis precisos para asegurar la eliminación adecuada de residuos (Bursakov et al., 2019); (Valavala et al., 2019).

1.2. Delimitación del problema

Espacio

El presente proyecto de investigación busca validar el protocolo de limpieza utilizado en una empresa biotecnológica encargada de la fabricación de suplementos alimenticios, ubicado en el cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi. Específicamente el protocolo de

limpieza del secador por aspersion TPG-250 empleado para la producción de colágeno natural hidrolizado y calostro bovino en polvo, esta validación se realiza con el fin de determinar la eficacia del protocolo y proponer acciones de mejora.

Tiempo

El trabajo de evaluación del protocolo de limpieza se realizará durante el periodo de producción comprendido entre Julio a septiembre de 2024 donde existe mayor demanda de colágeno natural hidrolizado y calostro bovino en polvo.

1.3. Formulación del problema

En la industria biotecnológica, los estándares de limpieza en los equipos de producción son esenciales para garantizar la calidad del producto final y la seguridad del proceso. Un aspecto crítico es la eliminación de residuos de productos previos en los equipos, ya que la acumulación de contaminantes podría comprometer la seguridad alimentaria y la integridad de los suplementos fabricados. El secador por aspersion, utilizado en la producción de colágeno natural hidrolizado y calostro bovino en polvo, es un equipo clave cuya limpieza debe ser validada rigurosamente.

La ausencia de un protocolo de limpieza validado y optimizado puede resultar en una contaminación cruzada, lo cual pondría en riesgo la calidad del producto y el cumplimiento de normativas internacionales. Ante esta situación, surge la necesidad de verificar si el protocolo actual implementado es efectivo en la remoción de residuos de producción en el equipo de secado por aspersion, y de identificar posibles mejoras que puedan fortalecer el control de calidad en la fabricación de productos biotecnológicos.

El problema, por lo tanto, se centra en determinar si el protocolo vigente de limpieza del secador por aspersion TPG-250 es lo suficientemente eficiente para garantizar la eliminación completa de residuos y asegurar que no se comprometa la calidad de los productos fabricados, especialmente en un contexto de alta demanda.

1.4. Preguntas de investigación

¿Qué tan eficaz es el protocolo de limpieza actual del secador por aspersion TPG-250 para eliminar residuos de colágeno hidrolizado y calostro bovino en polvo?

¿Qué nivel de residuos de productos biotecnológicos permanece en el secador por aspersion después de aplicar el protocolo de limpieza, medido mediante espectrofotometría UV-visible y Actividad de ATP por bioluminiscencia?

1.5. Determinación del tema

Validación del protocolo de limpieza de Spray Dryer y determinación de residuos de productos Biotecnológicos

1.6. Objetivo general

Validar el protocolo de limpieza del secador por aspersion "Spray Dryer" empleado en la producción de productos biotecnológicos perteneciente a la línea de producción de una empresa privada ubicada en el cantón Pujilí provincia de Cotopaxi.

1.7. Objetivos específicos

Evaluar la eficacia del método de limpieza para eliminar contaminación de residuos presentes en la producción mediante análisis de actividad ATP por bioluminiscencia

Determinar la eficacia del método de limpieza para eliminar residuos de productos biotecnológicos del secador por aspersion mediante la concentración residuos medida con espectrofotometría UV-visible

Proponer acciones de mejora para el protocolo vigente de limpieza del secador por aspersion basado en los resultados obtenidos.

1.8. Hipótesis

Los métodos aplicados para determinación de la limpieza son eficaces, y cumplen con la normativa establecida en la empresa.

1.9. Declaración de las variables (operacionalización)

1.9.1. Variables Independientes

Protocolo de Limpieza

Tipo de producto procesado

1.9.2. Variables Dependientes

Concentración de residuos de productos biotecnológicos

Nivel de actividad ATP

Eficiencia del protocolo de limpieza

Tabla 1. Operacionalización de Variables

| Variables Independientes | | |
|--------------------------------------|--|--|
| Variable | Indicador | Método de medición |
| Protocolo de limpieza | Protocolo vigente aplicado | Observación y documentación del proceso |
| Tipo de producto biotecnológico | Colágeno hidrolizado o calostro bovino | Registro del producto procesado |
| Técnica de medición de residuos | UV-visible, bioluminiscencia ATP | Análisis espectrofotométrico, luminometría |
| Variables Independientes | | |
| Variable | Indicador | Método de medición |
| Concentración de residuos | $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ | Espectrofotometría UV-visible |
| Nivel de actividad ATP | Unidades relativas de luz (RLU) | Bioluminiscencia ATP |
| Eficiencia del protocolo de limpieza | % de residuos eliminados | Cálculo de residuos eliminados con respecto al inicial |
| Áreas con residuos persistentes | Localización y cantidad de residuos | Muestreo de diferentes partes del secador |
| Protocolo de limpieza | Protocolo vigente aplicado | Observación y documentación del proceso |

1.10. Justificación

La validación de los protocolos de limpieza en la industria biotecnológica es un aspecto crucial para garantizar la seguridad del producto final y la integridad de los procesos de producción. En el caso de los secadores por aspersión (Spray Dryers), su empleo en la fabricación de productos biotecnológicos, como el colágeno hidrolizado y el calostro bovino en polvo, implica el riesgo de acumulación de residuos y contaminación cruzada. Esta acumulación puede afectar la calidad del producto, lo que hace indispensable la validación de un protocolo de limpieza eficaz que minimice estos riesgos.

Uno de los retos más comunes en la industria es asegurar la eliminación completa de residuos biotecnológicos. Estudios recientes han demostrado la utilidad de técnicas avanzadas como la espectrofotometría UV-visible para detectar y cuantificar residuos en superficies de equipos de producción, mejorando así los controles de calidad (Bursakov et al., 2019). Además, el uso de bioluminiscencia ATP ha probado ser efectivo para evaluar la presencia de contaminación microbiana en entornos industriales, lo que

proporciona una medida rápida y precisa de la higiene en las superficies después de la limpieza (Calabretta et al., 2019).

El uso de métodos avanzados de limpieza y validación permite, además, reducir costos operacionales al optimizar el uso de productos de limpieza y tiempo de operación, lo cual es fundamental en industrias de alta demanda como la producción biotecnológica (Chullipalliyalil et al., 2019).

Este estudio no solo validará la eficiencia del protocolo de limpieza en el secador por aspersión TPG-250, sino que también contribuirá al desarrollo de mejoras en el mismo. En un contexto industrial en constante crecimiento, como la biotecnología, garantizar una limpieza eficiente no solo protege la salud pública, sino que también impulsa la innovación en prácticas de manufactura más sostenibles y seguras (Greene & Hatt, 2020).

La importancia de este trabajo radica en que sus resultados no solo podrán aplicarse a la empresa estudiada, sino que contribuirán al avance general del conocimiento sobre mejores prácticas de limpieza industrial en entornos biotecnológicos y farmacéuticos (Yadav et al., 2021).

1.11. Alcance y limitaciones

1.11.1 Alcance

Este estudio se enfoca en la validación del protocolo de limpieza del secador por aspersión TPG-250, utilizado en la producción de colágeno natural hidrolizado y calostro bovino en polvo en una empresa biotecnológica ubicada en el cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi. El análisis abarca la evaluación de residuos biotecnológicos mediante técnicas de espectrofotometría UV-visible y la detección de actividad microbiana por bioluminiscencia ATP. El estudio también propondrá acciones de mejora en el protocolo de limpieza basadas en los resultados obtenidos, con el fin de garantizar una mayor eficacia y seguridad en la producción.

El alcance del proyecto incluye:

- Medición de la concentración de residuos en diferentes puntos del equipo tras la limpieza.

- Evaluación de la eficacia del protocolo en la eliminación de residuos, tanto químicos como biológicos.

- Propuesta de mejoras al protocolo vigente basadas en evidencias científicas.

- Aplicación de técnicas avanzadas de análisis que permiten obtener datos precisos y

confiables para la validación.

Este estudio se centrará en el periodo de producción de los meses de julio a septiembre de 2024, en el cual se procesan los productos de mayor demanda. El propósito final es asegurar que el equipo de secado cumpla con las normativas de buenas prácticas de manufactura (GMP) y que no haya riesgos de contaminación cruzada en la producción.

1.11.2. Limitaciones

A pesar de los esfuerzos por abarcar todos los aspectos críticos del protocolo de limpieza, el estudio presenta algunas limitaciones:

Limitación temporal: La validación se realizará únicamente durante el periodo comprendido entre julio a septiembre de 2024, lo que puede limitar la posibilidad de analizar variaciones estacionales en la producción o en los procedimientos de limpieza.

Disponibilidad de datos históricos: El estudio no incluye análisis retrospectivo de los datos de limpieza previos a la implementación del protocolo actual, lo que podría dificultar la comparación con procedimientos anteriores.

Limitaciones técnicas: Si bien se utilizarán herramientas avanzadas como la espectrofotometría UV-visible y la bioluminiscencia ATP, pueden existir limitaciones en la sensibilidad de estos métodos para detectar trazas mínimas de residuos o contaminación en áreas de difícil acceso del equipo.

Variabilidad en los resultados: La eficacia del protocolo de limpieza puede variar dependiendo de las características específicas de los productos procesados y las condiciones de uso del equipo, lo que podría generar variaciones en los resultados que no se capturen completamente en este estudio.

Acceso limitado al equipo: El secador por aspersion estará en uso continuo durante el periodo de estudio, lo que podría limitar la cantidad de pruebas que se pueden realizar en condiciones controladas o en diferentes estados de operación.

A pesar de estas limitaciones, los resultados proporcionarán información valiosa para la mejora del protocolo de limpieza y contribuirán al establecimiento de estándares más rigurosos de control de calidad en la producción de productos biotecnológicos.

Capítulo II: Marco teórico referencial

2.1. Antecedentes

La tecnología de secado por aspersión, inventada por Samuel Percy en 1872, ha evolucionado significativamente, consolidándose como un proceso clave para la transformación de líquidos en polvo, especialmente en las industrias alimentaria, farmacéutica y biotecnológica. Inicialmente utilizada en la producción de fórmulas lácteas y bebidas en polvo, su aplicación se ha extendido a la encapsulación de ingredientes activos, preservando compuestos sensibles durante el almacenamiento y transporte. Recientemente, se han desarrollado técnicas avanzadas como el nano *spray drying*, que permite la creación de partículas más finas y uniformes, ampliando las posibilidades de formulaciones de alto valor añadido en la industria alimentaria y farmacéutica (Piñón-Balderrama et al., 2020). El secado por aspersión ha permitido la producción de ingredientes pulverizados, instantáneos y microencapsulados, aplicándose también en la producción de productos biotecnológicos, lo que demuestra su versatilidad en la industria (Jafari & Samborska, 2021).

En el ámbito biotecnológico, el secado por aspersión ha avanzado en el desarrollo de formulaciones farmacéuticas, especialmente en la creación de dispersiones sólidas amorfas y microencapsulación de ingredientes bioactivos. Este proceso ha sido optimizado para la estabilidad de productos biotecnológicos y la administración de fármacos de liberación controlada. Además, el secado por aspersión ha permitido la producción de polvos inhalables y biocomponentes encapsulados, fundamentales para la industria farmacéutica y biotecnológica (Baumann et al., 2021). Su versatilidad y capacidad de adaptarse a diferentes tipos de productos ha sido clave en su expansión, lo que incluye aplicaciones emergentes en la administración de productos biológicos y sistemas no orales (Strojewski & Krupa, 2022).

En los últimos años, los métodos de limpieza y validación del secado por aspersión en la industria biotecnológica han avanzado para garantizar la eliminación eficaz de residuos y prevenir la contaminación cruzada. Estos avances incluyen el desarrollo de métodos de limpieza optimizados y la incorporación de nuevas tecnologías de control como el uso de la bioluminiscencia para la detección de residuos orgánicos en descomposición. La validación de estos métodos es esencial para cumplir con los estándares de calidad y garantizar la seguridad en la producción de productos biotecnológicos.

La incorporación de sistemas automatizados y modelos matemáticos para el control de los parámetros de secado ha mejorado la eficiencia y consistencia del proceso (Sytnikov et al., 2023)

2.2. Contenido teórico que fundamenta la investigación

2.2.1 Secado por aspersion

2.2.1.1. Principios fundamentales del secado por aspersion

El secado por aspersion es un proceso de transformación de líquidos o suspensiones en polvo seco mediante la atomización del líquido en pequeñas gotas, que luego se secan al entrar en contacto con un gas caliente. Este proceso involucra la transferencia simultánea de calor y masa, permitiendo una rápida evaporación de la humedad. Las gotas atomizadas se secan en cámaras donde la temperatura y la velocidad del aire determinan la velocidad de secado y las propiedades del polvo resultante (Okada et al., 2020). El proceso es ideal para producir partículas uniformes y controladas con características específicas, lo que lo hace adecuado para la industria alimentaria, farmacéutica y biotecnológica (Alhaji et al., 2021).

2.2.1.2. Componentes principales de un secador por aspersion

Los secadores por aspersion están compuestos por varios elementos esenciales que trabajan en conjunto para lograr una evaporación rápida y eficiente de líquidos en partículas secas, a continuación, se presenta una tabla que sintetiza los principales componentes de un secador por aspersion, destacando sus funciones clave dentro del proceso de secado y la importancia de cada uno en la operación eficiente del equipo.

Tabla 2. Partes de un secador por aspersion

| Parte del equipo | Función | Referencia |
|------------------|--|--------------------------|
| Atomizador | Convierte el líquido en pequeñas gotas. Los atomizadores de disco rotatorio utilizan energía centrífuga, mientras que los de boquilla emplean presión o aire comprimido, dependiendo de la viscosidad del líquido y las características deseadas del producto final. | (Campos et al., 2021) |
| Cámara de secado | Es el lugar donde las gotas atomizadas entran en contacto con aire caliente, provocando la evaporación del solvente y la formación de partículas secas. El diseño de la cámara afecta la eficiencia del secado y la calidad del producto, con | (Poozesh & Cousin, 2022) |

| | | |
|---------------------------------------|---|----------------------|
| | opciones de flujo de aire concurrente o contracorriente. | |
| Sistemas de calefacción y ventilación | Controlan la temperatura del aire y el flujo de ventilación. La temperatura de entrada del aire debe estar entre 100 y 200°C. Los sistemas de recuperación de calor pueden reducir el consumo energético hasta en un 30%. | (Patel & Bade, 2020) |
| Colector de polvo | Separa las partículas secas del flujo de aire, usando ciclones y filtros de bolsa. Los ciclones emplean fuerza centrífuga para separar partículas, mientras que los filtros retienen partículas más finas, reduciendo emisiones de polvo. | (Anis et al., 2022) |

Fuente: Elaboración Propia

A continuación, en la Figura 1. se presenta un diagrama del cómo se disponen cada parte del secador por aspersión para su correcto funcionamiento.

Figura 1. Diagrama estándar de un secador por aspersión.

Fuente: (Takwaa et al., 2023)

2.2.2 Aplicaciones en la industria biotecnológica



En biotecnología, el secado por aspersión se utiliza ampliamente para la microencapsulación de ingredientes bioactivos y la producción de formulaciones farmacéuticas con liberación controlada. Este proceso permite preservar la estabilidad de productos sensibles como enzimas y fármacos biológicos, lo que es fundamental para la fabricación de medicamentos inhalables, vacunas y otros productos terapéuticos. Además, el secado por aspersión ofrece ventajas en la producción de nanopartículas, que son esenciales para la administración de fármacos y el diseño de sistemas de liberación controlada (Strojewski & Krupa, 2022). También es utilizado para encapsular

aceites esenciales y compuestos bioactivos en la industria alimentaria, preservando sus propiedades antioxidantes y mejorando su estabilidad durante el almacenamiento (Reis et al., 2022).

2.2.3 Métodos de limpieza en equipos de producción biotecnológica

La limpieza en la industria biotecnológica es crucial para evitar la contaminación cruzada, garantizar la calidad del producto y cumplir con las regulaciones. Al ser el secador por aspersión un equipo bastante versátil, pero a la vez muy grande y costoso, un mismo equipo suele ser utilizado para procesar varios productos biotecnológicos dentro de una planta productiva, por lo que después de cada proceso se debe realizar una limpieza exhaustiva para evitar contaminación por residuos o agentes de limpieza. El cumplimiento de buenas prácticas de manufactura (GMP) exige que los equipos sean limpiados adecuadamente para eliminar cualquier rastro de contaminantes antes de su uso en la producción de nuevos lotes (Sarwar et al., 2020). Además, la validación de los procesos de limpieza proporciona evidencia documentada de que estos son reproducibles y efectivos (Manasova et al., 2021)

En los procesos biotecnológicos, los residuos más comunes incluyen restos de productos procesados anteriormente en el equipo, agentes de limpieza, partículas, y contaminantes microbiológicos. Estos pueden ser microorganismos como bacterias, mohos o levaduras, que pueden formar biofilms en los equipos si no se eliminan adecuadamente (Delhalle et al., 2020). En el caso de productos farmacéuticos, los ingredientes farmacéuticos activos (API) residuales son una fuente importante de contaminación que debe controlarse cuidadosamente para evitar efectos adversos en productos subsecuentes (Sheng et al., 2020).

Los métodos de limpieza en la industria biotecnológica incluyen técnicas como la limpieza in situ (CIP) y la limpieza con solventes. La CIP se utiliza para limpiar los equipos sin necesidad de desarmarlos, y comúnmente emplea productos químicos como ácidos y álcalis para descomponer los residuos. Sin embargo, los enfoques enzimáticos están ganando popularidad debido a su sostenibilidad, ya que reducen el uso de agua y productos químicos, y son efectivos en la eliminación de biofilms (Pant et al., 2023). Adicionalmente, se han desarrollado técnicas innovadoras como la espectroscopía infrarroja para verificar la limpieza en tiempo real y reducir la necesidad de pruebas de laboratorio posteriores (Sarwar et al., 2020).

2.2.4 Protocolos de limpieza para secadores por aspersión

2.2.4.1. Elementos clave de un protocolo de limpieza efectivo

Los protocolos de limpieza para secadores por aspersión (Spray Dryers) son esenciales para mantener la seguridad y calidad en la producción de productos biotecnológicos. Los elementos clave de un protocolo de limpieza efectivo incluyen:

- Selección adecuada de agentes de limpieza: Deben ser capaces de eliminar tanto residuos de productos como contaminantes microbianos. Por ejemplo, estudios han demostrado la efectividad de soluciones de hidróxido de sodio (NaOH) en la limpieza en spray dryers para alimentos en polvo (Tsai et al., 2021).
- Métodos de verificación de la limpieza: El uso de técnicas como la espectrofotometría UV-visible para medir residuos de productos o la bioluminiscencia para detectar actividad de ATP en residuos orgánicos es crucial para asegurar que el equipo esté completamente limpio (Manasova et al., 2021).
- Documentación y monitoreo: Todos los procesos de limpieza deben estar bien documentados y monitoreados para asegurar la repetibilidad y efectividad del proceso a lo largo del tiempo (Jafari & Samborska, 2021).

2.2.4.2. Desafíos específicos en la limpieza de secadores por aspersión

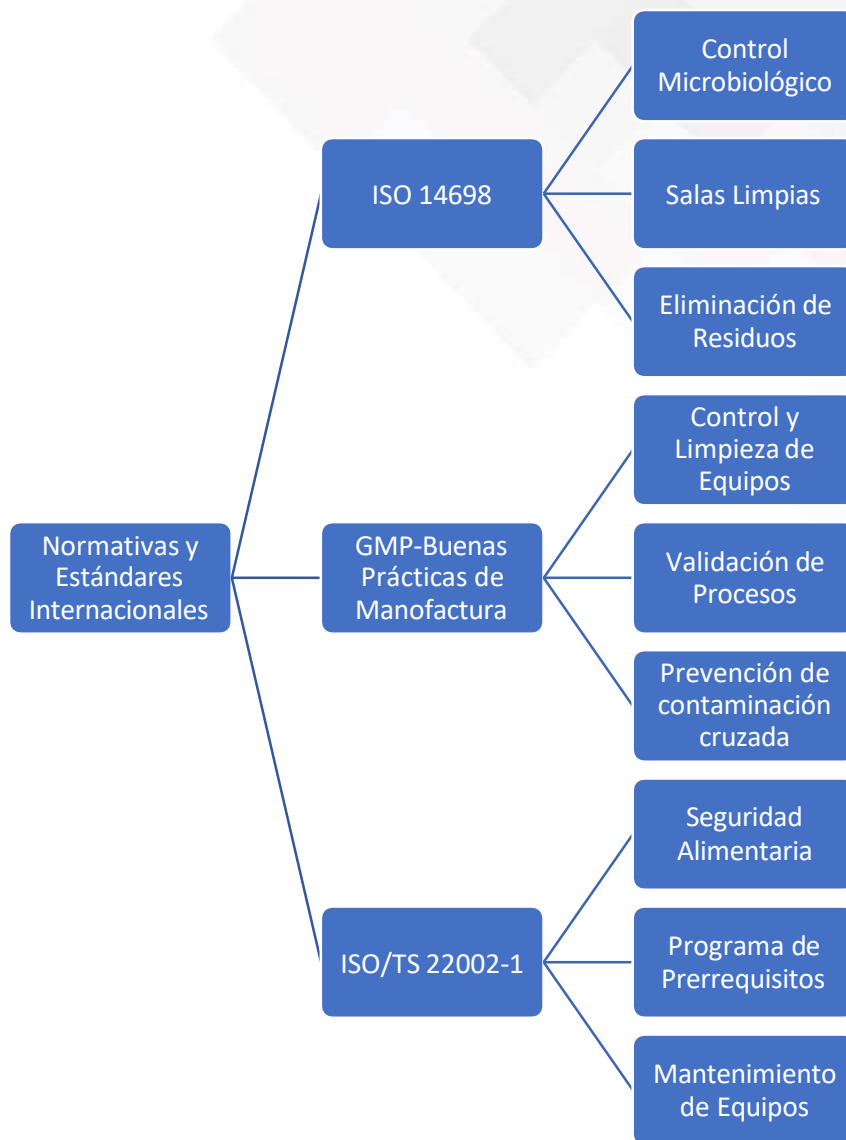
Limpiar secadores por aspersión plantea varios desafíos debido a la naturaleza de los productos procesados:

- Acumulación de residuos en áreas de difícil acceso: Los secadores suelen tener áreas donde se acumulan residuos, lo que dificulta la limpieza completa. Esto es particularmente problemático con productos viscosos o pegajosos (Samborska et al., 2021)
- Contaminación cruzada: Los residuos que permanecen en las superficies pueden causar contaminación cruzada entre lotes de producción, afectando la calidad y seguridad del producto final (Steinbrunner et al., 2021).
- Condiciones de operación extremas: Las altas temperaturas necesarias para el proceso de secado pueden dificultar la eliminación de residuos resistentes y el acceso adecuado a todas las áreas del equipo (Ramos et al., 2021)

2.2.5 Normativas y estándares aplicables

El sector industrial, especialmente en el ámbito biotecnológico, está regido por un complejo sistema de normativas y estándares internacionales que garantizan la calidad, seguridad y eficiencia de los procesos productivos. Estas regulaciones forman un marco integral que abarca desde la limpieza y mantenimiento de equipos hasta el control microbiológico y la eficiencia energética, asegurando productos seguros y procesos sostenibles.

Figura 2. Normativas y Regulaciones de la industria biotecnológica



Fuente: Elaboración Propia

La implementación de estas normativas representa un enfoque hacia la calidad y seguridad en la producción industrial. Las GMP, como piedra angular de este sistema regulatorio, establecen las bases para los procedimientos de limpieza y control de calidad, mientras que las diferentes normas ISO complementan estos requerimientos con especificaciones técnicas detalladas para aspectos específicos como el control microbiológico y la eficiencia energética (Baumann et al., 2021). Esta estructura multinivel asegura que cada aspecto del proceso productivo esté adecuadamente controlado y monitoreado.

Un aspecto fundamental de estas normativas es su interrelación y complementariedad. Por ejemplo, mientras la ISO 14698 se centra en el control microbiológico (Ensor et al., 2021)., la ISO 14644-16 aborda la eficiencia energética aire (Clausen et al., 2020), y la ISO/TS 22002-1 se enfoca en la seguridad alimentaria (Handayani et al., 2021). Esta convergencia de estándares crea un marco regulatorio robusto que permite a las

industrias mantener altos niveles de calidad y seguridad mientras optimizan sus recursos y minimizan su impacto ambiental. La adhesión a estas normativas no solo garantiza el cumplimiento legal, sino que también promueve la mejora continua en los procesos industriales.

2.2.6 Validación de protocolos de limpieza

2.2.6.1. Conceptos básicos de validación

La validación de limpieza es un proceso sistemático que proporciona evidencia documentada de que un procedimiento de limpieza es capaz de eliminar residuos de productos, agentes de limpieza y contaminantes microbianos a niveles aceptables. Este proceso se asegura de que no haya contaminación cruzada entre lotes o productos diferentes. En la industria farmacéutica y biotecnológica, la validación se realiza para cumplir con regulaciones de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) y asegurar la calidad y seguridad del producto final (Jena et al., 2020).

Las etapas clave incluyen:

- Establecimiento de criterios de aceptación: Definir niveles máximos permitidos de residuos o contaminantes.
- Selección de métodos de limpieza: Uso de agentes y métodos adecuados para eliminar residuos.
- Pruebas y documentación: Asegurarse de que los procedimientos de limpieza sean reproducibles y efectivos en condiciones operativas reales

2.2.6.2 Métodos de validación para equipos de producción biotecnológica

Existen varios métodos para validar la limpieza de equipos en la producción biotecnológica, que incluyen:

- Muestreo por hisopado: Consiste en frotar superficies del equipo con hisopos estériles para detectar residuos de productos o contaminantes microbianos. Este método es útil en áreas críticas, pero depende del tipo de superficie y la técnica de muestreo utilizada (Ramandi & Asgharian, 2018)
- Análisis de enjuague: Consiste en enjuagar las superficies internas del equipo con un solvente que luego se analiza en busca de residuos. Este método es eficaz para superficies internas y tuberías de difícil acceso (Manasova et al., 2021)
- Espectroscopía Infrarroja (IR): Un método más reciente utiliza tecnología infrarroja de mano para verificar residuos en tiempo real, eliminando la necesidad de pruebas de laboratorio más complejas (Sarwar et al., 2020)

2.2.6.3. Criterios de aceptación en la validación de limpieza

Los criterios de aceptación son esenciales para definir cuándo un equipo se considera limpio. Estos incluyen:

- Límites de residuos aceptables: Se basan en cálculos como la Transferencia Máxima Permitida (MACO), que garantiza que los residuos de productos anteriores no contaminen el producto siguiente (Che et al., 2020)
- Ensayos analíticos: Métodos como HPLC permiten cuantificar con precisión residuos en superficies, asegurando que estén por debajo de los límites predefinidos (Ruvashbili, 2022)
- Pruebas microbiológicas: Especialmente importantes en la producción de productos biotecnológicos, donde los contaminantes microbianos deben estar completamente eliminados (Abrasheva et al., 2022)

2.2.7 Métodos de evaluación de la eficacia de limpieza

2.2.7.1. Análisis de residuos de productos biotecnológicos

La evaluación de la eficacia de los protocolos de limpieza en equipos biotecnológicos es crucial para asegurar la eliminación completa de residuos de productos y contaminantes. Este proceso implica el uso de técnicas analíticas que permiten medir la presencia de residuos, garantizando que los equipos se encuentren listos para la producción sin riesgo de contaminación cruzada (Sarwar et al., 2020).

A continuación, se presentan las técnicas más comunes de análisis de residuos de productos biotecnológicos usados en la industria.

Tabla 3. Técnicas comunes de análisis de residuos.

| Técnica Analítica | Fundamento | Ventajas | Desventajas | Referencia |
|---|---|--|--|-----------------------|
| Espectrofotometría UV-Visible | Detecta residuos farmacéuticos y biotecnológicos mediante absorbancia de luz UV-visible, comúnmente aplicado en muestreo por hisopado y enjuague. | Fácil de aplicar, permite análisis cuantitativos y rápidos de contaminantes. | No es adecuado para residuos no absorbentes a UV. | (Prabhu et al., 2021) |
| Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | Separa y cuantifica residuos de compuestos a nivel de trazas mediante fases estacionarias y móviles. | Alta precisión y sensibilidad para detectar residuos peligrosos. | Requiere equipos y tiempos de análisis complejos. | (Bilgin et al., 2023) |
| Bioluminiscencia de ATP | Cuantifica adenosina trifosfato (ATP) como indicador de residuos orgánicos y microbianos, útil en tiempo real. | Rápido y efectivo para monitorear limpieza en tiempo real. | Puede ser menos preciso que métodos microbiológicos tradicionales. | (Masia et al., 2021) |
| Espectroscopía Infrarroja (IR) | Detecta y analiza residuos en superficies a través de la absorción de luz infrarroja, especialmente útil en equipos portátiles. | Permite detección en tiempo real y evita pruebas de laboratorio extensas. | Limitada para residuos sin características infrarrojas significativas. | (Sarwar et al., 2020) |
| Espectroscopía de Fluorescencia | Utiliza la fluorescencia de contaminantes específicos para cuantificar residuos sobre superficies. | Alta sensibilidad para residuos fluorescentes, rápido análisis. | No aplicable para todos los tipos de residuos. | (Kohli, 2012) |
| Microarrays de ADN | Analiza diversidad microbiana en superficies mediante perfiles genéticos, | Proporciona alta precisión en la | Costoso y requiere de | (Cooper et al., 2011) |

| | | | | |
|--|--|---|--|----------------------------|
| | ideal para monitorear limpieza microbiológica. | detección de microorganismos. | personal capacitado. | |
| XPS (Espectroscopía de Fotoelectrones de Rayos X) | Evalúa el estado químico superficial mediante la emisión de electrones estimulada por rayos X. | No invasivo, ideal para análisis en profundidad de superficies. | Equipo costoso y limitado a superficies específicas. | (Giovannozzi et al., 2018) |

3.1. Tipo y Diseño de Investigación

3.1.1. Tipo de Investigación

El presente estudio correspondió a una investigación aplicada, ya que se enfocó en resolver un problema específico en un entorno industrial mediante la validación del protocolo de limpieza del secador por aspersion (Spray Dryer) utilizado en la producción de productos biotecnológicos. El enfoque fue cuantitativo, dado que se realizaron mediciones objetivas y repetitivas de los residuos presentes en el equipo, utilizando herramientas de análisis como la espectrofotometría UV-visible y el análisis de actividad ATP por bioluminiscencia. Este tipo de investigación aplicada tuvo un carácter experimental, ya que se evaluó la eficacia de un protocolo de limpieza existente y se propusieron mejoras basadas en los resultados obtenidos.

3.1.2. Diseño de Investigación

El diseño de la investigación es cuasiexperimental, específicamente de tipo pretest-postest. En este caso, se realizarán mediciones de los residuos presentes en tres puntos críticos del secador por aspersion (ciclón, codo y motor de descarga) antes y después de aplicar el protocolo de limpieza. Estas mediciones se repetirán con una frecuencia de dos veces al mes durante tres meses, sumando un total de seis mediciones por cada punto de análisis.

Las mediciones para la determinación de residuos biotecnológicos se realizarán mediante espectrofotometría UV-visible, lo que permitirá cuantificar la concentración de residuos presentes en los puntos evaluados. Adicionalmente, la evaluación de la eficacia del protocolo de limpieza frente a la contaminación se llevará a cabo mediante el análisis de actividad ATP por bioluminiscencia, un método que mide la presencia de microorganismos o materia orgánica residual.

La investigación contempla un enfoque longitudinal, ya que las mediciones se realizarán durante un período de tres meses, permitiendo observar la variabilidad de los resultados y la consistencia en la eliminación de residuos a lo largo del tiempo. Esto permite detectar posibles tendencias o deficiencias en el protocolo actual de limpieza.

3.1.3. Variables

Variable independiente: Protocolo de limpieza aplicado.

Variable dependiente: Concentración de residuos biotecnológicos y contaminación residual (medida por ATP).

3.1.4. Población y Muestra

La muestra de estudio se define por las áreas críticas seleccionadas del secador por aspersión, a saber: Ciclón, Codo y Motor de descarga. Estas zonas han sido elegidas debido a su alta susceptibilidad a la acumulación de residuos y su relevancia en el proceso de secado de productos biotecnológicos.

Tabla 4. Etiquetas de cada área crítica evaluada

| Área | Etiqueta |
|-------------------|----------|
| Ciclón | Punto 1 |
| Codo | Punto 2 |
| Motor de Descarga | Punto 3 |

3.2. Métodos y Técnicas

Para la validación del protocolo de limpieza del secador por aspersión (Spray Dryer) y la determinación de residuos de productos biotecnológicos, se emplearon dos técnicas analíticas principales: el test de ATP por bioluminiscencia y la espectrofotometría UV-Visible. Ambas técnicas permitieron evaluar la eficacia del protocolo de limpieza en la eliminación de residuos y contaminantes, así como cuantificar su presencia en los puntos críticos seleccionados del equipo como se observa en el siguiente diagrama:

3.2.1. Determinación de Contaminación por ATP – Bioluminiscencia

La técnica de bioluminiscencia ATP (Adenosín trifosfato) es ampliamente utilizada para la determinación de contaminación microbiana y de residuos orgánicos, ya que el ATP es un indicador universal de materia biológica viva o en descomposición. La medición de ATP se realizó utilizando un luminómetro 3M™ Clean Trace™ LX25, el cual detectó la luz emitida durante la reacción entre el ATP presente en las muestras y la enzima luciferasa, producida por los organismos del género *Photinus*.

La prueba de ATP fue realizada en tres puntos críticos del secador por aspersión (ciclón, codo y motor de descarga) tras la aplicación del protocolo de limpieza. Se tomaron muestras de un área de 10x10cm antes y después de la aplicación del protocolo de limpieza. Este análisis permitió evaluar la eficacia del proceso de limpieza para eliminar no solo residuos de productos biotecnológicos, sino también restos de materia orgánica o contaminación microbiana potencialmente presentes.

3.2.2. Determinación de Residuos por Espectrofotometría UV-Visible

La espectrofotometría UV-visible se utilizó para cuantificar la concentración de residuos de productos biotecnológicos presentes en las superficies del equipo tras la limpieza. Esta técnica se basa en la absorción de luz por parte de las moléculas en la región

ultravioleta (UV) o visible del espectro electromagnético. Para la determinación de residuos de colágeno se empleó el método Bradford de detección de péptidos y proteínas, debido a que el colágeno hidrolizado producido cuenta con un 75% de proteínas según los datos del departamento de calidad de la empresa, para ello se tomó una muestra de residuos de una zona de 10x10cm en cada punto evaluado y se realizaron 4 diluciones seriadas de 1/1, 1/10, 1/100 y 1/1000, posteriormente se tomó una muestra de 0,1ml a la cual se le añadió 2ml de la solución de Bradford compuesta por azul brillante de Coomassie, etanol, ácido fosfórico y agua destilada, tras 2 minutos se midió la absorbancia a 595nm con espectrofotómetro modelo Thermo Fischer Evolution One Plus Spectrophotometer.

Por otro lado, para obtener la concentración de residuos de calostro bovino se empleó el método de determinación de carbohidratos totales de Albalasmeh, Berhe y Ghezzehei, debido a que el calostro bovino procesado cuenta con 70% de carbohidratos según los datos del departamento de calidad de la empresa, para este método al igual que con el método Bradford se tomó una muestra de un área de 10x10cm y se realizaron diluciones seriadas de 1/1, 1/10, 1/100 y 1/100 de las cuales se tomó una muestra de 1ml y se le agregó 3 ml de ácido sulfúrico concentrado, posteriormente se agitaron las muestras y fueron colocadas en un baño de hielo por 2 minutos, dichas muestras fueron colocadas en el espectrofotómetro y medidas a una absorbancia de 315 nm, las mediciones se realizaron en los tres puntos críticos (ciclón, codo y motor de descarga) antes y después de la limpieza.

Se tomaron en consideración los valores de absorbancia obtenidos en la dilución 1/100, debido a que las mediciones de las diluciones anteriores salían del rango de medición del espectrofotómetro, posteriormente los valores de absorbancia obtenidos fueron convertidos a valores de concentración de mg/ml mediante una curva estándar realizada con concentraciones conocidas de proteína de albumina de huevo en el caso del colágeno mientras que para el caso del calostro bovino se usó una curva estándar realizada con concentraciones conocidas de glucosa, finalmente los valores en unidades de mg/ml se transformaron en valores con unidades de mg/cm².

3.2.3. Cálculo de Eficiencia del protocolo de limpieza

La eficiencia se define como el porcentaje de reducción de la concentración de residuos y del nivel de actividad ATP antes y después de la limpieza. Este valor puede expresarse en términos de la disminución relativa de contaminantes en los puntos críticos analizados (ciclón, codo y motor de descarga) tras aplicar el protocolo de limpieza.

Para cada uno de los puntos críticos (ciclón, codo y motor de descarga), se realizó el siguiente cálculo de eficiencia para las variables de concentración de residuos y nivel de actividad ATP.

$$\text{Eficiencia de limpieza (\%)} = \left(\frac{\text{Nivel Inicial} - \text{Nivel Final}}{\text{Nivel Inicial}} \right) * 100$$

Donde:

Nivel inicial = Concentración de residuos (mg/cm²) o actividad ATP (RLU) antes de la limpieza.

Nivel final = Concentración de residuos (mg/cm²) o actividad ATP (RLU) después de la limpieza.

3.3. Procesamiento Estadístico de Datos

El análisis de los datos obtenidos durante la validación del protocolo de limpieza del secador por aspersion se llevó a cabo utilizando el software estadístico “SPSS versión 26”. Este análisis permitió evaluar la eficacia del protocolo de limpieza en función de las variables dependientes e independientes, así como identificar posibles diferencias en la concentración de residuos y niveles de ATP en función del tipo de producto procesado.

3.3.1. Prueba de Normalidad

Antes de proceder con los análisis inferenciales, se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para verificar si las variables dependientes (concentración de residuos y nivel de actividad ATP) seguían una distribución normal. Este paso fue necesario para determinar qué pruebas estadísticas serían apropiadas para el análisis de los datos. Debido a que los datos presentaron una distribución normal, se procedió con pruebas estadísticas cuyos supuestos de aplicación contemplan una distribución normal de los datos.

3.3.2. Análisis de Comparación

Dado que el objetivo del estudio fue evaluar las diferencias en la concentración de residuos y nivel de actividad ATP antes y después de aplicar el protocolo de limpieza, y entre los diferentes tipos de producto procesado, se realizaron los siguientes análisis:

Prueba t de Student para muestras pareadas: Se utilizó esta prueba para comparar las mediciones realizadas antes y después del proceso de limpieza en cada punto crítico. Se analizaron los cambios en la concentración de residuos y nivel de actividad ATP, tanto para el calostro bovino como para el colágeno hidrolizado.

Análisis de varianza (ANOVA): Esta prueba se aplicó para analizar la influencia del tipo de producto procesado (calostro bovino vs. colágeno hidrolizado) sobre la concentración de residuos y el nivel de actividad ATP tras la limpieza. Esta prueba permitió identificar si existían diferencias significativas entre los dos productos en términos de la eficacia del protocolo de limpieza.

3.3.3. Análisis de Correlación

Además, se realizó un análisis de correlación de Pearson para determinar si existía una relación significativa entre las variables dependientes (concentración de residuos y nivel de actividad ATP) y la variable independiente eficiencia del protocolo de limpieza. Este análisis permitió evaluar si un mayor nivel de residuos o ATP correspondía con una menor eficiencia del protocolo de limpieza.

3.3.4. Interpretación de Resultados

Los resultados obtenidos de las pruebas estadísticas se interpretaron con base en un nivel de significancia del **5% ($p < 0.05$)**, lo cual permitió establecer conclusiones sobre la validez del protocolo de limpieza en función del tipo de producto procesado y la eliminación de residuos.

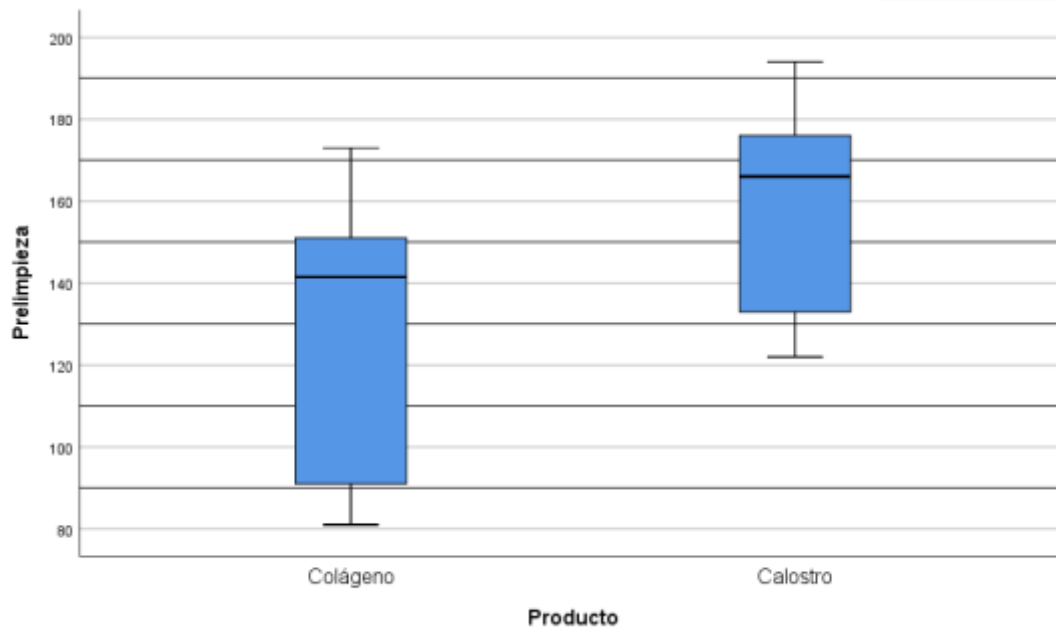
Capítulo IV: Análisis e Interpretación de Resultados

4.1. Mediciones

Niveles de actividad de ATP

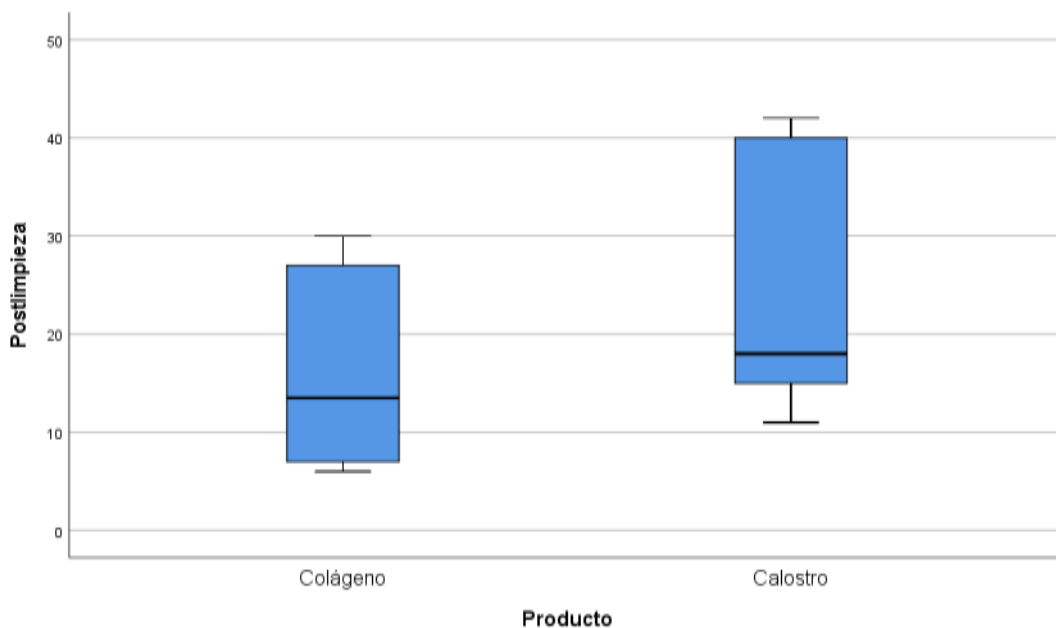
Los primeros resultados obtenidos fueron los niveles de actividad de ATP medidos antes y después de aplicar el protocolo de limpieza.

Figura 3. Niveles de actividad de ATP antes de aplicar el protocolo de limpieza



Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia

Figura 4. Niveles de actividad de ATP posterior de la aplicación del protocolo de limpieza



Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia

En las Figuras 3 y 4. se observan los niveles de actividad de ATP antes y después de aplicar el protocolo de limpieza, se logra apreciar que el calostro bovino genera mayor cantidad de actividad de ATP en ambos casos, esto indicaría que el calostro bovino propicia un ambiente más apto para el crecimiento microbiano.

Tabla 5. Niveles promedio de actividad de ATP (RLU)

| Producto | Punto | Actividad ATP Prelimpieza (RLU) | Actividad ATP Postlimpieza (RLU) |
|----------|-------|---------------------------------|----------------------------------|
| Colágeno | 1 | 162,50 | 27,33 |
| | 2 | 139,83 | 13,83 |
| | 3 | 86,67 | 7,00 |
| Calostro | 1 | 176,83 | 40,67 |
| | 2 | 169,33 | 17,50 |
| | 3 | 129,50 | 13,83 |

Fuente: SPSS Statistics

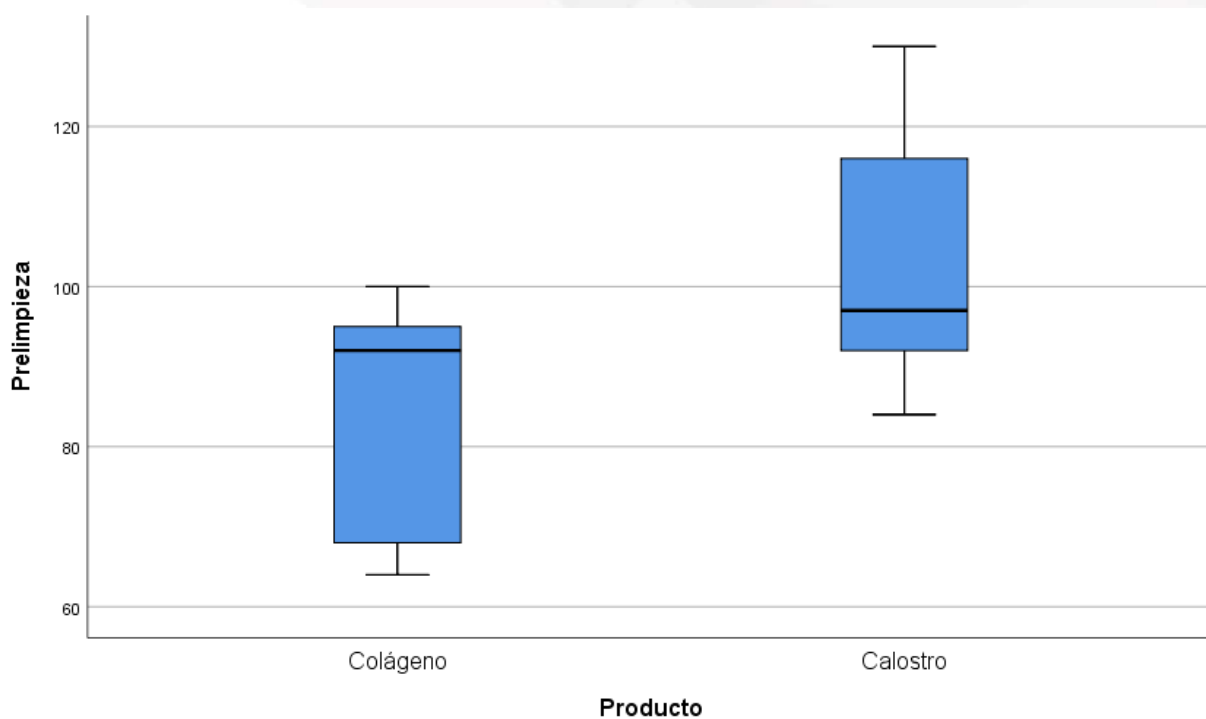
Elaboración: Propia

Como se observa en la Tabla 5. donde se reportan los niveles promedio de actividad de ATP medidos en unidades de luz relativa (RLU), se logra observar una gran diferencia entre los niveles antes de aplicar el protocolo y después de aplicar el protocolo en todos los puntos muestreados, lo cual indica una aparente alta eficiencia del protocolo para disminuir los niveles de actividad de ATP.

Concentración de residuos

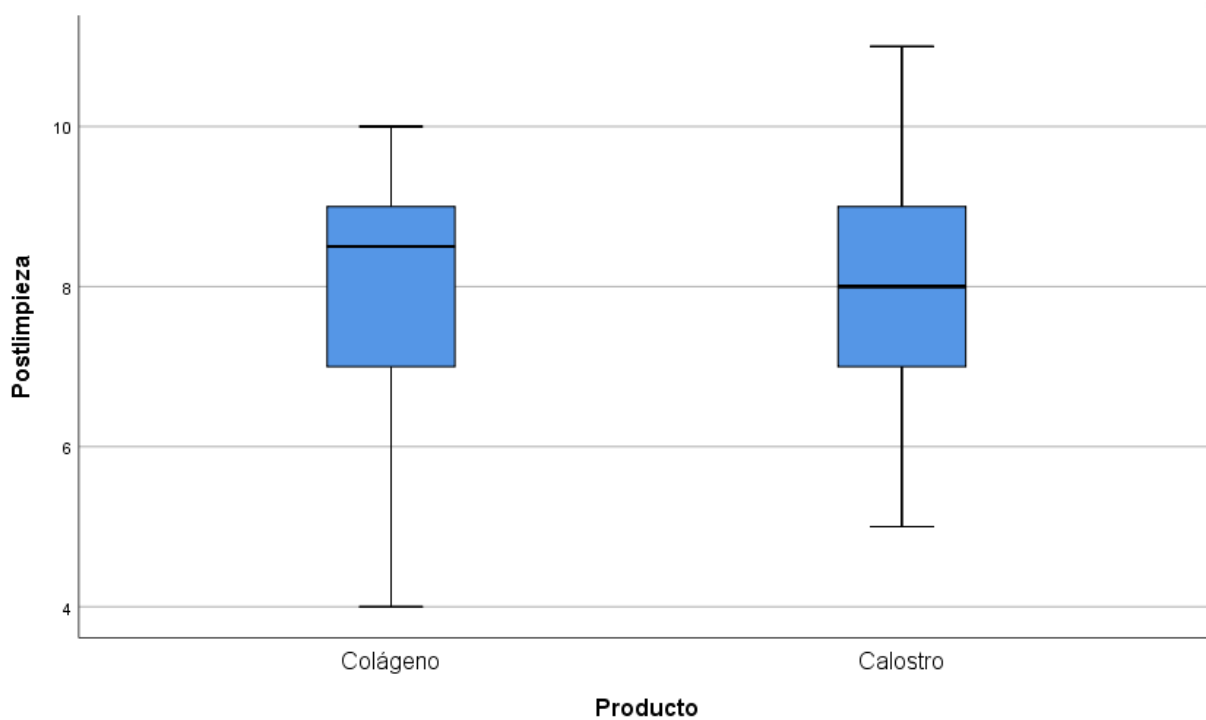
Posteriormente a la obtención de los resultados del nivel de actividad de ATP, se obtuvieron los resultados de la concentración de residuos de los productos evaluados antes y después de la aplicación del protocolo de limpieza.

Figura 5. Concentración de residuos antes de aplicar el protocolo de limpieza



Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia

Figura 6. Concentración de residuos posterior de la aplicación del protocolo de limpieza



Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia

En las figuras 5 y 6 se aprecian los niveles de concentración de residuos antes y después de aplicado el protocolo de limpieza del equipo, se observa que el calostro cuenta una mayor concentración de residuos antes de la limpieza, mientras que tras la limpieza cuenta con valores de concentración similares al colágeno.

Tabla 6. Niveles promedio de concentración de residuos (mg/cm²)

| Producto | Punto | Concentración de Residuos Prelimpieza (mg/cm ²) | Concentración de Residuos Postlimpieza (mg/cm ²) |
|----------|-------|---|--|
| Colágeno | 1 | 94,6 | 8,3 |
| | 2 | 94,0 | 9,0 |
| | 3 | 66,4 | 6,2 |
| Calostro | 1 | 121,3 | 9,3 |
| | 2 | 91,0 | 8,3 |
| | 3 | 95,3 | 6,8 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Como se aprecia en la Tabla 6. Al igual que con la actividad de ATP, la concentración de residuos disminuye considerablemente tras aplicar el protocolo de limpieza lo que indicaría una aparente alta eficiencia del protocolo para eliminar residuos dentro de los puntos evaluados. No obstante, estos datos obtenidos fueron sometidos a análisis estadísticos para corroborar la validez del protocolo a niveles más precisos.

4.2. Prueba de normalidad

El primer análisis realizado fue una prueba de normalidad para los datos obtenidos con el fin de conocer la naturaleza de los mismos, para ello se aplicó una prueba de Shapiro-Wilk para muestras menores a 50 mediciones ($n < 50$) tanto a los resultados observados en el nivel de actividad de ATP y concentración de residuos.

Prueba de normalidad en niveles de actividad de ATP

La prueba de normalidad sobre los datos obtenidos en niveles de actividad de ATP se realizó tomando en cuenta cada uno de los puntos evaluados, esta decisión fue tomada para tener una mayor precisión en la determinación de la distribución de los datos recabados. Para ello se tomó en consideración las siguientes hipótesis:

H0: Los datos analizados cuentan con una distribución normal.

H1: Los datos analizados cuentan con una distribución distinta a la distribución normal.

Tabla 7. Prueba de Normalidad de Actividad de ATP colágeno hidrolizado

| Punto Muestreado | Estado | Grados de libertad | Significancia (p-valor) |
|------------------|---------------|--------------------|-------------------------|
| P1 | Pre-limpieza | 6 | 0,102 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,126 |
| P2 | Pre-limpieza | 6 | 0,801 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,354 |
| P3 | Pre-limpieza | 6 | 0,078 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,139 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Tabla 8. Prueba de Normalidad de Actividad de ATP calostro bovino

| Punto Muestreado | Estado | Grados de libertad | Significancia (p-valor) |
|------------------|---------------|--------------------|-------------------------|
| P1 | Pre-limpieza | 6 | 0,473 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,819 |
| P2 | Pre-limpieza | 6 | 0,961 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,99 |
| P3 | Pre-limpieza | 6 | 0,794 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,652 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Como se logra apreciar en la Tabla 7 y 8. Donde se evalúa la normalidad de los datos obtenidos de la actividad de ATP en los puntos posterior a la producción de colágeno hidrolizado y calostro bovino respectivamente, el valor de significancia o p-valor fue superior a 0,05 ($p > 0,05$) por lo tanto, se acepta la hipótesis nula que estipula una distribución normal en los datos.

Prueba de Normalidad en concentración de residuos

Al igual que los datos obtenidos de la actividad de ATP, los datos de concentración de residuos fueron sometidos a una prueba de normalidad para tener certeza sobre el tipo de distribución de estos. Nuevamente aplicando la prueba de Shapiro-Wilk se establecieron las siguientes hipótesis:

H0: Los datos analizados cuentan con una distribución normal.

H1: Los datos analizados cuentan con una distribución distinta a la distribución normal.

Tabla 9. Prueba de Normalidad de concentración de residuos de colágeno

| Punto Muestreado | Estado | Grados de libertad | Significancia (p-valor) |
|------------------|---------------|--------------------|-------------------------|
| P1 | Pre-limpieza | 6 | 0,415 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,885 |
| P2 | Pre-limpieza | 6 | 0,121 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,091 |
| P3 | Pre-limpieza | 6 | 0,101 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,83 |

Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia

Tabla 10. Prueba de Normalidad de concentración de residuos de calostro bovino

| Punto Muestreado | Estado | Grados de libertad | Significancia (p-valor) |
|------------------|---------------|--------------------|-------------------------|
| P1 | Pre-limpieza | 6 | 0,948 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,565 |
| P2 | Pre-limpieza | 6 | 0,925 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,415 |
| P3 | Pre-limpieza | 6 | 0,091 |
| | Post-limpieza | 6 | 0,804 |

Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia

Como se puede observar en las tablas 9 y 10 los valores de significancia en la prueba de normalidad tanto para el colágeno hidrolizado como calostro bovino fueron mayores a 0,05 ($p > 0,05$) lo que indica que se debe tomar la hipótesis nula como verdadera por lo tanto los datos obtenidos cuentan con una distribución normal.

4.3. Análisis Comparativo

Prueba T para muestras pareadas actividad de ATP

Posteriormente a las pruebas de normalidad se procedió a realizar una prueba T para comparar el nivel de actividad de ATP antes y después de aplicado el protocolo de limpieza, esta prueba se realizó considerando las siguientes hipótesis:

H0: La aplicación del protocolo de limpieza **no** genera una diferencia estadísticamente significativa en el nivel de actividad de ATP en las zonas muestreadas

H1: La aplicación del protocolo de limpieza genera una diferencia estadísticamente significativa en el nivel de actividad de ATP en las zonas muestreadas

Tabla 11. Prueba T Prelimpieza-Postlimpieza Colágeno - Actividad de ATP

| Diferencias Emparejadas | | | | | |
|------------------------------|---------|----------------|--------|--------------------|-------------------------|
| | Media | Desv. Estándar | t | Grados de libertad | Significancia (p-valor) |
| Pre-limpieza vs Post-Lipieza | 113,611 | 26,562 | 18,146 | 17 | ,000 |

Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia

Tabla 12. Prueba T Prelimpieza-Postlimpieza Calostro Bovino - Actividad de ATP

| Diferencias Emparejadas | | | | | |
|------------------------------|---------|----------------|--------|--------------------|-------------------------|
| | Media | Desv. Estándar | t | Grados de libertad | Significancia (p-valor) |
| Pre-limpieza vs Post-Lipieza | 134,556 | 17,068 | 33,447 | 17 | ,000 |

Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia

Como se observa en las tablas 11 y 12 donde se compararon los valores de actividad de ATP antes y después de aplicar el protocolo de limpieza para los procesos de obtención de colágeno hidrolizado y calostro bovino respectivamente, se aprecia un valor de significancia menor a 0,05 ($p < 0,05$), el cual indica que se debe rechazar la hipótesis nula y adoptar la hipótesis alterna, esto indica que el protocolo de limpieza demuestra tener efectividad para disminuir el nivel de actividad de ATP.

Prueba T para muestras pareadas concentración de residuos

Al igual que con la variable de actividad de ATP también se realizó una prueba T para muestras pareadas sobre la variable de concentración de residuos, esta prueba estadística fue aplicada para comprobar las siguientes hipótesis:

H0: La aplicación del protocolo de limpieza **no** genera una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de residuos en las zonas muestreadas

H1: La aplicación del protocolo de limpieza genera una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de residuos en las zonas muestreadas

Tabla 13. Prueba T Prelimpieza-Postlimpieza Colágeno – Concentración de Residuos

| Diferencias Emparejadas | | | | | |
|------------------------------|--------|----------------|--------|--------------------|-------------------------|
| | Media | Desv. Estándar | t | Grados de libertad | Significancia (p-valor) |
| Pre-limpieza vs Post-Lipieza | 77,167 | 12,473 | 25,962 | 17 | ,000 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Tabla 14. Prueba T Prelimpieza-Postlimpieza Calostro Bovino – Concentración de Residuos

| | Diferencias Emparejadas | | | | |
|------------------------------|-------------------------|----------------|--------|--------------------|-------------------------|
| | Media | Desv. Estándar | t | Grados de libertad | Significancia (p-valor) |
| Pre-limpieza vs Post-Lipieza | 94,278 | 14,066 | 28,436 | 17 | ,000 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

En las tablas 13 y 14 se observa un valor de significancia menor a 0,05 ($p < 0,05$) tanto para colágeno hidrolizado y calostro bovino, aceptando la hipótesis alternativa y por lo tanto afirmando que el protocolo de limpieza genera una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de residuos en los puntos muestreados.

Análisis de Varianza de Eficiencia

Una vez que se confirmó que el protocolo de limpieza tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el nivel de actividad de ATP y la concentración de residuos en los puntos muestreados se calculó la eficiencia del protocolo en cada punto.

Tabla 15. Eficiencia del protocolo de limpieza para disminuir la actividad de ATP

| Punto | % Eficiencia Promedio Colágeno | % Eficiencia Promedio Calostro |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 83,12 | 76,95 |
| 2 | 90,03 | 89,66 |
| 3 | 91,88 | 89,33 |
| Promedio General | 88,34 | 85,31 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Tabla 16. Eficiencia del protocolo de limpieza para disminuir la concentración de residuos

| Punto | % Eficiencia Promedio Colágeno | % Eficiencia Promedio Calostro |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 91,18 | 92,30 |
| 2 | 90,40 | 90,83 |
| 3 | 90,75 | 92,82 |
| Promedio General | 90,78 | 91,98 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Las tablas 15 y 16 muestran la eficiencia del protocolo de limpieza en cada punto para disminuir la actividad de ATP y la concentración de residuos respectivamente, a simple vista se aprecia que el protocolo tiene valores más altos de eficiencia en la disminución de actividad de ATP tras el procesamiento de colágeno, mientras que presenta una mayor eficiencia en la disminución de residuos tras el procesamiento de calostro bovino, no obstante para confirmar estas observaciones se procedió a realizar una prueba ANOVA sobre los valores de eficiencia.

Análisis de Eficiencia del protocolo para disminuir la actividad de ATP

En primer lugar, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) considerando los valores de eficiencia para disminuir la actividad de ATP tras el procesamiento de colágeno hidrolizado y calostro bovino tomando en cuenta las siguientes hipótesis:

H0: La eficiencia del protocolo de limpieza es estadísticamente similar para reducir la actividad de ATP tras el procesamiento de colágeno hidrolizado y el procesamiento de calostro bovino.

H1: La eficiencia del protocolo de limpieza **no** es estadísticamente similar para reducir la actividad de ATP tras el procesamiento de colágeno hidrolizado y el procesamiento de calostro bovino.

Tabla 17. ANOVA %Eficiencia Colágeno vs Calostro actividad de ATP

| | Suma de Cuadrados | Grados de Libertad | Media Cuadrática | F | Significancia (p-valor) |
|------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------|-------------------------|
| Entre grupos | 82,749 | 1 | 82,749 | 2,913 | ,097 |
| Dentro de Grupos | 965,878 | 34 | 28,408 | | |
| Total | 1048,627 | 35 | | | |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Como se aprecia en la Tabla 17., el valor de significancia de la prueba ANOVA fue mayor a 0,05 ($p > 0,05$) por lo tanto se acepta la hipótesis nula, lo que implica que a pesar de

tener valores promedio de eficiencia como se observa en la tabla 14., esta diferencia no es estadísticamente significativa y se puede afirmar que el protocolo tiene una eficiencia similar para disminuir la actividad de ATP tanto en el caso de procesar colágeno hidrolizado como en el caso de procesar calostro bovino.

Posteriormente se evaluó la eficiencia para disminuir la actividad de ATP comparando cada punto según el tipo de producto procesado evaluando las siguientes hipótesis:

H0: No existe diferencia estadísticamente significativa en la eficiencia del protocolo para reducir los niveles de actividad de ATP entre los diferentes puntos de muestreo.

H1: Existe diferencia estadísticamente significativa en la eficiencia del protocolo para reducir los niveles de actividad de ATP entre los diferentes puntos de muestreo.

Tabla 18. ANOVA %Eficiencia Colágeno y Calostro actividad de ATP

| | | Suma de Cuadrados | Grados de libertad | Media Cuadrática | F | Significancia (p-valor) |
|---------------------|------------------|-------------------|--------------------|------------------|------------|-------------------------|
| Eficiencia Colágeno | Entre grupos | 256,167 | 2 | 128,083 | 37,3 74 | ,000 |
| | Dentro de Grupos | 51,406 | 15 | 3,427 | | |
| | Total | 307,572 | 17 | | | |
| Eficiencia Calostro | Entre grupos | 630,250 | 2 | 315,125 | 37,3 74 | ,000 |
| | Dentro de Grupos | 28,056 | 15 | 1,870 | | |
| | Total | 658,305 | 17 | | | |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Como se observa en la Tabla 18. donde se encuentra el análisis de varianza entre la eficiencia de cada punto, se hallan valores de significancia menores a 0,05 ($p < 0,05$) tanto para la eficiencia del protocolo sobre el colágeno hidrolizado y sobre el calostro bovino rechazando la hipótesis nula y adoptando la hipótesis alterna la cual afirma que existen diferencias significativas entre la eficiencia del protocolo en los diferentes puntos muestreados.

Para conocer cuáles son los puntos con menores o mayores valores de eficiencia se realizó la prueba de Tukey que coloca los promedios de eficiencia en diferentes subgrupos estadísticamente diferentes.

Tabla 19. Prueba Tukey Eficiencia sobre colágeno actividad de ATP

| Punto de Muestreo | N | Subconjunto para alfa = 0,05 | |
|-------------------|---|------------------------------|--------|
| | | 1 | 2 |
| Punto 1 | 6 | 83,118 | |
| Punto 2 | 6 | | 90,032 |
| Punto 3 | 6 | | 91,885 |
| Significancia | | 1,000 | ,225 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Como se observa en la Tabla 19. el punto 1 se ubica en el subconjunto estadístico 1, mientras que los puntos 2 y 3 se encuentran agrupados en un mismo subconjunto, esto indica que el protocolo de limpieza tiene una menor eficiencia en el punto 1 mientras que en los puntos 2 y 3 además de tener una mayor eficiencia, ambos puntos tienen una eficiencia estadísticamente similar.

Tabla 20. Prueba Tukey Eficiencia sobre Calostro Bovino actividad de ATP

| Punto de Muestreo | N | Subconjunto para alfa = 0,05 | |
|-------------------|---|------------------------------|-----------|
| | | 1 | 2 |
| Punto 1 | 6 | 76,946667 | |
| Punto 2 | 6 | | 89,331667 |
| Punto 3 | 6 | | 89,6600 |
| Significancia | | 1,000 | ,910 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

En la tabla 20. se encuentra la prueba de Tukey aplicada a la eficiencia del protocolo para disminuir la actividad de ATP tras el procesamiento de calostro bovino, se puede observar que al igual que tras el procesamiento de colágeno el punto 1 se encuentra en un subconjunto estadístico diferente a los puntos 2 y 3, por lo que el protocolo de limpieza en el punto 1 es menos eficiente en comparación con los puntos 2 y 3 cuya eficiencia es similar.

Análisis de Eficiencia del protocolo para disminuir la concentración de residuos
 Al igual que con los valores de eficiencia del protocolo para disminuir los niveles de ATP, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) sobre los datos de eficiencia para disminuir la concentración de residuos tras el procesamiento de colágeno hidrolizado y calostro bovino, tomando en cuenta las siguientes hipótesis:

H0: La eficiencia del protocolo de limpieza es estadísticamente similar para reducir la concentración de residuos tras el procesamiento de colágeno hidrolizado y el procesamiento de calostro bovino.

H1: La eficiencia del protocolo de limpieza **no** es estadísticamente similar para reducir la concentración de residuos tras el procesamiento de colágeno hidrolizado y el procesamiento de calostro bovino.

Tabla 21. ANOVA %Eficiencia Colágeno vs Calostro concentración de residuos

| | Suma de Cuadrados | Grados de libertad | Media Cuadrática | F | Significancia (p-valor) |
|------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------|-------------------------|
| Entre grupos | 13,032 | 1 | 13,032 | 6,156 | ,018 |
| Dentro de Grupos | 71,981 | 34 | 2,117 | | |
| Total | 85,013 | 35 | | | |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

En la tabla 21. se observan los resultados de la prueba ANOVA encontrándose un valor de significancia mayor a 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, esto indica que el protocolo de limpieza es más eficiente para eliminar residuos de uno de los 2 productos, revisando la Tabla 14. se observa que la eficiencia promedio del calostro bovino (91,98%) es superior a la eficiencia del colágeno (90,78%) por lo tanto el protocolo tiene una mayor eficiencia para eliminar residuos de calostro bovino.

Posteriormente se procedió a realizar un análisis de varianza adicional con el fin de identificar si existen diferencias significativas en la eficiencia sobre cada punto muestreado según cada producto procesado, para ello se tomó en cuenta las siguientes hipótesis:

H0: La eficiencia del protocolo de limpieza es estadísticamente similar para reducir la concentración de residuos tras el procesamiento de colágeno hidrolizado y el procesamiento de calostro bovino.

H1: La eficiencia del protocolo de limpieza **no** es estadísticamente similar para reducir la concentración de residuos tras el procesamiento de colágeno hidrolizado y el procesamiento de calostro bovino.

Tabla 22. ANOVA %Eficiencia Colágeno y Calostro concentración de Residuos

| | | Suma de Cuadrados | Grados de libertad | Media Cuadrática | F | Significancia (p-valor) |
|---------------------|------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------|-------------------------|
| Eficiencia Colágeno | Entre grupos | 1,839 | 2 | ,919 | ,372 | ,695 |
| | Dentro de Grupos | 37,056 | 15 | 2,470 | | |
| | Total | 38,894 | 17 | | | |
| Eficiencia Calostro | Entre grupos | 12,831 | 2 | 6,416 | 4,751 | ,025 |
| | Dentro de Grupos | 20,255 | 15 | 1,350 | | |
| | Total | 33,086 | 17 | | | |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Como se observa en la Tabla 22. el valor de significancia para la eficiencia de reducción de la concentración de residuos de colágeno obtuvo un valor de significancia mayor a 0,05 ($p > 0,05$) lo que indica que se debe aceptar la hipótesis nula y por lo tanto no existe una diferencia estadísticamente significativa sobre la eficiencia del protocolo en los puntos muestreados. Por otro lado, el valor de significancia del calostro bovino fue inferior a 0,05 ($p < 0,05$) esto indicando que se debe rechazar la hipótesis nula e indicando que el protocolo tiene una mayor o menor eficiencia en alguno de los puntos muestreados, para corroborar estos resultados se realizó una prueba de Tukey tanto para la eficiencia del protocolo para reducir la concentración de residuos de colágeno hidrolizado como residuos de calostro bovino.

Tabla 23. Prueba Tukey Eficiencia sobre colágeno concentración de Residuos

| Subconjunto para alfa = 0,05 | | |
|------------------------------|---|--------|
| Punto de Muestreo | N | 1 |
| Punto 1 | 6 | 90,400 |
| Punto 2 | 6 | 90,753 |
| Punto 3 | 6 | 91,181 |
| Significancia | | ,672 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

Como se observa en la Tabla 23. los promedios de eficiencia del protocolo para disminuir la concentración de residuos de colágeno se agrupan en un mismo subconjunto, lo que indica que no hay una diferencia significativa entre la eficiencia en los puntos muestreados para el caso del colágeno hidrolizado.

Tabla 24. Prueba Tukey Eficiencia sobre Calostro Bovino actividad de ATP

| Subconjunto para alfa = 0,05 | | | |
|------------------------------|---|--------|--------|
| Punto de Muestreo | N | 1 | 2 |
| Punto 1 | 6 | 90,825 | |
| Punto 2 | 6 | 92,303 | 92,303 |
| Punto 3 | 6 | | 92,816 |
| Significancia | | ,103 | ,729 |

Fuente: SPSS Statistics

Elaboración: Propia

En la Tabla 24. se observa la prueba Tukey aplicada sobre la eficiencia del protocolo para disminuir la concentración de residuos de calostro bovino, se aprecia que existen 2 subconjuntos estadísticamente diferentes donde los puntos 1 y 2 se agrupan en el subconjunto 1 y los puntos 2 y 3 se agrupan en el subconjunto 2, esto indica que el punto 2 es estadísticamente similar tanto al punto 1 como al punto 2, no obstante, el punto 3 tiene una mejor eficiencia en comparación con el punto 1.

4.4. Análisis Correlativo

Finalmente se realizó un análisis correlativo entre la eficiencia del protocolo de limpieza aplicado y el nivel de actividad de ATP tras la limpieza, así como también con el nivel de residuos tras la limpieza.

Tabla 25. Correlación entre Eficiencia del Protocolo y Actividad final de ATP.

| | Eficiencia Protocolo | Actividad de ATP |
|--|----------------------|------------------|
|--|----------------------|------------------|

| | | | |
|------------|----------------|----|-------|
| | Correlación de | 1 | -,972 |
| Eficiencia | Pearson (r) | | |
| Protocolo | Significancia | | ,000 |
| | N | 36 | 36 |

Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia7

Como se observa en la tabla 25. correspondiente a la correlación entre la eficiencia del protocolo y los niveles de actividad de ATP tras la aplicación del protocolo, existe un coeficiente de correlación muy cercano a -1 ($r \approx -1$) lo que indica una fuerte correlación entre la eficiencia del protocolo con el nivel actividad de ATP medido, además se observa que el valor del coeficiente es negativo, esto indica una correlación inversamente proporcional, es decir, a mayor eficiencia del protocolo existe un menor nivel de actividad de ATP, lo cual es congruente con los análisis anteriores y más importante aún es que estos resultados revelan que si se optimiza la eficiencia el protocolo se puede alcanzar menores niveles de actividad de ATP.

Tabla 26. Correlación Entre eficiencia de Protocolo y Concentración final de Residuos

| | | | |
|---------------|----------------|------------------|---------------|
| | | Concentración de | Eficiencia de |
| | | Residuos | Protocolo |
| | Correlación de | 1 | -,564 |
| Eficiencia de | Pearson (r) | | |
| Protocolo | Significancia | | ,000 |
| | N | 36 | 36 |

Fuente: SPSS Statistics
Elaboración: Propia

En la Tabla 26. se observa la correlación entre la eficiencia del protocolo y la concentración de residuos tras la aplicación del protocolo de limpieza, donde el coeficiente de correlación (-0,564) se encuentra en un rango entre -0,5 y -0,6; indicando una correlación inversa moderada, es decir, que a mayor eficiencia del protocolo existe una menor concentración de residuos, no obstante, al ser una correlación moderada si se desearía realizar una optimización que aumente la eficiencia del protocolo esta no se verá reflejada con una mejorar sustancial en la disminución de la concentración de residuos.

4.5. Acciones de mejora

En base a los resultados obtenidos, existe un margen de mejora para el protocolo de limpieza del Spray Dryer en la producción de productos biotecnológicos como colágeno y calostro, es por ello que se proponen las siguientes estrategias:

Optimización de Métodos de Limpieza según el Tipo de Residuo

Uso de agentes limpiadores específicos: Emplear detergentes y agentes limpiadores específicos para los residuos particulares de colágeno y calostro, como agentes enzimáticos para proteínas y grasas, puede facilitar la eliminación de residuos orgánicos persistentes.

Protocolo de limpieza por etapas: Dividir el protocolo en múltiples fases con agentes específicos (por ejemplo, prelavado con detergentes enzimáticos seguido de un agente desinfectante) puede maximizar la eficacia de cada etapa en la eliminación de distintos tipos de residuos.

Implementación de Técnicas de Monitoreo Avanzado

Análisis de Carbono Orgánico Total (TOC): La incorporación de TOC como una técnica adicional de monitoreo, además de la espectrofotometría UV-visible, permite evaluar de manera más precisa la eliminación de residuos orgánicos totales y detectar niveles bajos de contaminación residual.

ATP Bioluminiscencia a Múltiples Puntos: Realizar análisis de ATP en varios puntos del equipo después de cada ciclo de limpieza para obtener datos más detallados sobre las áreas con residuos persistentes y ajustar el protocolo en consecuencia.

Ajuste de Parámetros Operativos en el Protocolo

Extensión del tiempo de contacto: Ampliar el tiempo de contacto de los agentes limpiadores en superficies con mayor concentración de residuos (según los resultados de muestreo) podría mejorar la eliminación de residuos en esos puntos críticos.

Optimización de la temperatura y concentración de los agentes de limpieza: Incrementar la temperatura y ajustar la concentración de los agentes limpiadores para áreas con alta acumulación de residuos puede mejorar la efectividad del protocolo sin comprometer la integridad del equipo.

Incorporación de Tecnología de Limpieza Avanzada

Limpieza Ultrasónica: Implementar limpieza ultrasónica en las etapas de prelavado para equipos con partes de difícil acceso ayudaría a remover residuos incrustados sin dañar la superficie del equipo.

Tecnología de microfibras para eliminación física de residuos: La limpieza manual con paños de microfibras, previamente impregnados con agentes desinfectantes, ha demostrado ser eficaz en reducir significativamente los niveles de ATP y puede emplearse en combinación con otros métodos para asegurar una limpieza completa.

Entrenamiento y Estándares de Buenas Prácticas de Limpieza

Capacitación de personal en técnicas de limpieza avanzada: Instruir al personal en el uso correcto de los agentes y tecnologías de limpieza garantiza la consistencia y eficacia del protocolo.

Estandarización de procedimientos de muestreo y documentación: Implementar protocolos estandarizados para el muestreo y monitoreo de residuos permite detectar y corregir variaciones en los resultados de limpieza, mejorando la trazabilidad y la validación del protocolo.

Implementar estas mejoras contribuirá a un protocolo de limpieza más robusto y eficiente, adecuado para los requisitos estrictos de la producción biotecnológica y que garantizará la calidad y seguridad en el proceso de fabricación de colágeno y calostro.

CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones

5.1. Discusión

Los protocolos de limpieza en equipos de secado por aspersion, especialmente en la industria biotecnológica y alimentaria, han sido objeto de múltiples estudios. Un análisis sobre el ciclo de vida del proceso de limpieza en la producción de polvo de yema de huevo, utilizando técnicas de cleaning-in-place (CIP), reveló que el impacto ambiental y el uso excesivo de agua y energía durante el lavado son problemas críticos. Sin embargo, el uso intermitente de soluciones de NaOH ha demostrado ser eficaz para reducir los residuos y mejorar la sostenibilidad del proceso de limpieza (Tsai et al., 2021). En otro estudio, la limpieza de polímeros secos en spray mediante técnicas de secado asistido por solventes mostró que los métodos basados en metanol fueron significativamente más eficientes que los de vacío o agua, reduciendo el tiempo de limpieza y mejorando la eliminación de residuos (Shepard et al., 2020).

Los resultados obtenidos en el protocolo de limpieza del Spray Dryer mostraron una reducción significativa en la actividad de ATP, lo cual indica una alta eficacia del método. Comparando estos hallazgos con estudios de validación de limpieza en otros contextos, como en ambientes hospitalarios y farmacéuticos, también se ha observado una reducción eficaz de ATP mediante protocolos de limpieza especializados. Por ejemplo, el uso de tecnología de microfibra y ATP-bioluminiscencia en unidades de cuidados intensivos demostró una reducción significativa de ATP, lo que respalda la efectividad de monitorear la limpieza usando valores de unidades de luz relativa (RLU) para evaluar la contaminación microbiana superficial (Moore et al., 2010).

El análisis de concentración de residuos demostró una reducción considerable en los niveles tras la limpieza, con eficiencias que se situaron alrededor del 90% en diferentes puntos de muestreo. Este hallazgo es consistente con estudios en el sector farmacéutico, donde el proceso de validación de limpieza para residuos de productos previos establece criterios específicos de aceptación. Un estudio similar sobre la eliminación de residuos de cefixima en equipos de producción resaltó que una estrategia de validación eficiente es crucial para reducir residuos a niveles seguros, garantizando la limpieza del equipo y evitando la contaminación cruzada (Manasova et al., 2021).

Es fundamental mencionar que, aunque los resultados son favorables, la diferencia en la eficiencia según el punto de muestreo sugiere áreas de oportunidad para mejorar el protocolo, especialmente en superficies con mayor retención de residuos. Estudios previos han recomendado la implementación de métodos más robustos, como el análisis

de carbono orgánico total (TOC) y técnicas combinadas de muestreo directo e indirecto para superficies complejas, lo cual podría reforzar la precisión en la evaluación de la limpieza en equipos biotecnológicos (Inanpudi et al., 1996)

5.2. Conclusiones

Se determinó que el protocolo de limpieza implementado en el Spray Dryer es efectivo para reducir los residuos de productos biotecnológicos, logrando una reducción significativa de contaminantes en las superficies de contacto y cumpliendo así con los criterios de seguridad y calidad establecidos. La validación del protocolo confirmó que este es adecuado para su aplicación en la línea de producción, minimizando el riesgo de contaminación cruzada entre lotes y garantizando un entorno limpio y seguro para la fabricación de productos biotecnológicos.

Se evaluó la eficacia del método de limpieza en la eliminación de residuos de colágeno y calostro a través de la espectrofotometría UV-visible, obteniéndose una reducción superior al 90% en los niveles de residuos en las superficies evaluadas. Estos resultados demuestran que el protocolo de limpieza cumple con los estándares de limpieza necesarios para reducir la presencia de residuos en el equipo, ofreciendo un control adecuado sobre la contaminación de productos previos y protegiendo la integridad de los futuros lotes de producción.

Se verificó la eficacia del protocolo para disminuir la actividad de ATP mediante análisis de bioluminiscencia, mostrando que el protocolo logra una reducción significativa en las unidades de luz relativa (RLU) en todos los puntos de muestreo. Los resultados indican que el protocolo es eficaz para reducir la actividad biológica y la posible contaminación microbiana en el equipo de producción, cumpliendo con los estándares de higiene requeridos para la producción de productos biotecnológicos seguros y de alta calidad.

Se propusieron acciones de mejora basadas en los resultados obtenidos para optimizar el protocolo de limpieza vigente, incluyendo recomendaciones específicas como el uso de análisis de carbono orgánico total (TOC) y ajustes en el tiempo de contacto y concentración de agentes de limpieza en áreas de difícil acceso. Estas propuestas buscan reforzar la eficacia del protocolo, mejorar su precisión y adaptabilidad a distintas condiciones de limpieza en la producción de colágeno y calostro, asegurando un cumplimiento sostenido de los criterios de calidad y seguridad en el entorno de producción.

5.3. Recomendaciones

Se recomienda investigar el impacto de variaciones en la concentración y tipo de agentes de limpieza utilizados en el protocolo, evaluando su eficacia para eliminar residuos específicos de colágeno y calostro y determinando el balance óptimo entre concentración de agentes y tiempo de contacto para maximizar la eficiencia del protocolo en diferentes condiciones de producción.

Es aconsejable explorar el uso de tecnologías de limpieza avanzadas, como sistemas de ultrasonido y limpieza automatizada, para complementar el protocolo actual, especialmente en equipos con superficies de difícil acceso o con alta acumulación de residuos, lo cual podría mejorar la eficiencia y reducir el tiempo necesario para cada ciclo de limpieza.

Se sugiere realizar estudios comparativos utilizando métodos de monitoreo adicionales, como el análisis de carbono orgánico total (TOC) y técnicas de cromatografía, que permitan detectar residuos en niveles traza y proporcionar una evaluación más precisa de la efectividad del protocolo, ampliando así la validez de los resultados y la sensibilidad de la evaluación.

Para optimizar el protocolo en distintos entornos de producción, se recomienda realizar investigaciones que comparen la eficacia del protocolo actual en instalaciones con diferentes configuraciones de equipos y productos procesados, analizando cómo factores como el diseño del equipo y la naturaleza de los productos afectan la limpieza y adaptando el protocolo a diversos escenarios industriales.

Referencias Bibliográficas

- Abrasheva, E., Atanasoski, D., Kronevska, N., Ivcheska, A., Karadzinska, E., & Paneva, O. (2022). Cleaning validation concept for introduction of product with new active pharmaceutical ingredient in pharmaceutical production. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 68(03), 161–162. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2022.68.03.076>
- Alhaji, N., O'Reilly, N. J., & Cathcart, H. (2021). Designing enhanced spray dried particles for inhalation: A review of the impact of excipients and processing parameters on particle properties. *Powder Technology*, 384, 313–331. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.02.031>
- Baumann, J. M., Adam, M. S., & Wood, J. D. (2021). Engineering Advances in Spray Drying for Pharmaceuticals. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 12(1), 217–240. <https://doi.org/10.1146/annurev-chembioeng-091720-034106>
- Che, P. L., Bailey, A. P., Tam, C. Y. J., Alvarez, M., & Arroyo, A. Y. (2020). Determining the Clearance of Degraded Protein via a Monoclonal Antibody Purification Process in Support of Cleaning Carryover Limits in Multiproduct Facilities. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 74(4), 377–393. <https://doi.org/10.5731/pdajpst.2019.010611>
- Clausen, P. A., Frederiksen, M., Sejbæk, C. S., Sørli, J. B., Hougaard, K. S., Frydendall, K. B., Carøe, T. K., Flachs, E. M., Meyer, H. W., Schlünssen, V., & Wolkoff, P. (2020). Chemicals inhaled from spray cleaning and disinfection products and their respiratory effects. A comprehensive review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 229, 113592. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113592>
- Delhalle, L., Taminiau, B., Fastrez, S., Fall, A., Ballesteros, M., Burteau, S., & Daube, G. (2020). Evaluation of Enzymatic Cleaning on Food Processing Installations and Food Products Bacterial Microflora. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01827>
- Ensor, D. S., Mielke, R., & Sklena, J. (2021). Update of ISO Technical Committee 209 Cleanrooms and Associated Controlled Environments. *Journal of the IEST*, 64(1), 57–67. <https://doi.org/10.17764/1557-2196-64.1.57>
- Handayani, S., Tantal, L., & Nyonya, R. M. (2021). IMPLEMENTASI GMP BERDASAR PADA ISO/TS 22002-1 TERHADAP PRODUKSI IKAN TERI NASI (*Stolepherus* sp.) DI PT MARINAL INDOPRIMA. *AGROINTEK*, 15(2), 658–666. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v15i2.8476>
- Inanpudi, P., Lombardo, S., Ruezinsky, G., Baltrus, T., Dugger, J., Remsen, P., Rupp, R., & Nigam, S. (1996). An Integrated Approach for Validating Cleaning Procedures in Biopharmaceutical Manufacturing Facilities. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 782(1), 363–374. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1996.tb40575.x>
- Jafari, S. M., & Samborska, K. (2021). Spray drying for the retention of food bioactive compounds and nutraceuticals – 150th anniversary of spray drying. *Drying Technology*, 39(12), 1773–1773. <https://doi.org/10.1080/07373937.2021.1972521>
- Jena, B. R., Swain, S., Pradhan, D. P., & Ghose, D. (2020). Cleaning validation in analytical development: Current challenges and future perspectives. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis*, 7(3), 113–118. <https://doi.org/10.18231/j.ijpca.2020.018>

- Manasova, M., Bilbilovska, E., Markoska Janevski, B., Acevska, J., Mitrovska, G., & Babunovska, H. (2021). Cleaning validation in production area – development of analytical method for quantitative determination of Cefixime residues. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 68(03), 109–110. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2022.68.03.050>
- Moore, G., Smyth, D., Singleton, J., & Wilson, P. (2010). The use of adenosine triphosphate bioluminescence to assess the efficacy of a modified cleaning program implemented within an intensive care setting. *American Journal of Infection Control*, 38(8), 617–622. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2010.02.011>
- Okada, S., Ohsaki, S., Nakamura, H., & Watano, S. (2020). Estimation of evaporation rate of water droplet group in spray drying process. *Chemical Engineering Science*, 227, 115938. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2020.115938>
- Pant, K. J., Cotter, P. D., Wilkinson, M. G., & Sheehan, J. J. (2023). Towards sustainable Cleaning-in-Place (CIP) in dairy processing: Exploring enzyme-based approaches to cleaning in the Cheese industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(5), 3602–3619. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13206>
- Piñón-Balderrama, C. I., Leyva-Porras, C., Terán-Figueroa, Y., Espinosa-Solís, V., Álvarez-Salas, C., & Saavedra-Leos, M. Z. (2020). Encapsulation of Active Ingredients in Food Industry by Spray-Drying and Nano Spray-Drying Technologies. *Processes*, 8(8), 889. <https://doi.org/10.3390/pr8080889>
- Ramandi, S., & Asgharian, R. (2018). Evaluation of Swab and Rinse Sampling Procedures and Recovery Rate Determination in Cleaning Validation Considering Various Surfaces, Amount and Nature of the Residues and Contaminants. *IJ Pharmaceutical Research*, 19(3), 383–390.
- Ramos, F. de M., Silveira Júnior, V., & Prata, A. S. (2021). Impact of vacuum spray drying on encapsulation of fish oil: Oxidative stability and encapsulation efficiency. *Food Research International*, 143, 110283. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110283>
- Reis, D. R., Ambrosi, A., & Luccio, M. Di. (2022). Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation. *Future Foods*, 5, 100126. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100126>
- Ruvashbili, I. (2022). QUANTITATIVE DETERMINATION OF TERBINAFINE RESIDUES ON THE PHARMACEUTICAL MANUFACTURING EQUIPMENT SURFACES. *Periódico Tchê Química*, 19(40), 26–34. https://doi.org/10.52571/PTQ.v19.n40.2022.03_RUBASHVILI_pgs_26_34.pdf
- Samborska, K., Boostani, S., Geranpour, M., Hosseini, H., Dima, C., Khoshnoudi-Nia, S., Rostamabadi, H., Falsafi, S. R., Shaddel, R., Akbari-Alavijeh, S., & Jafari, S. M. (2021). Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 297–325. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.008>
- Sarwar, A., McSweeney, C., Smith, M., Timmermans, J., & Moore, E. (2020). Investigation of an alternative approach for real-time cleaning verification in the pharmaceutical industry. *The Analyst*, 145(22), 7429–7436. <https://doi.org/10.1039/D0AN01219J>
- Sheng, H., Kim, D., Chin, A. S., Zhao, Y., Liu, Y., Katwaru, R., Bateman, K. P., Abend, A., & Wuelfing, W. P. (2020). Development of an automated and High throughput UHPLC/MS

- based workflow for cleaning verification of potent compounds in the pharmaceutical manufacturing environment. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 188, 113401. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113401>
- Shepard, K. B., Dower, A. M., Ekdahl, A. M., Morgen, M. M., Baumann, J. M., & Vodak, D. T. (2020). Solvent-Assisted Secondary Drying of Spray-Dried Polymers. *Pharmaceutical Research*, 37(8), 156. <https://doi.org/10.1007/s11095-020-02890-0>
- Steinbrunner, P., Marks, B. P., Ryser, E. T., Suehr, Q. J., & Jeong, S. (2021). Fate of Salmonella and Enterococcus faecium during Pilot-Scale Spray Drying of Soy Protein Isolate. *Journal of Food Protection*, 84(4), 674–679. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-284>
- Strojewski, D., & Krupa, A. (2022). Spray drying and nano spray drying as manufacturing methods of drug-loaded polymeric particles. *Polymers in Medicine*, 52(2), 101–111. <https://doi.org/10.17219/pim/152230>
- Sytnikov, O., Skladanny, D., & Sokolov, K. (2023). Development of a spray dryer's mathematical model for control tasks. *Proceedings of the NTUU "Igor Sikorsky KPI". Series: Chemical Engineering, Ecology and Resource Saving*, 3, 52–62. <https://doi.org/10.20535/2617-9741.3.2023.288249>
- Takwaa, V., Elebiary, H., & Badawy, A. (2023). Design of Spray Dryer Machine. *MSA Engineering Journal*, 2(2), 909–919. <https://doi.org/10.21608/msaeng.2023.291920>
- Tsai, J.-H., Huang, J.-Y., & Wilson, D. I. (2021). Life cycle assessment of cleaning-in-place operations in egg yolk powder production. *Journal of Cleaner Production*, 278, 123936. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123936>