# 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 6.1 Caracterización del néctar y de la lámpara UVC

La tabla 5 muestra las características del néctar de durazno utilizado en este estudio. La determinación de acidez titulable se expresa como porcentaje de ácido málico, ya que es el mayor ácido orgánico en el durazno (Souce *et al.*, 2000).

Tabla 5. Caracterización del néctar de durazno

| | |
|---|---|
| pH | 3.18 ± 0.01 |
| Acidez titulable (% ácido málico) | 0.65 ± 0.06 |
| °Brix | 13.40 ± 0.59 |
| Color (Reflectancia) | |
| L | 27.95 ± 0.04 |
| a | -0.60 ± 0.06 |
| b | 16.11 ± 0.03 |

La tabla 6 muestra la caracterización de una de las dos lámparas de radiación UVC utilizadas en esta tesis. Las dimensiones de la lámpara fueron determinadas experimentalmente y los valores reportados fueron los que Light Sources (2009) proporcionó. La intensidad y la dosis fueron determinadas teóricamente a partir de la información y las dimensiones que se tenían. Es importante mencionar que la lámpara de UVC está recubierta por un tubo de cuarzo, impidiendo un contacto directo entre la lámpara y el líquido. El área por la cual pasa el líquido es aquella que existe entre el tubo de cuarzo y el tubo de acero inoxidable que lo recubre.

Tabla 6. Caracterización de una de las lámparas UVC

| | |
|---|---|
| Diámetro externo | 1.5 cm |
| Longitud lámpara | 82 cm |
| Potencia reportada* | 40 W |
| Energía emitida reportada* | 14 W |
| Longitud de onda reportada* | 253.7 nm |
| Flujo (Velocidad 7) | 1.36 L/min |
| Tiempo de residencia del líquido | 42.6 s |
| Superficie de contacto | 377 $cm^2$ |
| Intensidad teórica | 37, 136 $\mu W/cm^2$ |
| Dosis teórica | 15.8 kJ/ $m^2$ |
| Distancia (lámpara-tubo de cuarzo) | 3.5 mm |
| Distancia (tubo de cuarzo-tubo de acero) | 2.62 cm |

*(Light Sources, 2009)

Cabe hacer notar que por la distancia entre el tubo de cuarzo y el tubo de acero, se requiere que el flujo el líquido sea turbulento para que tenga contacto con la luz ultravioleta en todas las partes, lo que puede aproximarse por la velocidad alta que se utilizó de 1.36 L/min en un sistema de reflujo.

## 6.2 Tratamiento con radiación UVC

Para el tratamiento con radiación UVC sin la adición de sorbato de potasio (SK), se observó una reducción de 3.02 ciclos logarítmicos para *A. niger* y 4.09 ciclos logarítmicos para *A. flavus* después de 60 minutos de tratamiento. El inóculo inicial ($N_0$) fue el determinado por conteo en placa y sirvió de referencia para determinar la curva de inactivación observada (Fig. 10).

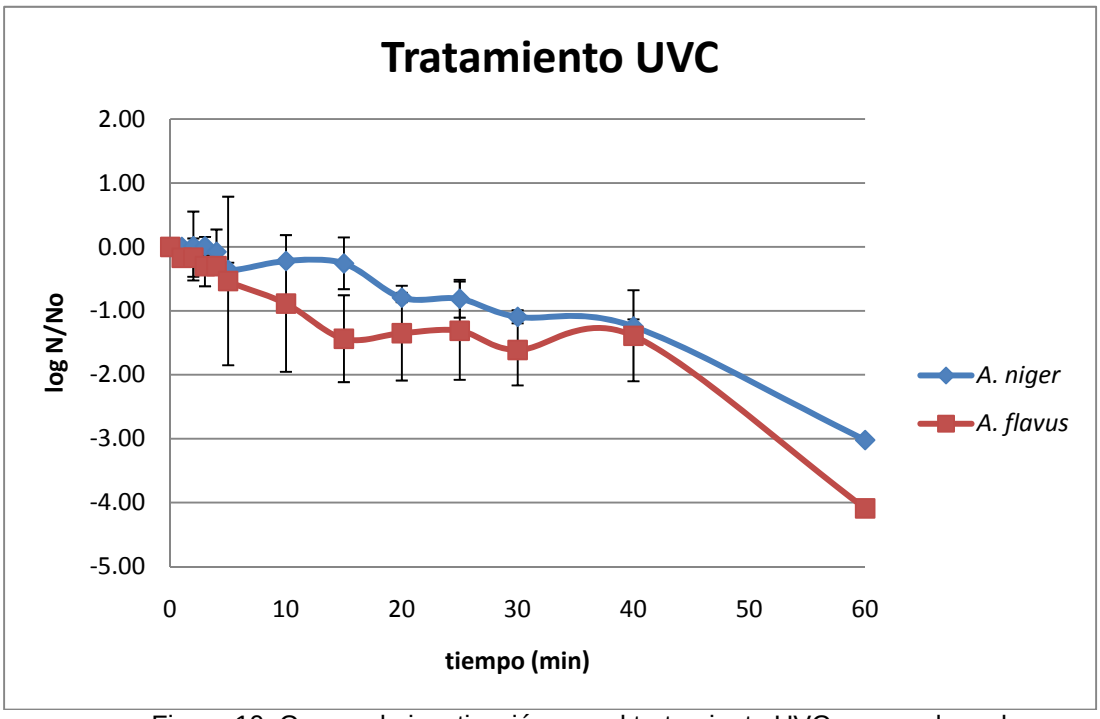


Figura 10. Curvas de inactivación con el tratamiento UVC para cada moho

Es importante destacar que *A. niger* mostró mayor resistencia al tratamiento, ya que presentó una menor reducción de ciclos logarítmicos. Sin embargo, la inactivación fue efectiva para ambos mohos, ya que con un inóculo teórico inicial elevado ($10^6$ esporas/mL), se observó una reducción importante del microorganismo.

### 6.3 Tratamiento con sorbato de potasio (SK)

Para evaluar la acción antimicrobiana del sorbato de potasio, se hicieron tomas de alícuotas de 1 mL de la muestra inoculada y con la concentración de antimicrobiano, durante 7 días, debido a su acción retardada.

*A. niger* presentó una reducción microbiana de 3.3 ciclos logarítmicos con 2000 ppm de antimicrobiano después de dos días y hasta el final del periodo de evaluación. A una concentración de 1000 ppm de sorbato de potasio, el valor máximo aceptado para jugos y néctares de frutas en México (SSA, 1994), se observó una reducción que, después de dos días, se mantiene en 1.3 ciclos logarítmicos reducidos. Éste último resultado fue muy similar al obtenido de 1500 ppm de sorbato de potasio. Sin embargo, la reducción microbiana observada a concentraciones de 500 y 250 ppm fue mínima después de 7 días (Figura 11). La reactivación del microorganismo a concentraciones menores que 2000 ppm de sorbato de potasio puede ser una indicación de la resistencia de *A. niger*.

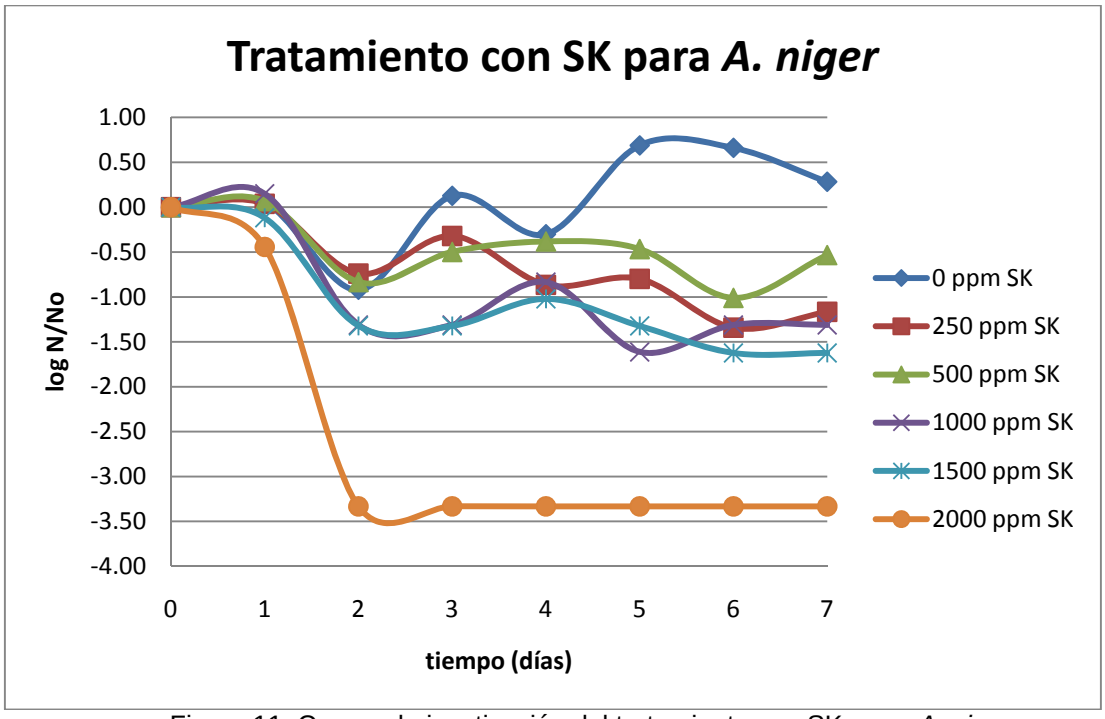


Figura 11. Curvas de inactivación del tratamiento con SK para *A. niger*

Por otro lado, se obtuvo buena reducción logarítmica de las esporas de *A. flavus* con 1500 y 2000 ppm del antimicrobiano en los primeros días de evaluación. Sin embargo, con 1000 ppm se logró la misma reducción después de 4 días de tratamiento, manteniéndose en 3.1 ciclos logarítmicos (Fig. 12). Igual que en el caso de *A. niger*, la reducción microbiana de 500 y 250 ppm de *A. flavus* fue mínima.

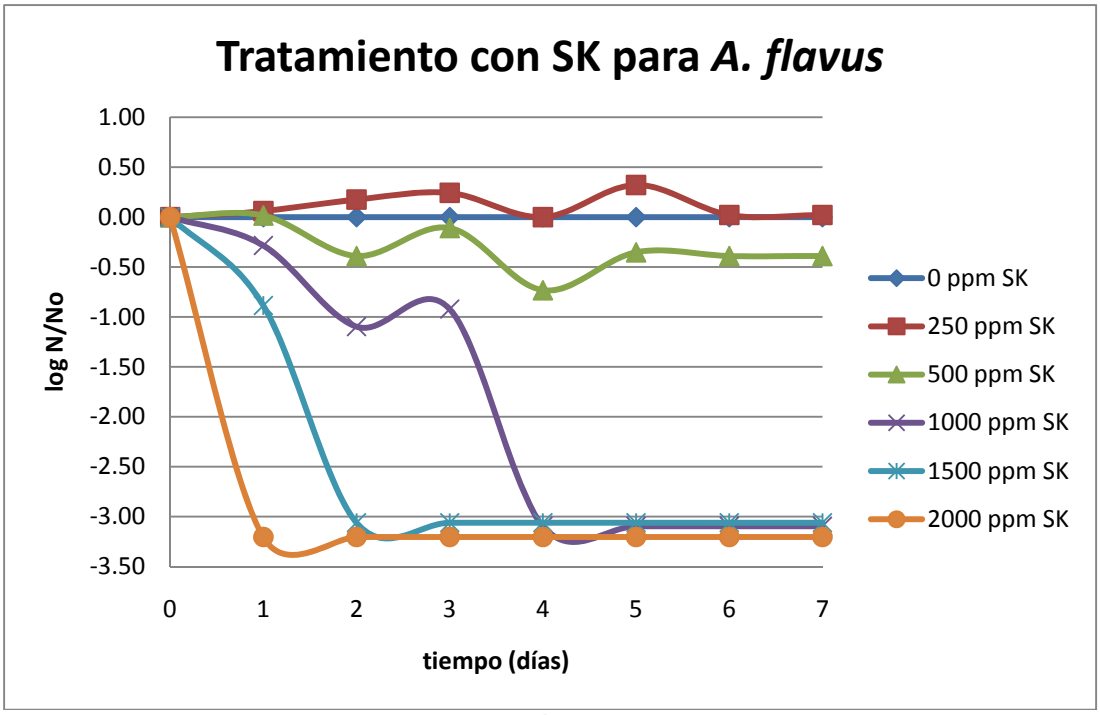


Figura 12. Curvas de inactivación del tratamiento con SK para *A. flavus*

A diferencia de *A. niger*, *A. flavus* no mostró ninguna reactivación en el tratamiento.

### 6.4 Tratamiento combinado: UVC con sorbato de potasio (SK)

El tratamiento combinado se efectuó utilizando distintas concentraciones de sorbato de potasio y utilizando los mismos tiempos de tratamiento de radiación UVC. En el tratamiento combinado para *A. niger* se observó una disminución en la inactivación microbiana conforme aumentaba la concentración del antimicrobiano (Fig. 13). Para el tratamiento con 0 ppm de SK hubo una reducción de 3.0 ciclos logarítmicos, y para el de 250 ppm de SK hubo una reducción de 2.1 ciclos logarítmicos teniendo las únicas curvas de inactivación propensas a ser modeladas, ya que para los demás tratamientos se observa una tendencia casi lineal sin reducciones logarítmicas. Cada curva con su desviación estándar y línea de tendencia se observa en el Apéndice A. Cabe mencionar que para la curva de 250 ppm se escogió solamente uno de los dos resultados para el ajuste, por lo que no se muestra la desviación estándar.

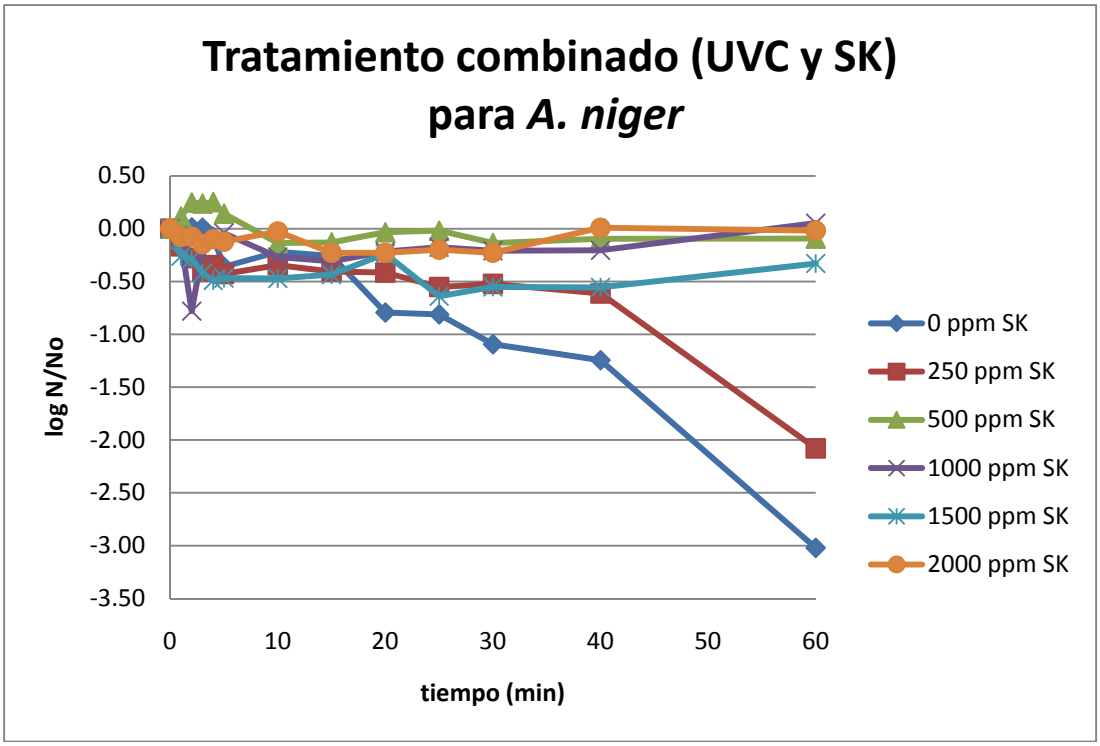


Figura 13. Curvas de inactivación del tratamiento combinado de UVC con SK para *A. niger*

En el tratamiento combinado de radiación UVC con distintas concentraciones de sorbato de potasio, se observó que para 0 y 250 ppm de SK existe una tendencia de inactivación de 4.1 y 2.5 ciclos logarítmicos respectivamente. Para las demás concentraciones no se mostró tendencia de inactivación. Cada curva con su desviación estándar y línea de tendencia se observa en el Apéndice A. Cabe mencionar que para la curva de 0 ppm solamente se escogió uno de los dos resultados para el ajuste, razón por la cual no se muestra la desviación estándar.

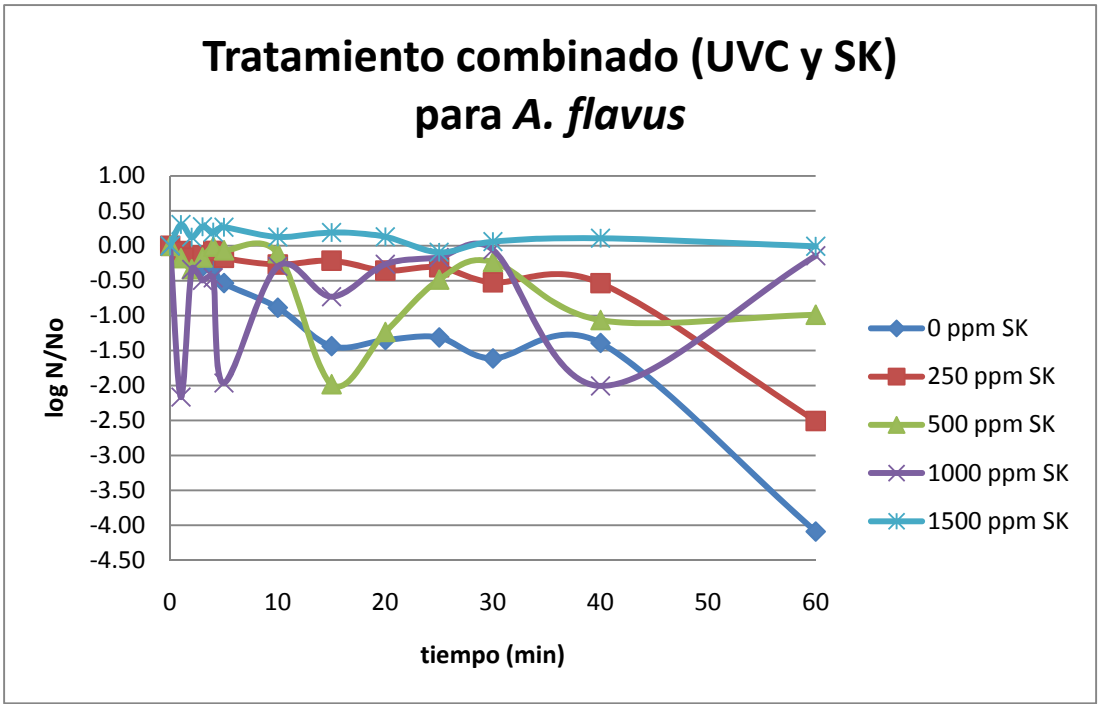


Figura 14. Curvas de inactivación del tratamiento combinado de UVC con SK para *A. flavus*

## 6.5 Modelación Weibull

Las curvas que mostraron mejor inactivación y pendientes negativas, tanto para *A. niger* como *A. flavus*, fueron las correspondientes a los tratamiento individuales de radiación UVC y los tratamientos combinados a 250 ppm de sorbato de potasio en tratamiento. Debido a que dichas curvas cumplen con los requerimientos para hacer modelaciones Weibull, éstas fueron las curvas que se utilizaron en la modelación.

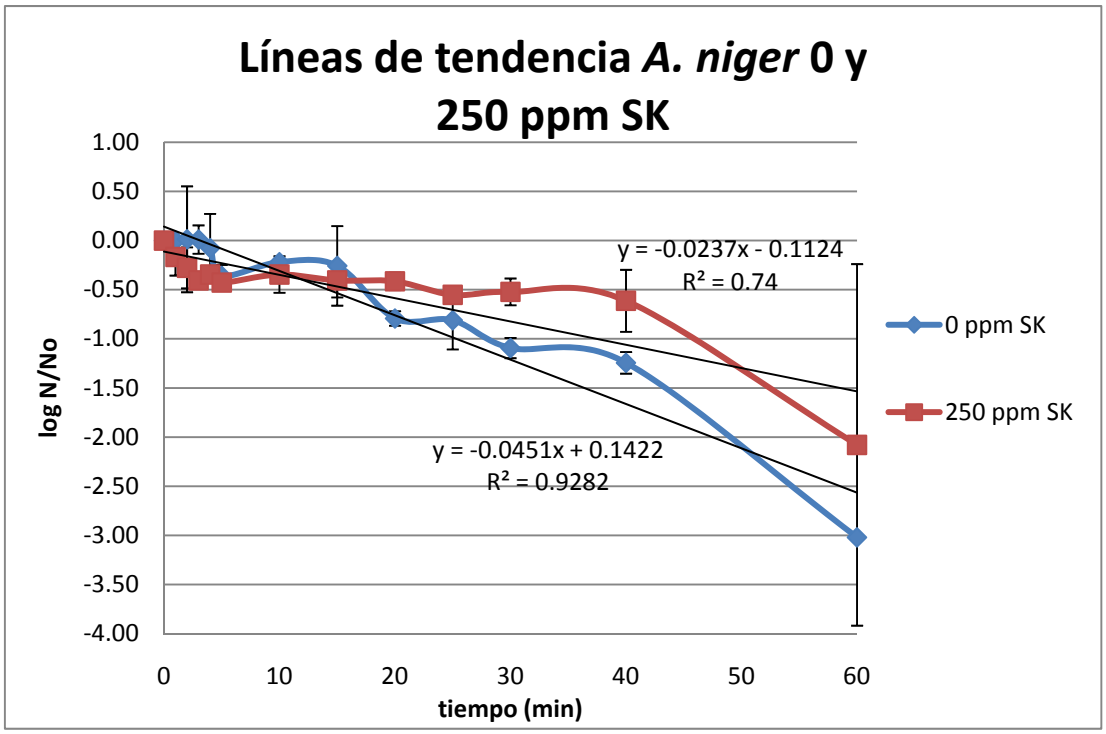


Figura 15. Líneas de tendencia de los mejores tratamientos de inactivación para *A. niger*

La pendiente negativa y el coeficiente de correlación lineal que se obervaron para las esporas de *A. niger* con el tratamiento con UVC sin adición del antimicrobiano son mayores que los valores de 250 ppm (Fig. 15). Sin embargo, las pendientes de las curvas de ambos tratamientos son negativas, por lo es posible ajustar los datos experimentales al modelo de Weibull.

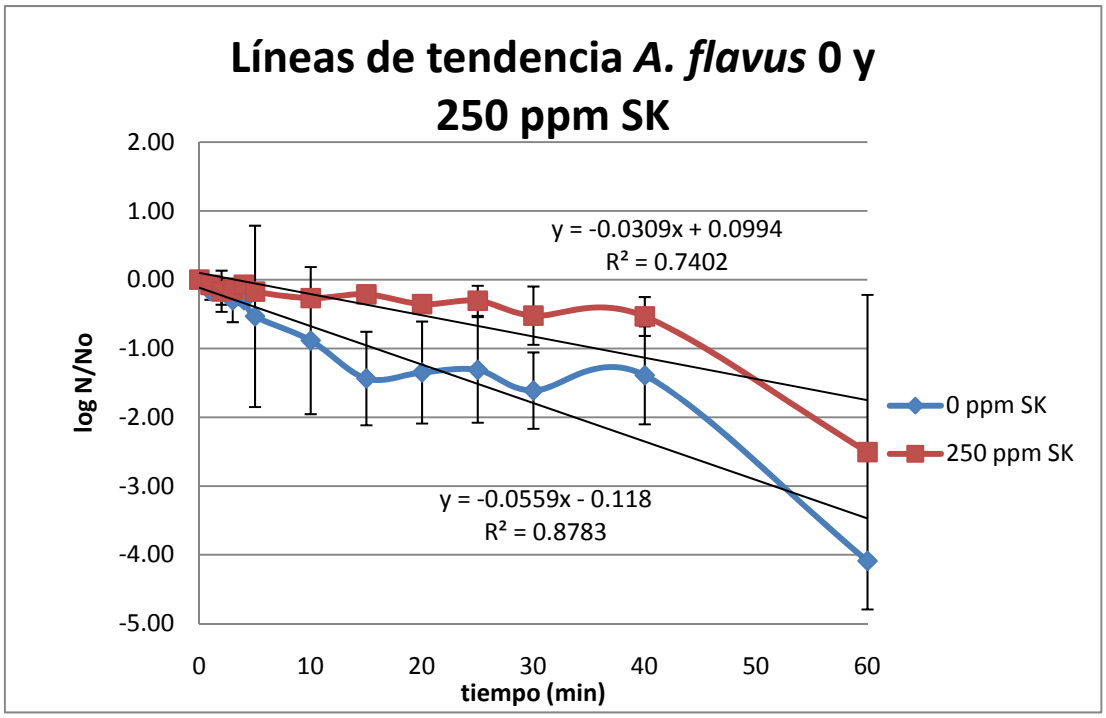

Figura 16. Líneas de tendencia de los mejores tratamientos de inactivación para *A. flavus*

Al igual que en el caso de *A. niger,* las líneas de inactivación observadas (Figura 16) para *A. flavus* tanto la pendiente como el coeficiente de correlación del tratamiento individual de UVC son mayores que para el tratamiento combinado de UVC y 250 ppm. Nuevamente, en éste caso ambas curvas pueden ajustarse al modelo de Weibull por su pendiente negativa.

### 6.5.1 Predicciones y comparación

Utilizando una hoja de cálculo se obtuvieron los valores mínimos de los parámetros *b* y *n* que conllevan al valor mínimo de error entre los valores experimentales y predichos. La predicción obtenida con los parámetros de Weibull, *b*= 0.0062 y *n*= 1.5, es muy cercana a los valores experimentales, con en un factor de sesgo de 0.81 (es decir, 19% de error), y un factor de exactitud de 1.4. La predicción será mayor entre el factor de exactitud sea más cercano a la unidad.

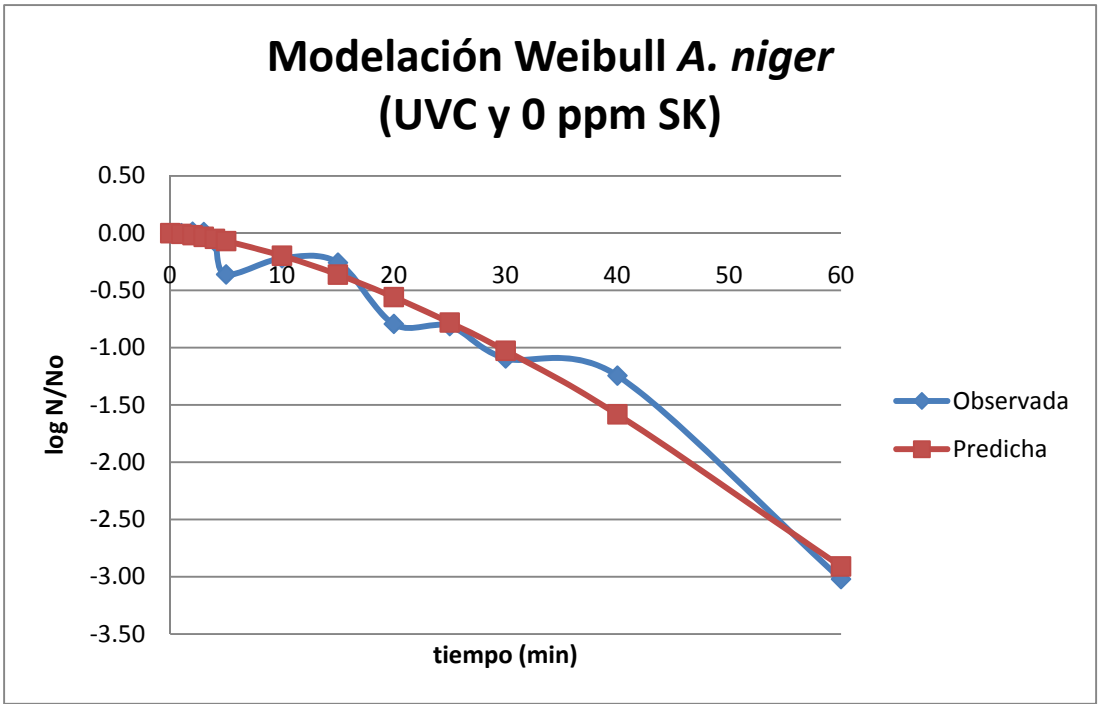


Figura 17. Modelación Weibull para *A. niger* con tratamiento UVC y 0 ppm de SK

Sin embargo, la predicción obtenida para el mismo microorganismo en tratamiento combinado (UVC y 250 ppm de antimicrobiano) resultó menos adecuada, con un factor de sesgo de 0.07 (93% de error) y de exactitud de 15 para $b$= 8.4 x $10^{-5}$ y $n$= 2.5, (Figura 18).

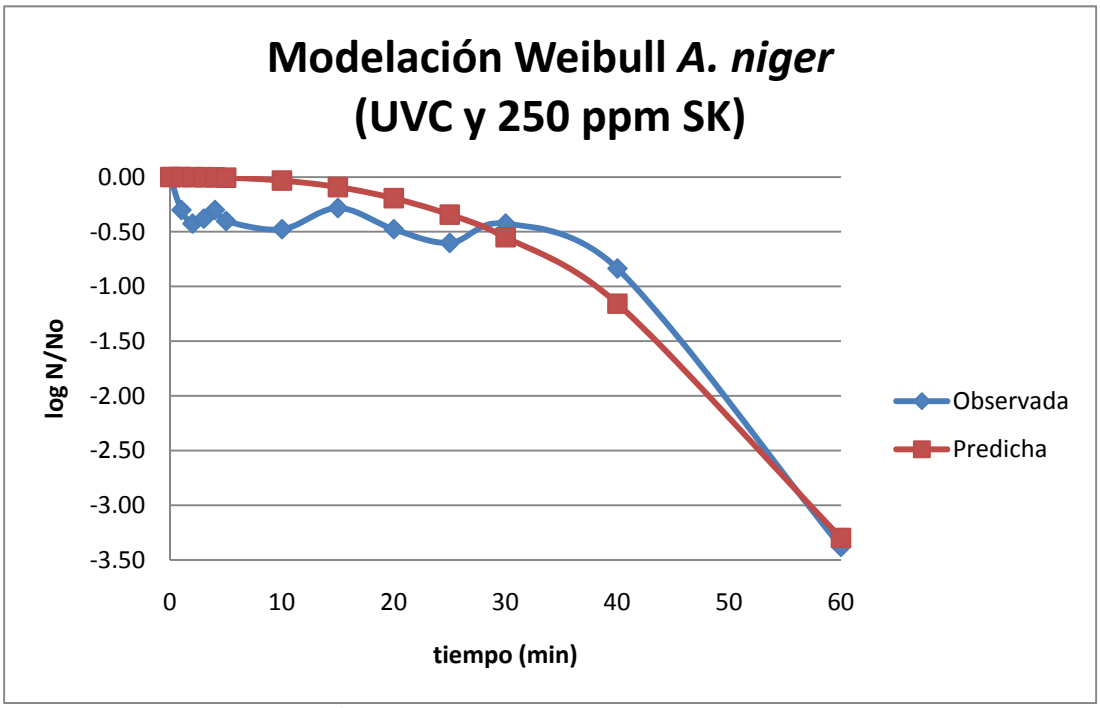


Figura 18. Modelación Weibull para *A. niger* con tratamiento UVC y 250 ppm de SK

La modelación para la inactivación de esporas de *A. flavus* con el tratamiento UVC sin antimicrobiano mostró un factor de sesgo de 0.82 (18 % de error de subestimación) y un factor de exactitud de 1.37 con los parámetros *b*= 0.068 y *n*= 0.96 (Fig. 19).

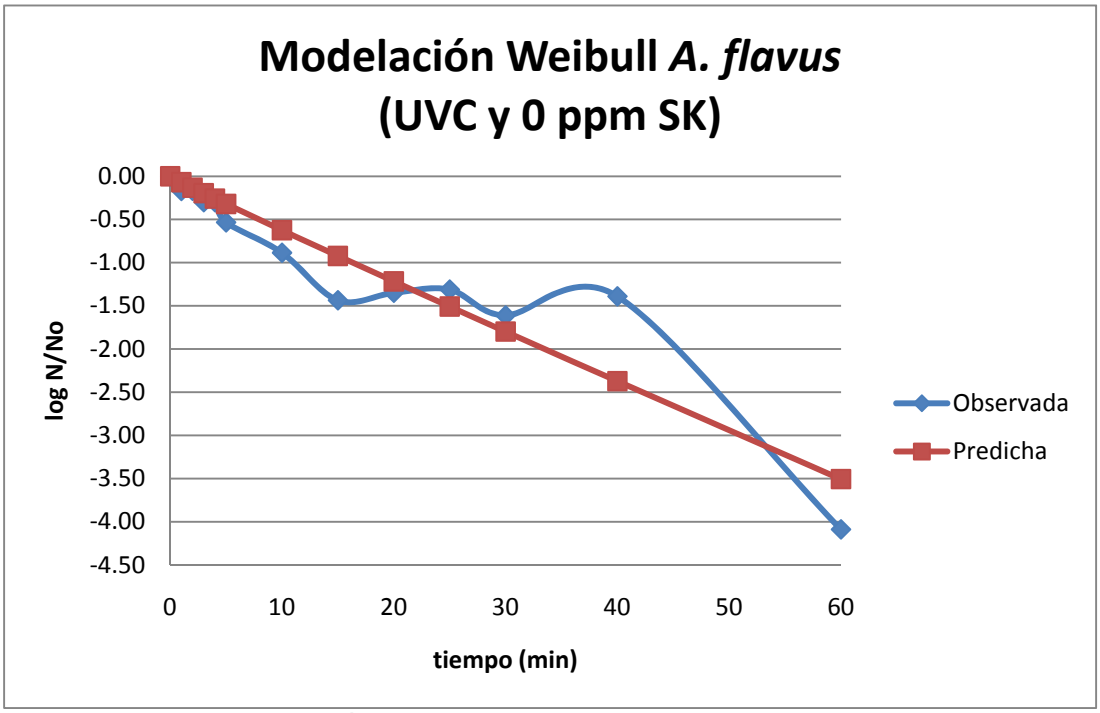


Figura 19. Modelación Weibull para *A. flavus* con tratamiento UVC y 0 ppm de SK

En el tratamiento combinado de UVC con 250 ppm de sorbato de potasio de *A. flavus*, se obtuvo una curva téorica con un factor de sesgo menor al tratamiento anterior (0.095) equivalente a 90.5 % de error de subestimación predicha, con los valores de *b*= $5.3 \times 10^{-5}$ y *n*= 2.6 (ver figura 20). El factor de exactitud obtenido para éste último tratamiento fue de 11.

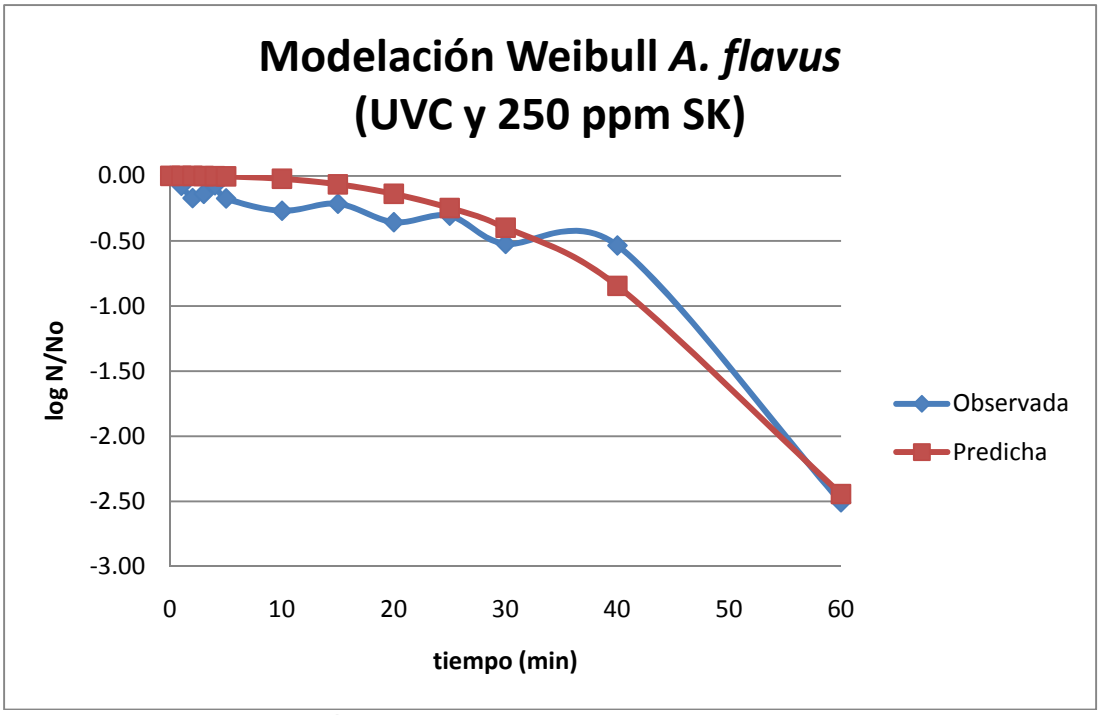


Figura 20. Modelación Weibull para *A. flavus* con tratamiento UVC y 250 ppm de SK

Comparando las curvas teóricas de los tratamientos modelados para *A. niger* y *A. flavus* (Fig. 21) se puede observar los tratamientos individuales tanto de UVC sin agente antimicrobiano tienen una mayor tendencia lineal que los tratamientos combinados (Fig. 21). Sin embargo, la curva descrita para *A. niger* con tratamiento UVC sin sorbato de potasio resultó más arqueada que la de *A. flavus*.

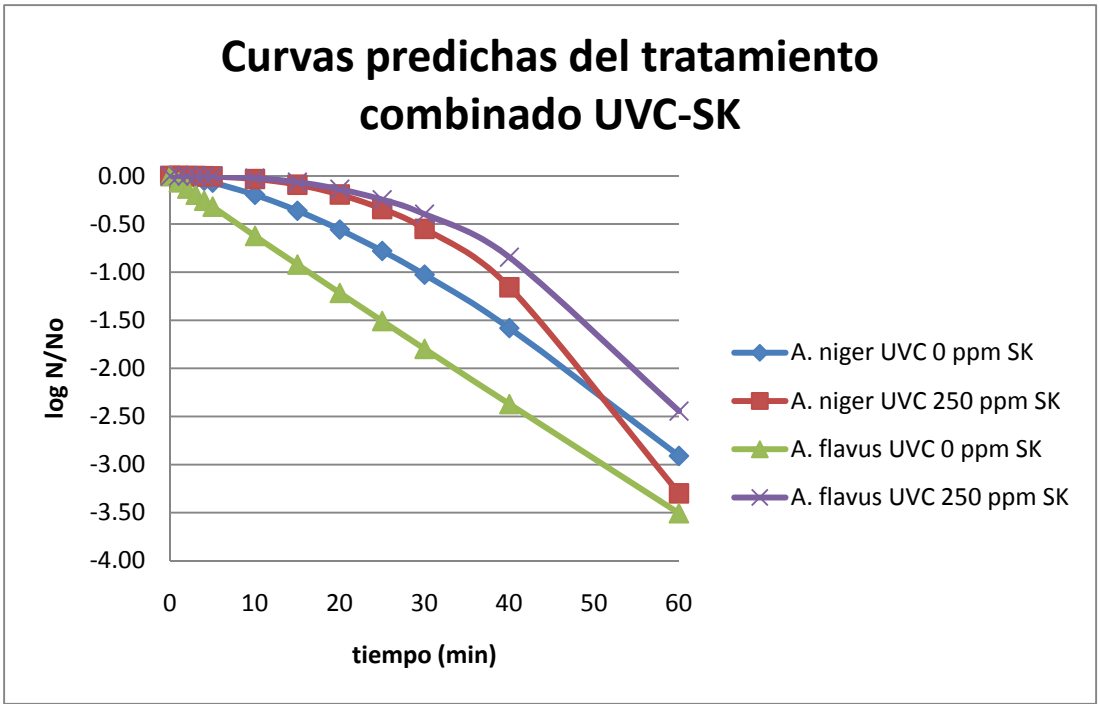

Figura 21. Curvas predichas con modelación Weibull para *A. niger* y *A. flavus*

La tabla 7 muestra de forma sintetizada los valores de los parámetros del modelo Weibull *b* y *n* para cada microorganismo y tratamiento, junto con el error de predicción Chi cuadrado (Chisq) y el valor de correlación R, obtenidos con KaleidaGraph®. Es importante destacar que entre más pequeño sea Chisq, hay mejor aproximación de la predicción de la curva experimental. Para cada microorganismo las predicciones de los tratamientos individuales de UVC son mejores que las de los tratamientos combinados con 250 ppm de sorbato de potasio.

Tabla 7. Parámetros y factores del modelo Weibull para *A. niger* y *A. flavus* con UVC y SK

| | *A. niger* | | *A. flavus* | |
|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | UVC - 0 ppm SK | UVC - 250 ppm SK | UVC - 0 ppm SK | UVC - 250 ppm SK |
| | | | | |
| b | $6.17 \times 10^{-3}$ | $1.35 \times 10^{-4}$ | $6.75 \times 10^{-5}$ | $6.78 \times 10^{-2}$ |
| n | 1.50 | 2.46 | 2.56 | 0.964 |
| Chisq | 0.286 | 1.17 | 0.339 | 1.79 |
| R | 0.983 | 0.929 | 0.966 | 0.934 |

## 6.6 Evaluación del mejor método

Después de observar el efecto antagónico del sorbato de potasio en tratamiento combinado con UVC, se escogió como el mejor método de inactivación de esporas al tratamiento individual de UVC, y se comparó evaluó la vida de anaquel para ambos microorganismos durante 7 días después del tratamiento..

Con el fin de evaluar el efecto de foto-reactivación de las esporas, posterior al tratamiento de UVC, se evaluó la vida de anaquel en cuatro sistemas para cada microorganismo: a) envase cubierto a temperatura ambiente (promedio de 25 °C); b) envase cubierto en refrigeración a 4 °C; c) envase descubierto a temperatura ambiente (promedio de 25 °C); y d) envase descubierto en refrigeración a 4 °C. La evaluación de la calidad antimicrobiana se hizo tomando alícuotas diariamente por 7 días de los ocho sistemas descritos anteriormente.

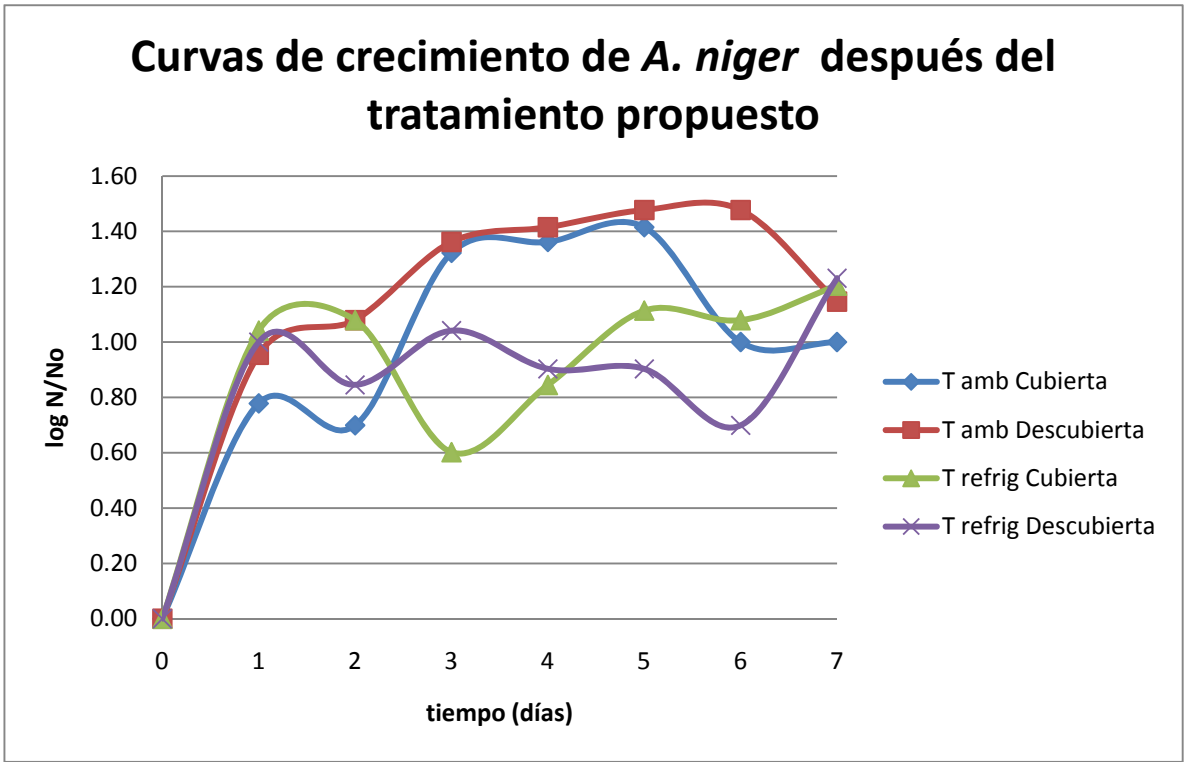


Figura 22. Curvas de crecimiento microbiano después del tratamiento para *A. niger*

El crecimiento de las esporas de *A. niger* que se observó en las muestras almacenadas a temperatura de refrigeración muestran mayor estabilidad microbiana que las muestras a temperatura ambiente (Fig. 22). Sin embargo, las otras muestras varían más y llegan al mismo valor final después del periodo de evaluación.

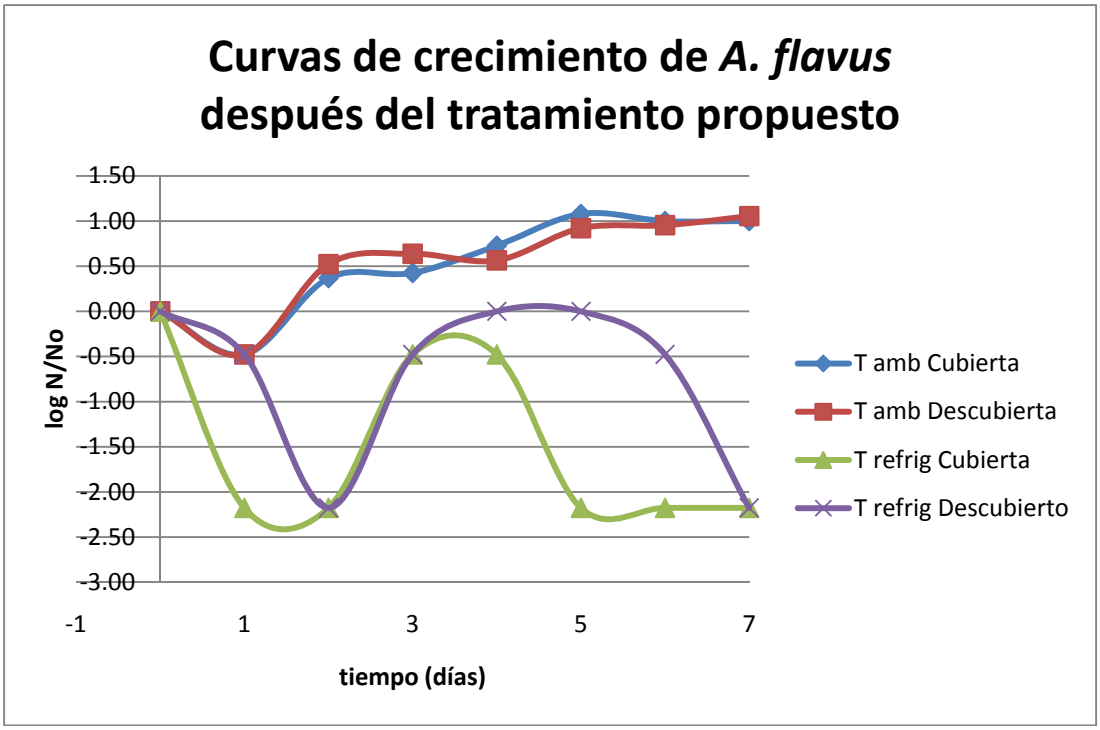


Figura 23. Curvas de crecimiento microbiano después del tratamiento para *A. flavus*

En las curvas de crecimiento de *A. flavus* durante 7 días de evaluación microbiana (después del tratamiento UVC) se observa que las muestras refrigeradas disminuyen la actividad microbiana por periodos de tiempo y convergen en el mismo punto final, con una reducción de 2.18 ciclos logarítmicos. Por otro lado, las muestras a temperatura ambiente muestran una tendencia similar en aumento de la población microbiana cercana a un ciclo logarítmico.

Para ambos mohos, no se observa mucha diferencia entre las muestras cubiertas y descubiertas; sin embargo, la temperatura de refrigeración (4°C) disminuye la actividad microbiana con respecto a la temperatura ambiente (25°C). Estos resultados indican que no hubo foto-reactivación en ninguno de los sistemas estudiados.

Con el fin de evaluar el efecto de la radiación UVC en las propiedades físicas del néctar de durazno, se compararon los parámetros de caracterización del néctar: pH, acidez titulable (% ácido málico), °Brix, y color (reflactancia) (Tablas 8 y 9).

Tabla 8. Propiedades del néctar original y tratado con UVC para *A. niger*

| | | | ***A. niger* $T_{ambiente}$** | | ***A. niger* $T_{refrigeración}$** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **Néctar original** | **Descubierto** | **Cubierto** | **Descubierto** | **Cubierto** |
| **Color** | **L** | 27.95 ± 0.04 | 26.98 ± 0.20 | 26.99 ± 0.16 | 27.62 ± 0.02 | 27.72 ± 0.08 |
| | **a** | -0.60 ± 0.06 | -1.38 ± 0.18 | -0.63 ± 0.27 | -0.80 ± 0.20 | -0.89 ± 0.22 |
| | **b** | 16.11 ± 0.03 | 15.31 ± 0.02 | 15.81 ± 0.13 | 16.16 ± 0.07 | 16.28 ± 0.07 |
| | **pH** | 3.18 ± 0.01 | 3.16 ± 0.01 | 3.16 ± 0.01 | 3.17 ± 0.00 | 3.19 ± 0.00 |
| | **°Brix** | 13.40 ± 0.59 | 13.30 ± 0.14 | 13.20 ± 0.00 | 13.30 ± 0.14 | 13.40 ± 0.00 |
| | **Acidez*** | 0.65 ± 0.06 | 0.67 ± 0.09 | 0.57 ± 0.05 | 0.64 ± 0.05 | 0.64 ± 0.05 |

*Presentado como porcentaje de ácido málico

Para *A. niger* en cuanto a los parámetros de Hunter para color (reflectancia), hay muy poca diferencia entre el néctar original y el tratado; para las muestras descubiertas hubo menos diferencia. Cabe mencionar que la muestra descubierta a temperatura ambiente aumento en el parámetro *a* significativamente y un poco menos para las de refrigeración. Por otro lado, el pH, los sólidos solubles y la acidez no se vieron afectados en gran medida. (Tabla 8).

Tabla 9. Propiedades del néctar original y tratado con UVC para *A. flavus*

| | | | ***A. flavus* $T_{ambiente}$** | | ***A. flavus* $T_{refrigeración}$** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **Néctar original** | **Descubierto** | **Cubierto** | **Descubierto** | **Cubierto** |
| **Color** | **L** | 27.95 ± 0.04 | 27.16 ± 0.45 | 26.92 ± 0.51 | 27.07 ± 0.03 | 27.25 ± 0.01 |
| | **a** | -0.60 ± 0.06 | -1.17 ± 0.11 | -0.51 ± 0.38 | -0.99 ± 0.07 | -1.04 ± 0.08 |
| | **b** | 16.11 ± 0.03 | 15.36 ± 0.44 | 15.95 ± 0.15 | 15.94 ± 0.05 | 16.20 ± 0.02 |
| | **pH** | 3.18 ± 0.01 | 3.17 ± 0.01 | 3.14 ± 0.01 | 3.17 ± 0.00 | 3.16 ± 0.00 |
| | **°Brix** | 13.40 ± 0.59 | 13.00 ± 0.28 | 13.20 ± 0.00 | 13.20 ± 0.00 | 13.15 ± 0.07 |
| | **Acidez*** | 0.65 ± 0.06 | 0.64 ± 0.05 | 0.60 ± 0.00 | 0.60 ± 0.00 | 0.64 ± 0.05 |

*Presentado como porcentaje de ácido málico

En el caso de *A. flavus*, comparando las muestras después del tratamiento con con el néctar original (Tabla 9), se observa que el parámetro *a* de color aumentó, al igual que en *A. niger*. Sin embargo, los parámetros L y b de color,, así como el pH, los sólidos solubles y la acidez titulable, no se vieron significativamente afectados. Estos resultados indican que el tratamiento con UVC no afectó las propiedades del néctar, por lo que se puede considerar como una buena opción que conserva las propiedades originales de los productos frescos.