3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Aspergilli*

Aspergilli es un género de moho cuyas colonias crecen rápidamente, de color blanco, amarillo, café, negro o verde, que consisten en un denso conjunto de conidias con conidióforo y vesícula. En la estructura morfológica de las conidias se puede observar que éstas pueden acomodarse de forma columnar or radial (Figura 1).

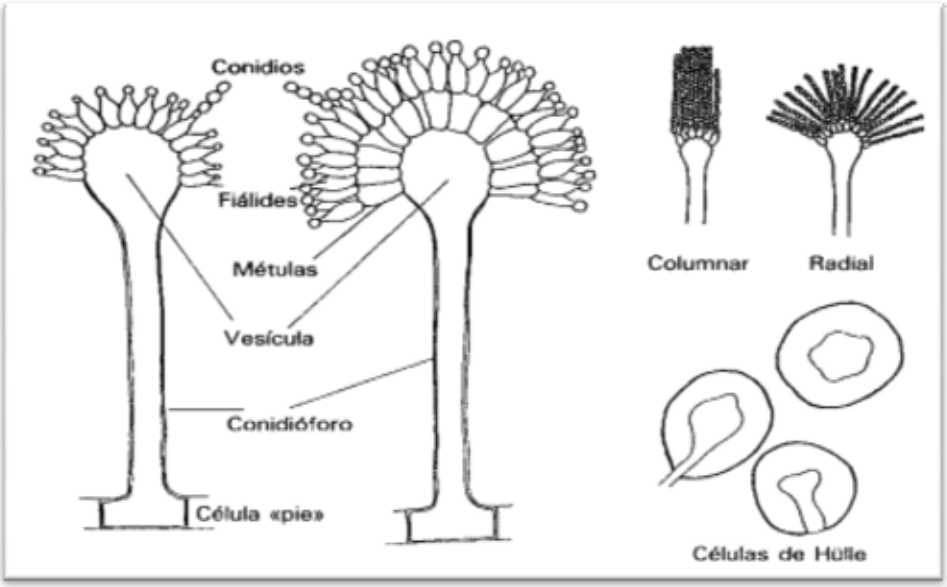

Figura 1. Estructura morfológica en *Aspergillus* (Samson *et al.*, 1995)

Algunas especies pueden producir células de Hülle (células sencillas o en cadenas, gruesas y de paredes suaves) o *esclerotia* (masas de hifas firme y aglobada) (Samson *et al.*, 1995).

Las especies de *Aspergillus* son contaminantes comunes de varios sustratos orgánicos, normalmente en regiones tropicales y subtropicales. El interés en el estudio de *Apergillus* se debe a que ciertas especies son patógenas y tienen la habilidad de producir metabolitos tóxicos (por lo que debe evitarse la inhalación de las conidias), mientras que otras especies son importantes en la fermentación de productos alimenticios o, a nivel industrial, en la producción de ácidos orgánicos o enzimas (Samson *et al.*, 1995).

3.1.1 *Aspergillus flavus (A. flavus)*

Las colonias de *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) suelen formar una densa capa de conidias de color amarillo verdoso con un diámetro de 3-5 cm al incubarse a 25°C en agar Czapek (Fig. 2). Las cabezas de las conidias típicamente son radiales, y después se dividen en varias columnas que van desde amarillo verdoso claro a obscuro. Los conidióforos son ásperos y pueden crecer de 1 a 2.5mm de longitud. Las vesículas tienen diámetro de 25-45 µm. Las fiálides nacen de la vesícula o de las métulas y miden de 6 a 10 µm por 4 a 5.5 µm. Las métulas miden de 6.5 a 10 µm por 3.5 µm (Fig. 3). Además, las conidias miden 3.6µm de diámetro de color verde pálido. La *esclerotia* se produce separada, de forma y dimensión variables, de color café a negro (Samson *et al.*, 1995).

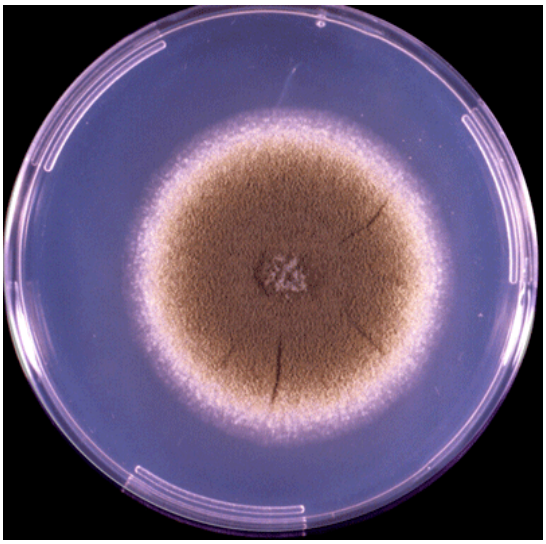

Figura 2. *Aspergillus flavus* en agar Czapek (Mycology Online, 2008)

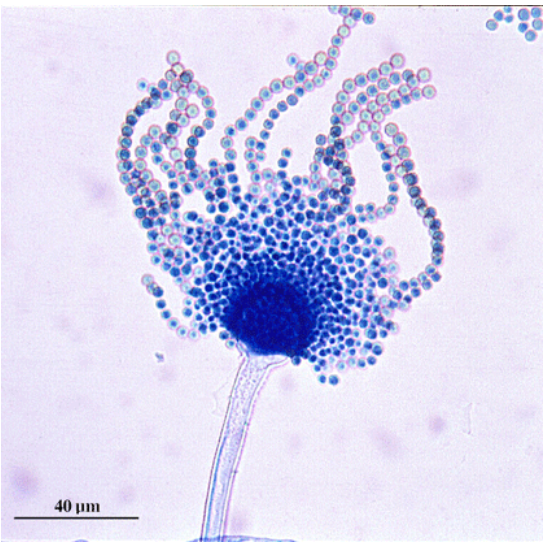

Figura 3. *Aspergillus flavus*: morfología microscópica (Mycology Online, 2008)

A. flavus generalmente crece en nueces, especias, semillas, cereales y ocasionalmente en frutas secas. Dentro de los metabolitos tóxicos importantes de este moho se encuentran los siguientes: ácido 3-nitropropiónico, ácido ciclopiazónico y aflatoxinas B (Samson *et al.*, 1995).

Biológicamente, la aflatoxinas B, son la forma más activa de las aflatoxinas. Muchos animales, incluyendo a los seres humanos, son susceptibles a los efectos de esta micotoxina. El órgano más afectado por las aflatoxinas es el hígado y la toxicidad provoca necrosis hepática, coagulopatía, hemorragias y hasta la muerte. Además, la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) ha clasificado a las aflatoxinas B como sustancias carcinogénicas en humanos (IARC, 1987), a las cuales se les han atribuido actividades teratogénicas y mutagénicas (Hayes, 1981).

Debido a la carcinogenicidad de las aflatoxinas en humanos, la FDA ha desarrollado un sistema de vigilancia de niveles de acción para estas toxinas en varias condiciones. Se debe tener cuidado de la presencia de las aflatoxinas, así como controlar sus niveles en los alimentos, para evitar los efectos de la aflatoxicosis, como el cáncer y, posteriormente, la muerte. (Pier y Richard, 1992).

3.1.2 *Aspergillus niger (A. niger)*

Las colonias de *Aspergillus niger* (*A. niger*) en agar Czapek incubadas a 25°C llegan a tener un diámetro de 4-5 cm en 7 días, formando una capa blanca o amarilla con conidióforos color café obscuro a negro (Fig. 4). Las cabezas de las conidias son negras y radiales, y tienden a separarse en columnas sueltas con el tiempo. Sus conidióforos tienen paredes suaves. El diámetro de las vesículas son

de 50-100 µm. Las fiálides nacen de las métulas con 7.0-9.5 µm por 3-4 µm de tamaño (Fig. 5). Las métulas están normalmente separadas y miden 15-25 µm por 4.5-6.0 µm. Las conidias, de color hialino a café y de 3.5-5 µm de diámetro, tienen verrugas y crestas irregulares. Las colonias inoculadas en MEA (agar extracto de malta) son más delgadas pero densamente esporuladas; por otro lado, las colonias inoculadas en CREA (Agar creatina sacarosa), tienen poco crecimiento (Samson *et al.*, 1995).

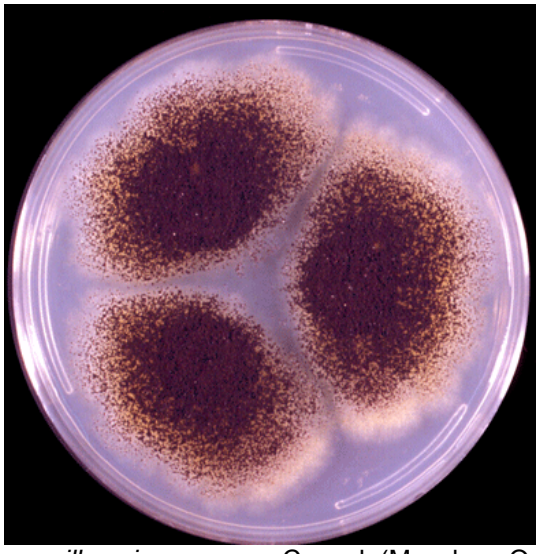

Figura 4. *Aspergillus niger* en agar Czapek (Mycology Online, 2008)

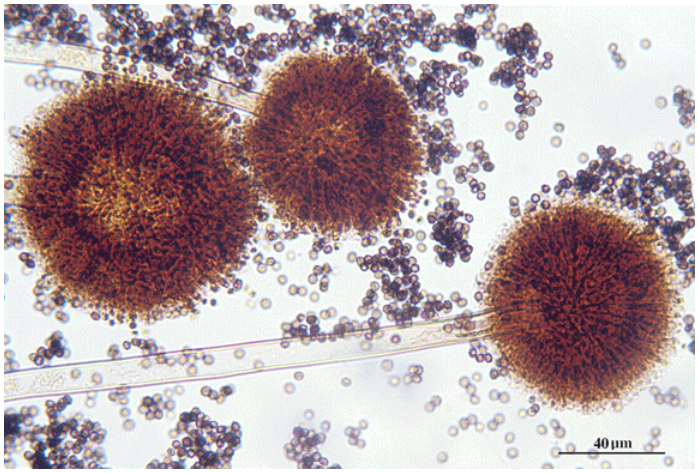

Figura 5. *Aspergillus niger*: morfología microscópica (Mycology Online, 2008)

Esta especie de moho produce ácido orgánicos (como el cítrico, málico y glucónico; Tabla 1), lo que disminuye el pH del producto provocando sabores y olores indeseables. Esta situación sucede porque el moho provoca que la actividad de la enzima *piruvato carboxilasa* degrade la glucosa. Además, este hongo produce ennegrecimiento en muchas frutas, y en altas concentraciones puede producir *aspergillosis*, enfermedad que provoca alteraciones pulmonares al

inhalar las esporas que crecen en el alimento (MedlinePlus Medical Encyclopedia, 2006).

Tabla 1. Formación de ácidos orgánicos y actividad de piruvato carboxilasa (localización en célula) por acción de cuatro cepas de *A. niger*[1,2]

	Ácido orgánico producido (g/L)			Actividad de piruvato carboxilasa (mU/mg)	
Cepas	Glucónico	Málico	Cítrico	Citosol	Mitocondria
A. niger 1	67	14	4	80	30
A. niger 2	62	4	5	24	6
A. niger 3	48	4	3	20	50
A. niger 4	23	3	5	20	6

[1]En medio de fermentación después de 135 h de crecimiento en medio ácido con buffer (CaCO3);
[2]Adaptada de Roehr *et al.*, 1992.

3.2 Sorbato de potasio

Las propiedades antimicrobianas y de conservación del sorbato de potasio fueron descubiertas en Alemania y en Estados Unidos por Miller y Gooding a finales de 1930 y principios de 1940, respectivamente (Lück, 1976, 1980; Sofos y Busta, 1981).

Esta sustancia es una cadena lineal de un ácido graso insaturado con peso molecular de 112.13 g/mol. El grupo carboxil del ácido sórbico es muy reactivo y forma varios ésteres y sales. Este ácido forma hojuelas cuando es cristalizado y está disponible como polvo de color blanco o en gránulos; tiene suaves pero característicos olor y sabor ácido. Las sales más comerciales son las de calcio, sodio y de potasio. El sorbato de potasio se puede encontrar como polvo, gránulos o en base peso equivalente con el ácido y tiene una potencia antimicrobiana del 74% (Stopforth *et al.*, 2004).

Los sorbatos son ampliamente utilizados como conservadores de alimentos, en sus formas más usadas como ácido sórbico y sorbato de potasio. El sorbato de potasio inhibe el crecimiento celular y la multiplicación, así como la germinación de microorganismos esporuladores, pero los mecanismos de acción antimicrobiana no están bien definidos (Sofos, 1989). En los Estados Unidos, el sorbato es considerado un componente GRAS (por sus siglas en inglés Generalmente Reconocido como Seguro), y por ser ácido graso metabolizable, la Organización Mundial de la Salud (WHO) ha determinado la ingesta diaria de 25 mg por

kilogramo de peso corporal por día. Su no-toxicidad fue establecida como aditivos no dañinos en comparación con otros conservadores de alimentos (Stopforth *et al.*, 2004).

Como inhibidores de levaduras y mohos, los sorbatos, se han aplicado en diversos alimentos, incluyendo productos lácteos, de pastelería, de frutas y verduras, y cárnicos, entre otros. (Sofos, 1989) (Tabla 2). Sin embargo, los sorbatos no deben considerarse como sustitutos a la higiene para mejorar la calidad de alimentos parcial o completamente descompuestos (Stopforth *et al.*, 2004).

Tabla 2. Algunas aplicaciones comunes de sorbatos como agentes antimicrobianos

Productos	Niveles (%)
Productos lácteos	0.05-0.03
Productos de pastelería	0.03-0.30
Productos de vegetales	0.02-0.20
Productos de frutas	0.02-0.25
Bebidas	0.02-0.10
Emulsiones	0.05-0.10
Carnes y pescados	0.05-0.30
Productos misceláneos	0.05-0.30

(Adaptada de Sofos, 1989)

Entre las formas de aplicación de sorbatos se encuentran las siguientes: a) adición directa en la formulación, b) inmersión del alimento en una solución, c) vertido del polvo, o d) adición al material de empaque. La selección del método más apropiado depende de los procedimientos de procesado, tipo de alimento, objetivos por lograr, disponibilidad de equipo y conveniencia (Sofos, 1989).

Las cantidades de sorbato que se utilizan en los alimentos varían entre 0.02% y 0.30% (Tabla 3). Aunque estas concentraciones no tienen mayor impacto en la calidad del alimento, niveles más altos pueden causar cambios indeseables en el sabor de muchos productos. En general, cantidades de 0.1% a 0.3% son tolerados, pero niveles tan bajos como 0.1% pueden ser detectados en algunos alimentos (Stopforth *et al.*, 2004).

En jugos de frutas y bebidas, los sorbatos son utilizados normalmente en el periodo de preprocesado, junto con dióxido de azufre y pasteurización, para la inhibir el deterioro químico, enzimático o microbiológico (Stopforth *et al.*, 2004). Combinaciones de sorbatos con dióxido de azufre son utilizadas para la conservación de jugos de frutas con pulpa; en este caso, el sorbato actúa como inhibidor microbiológico, y el óxido de azufre previene la oxidación y el deterioro enzimático (Lück, 1980). Por ejemplo, el sorbato de potasio y el benzoato de sodio fueron efectivamente utilizados para reducir las concentraciones de levaduras y mohos en jugo de tomate (Bizri y Wahem, 1994).

Los sorbatos, en general, pueden ser más adecuados para los productos de frutas que otros conservadores por sus propiedades organolépticas suaves y su sabor neutral, el cual es especialmente importante en la industria de jugos, refrescos y otras bebidas. Sin embargo, normalmente se usan los sorbatos en combinación con benzoato de sodio en la conservación de jugos de frutas, inhibiendo el crecimiento de mohos (Stopforth *et al.*, 2004).

Se ha detectado que no hay sinergia en cuanto a toxicidad al utilizar combinaciones de ácido sórbico con otros aditivos, incluyendo parabenos, benzoato y propionato (Sofos, 1989). Sin embargo, el sorbato, no actúa como protector de los efectos tóxicos de otras sustancias (Daoud y Griffin, 1980): Los derivados del ácido sórbico también son relativamente no tóxicos y parecen ser de los conservadores disponibles más seguros en alimentos (Stopforth *et al.*, 2004).

De acuerdo al Código de Regulaciones, cuando un conservador de alimentos es utilizado en un producto, su nombre común (sorbato de potasio) debe presentarse en la etiqueta y debe decir su descripción funcional (como conservador) (Stopforth *et al.*, 2004).

3.3 Radiación ultravioleta

Las tecnologías de conservación de alimentos deben mantener sus características organolépticas, procurando una vida de anaquel conveniente y aceptable, así como el aseguramiento de la seguridad y valor nutricional. Los procesos no térmicos están siendo estudiados intensamente, entre los que destaca la radiación con radiación ultravioleta de longitud de onda corta (UVC) (López-Malo y Palou, 2005).

La radiación UVC puede utilizarse para inactivar varios tipos de microorganismos, incluyendo virus, pero se sabe que solamente actúa en superficies o en líquidos claros como el agua. Este tipo de radiación se ha utilizado por varios años en industrias farmacéuticas y electrónicas como desinfectante (Anónimo, 2002).

La emisión y propagación de energía a través del espacio o algún material se llama *radiación*. Para la conservación de los alimentos, las radiaciones de interés se encuentran en el espectro electromagnético. Este espectro contiene radiaciones que difieren en poder de penetración, frecuencia y longitud de onda; destacando las radiaciones gamma, ultravioleta y de microondas en la industria alimentaria (Mendonca, 2002).

La longitud de onda de UV tiene un rango de 100 a 400nm (Giese, 1992). Este rango se subdivide en UV de onda larga (UVA) entre 315 y 400nm, UV de

onda media (UVB) de 280 a 315nm, y UV de onda corta (UVC) entre 200 y 280nm (Bolton, 2001).

Desde 1999, la FDA (Food and Drug Administration) de Estados Unidos considera el tratamiento con UVC como alternativa para eliminar bacterias patógenas de jugos de frutas (Anónimo, 1999), reteniendo sus niveles de vitaminas y denominando al producto como “ligeramente procesado” (López-Malo y Palou, 2005).

La radiación UVC es llamada UV germicida ya que para la mayoría de los microorganismos la longitud de onda de 254nm es absorbida causando cambios físicos en los electrones y rompiendo los enlaces del ácido desoxirribonucleico (ADN), evitando que estos microorganismos vivan y se reproduzcan (López-Malo y Palou, 2005). Este fenómeno es asociado con la habilidad de las bases nitrogenadas pirimidina y purina para absorber la radiación a esa longitud de onda (Shama, 1999). Los rayos UVC provocan la formación de enlaces entre timinas adyacentes en las cadenas del ADN. Las bases nitrogenadas de pirimidina son particularmente sensibles a la radiación UVC, causando la formación de dímeros unidos de manera covalente entre bases nitrogenadas adyacentes. Estos dímeros de timinas inhiben la correcta replicación del ADN durante la reproducción celular. (Adams y Moss, 1995).

Las longitudes de onda más efectivas para inactivar microorganismos son las cercanas a 260nm. Debido a que la composición del ADN varía entre las especies, se reporta que el pico de absorción de UVC está en el rago de 260 a 265nm, correspondiente a la principal emisión de onda de la lámpara de mercurio de baja presión (253.7nm) y la eficiencia de inactivación microbiana de estas fuentes de rayos UVC (Bolton, 2001; Shama, 1999).

El proceso de inactivación de microorganismos con UVC es un método físico en el cual la energía es el medio germicida, sin producir productos secundarios indeseables (Chang *et al.*, 1985) que puedan cambiar las características sensoriales del producto final (Anónimo, 2002). Además, el uso de UVC para esterilización no genera residuos químicos. Es un proceso en frío que puede ser simple y efectivo a bajo costo comparado con otros métodos de esterilización (Bachmann, 1975).

Generalmente la resistencia de microorganismos a la radiación UV sigue el siguiente patrón: Gram-negativos < Gram-positivos < levaduras < esporas bacterianas < mohos < virus (Adams y Moss, 1995). Además, es necesario mencionar que la sensibilidad a la radiación UVC depende de ciertos factores como son los siguientes (López-Malo y Palou, 2005):

- Variabilidad de especies.
- Estado del organismo. Cuando está en la fase logarítmica de crecimiento es más sensible que en la fase estacionaria.

- Condiciones de radiación UVC. La penetración UV en líquidos depende de su transmisividad, la presencia de suspensiones densas de microorganismos y altas concentraciones de solutos que normalmente reducen la penetración UV; así como el efecto germicida de la radiación UV.
- Fuente de UVC. Las lámparas de UV pueden diferir en espectro y, por tanto, tienen diferentes efectos germicidas.

Algunas definiciones importantes con respecto al tratamiento con UV son las siguientes (Bolton, 2001; López-Malo y Palou, 2005):

- Velocidad de fluencia (Eo). Poder total radiante (W) de todas las longitudes de onda que pasan de todas las direcciones a través de una esfera infinitesimal con área de sección transversal dA (m^2). Ya que un microorganismo puede recibir poder UV de cualquier dirección, el término *velocidad de fluencia* es apropiado para la desinfección con UV.
- Irradianza (E). Poder total radiante de las longitudes de onda incidentes en un elemento infinitesimal de área superficial dS que contiene el punto bajo consideración. Cabe mencionar que para la recepción de radiación, la *irradianza* es la contraparte de la *emitancia* para la emisión de la radiación (W/m^2). El poder UV de la lámpara se determina por la integral de la irradianza entre la superficie interior del volumen de una fuente 3D de UV.
- Dosis o fluencia de UV (*F*). Energía total radiante (J) de todas las longitudes de onda pasando de todas las direcciones a través de una esfera infinitesimal de área de sección transversal dA. Se determina calculando el producto de la velocidad de fluencia promedio multiplicada por el tiempo de exposición (s). Representa la exposición UV de un organismo en el rango germicida (J/m^2).

Las lámparas de radiación de onda corta son las de mercurio, las cuales están diseñadas para producir energía en la región germicida (cerca de 254nm), y cubiertas con un material que permita la transmisión UVC (López-Malo y Palou, 2004). La radiación ultravioleta puede ser generada por una lámpara dentro de un tubo de cuarzo, el cual da alta transmitancia de UV y alcanza los microorganismos que rodean la lámpara (Anónimo, 1999).

Las aplicaciones de la radiación UVC se pueden dividir en tres categorías: inhibición de microorganismos en superficies, destrucción de microorganismos en el aire, y desinfección de líquidos. Pero una desventaja como desinfectante es la poca penetración de la radiación, por lo que los microorganismos a inactivar deben ser expuestos directamente a los rayos. Los organismos protegidos por sólidos (partículas, polvo o cubiertas) no son afectados (López-Malo y Palou, 2005).

La radiación UVC tiene poca penetración en materiales sólidos (Shama, 1999), por lo que puede ser efectiva para desinfectar superficies. Su eficacia como desinfectante depende de la habilidad de limpiar la superficie antes de exponerse ya que cualquier basura puede absorber la radiación y proteger a los

microorganismos del efecto germicida (Bintsis *et al.*, 2000). La radiación UVC se ha usado para controlar el crecimiento de *Bacillus stearothermophilus* en capas delgadas de azúcar (Weiser, 1962), así como para tratar pescado fresco (Huang y Toledo, 1982), cáscaras de huevo (Kuo *et al*., 1997), y carne (Reagan, 1973) entre otros productos.

La radiación UVC se ha utilizado para desinfectar agua, asegurando el 99.999% de reducción microbiana después de un minuto de tratamiento, sin cambiar color, olor o pH (Snowball y Hornsey, 1988). Actualmente, existe gran interés es utilizar UVC para reducir la carga microbiana en jugos de frutas y verduras (Bintsis *et al*., 2000). Para asegurar la inactivación microbiana con UVC, la radiación debe ser de mínimo 400J/m^2 (dosis UV) en todo el producto. Factores críticos de esta recepción incluyen las características de la absorción del producto, la configuración geométrica del reactor, el poder de radiación, la longitud de onda y arreglos físicos de la lámpara, el perfil de flujo del producto, y la dirección de la radiación (Shama, 1999).

Para líquidos, los siguientes parámetros de operación deben ser considerados: velocidad de flujo, tipo de líquido (solidos presentes, concentración y absorbancia), tipo y concentración de los organismos (López-Malo y Palou, 2005). Estos parámetros serán explicados a continuación.

3.3.1 Velocidad de flujo

Un importante factor influyente en la eficacia del tratamiento con UV es la forma en que el líquido a tratar hace contacto con la radiación. Debido a la viscosidad de muchos líquidos que contienen sólidos, el flujo será laminar, lo que requiere un diseño diferente al típico del tratamiento de agua, diseñado para producir flujo turbulento. La aplicación de UVC para eliminar patógenos de jugos de frutas depende del aseguramiento de que el flujo del jugo sea turbulento y no laminar (Anónimo, 1999; Bintsis *et al.*, 2000).

3.3.2 Tipo de líquido

Conforme la radiación UV pasa a través de un medio absorbente (líquido), su intensidad se reduce en función a la longitud que tiene que atravesar la luz. La ley de Lambert-Beer describe los efectos de atenuación. La intensidad de UV (I) a una profundidad (d) en un medio será resultado de la intensidad de la lámpara UV incidente (I_0) en la superficie de un medio y su coeficiente de absorción (α) (López-Malo y Palou, 2005), de la siguiente forma:

$$I = I_0 \exp(\alpha d)$$

Los diferentes tipos de líquidos alimenticios, de acuerdo a su estructura molecular de sólidos disueltos y no disueltos, mostrarán diferentes habilidades para transmitir rayos UV (Tabla 3).

Tabla 3. Coeficientes de absorción (α) de algunos líquidos alimenticios (253.7nm)

Líquido	α (cm^{-1})
Agua bebible	0.02 – 0.10
Jarabes claros	2 – 5
Vino blanco	10
Cerveza	10 – 20
Jarabes obscuros	20 – 50
Vino tinto	30
Leche	300

(Adaptada de Shama, 1999)

Los valores típicos de transmisión para jarabes azucarados y jugos clarificados de frutas y verduras se encuentran entre 5 y 75%, donde los que contienen sacarosa tienen los más altos y los de fructosa, los más bajos. El color y turbidez del líquido también afectan, ya que entre más obscuro es menor la transmisión debido a la absorción (López-Malo y Palou, 2005).

3.3.3 Tipo y número de organismos

Cada organismo tiene una dosis letal. Algunas bacterias, virus y mohos requieren niveles relativamente bajos de energía UV para ser destruidos (normalmente 100 J/m^2 o menos, en soluciones claras o alimentos con bajos coeficientes de absorción UV). Cuando hay organismos como las esporas de los mohos, la dosis debe ser respectivamente mayor que la necesaria para bacterias (López-Malo y Palou, 2005).

Un punto muy importante que se debe tomar en cuenta es la aplicación de la dosis apropiada para asegurar la seguridad del alimento y evitar la posibilidad de deterioro por fotorreactivación de las células. Si las células tratadas con UV son expuestas a rangos de longitud de onda de 330 a 480nm, la fotorreactivación de las células puede aumentar el número de microorganismos. Para evitar esta desventaja, el producto debe mantenerse en refrigeración y/o dentro de empaques obscuros (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004).

3.4 Uso de radiación ultravioleta para el tratamiento de jugos de frutas

Aunque la radiación UV no garantiza la eliminación de cada microorganismo en jugos, puede lograr una reducción considerable. La remanencia de algún elemento patógeno dependerá del microorganismo, la carga microbiana original y la dosis aplicada. La fuente de UV para este proceso debe consistir en lámparas de mercurio de baja presión que emitan 90% de su radiación a una longitud de onda de 253.7nm. El flujo del jugo debe ser turbulento con número de Reynolds mínimo de 2,200 (FDA, 2000).

Se sabe que la radiación UVC penetra con poca profundidad en la superficie de líquidos que no sean agua (Shama, 1999). Por ejemplo, la penetración de los rayos UVC en jugos es aproximadamente de 1 mm para obtener una absorción del 90% (Sizer y Balasubramaniam, 1999). Por esta razón, se utiliza flujo turbulento para procesar líquidos (Anónimo, 1999). Además, al incrementar la cantidad de sólidos, la intensidad de penetración de la radiación UVC disminuye. A su vez, las partículas suspendidas de tamaño grande pueden bloquear la incidencia de la radiación sobre la carga microbiana (Shama, 1999: Bintsis *et al*., 2000).

En néctares de frutas con coeficientes de absorción altos, una dosis mínima de 400J/m^2 de radiación UV se recomienda (Sastry *et al.*, 2000) para asegurar la adecuada reducción de cinco ciclos logarítmicos de determinado microorganismo (Anónimo 1999). Debido a que es necesario asegurar que todas las partes del fluido sean expuestas a la misma dosis, en la actualidad ya se ha desarrollado un equipo de UV para tratar néctares de frutas. Dicho equipo contiene muchos sensores UV depositados en precisas profundidades de la corriente del fluido para medir y mantener los niveles de energía apropiados y ajustar el tiempo de exposición del líquido a tratar (OESCO, 2002b).

La radiación UVC ha sido aplicada para reducir la carga microbiana de diversos microorganismos en algunos alimentos líquidos:

- López-Malo *et al.* (2001a y b) utilizaron radiación UVC en jugo de zanahoria para disminuir la carga microbiana, observándose reducciones importantes sin cambio de color y con mínimos cambios en características físicas y, además, sin efectos negativos en atributos sensoriales.

- Wright *et al.* (2000) usaron un equipo de desinfección UVC de capa delgada para tratar sidra de manzana sin previo tratamiento inoculada con *Escherichia coli 0157:H7*. Este grupo de científicos evaluó la reducción de este microorganismo utilizando varios flujos (de 0.999 a 6.48 L/min) con 610 a 94 J/m^2, y se encontró una reducción de 3.81 ciclos logarítmicos (ufc/mL), aunque no es suficiente para alcanzar la reducción recomendada de 5 ciclos logarítmicos en alimentos líquidos.

- Farid *et al.* (2001) realizaron un tratamiento sobre una capa delgada de jugo de naranja cayendo sobre un sistema UV a 214.2 W/m^2 y encontraron que el jugo aumentaba su vida de anaquel al doble, sin cambios en color o sabor.

Un problema potencial de usar UVC es que puede dañar los ojos humanos y, la exposición prolongada puede causar quemaduras y cáncer de piel en humanos (Shama, 1999; Bintsis *et al.*, 2000).

Las radiaciones UV en forma de radiación pueden tener efectos mutagénicos en organismos, por causar los peligrosos enlaces covalentes entre ciertas bases nitrogenadas formando dímeros. Los dímeros de timinas, a menos de que sean reparados, pueden causar daños serios o hasta la muerte de la célula porque ésta no puede transcribir o replicar correctamente su ADN. Las bacterias y otros organismos tienen enzimas que pueden reparar el daño provocado por los rayos UV; estas enzimas (fotoliasas) usan la energía de la luz visible para separar los dímeros en sus dos timinas originales (López-Malo y Palou, 2005; Shama, 1999).

Es importante destacar que al utilizar UVC como desinfectante, el equipo debe estar localizado lo más cerca posible al producto en el sistema de proceso (Anónimo, 2002).

3.5 Cinética de inactivación

La inactivación microbiana con métodos físicos como el tratamiento UVC es normalmente representado como una curva de supervivencia o de respuesta a la dosis. Para tratamientos con radiación UV, la curva de respuesta a la dosis representa la fracción de carga microbiana original que sobrevive con respecto a la dosis de UV (López-Malo y Palou, 2005). Las curvas de supervivencia con tratamientos UV reportadas muestran que pueden llevar una cinética de inactivación de primer orden (Shama, 1999).

Estudios anteriores muestran que existe poca variabilidad con respecto a la exposición de radiación UVC necesaria para obtener una reducción de cuatro ciclos logarítmicos de varios microorganismos (Tabla 2). Sin embargo, se ha encontrado que en algunos casos la exposición requerida debe ser mayor, pues la fotorreactivación, mecanismo de reparación que se mejora con luz visible en el espectro azul, puede ocurrir (Hoyer, 1998). Las células fotorreactivadas muestran mayor resistencia a la radiación UV que las no reactivadas (Tabla 4).

Tabla 4. Exposición radiante (J/m^2) de radiación UV (254nm) para reducir 4 ciclos logarítmicos de algunos organismos

Microorganismo	Exposición requerida (J/m^2)	
	Sin fotorreactivación	Con fotorreactivación
Citrobacter freundii	80	250
Enterobacter cloacae	100	330
Enterobacter faecium	170	200
Escherichia coli	50 – 110	188 – 280
Klebsiella pneumoniae	110	310
Pseudomonas aeruginosa	110	190
Salmonella typhi	140	190
Salmonella typhimurium	130	250
Serratia marcescens	130	300
Vibrio cholerae	50	210
Yersinia enterocolitica	100	320

(Adaptada de Hoyer, 1998)

La dosis de UVC (*D*) se define como:

$$D = I_{254} * t$$

donde *D* es la dosis (J/m^2), I_{254} es la intensidad (W/m^2) y *t* es el tiempo de retención en segundos (Chang *et al.*, 1985; Morgan, 1989; Stevens *et al.*, 1999). En un sistema fluido, el tiempo de retención se obtiene de la siguiente forma (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004):

$$t = \frac{\text{Volumen de la cámara}}{\text{velocidad de flujo}}$$

Muchos autores han utilizado el modelo de primer orden para describir la relación entre la supervivencia de microorganismos y la dosis. La ley de Chick puede utilizarse para medir los microorganismos sobrevivientes después de la radiación UVC:

$$\log (N/N_0) = - k D = I_{254} * t$$

donde N_0 es la concentración inicial de microorganismos y *N* es la concentración de microorganismos después del tratamiento con UVC, *k* es una constante que depende del tipo de microorganismo y las condiciones ambientales y *D* es la dosis (J/m^2) (Chang *et al.*, 1985). Pero hay otros modelos para describir la curva de reducción microbiana después de aplicar diferentes dosis de UVC.

Un modelo de cinética de primer orden puede describirse en una línea recta (Shama, 1999). Sin embargo, muchas curvas de supervivencia microbiana presentan mesetas, lo que requiere otro modelo matemático más complejo. Por otro lado, se obtiene una curva de forma sigmoidal para la inactivación microbiana usando rayos UVC para desinfectar, detectando tres fases o regiones en la curva: a) la primera, indica que los microorganismos son dañados en respuesta a la radiación; b) en la segunda, el número de microorganismos dañados aumenta y los sobrevivientes continúan disminuyendo por la exposición UVC; c) al final de la curva se observan los microorganismos remanentes por la presencia de sólidos en suspensión que bloquean la radiación UV (Hoyer, 1998; Sastry *et al.*, 2000).

La forma en que se mide la dosis UVC emitida por la lámpara, normalmente es usando sensores UV en W/m^2 como los radiómetros, que son instrumentos usados para medir radiación UV (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004). Otra forma de medir la dosis UVC es utliliyando la actinometría química. Los actinómetros se utilizan para medir las concentraciones de productos (con energías bien caracterizadas) que proceden de reacciones fotoquímicas, las cuales estan directamente relacionadas a la cantidad de radiación UV absorbida por el producto tratado (Shama, 1999).

Todos los sensores deben ser estandarizados para la radiación, tomando en cuenta la radiación selectiva del espectro (240 – 290nm) para obtener una medición reproducible. La calibración normalmente se hace por medio de actinometría (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004). Sin embargo, la técnica más consistente para monitorear la radiación es la biodosimetría, que conlleva la inoculación de un microorganismo sustituto y la medición de la reducción logarítmica después del tratamiento con UVC del fluido bajo condiciones específicas (Sastry *et al.*, 2000).

3.6 Modelación Weibull

Una descripción alternativa de las curvas de supervivencia (inactivación) fue hecha por Peleg y Cole (1998) utilizando una distribución Weibull, donde se consideraba que cada organismo muere o se inactiva a un tiempo específico. De acuerdo a la resistencia del microorganismo y el tipo de distribución se obtendrán diferentes parámetros, los cuales son ajustados a la forma acumulativa de la distribución de resistencias tipo Weibull (Peleg y Cole, 1998):

$$\log S_{(t)} = - b\, t^n \qquad \text{(Ec. 1)}$$

donde $S_{(t)}$ es el índice de supervivencia y se define como la población al tiempo t (N) entre la población inicial (N_0), y b y n son constantes.

Este modelo permite hacer predicciones en cuanto a la inactivación de los microorganismos de acuerdo a las características iniciales y las curvas de inactivación de los mismos.