



UNIVERSIDAD CENTRAL DE
VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

DESCONTAMINACIÓN DE NÉCTAR Y JUGO DE FRUTAS CON TRATAMIENTO DE LUZ ULTRAVIOLETA

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO
Presentado ante la Ilustre Universidad
Central de Venezuela, por el bachiller
Miguel Guevara para optar al título de
Licenciado en Biología

Tutor: Dr. Vicente Gómez

Caracas, Venezuela
Noviembre - 2009

RESUMEN

Los jugos comerciales poseen características diferentes a los naturales debido principalmente a sufrir degradación térmica durante su pasteurización. Algunos estudios han demostrado la utilidad del tratamiento con luz UV-C para inactivar microorganismos presentes en jugos, sin embargo, ninguno de ellos ha estudiado el efecto de la luz UV-C sobre las características sensoriales de los jugos. Igualmente, estudios previos han demostrado la eficacia del reactor UV-C construido en el Laboratorio de Nuevas Tecnología, pero la dosimetría respectiva no ha sido realizada. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto de la luz UV-C sobre la carga microbiana y la calidad sensorial del jugo de naranja y los néctares de guayaba y parchita. Para reportar adecuadamente las condiciones de trabajo se hizo la estimación radiométrica respectiva. Los resultados demostraron que la luz UV-C corresponde a dosis volumétricas de 6,19-23,62 KJ/L, y dosis por área de 3,64-13,89 J/cm². Los tratamientos lograron un máximo de inactivación en el recuento de microorganismos aerobios mesófilos de 1,36 log₁₀ UFC/mL (parchita) y en mohos y levaduras de 0,93 log₁₀ UFC/mL (naranja). Las tasas de inactivación estuvieron en el rango 0,02-0,14 log₁₀ UFC/KJ, con R²=0,88-0,98, y su orden no estuvo correlacionado con la absorbancia de los jugos. El panel entrenado observó diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre las muestras tratadas y las controles. Se concluye que los tratamientos con luz UV-C usados lograron inactivar microorganismos presentes en jugo de naranja y néctares de guayaba y parchita, pero alteraron sus características sensoriales; siendo este último resultado el más importante.

INDICE GENERAL

INDICE DE FIGURAS	VI
INDICE DE TABLAS	VIII
INDICE DE ANEXOS	IX
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. DESCUBRIMIENTO DE LA LUZ ULTRAVIOLETA	3
2.2. FUENTES DE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA	5
- 2.2.1. Radiación solar	5
- 2.2.2. Fuente artificial	5
2.3. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA RADIACIÓN UV-C EN LOS MICROORGANISMOS	7
2.4. RADIACIÓN UV DE ONDA CORTA (UV-C)	8
2.5. APLICACIÓN DE LA LUZ ULTRAVIOLETA	9
- 2.5.1. Desinfección de superficies	10
- 2.5.2. Desinfección del aire	11
- 2.5.3. Desinfección de líquidos	12
2.6. PERFIL DEL FLUJO	14
2.7. EFECTO DE LA TEMPERATURA DEL PRODUCTO DURANTE EL TRATAMIENTO	15
2.8. TRATAMIENTO CON LUZ UV-C EN JUGOS	15

3. OBJETIVOS	20
4. MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1. MATERIALES Y EQUIPO DE TRABAJO	21
- 4.1.1. Lugar de Trabajo	21
- 4.1.2. Tipos de néctares y jugo	22
- 4.1.2.1. Néctar de guayaba	22
- 4.1.2.2. Néctar de parchita	23
- 4.1.2.3. Jugo de naranja	23
- 4.1.3. Cantidad de néctar y jugo para el procesamiento	24
- 4.1.4. Determinación de la carga microbiana	24
- 4.1.5. Sistema de luz ultravioleta (UV)	25
4.2. TRATAMIENTO DE LOS NÉCTARES Y DEL JUGO EN EL SISTEMA DE LUZ ULTRAVIOLETA	26
- 4.2.1. Materiales del sistema de luz UV	26
- 4.2.2. Pasos para el tratamiento del néctar	27
- 4.2.3. Sistema de mangueras	28
- 4.2.4. Comienzo del proceso	29
- 4.2.5. Limpieza del equipo de luz UV	29
4.3. DETERMINACIÓN DEL FLUJO DEL NÉCTAR	30
4.4. MEDICIÓN DE LA DOSIS	31
- 4.4.1. Dosis por área	31
- 4.4.2. Dosis por volumen	32
4.5. MEDICIÓN DE LA ABSORBANCIA	33

4.6. EVALUACIÓN SENSORIAL	34
- 4.6.1. Entrenamiento de los panelistas	34
- 4.6.2. Prueba de triángulo	36
4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
- 4.7.1. Análisis estadístico del recuento microbiológico	38
- 4.7.2. Análisis estadístico del entrenamiento de los panelistas	38
- 4.7.3. Análisis estadístico de las pruebas de triángulo de los panelistas	39
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
5.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS NÉCTARES Y DEL JUGO	40
5.2. DOSIMETRÍA	42
- 5.2.1. Intensidad de luz UV	42
- 5.2.2. Dosis por volumen y dosis por área	42
5.3. INACTIVACIÓN MICROBIANA	44
5.4. TASA DE INACTIVACIÓN MICROBIANA	49
5.5. RELACIÓN ENTRE ABSORBANCIA E INACTIVACIÓN MICROBIANA	53
5.6. ENTRENAMIENTO DE LOS PANELISTAS	58
5.7. EFECTO DEL TRATAMIENTO UV-C SOBRE LA CALIDAD SENSORIAL DE LOS NÉCTARES Y EL JUGO	60
5.8. PRODUCTO SECUNDARIO POSIBLEMENTE FORMADO EN EL TRATAMIENTO CON LUZ UV-C	61
6. CONCLUSIONES	64
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
8. ANEXOS	71

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. El espectro electromagnético.	4
Figura 2. Rango de letalidad de las longitudes de onda UV.	8
Figura 3. Sistema de luz UV.	21
Figura 4. Espectro de emisión de la lámpara germicida Sankyo Denki G30T8.	26
Figura 5. Modelo de hoja de evaluación sensorial utilizada en el entrenamiento de los panelistas.	35
Figura 6. Modelo de hoja de evaluación sensorial utilizada en la prueba de triángulo.	37
Figura 7. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de microorganismos aerobios mesófilos en el jugo de naranja después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).	50
Figura 8. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de hongos en el jugo de naranja después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).	50
Figura 9. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de microorganismos aerobios mesófilos en el néctar de guayaba después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).	51
Figura 10. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de hongos en el néctar de guayaba después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).	51
Figura 11. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de microorganismos aerobios mesófilos en el néctar de parchita después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).	52
Figura 12. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de hongos en el néctar de parchita después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa	

($\alpha > 0,05$).	52
Figura 13. Absorbancia del jugo de naranja (dilución $d=1/125$) a diferentes longitudes de onda de luz UV-C.	54
Figura 14. Absorbancia del néctar de guayaba (dilución $d=1/125$) a diferentes longitudes de onda de luz UV-C.	55
Figura 15. Absorbancia del néctar de parchita (dilución $d=1/25$) a diferentes longitudes de onda de luz UV-C.	55

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización de los néctares de guayaba, parchita y del jugo de naranja.	40
Tabla 2. Caracterización de los reactores e luz UV-C.	42
Tabla 3. Determinación de la dosis por volumen y dosis por área del néctar de guayaba, parchita y jugo de naranja.	43
Tabla 4. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del jugo de naranja tratado con diferentes dosis de luz UV-C.	44
Tabla 5. Recuento de hongos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del jugo de naranja tratado con diferentes dosis de luz UV-C.	45
Tabla 6. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del néctar de guayaba tratado con diferentes dosis de luz UV-C.	45
Tabla 7. Recuento de hongos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del néctar de guayaba tratado con diferentes dosis de luz UV-C.	46
Tabla 8. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del néctar de parchita tratado con diferentes dosis de luz UV-C.	46
Tabla 9. Recuento de hongos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del néctar de parchita tratado con diferentes dosis de luz UV-C.	47
Tabla 10. Comparación de la absorbancia a 254 nm, título inicial y tasa de inactivación (\log_{10} UFC/KJ) para jugo de naranja y los néctares de guayaba y parchita.	57
Tabla 11. Análisis estadístico del entrenamiento de los panelistas.	58
Tabla 12. Análisis estadístico de la prueba triángulo.	60

INDICE DE ANEXOS

Tabla 13. Determinación del flujo en el jugo de naranja.	71
Tabla 14. Determinación del flujo en el néctar de guayaba.	71
Tabla 15. Determinación del flujo en el néctar de parchita.	71
Tabla 16. Tiempo de retención en el jugo de naranja.	72
Tabla 17. Tiempo de retención en el néctar de guayaba.	72
Tabla 18. Tiempo de retención en el néctar de parchita.	73
Tabla 19. Área de exposición a luz UV.	73
Tabla 20. Intensidad calculada según datos del fabricante.	73
Tabla 21. Salida total de luz UV-C.	74
Tabla 22. Dosis por volumen en el jugo de naranja.	74
Tabla 23. Dosis por área en el jugo de naranja.	75
Tabla 24. Dosis por volumen en el néctar de guayaba.	75
Tabla 25. Dosis por área en el néctar de guayaba.	76
Tabla 26. Dosis por volumen en el néctar de parchita.	76
Tabla 27. Dosis por área en el néctar de parchita.	77
Tabla 28. Tabla de interpretación estadística de la prueba triangular para niveles de significancia del 10, 5, 1 y 0,1 %.	78

1. INTRODUCCIÓN

La esterilización térmica es ampliamente usada en el tratamiento de jugos de frutas; sin embargo, debido al calor los jugos cambian de color y pierden algunas de sus vitaminas y aromas durante el proceso de calentamiento (Tran y Farid, 2004).

El tratamiento de luz ultravioleta (UV) es un método de desinfección que puede ser aplicado para inactivar microorganismos indeseables en alimentos. El tratamiento puede realizarse a bajas temperaturas y, por lo tanto, puede ser agrupado como un método no térmico tal como los campos de pulso eléctrico (PEF), altas presiones (HP) e irradiación (Tran y Farid, 2004).

La iluminación UV-C (radiación no ionizante) tiene la ventaja de no producir residuos químicos, subproductos o radiactividad. Además requiere muy bajo mantenimiento y bajo costo (Guerrero-Beltrán y Barbosa Cánovas, 2004).

La aplicación en la industria de la desinfección con UV de mayor interés en los últimos años ha sido la desinfección de jugos de frutas y vegetales. En tal sentido se han desarrollado una diversidad de equipos que emplean principalmente lámparas de baja presión de mercurio. El auge de esta tecnología en la desinfección de jugos surgió a raíz de la declaración emitida por el Centro de Seguridad Alimentaria y Nutrición Aplicada de la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos

(U. S. Center of Food Safety and Applied Nutrition of the FDA). Esta declaración fue difundida en noviembre de 2000, donde se aprobó el uso de la luz UV para la reducción de patógenos y otros microorganismos en jugos (FDA, 2001).

2. ANTECEDENTES

2.1. DESCUBRIMIENTO DE LA LUZ ULTRAVIOLETA

La luz ultravioleta (UV) fue descubierta en 1801 por Johann Ritter mediante un experimento que consistía en medir la velocidad de oscurecimiento del cloruro de plata (sustancia fotosensible) por la luz dividida a través de un prisma a diferentes longitudes de onda. Ritter encontró que el oscurecimiento de este compuesto era mayor en la luz violeta que en la luz roja. Al exponer el cloruro de plata en el área exactamente más allá del término violeta del espectro, donde la luz no era visible, la reacción fue más rápida. Esto demostró la existencia de radiación a una longitud de onda inferior a la visible (Sears y col., 2005).

La luz UV involucra radiación de la región ultravioleta del espectro electromagnético que se extiende entre los 100 y los 400 nm. A los fines prácticos, el espectro UV puede dividirse en UV de onda corta (UVC) con longitudes de onda entre los 200 y 280 nm; UV de onda media (UVB) con longitudes de onda entre 280 y 320 nm; UV de onda larga (UVA) con longitudes de onda entre 320 y 400 nm y UV vacío (UVV) con longitudes de onda entre 100 y 200 nm (Figura 1).

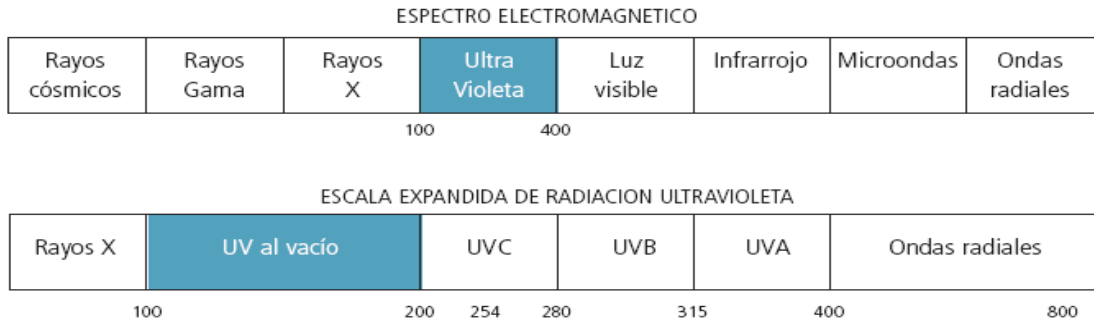


Figura 1. El espectro electromagnético (Alzamora, 2008).

La luz UVV se llama así porque solo se puede propagar a través del vacío, ya que es absorbida por el oxígeno (Guerrero-Beltrán y Barbosa -Cánovas, 2004). La UVB es responsable del quemado de la piel y eventualmente del cáncer de piel. La UVA es responsable de los cambios en la piel que conducen al bronceado. La UVC en el rango de 250 – 280 nm (efecto máximo a $\lambda = 254$ nm) es letal para la mayoría de los microorganismos, incluyendo bacterias, virus, protozoos, hongos filamentosos, levaduras y algas. La UVC puede ocasionar lesiones en la piel, irritación en los ojos y conjuntivitis. En los casos donde la dosis irradiada o el tiempo de exposición son prolongados se puede producir cáncer de piel (Shama, 1999).

La intensidad de la radiación UV (en unidades de watts por metro cuadrado, W/m^2) es expresada como irradiancia o flujo de intensidad, y la dosis (en unidades de joules por metro cuadrado, J/m^2), la cual es función de la intensidad y el tiempo de exposición, es expresada como exposición radiante. El método mas conveniente de medición de la dosis es usando un radiómetro UV, el cual mide la intensidad UV en unidades de W/cm^2 (Shama, 1999).

2.2. FUENTES DE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

2.2.1. Radiación Solar

De acuerdo a la revisión de Bintsis y col. (2000), el sol emite radiación a través de un amplio rango de longitudes de onda, pero la intensidad relativa de la radiación ultravioleta que llega a la superficie de la tierra depende de la absorción y la dispersión por parte de la atmósfera. La UVC es completamente absorbida en la parte superior y media de la atmósfera por el ozono y el oxígeno molecular; aunque los rayos UVB son atenuados, algunos logran llegar a la superficie terrestre. Sin embargo, los rayos UVA son apenas afectados, y, por lo tanto, el medio ambiente terrestre está expuesto principalmente a la radiación ultravioleta entre 290 y 400 nm.

Se ha reportado que debido al deterioro de la capa de ozono, en algunas regiones del planeta se ha determinado una importante dosis de radiación UVC en la superficie terrestre. La intensidad del flujo de rayos UVA al nivel del mar es de unos 35-50 W/m^2 , y se obtiene una dosis de 126-180 KJ/m^2 durante 1 hora de exposición (siendo la dosis igual a intensidad por tiempo); se ha reportado que la dosis mínima para provocar la alteración del ADN es de 0,5-20 J/m^2 (Blagoev y col. 2006). Como consecuencia de ello, se pueden formar fotoproductos potencialmente letales a un ritmo considerable, y la vida al aire libre no sería posible sin la acción de procesos reparadores que aseguran una drástica reducción de los daños causados por los rayos UVA (Bintsis y col., 2000).

2.2.2. Fuente Artificial

Hay numerosas fuentes comerciales que emiten energía en el rango UV: estas incluyen fuentes de vapor de mercurio, halogenuros metálicos y xenón. Las más

usadas son las fuentes de vapor de mercurio que pueden ser de onda larga, media y corta.

Lámparas UV de onda larga

La luz de las lámparas de vapor de mercurio puede ser filtrada para eliminar el espectro visible y dar una emisión que es principalmente UVA.

Lámparas UV de onda media

Las lámparas de vapor de mercurio a veces son diseñadas con presiones que producen la máxima radiación en la región UVB, y se usan bombillos de vidrio que transmiten libremente esta energía.

Lámparas UV de onda corta

Las fuentes de UV de baja presión de mercurio, son las más usadas y se caracterizan por convertir eficientemente la energía eléctrica en luz UV con una longitud de onda de 253,7 nm. La eficiencia de estas lámparas es alrededor del 50%. Están compuestas de un tubo que contiene un gas fluorescente y dos electrodos a los extremos. Estas lámparas se diferencian de las demás en que el vidrio carece de fósforo en su formulación, permitiendo una mayor transmitancia de la longitud de onda. Las sustancias fosfatadas absorben la radiación emitida por la luz disminuyendo la eficiencia de la lámpara. Contienen dióxido de titanio para prevenir la transmitancia de longitudes de onda por debajo de 220 nm, la cual convierte el oxígeno de los alrededores del aire en ozono (Shama, 1999).

2.3. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA RADIACIÓN UVC EN LOS MICROORGANISMOS

La luz UV-C absorbida por el ADN causa un cambio físico en los electrones para producir la división del ADN, retraso de la replicación o muerte celular (Shama, 1999).

Las reacciones más significativas que afectan la supervivencia celular son las que ocurren entre la radiación UVC y los ácidos nucleicos. La interacción entre la UVC y el ADN resulta en la formación de fotoproductos, entre ellos, dímeros de pirimidina (timina y citosina), aductos de pirimidina y entrecruzamientos ADN-proteínas. Los dímeros de pirimidina se forman entre dos bases adyacentes en la misma cadena del ADN impidiéndose el apareamiento normal de bases e imposibilitando la reproducción (Alzamora, 2008).

Casi todos los seres vivos poseen la habilidad de reparar el daño causado al ADN mediante uno o más mecanismos de reparación, los cuales son de tres tipos principales. En la reparación fotoenzimática, la activación de la enzima fotoliasa por medio de la luz UV mayor a 330 nm, los dímeros son monomerizados enzimáticamente en la presencia de luz. Se ha reportado fotoreactivación de algunos microorganismos cuando son expuestos a luz visible en el rango espectral del azul (Guerrero-Beltrán y Barbosa Cánovas, 2004). En el segundo tipo, la reparación por escisión y resíntesis, se remueven secciones de ADN dañado y se resintetizan. En la reparación por replicación las secciones no dañadas del ADN se replican y se combinan de tal manera que se forma una molécula idéntica a la original. A medida que la intensidad de la luz UVC aumenta, la velocidad de daño excede la capacidad de los sistemas de reparación (Alzamora, 2008).

Se ha reportado que los mohos son los más resistentes a la radiación UV debido a que su tamaño es más grande que el de las bacterias; probablemente es debido a que en la estructura del ADN de mohos y levaduras existen menos bases pirimidinas (principalmente tiamina). Más aún, la composición química de la pared celular y el espesor de mohos y levaduras es diferente al de las bacterias. La composición química de la pared celular y su espesor son factores que influyen en la resistencia relativa de un organismo a la luz UV (Bintsis y col., 2000).

2.4. RADIACIÓN UV DE ONDA CORTA (UVC)

La radiación UV en el rango de 250 – 260 nm es letal para la mayoría de los microorganismos, incluyendo bacterias, virus, protozoarios, hongos con micelio, levaduras y algas. La relación entre la longitud de onda y el relativo efecto germicida se ilustra en figura 2.

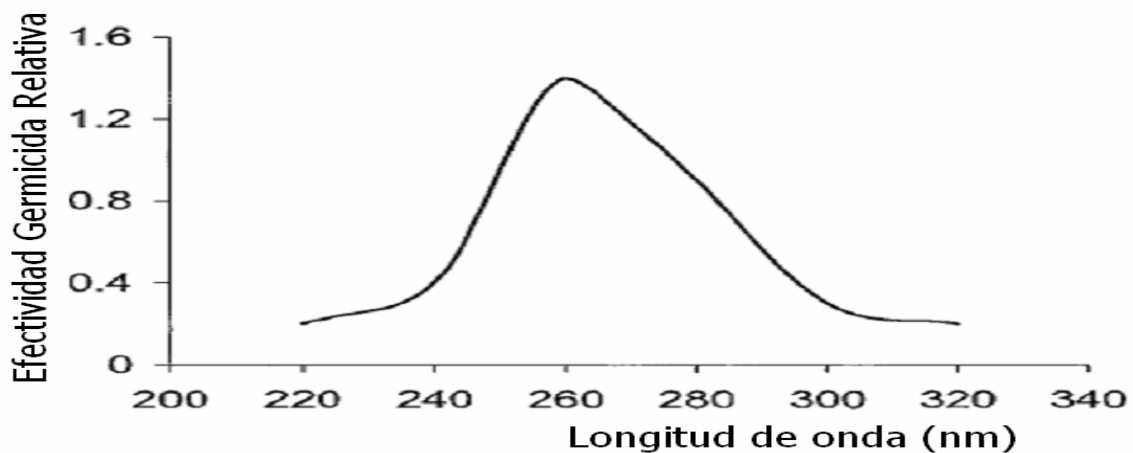


Figura 2. Rango de letalidad de las longitudes de onda UV (Shama, 1999).

Se muestra el máximo efecto a 254 nm y una caída de la eficiencia de prácticamente cero a 320 nm (Shama, 1999). Los daños ocasionados por la luz UV-C probablemente están orientados a moléculas blanco específicas, y una dosis que se encuentre alrededor de 0,5-20 J/m² provoca la alteración directa del ADN microbiano a través de la formación de dímeros (Blagoev y col., 2006).

2.5. APLICACIÓN DE LA LUZ ULTRAVIOLETA

Desde 1985, la iluminación ultravioleta (UV) ha sido usada para la desinfección de agua y ha reemplazado algunos de los procesos convencionales de cloración en algunos países. El pico de absorción eficiente de la UV para el ADN se encuentra entre 250 y 280 nm. Los rayos UV en esta longitud de onda germicida alteran el material genético en las células, así que las bacterias, virus, mohos y otros microorganismos no pueden reproducirse y son considerados inactivos (Tran y Farid, 2004).

Los efectos germicidas de la radiación ultravioleta se dividen en tres grandes categorías: (a) la inhibición de los microorganismos en las superficies, (b) la muerte celular de los microorganismos en el aire, (c) la esterilización de los líquidos. Las bacterias en suspensión en un medio líquido son más resistentes que los suspendidos en el aire, incluso después de tener en cuenta la absorción del medio (Bintsis y col., 2000).

2.5.1. Desinfección de superficies

La primera categoría incluye la esterilización de materiales de embalaje, por ejemplo, envases, envolturas, tapas de botellas, mediante la organización de lámparas sobre transportadores adecuados. El éxito de esta aplicación depende de que la superficie de los materiales este limpia y libre de cualquier suciedad que absorba la radiación y, por lo tanto, proteja a las bacterias, es decir, previo tratamiento de higiene.

De acuerdo a la revisión de Bintsis (2000) durante el llenado aséptico en el procesamiento de productos lácteos UHT, por ejemplo, la esterilización UV se ha aplicado a las tapas de botellas de polietileno de alta densidad (HDPE) y a los envases de cartón para productos líquidos.

La UV de onda corta puede ser empleada para el tratamiento de alimentos frescos. Por ejemplo, se ha utilizado para controlar su deterioro por microorganismos tales como *Bacillus stearothermophilus* en delgadas capas de azúcar o *Pseudomonas* spp., en la superficie de la carne. Sin embargo, la carne que ha sido expuesta directamente a la luz UV a veces ha desarrollado sabores diferentes a lo normal, y un problema similar se ha encontrado con la leche. Se ha sugerido que estos sabores indeseables surgen debido a la absorción de ozono y óxidos de nitrógeno, así como a los efectos directos sobre la fotoquímica de las fracciones de lípidos de la leche o la carne. Estos efectos pueden reducirse mediante el filtrado de las longitudes de onda más corta o por el uso de productos que los cubran con una capa de gas inerte antes de la irradiación; en cualquier caso, no existen pruebas de que alguno de los fotoproductos sea perjudicial para los seres humanos.

El pescado fresco es un producto con una flora superficial que incluye *Pseudomonas* spp, el cual es responsable de su deterioro. Se ha demostrado la eficiencia de la reducción inicial de la carga bacteriana, utilizando la radiación UVC, prolongando así la vida de almacenamiento del pescado. Además, la radiación UVC es eficaz para reducir la carga total de aerobios y mohos, junto con *Salmonella typhimurium*, en la superficie de la cáscara del huevo.

En la industria de la panadería, la contaminación de productos frescos con esporas de mohos ha sido siempre un problema, pero, con la irradiación de los panes se amplía significativamente su período de vida (Shama, 1999).

2.5.2. Desinfección del aire

En los hospitales, las lámparas UVC se han utilizado para crear una cortina o barrera de radiación a través de la cual el aire debe pasar antes de llegar a los pacientes sensibles a la infección, y la radiación ultravioleta a 254 nm, y 0,25 W/m² ha sido utilizada en los Estados Unidos desde 1930 para disminuir el número de bacterias del aire en los quirófanos.

Se ha sugerido el suministro de aire limpio esterilizado para la manipulación de los productos alimenticios sensibles a la contaminación con un sistema que combina un flujo laminar de aire a través de filtros para eliminar las partículas de tamaño > 0,1 µm, y la utilización de la radiación ultravioleta para matar cualquier microorganismo vivo que se mantenga en el lugar de trabajo. Del mismo modo, la calidad microbiológica de frutas y hortalizas peladas mecánicamente es mejorada cuando el

aire tratado con radiación es soplado a través de la unidad de pelado en contra corriente al flujo del producto. La calidad microbiológica del aire en los almacenes frigoríficos también se mejora utilizando una unidad de esterilización del aire (Bintsis y col., 2000).

2.5.3. Desinfección de líquidos

Bintsis y col. (2000) reportan que el tratamiento con UVC es una de las posibilidades más simples y favorables de inactivar una amplia gama de microorganismos en el agua. Se ha utilizado para la desinfección de efluentes de aguas residuales, agua potable y agua para piscinas, y la combinación de la radiación UV y el ozono tienen un poder oxidante que puede reducir el contenido orgánico del agua a niveles sumamente bajos. La UVC desinfecta sin inducir cambio en el color, sabor, olor o pH, y la hace adecuada para garantizar que el agua potable sea microbiológicamente segura; el criterio normal de desempeño se basa en un 99,999% de la reducción de los microorganismos con un tiempo de tratamiento menor a 1 min. Las principales limitaciones en la eficiencia de la radiación UVC, en este contexto, son las siguientes:

- Falta de penetración: en agua destilada, la radiación UV a 254 nm sufre un 30% de pérdida en la intensidad a partir de 40 cm bajo la superficie, mientras que, en el agua marina se hará la misma reducción por encima de aproximadamente 10 cm; en una solución de sacarosa al 10% o de agua de manantial que contiene altos niveles de hierro provocará la pérdida de la misma dentro de 5 cm de la superficie (Snowball y Hornsey, 1988).

- En los suministros de agua natural, cualquier sólido en suspensión debe ser filtrado antes del tratamiento, y en ocasiones, la aglomeración de las bacterias pueden plantear un problema similar, debido a la protección de las células más profundas. En Japón, la radiación UVC se ha utilizado para la desinfección de agua mineral natural, sin efecto sobre el contenido mineral del agua o generación de contaminación o sabores indeseables; la erradicación de *Enterococcus faecalis* es el objetivo fundamental de este último proceso.

En algunas industrias de procesamiento de alimentos, la situación puede ser muy diferente, y una simple reducción de la carga microbiana en un suministro de agua puede ser más que suficiente. Por ejemplo, en la industria cervecera un tratamiento que no altera el sabor o la calidad del producto final es fundamental, y un número de fábricas de cerveza se han convertido en los principales usuarios de los sistemas de desinfección por luz ultravioleta. La dosis en el tratamiento del agua para cerveza puede ser bastante alta para garantizar la ausencia de problemas de deterioro durante las primeras etapas del proceso de elaboración de cerveza, encontrándose entre 300 a 600 J/m² en comparación con 200 a 300 J/m² para el tratamiento de agua potable (Bintsis y col., 2000).

El sistema más exitoso fue la planta Lembke de flujo turbulento. Se bombeó leche a alta velocidad a través de tubos transparentes de 1 cm de diámetro, lográndose así que el 80% de la radiación UV llegue a la leche. Se encontró que más del 99% de las bacterias inicialmente presentes en la leche fueran inactivadas. Sin embargo, la conservación de los atributos de calidad de esa leche fue peor que la de la leche

pasteurizada (mayor recuento microbiano) y esto se atribuyó a la supervivencia selectiva de coliformes (Lodi y col., 1996).

El Centro de Seguridad Alimentaria y Nutrición Aplicada a la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA) aprobó, en noviembre del año 2000, el uso de la luz UV para la reducción de patógenos y otros microorganismos en jugos (FDA, 2001). El éxito del sistema depende de asegurar que el flujo sea turbulento en vez de laminar, la temperatura del jugo por debajo de 5 °C y la aplicación de un riguroso programa de HACCP.

2.6. PERFIL DEL FLUJO

El perfil del flujo define el comportamiento del fluido en una tubería; este puede ser laminar, turbulento o una fase intermedia entre estas dos condiciones. El flujo laminar se comporta como diferentes láminas de fluido que se desplazan por la tubería; en el régimen turbulento se comporta como un solo bloque y existe una mezcla completa en todo el corte axial del fluido. Cuantitativamente el perfil del fluido viene definido por el número de Reynolds (Re), que es una medida adimensional que relaciona las fuerzas axiales y las tangenciales que interactúan con el fluido. Para Reynolds mayores de 2000 se considera un perfil de flujo turbulento completamente desarrollado; para valores menores se tienen perfiles de capa intermedia o de flujo laminar (Masschelein, 2002).

Se ha investigado el efecto que tiene el régimen de flujo en el tratamiento con luz UV-C en sidra de manzana y un sistema modelo obteniendo que a mayor valor de

Reynolds se logra una mejor mezcla dentro del producto por lo que se consigue una mejor exposición de los microorganismos vivos a la luz UV (Koutchma y col., 2004).

2.7. EFECTO DE LA TEMPERATURA DEL PRODUCTO DURANTE EL TRATAMIENTO

La temperatura óptima del producto durante el tratamiento con luz UV es alrededor de los 30 °C (Guerrero-Beltrán y Barbosa –Canovas, 2004), y a esta temperatura se considera como un tratamiento no térmico. Sin embargo al trabajar a esos valores de temperatura se generan compuestos que deterioran las características sensoriales como el color, sabor y olor en jugo de piña (Levy, 2008) y néctar de mango (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Canovas, 2004).

Al trabajar a una temperatura superior a los 10°C se reduce la población microbiana natural en 4,5 min de recirculación y se modifican los atributos sensoriales. Al establecer la temperatura de tratamiento en 5 °C o menos, se inactiva la misma concentración de microorganismos en 7 minutos y se preservan los atributos sensoriales del producto, lo que muestra que la temperatura de procesamiento afecta la eficiencia del tratamiento y las características del producto final (Levy, 2008).

2.8. TRATAMIENTO DE LUZ UV EN JUGOS

El tratamiento de jugos con UV es difícil debido a la baja transmitancia del jugo que contiene una alta suspensión de sólidos. Por lo tanto, para que el tratamiento sea efectivo, el jugo debe ser expuesto a la luz UV como una película delgada, distinto a

la forma convencional usada en el sistema de desinfección de agua (Tran y Farid, 2004). La mayoría de los trabajos realizados han sido diseñados con fines de pasteurización donde se propone la inactivación de 5 ciclos logarítmicos del patógeno pertinente.

López-Malo y col. (2001) determinaron la eficacia de la iluminación UV-C en jugo de zanahoria; del mismo modo examinaron los efectos de diferentes tasas de flujo y dosis de UV-C sobre la microflora y el color del jugo tratado. El jugo era bombeado empleando una bomba peristáltica a una tasa de flujo de 6-16 ml/s, el cual además era recirculado 25 veces controlando la temperatura a 15 °C. El efecto de la luz ultravioleta (UV-C) resultó en la disminución de 5 ciclos logarítmicos del recuento de microorganismos aerobios mesófilos luego de 30 min de tratamiento a 6 ml/s o el tratamiento a 16 ml/s luego de 12 min. En ambos casos se logró la reducción de bacterias a menos de 10 UFC/ml. Sin embargo, el recuento de mohos y levaduras se redujo solo de 1-1,5 ciclos logarítmicos. Las dosis de luz UV-C variaban dependiendo del tratamiento, los períodos de recirculación y las tasas de flujo, siendo las muestras por tanto tratadas a unas dosis de 12,9-34,4 J/cm². A través de un análisis de varianzas (ANOVA) se determinó que no se presentaron efectos significativos ($p > 0,05$) entre el tiempo de tratamiento y las dosis de UV sobre el color del jugo, comparado con el jugo de zanahoria fresco.

Tran y Farid (2004) evaluaron los efectos de las dosis de luz ultravioleta aplicadas a jugo de naranja, en el recuento total de bacterias, levaduras y mohos, así como su efecto sobre la vitamina C y la enzima pectin-metilesterasa. El reactor empleado era

de pequeñas dimensiones y dispuesto de forma vertical; la lámpara de baja presión de UV presentaba una longitud de 40 cm y 30 W de poder, capaz de emitir 6 W de luz ultravioleta germicida (254nm). A partir de esta investigación los autores concluyeron que la dosis de luz UV para alcanzar la reducción decimal requerida, es decir, la dosis necesaria para inactivar el 90 % de la población de cualquier microorganismo era de 87 ± 7 y 119 ± 7 mJ/cm² para el recuento estándar de aerobios y mohos y levaduras respectivamente. La vitamina C presente en el producto se degradaba a medida que se aumentaba la dosis de luz ultravioleta, degradándose un 12 % a 87 ± 7 mJ/cm² y un 17 % a altas dosis de luz ultravioleta de 100 mJ/cm²; y no se presentaron efectos sobre la actividad de la enzima pectin-metilesterasa luego de los tratamientos con luz ultravioleta, y los cambios en el pH y el color no estuvieron significativamente influenciados el tratamiento.

Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas (2006), evaluaron la inactivación de *Saccharomyces cerevisiae* y polifenoloxidasas en néctar de mango tratado con luz ultravioleta. En este estudio, el néctar de mango presentaba una concentración del 40%, más la adición de ácido cítrico y azúcar, dando lugar a un néctar con 13 °Brix. Para llevar a cabo el tratamiento con luz ultravioleta se inoculó un cultivo de *S. cerevisiae* en fase estacionaria temprana al néctar de mango, el cual era bombeado y recirculado por medio de una bomba peristáltica a través de la unidad de desinfección UV, utilizando flujos desde 0,073 hasta 0,450 l/min, durante un tiempo de procesamiento de 5 a 30 min, los cuales correspondían a dosis en el rango 75-450 KJ/m². Estos autores obtuvieron que la máxima reducción logarítmica alcanzada fue de 2,71 y 2,94 para los microorganismos totales y para las levaduras

respectivamente, luego de 30 min de tratamiento a una dosis de 450 KJ/m². En lo que respecta a la actividad de la enzima polifenoloxidasa, se tiene que su actividad inicial era de 76,8 ± 37,8 unidades de actividad enzimática (EAU, por sus siglas en ingles), luego del tratamiento con luz ultravioleta el remanente de actividad de la polifenoloxidasa fue de 19 ± 4 EAU, durante 30 min de tratamiento a una dosis de 450 KJ/m².

Keyser y col. (2008) evaluaron el efecto de diferentes dosis de luz ultravioleta sobre varios jugos de frutas, a través de un reactor diseñado como parte de la investigación, el cual fue capaz de bombear 3800 L/min con un número de Reynolds de 7500, implicando un flujo turbulento, a dosis que iban desde 0 a 1377 J/L. Con respecto al jugo de manzana se propusieron descontaminar la flora nativa obteniendo una reducción de 3,5 ciclos logarítmicos de aerobios mesófilos y 3,0 ciclos logarítmicos para mohos y levaduras, empleando una dosis de radiación de 230 J/L. A una dosis de radiación de 1377 J/L se logró la reducción de 7,42 ciclos logarítmicos de *Escherichia coli* K12 inoculado en jugo de manzana clarificado.

De La Hoz (2008) desarrolló un producto texturizado con carragenina, a base de pulpa de guayaba tratada con luz ultravioleta de onda corta (UV-C), investigando parámetros del proceso y su efecto sobre la carga microbiana para definir su eficiencia como tratamiento no térmico de preservación, así como la estabilidad del producto final durante el almacenamiento mediante el seguimiento de varios parámetros de calidad. Las condiciones del equipo que usó son las mismas empleadas en este proyecto. Para un flujo de 0,6 mL/s, temperatura del

refrigerante 25,5°C, usando néctar de guayaba al 40%, obtuvo una reducción de 0,787 Log₁₀ (UFC/mL) del recuento de *Saccharomyces cerevisiae*.

Levy (2008) desarrolló un producto esferificado a base de concentrado de parchita (*Passiflora sp.*) tratado con un equipo de luz UV, diseñado por él mismo y es el mismo usado para el presente trabajo experimental. El concentrado fue inoculado con una población de *Saccharomyces cerevisiae* en el orden de 10⁵ UFC/mL y sometido a tratamiento con luz ultravioleta estableciendo como variables la temperatura del proceso, variando entre 4 °C y 35 °C, y el flujo variando entre 1mL/min y 10mL/min, siendo la variable respuesta la cantidad de ciclos logarítmicos en los cuales se reduce la población de estas levaduras y el cambio de color en el jugo. No reportó dosis. De acuerdo con el diseño de superficie respuesta establecido por el autor, obtuvo que para maximizar la respuesta deseada, la temperatura óptima para dicho tratamiento fue 16 °C y el flujo óptimo fue 6 mL/min, obteniendo a partir de estas condiciones de tratamiento, una reducción de dos ciclos logarítmicos, con un mínimo cambio en el color del producto con respecto al producto sin tratar.

3. OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar los efectos de la luz ultravioleta sobre las características microbiológicas y sensoriales en los néctares de guayaba y parchita y en jugo de naranja.

Objetivos específicos:

- Determinar la carga microbiana de un néctar o jugo antes y después del tratamiento con luz ultravioleta.
- Determinar si el tratamiento con luz ultravioleta afecta los atributos sensoriales de los néctares y del jugo.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. MATERIALES Y EQUIPO DE TRABAJO

4.1.1. Lugar de trabajo

El equipo de luz ultravioleta (figura 3) se encuentra ubicado en el Laboratorio de Nuevas Tecnologías y Desarrollo de Productos, en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Universidad Central de Venezuela. Además es en este mismo lugar donde se suministraron los materiales, equipos, reactivos y medios de cultivo usados para este proyecto.



Figura 3. Sistema de luz UV (De La Hoz, 2008).

4.1.2. Tipos de néctares y jugo

Para el tratamiento en el sistema de luz UV se usó néctar de guayaba, parchita y jugo de naranja.

4.1.2.1. Néctar de guayaba.

El néctar es el producto fermentable, pero no fermentado, obtenido por la adición de agua y azúcares a los jugos de frutas y/o vegetales, sus concentrados, pulpas, pulpas concentradas o sus mezclas, cuyo contenido mínimo de sólidos de frutas, debe ser especificado en cada una de las normas individuales; según la Norma Venezolana COVENIN 1030 (1995).

Se adquirieron varias bolsas de pulpa congelada comercial (Dadirú, lote 397 GR, Carabobo, Venezuela) en suficiente cantidad como para trabajar con un solo lote de ellas y se almacenaron en un congelador (Electrolux FE 26, Suecia) a una temperatura de -7 °C. El néctar de guayaba se preparó, mezclando 30 gramos de pulpa con 70 mililitros de agua destilada esterilizada, según escogencia en el entrenamiento de los panelistas. Se usa agua destilada ya que es de fácil adquisición en el laboratorio y se esteriliza para que los microorganismos en el néctar sean los que provienen de la pulpa. Se ajustó la concentración de sólidos solubles hasta 9 °Brix con sacarosa comercial (azúcar comercial Montalbán, Carabobo, Venezuela), según la Norma establecida para el néctar (Norma CODEX STAN 247-2005). Para medir el nivel de °Brix se usó un refractómetro digital (ATAGO PR-101, Japón). El refractómetro mide el contenido de sólidos solubles que comprende todos los sólidos disueltos en el agua, incluso el azúcar, las sales,

las proteínas, los ácidos, etc., y la medida total se muestra en °Brix. Como los azúcares ocupan la mayor parte de los sólidos solubles (95% en frutas) estos últimos reflejan un valor bastante aproximado y útil como índice del contenido de azúcar.

4.1.2.2. Néctar de parchita

Se adquirieron varias bolsas de pulpa congelada comercial (Fontaine-Sante, lote V-102, Táchira, Venezuela) en suficiente cantidad como para trabajar con un solo lote de ellas. Se almacenó en un congelador a -7 °C. El néctar de parchita se preparó mezclando dos partes de pulpa con una parte de agua destilada esterilizada, según escogencia en el entrenamiento de los panelistas. Se ajustó la concentración de sólidos solubles hasta 12 °Brix con sacarosa comercial, según la Norma establecida para el néctar (Norma CODEX STAN 247-2005).

4.1.2.3. Jugo de naranja

El jugo de naranja, es el líquido no fermentado exprimible por la expresión de naranjas maduras, sanas y limpias de la especie *Citrus sinensis* L. o preparado a partir del concentrado de dicho jugo o de la mezcla de ambos, con la adición de agua equivalente a aquella porción evaporada del jugo de naranja durante el proceso de concentración, con agregado o no de edulcorantes naturales, según la Norma Venezolana COVENIN 1699 (1994).

Se compraron 40 litros de jugo de naranja 100% natural, de marca comercial UNICASA. Se homogenizaron en un tambor cilíndrico. El contenido original de

sólidos solubles del jugo fue de 11,6 °Brix y se ajustó hasta 12 °Brix, según la Norma Venezolana COVENIN 1699:1994, con sacarosa comercial. Seguidamente, el jugo homogeneizado se depositó en bolsas de polietileno (Ziploc, Estados Unidos), tipo mediana (18 x 20 cm), de 1 litro de capacidad. Se obtuvieron 38 bolsas con 1L cada una, las cuales se congelaron en un congelador de placas (Dole Refrigerating Company, Freeze Cel, USA), durante 45 minutos, alcanzando una temperatura de -30°C. Luego se almacenaron en el congelador a -7 °C. Se preparó suficiente muestra como para trabajar con un solo lote.

4.1.3. Cantidad de néctar y jugo para el procesamiento

Para cada ensayo se utilizaron 4 litros de néctar (o jugo), los cuales se dividieron en dos partes: 3L de néctar destinados al tratamiento con luz UV y 1L sin tratamiento (control). Por cada 3L de néctar procesados con luz UV se obtiene 1L de néctar; lo cual es debido a que 2L de néctar se quedan depositados dentro del equipo UV al finalizar cada corrida. Luego el néctar y jugo tratado y el control fueron evaluados microbiológica y sensorialmente por un panel entrenado.

4.1.4. Determinación de la carga microbiana

Para las diluciones se usó 90 mL de agua peptonada con 10 mL del néctar o jugo (ó 9 mL con 1 mL), según la Norma Venezolana COVENIN 1126 (1989).

Se realizó el recuento de hongos presentes en el néctar o jugo con y sin tratamiento usando Agar Papa Dextrosa (PDA) acidificado con ácido tartárico,

siembra en superficie (0,1 mL) por duplicado e incubado a 32 °C por 3-5 días, según la Norma Venezolana COVENIN 1337 (1990).

También se realizó el recuento de microorganismos aerobios mesófilos presentes en el néctar con y sin tratamiento usando Agar Estándar para Recuento en Placa (PCA), siembra en profundidad (1 mL) por duplicado e incubado a 35 °C por 24-48 horas, según la Norma Venezolana COVENIN 902 (1987).

4.1.5. Sistema de luz ultravioleta (UV)

El sistema de luz ultravioleta que se utilizó consta de tres lámparas de baja presión de mercurio (Sankyo Denki, Japón), que emiten de manera eficiente rayos UV a 253,7 nm. La lámpara presenta las siguientes dimensiones: 89,3 cm de longitud y 2,55 cm de diámetro. Las lámparas son principalmente usadas para la desinfección del aire, superficies de varios materiales y agua o líquidos. Su espectro de emisión se muestra en la figura 4.

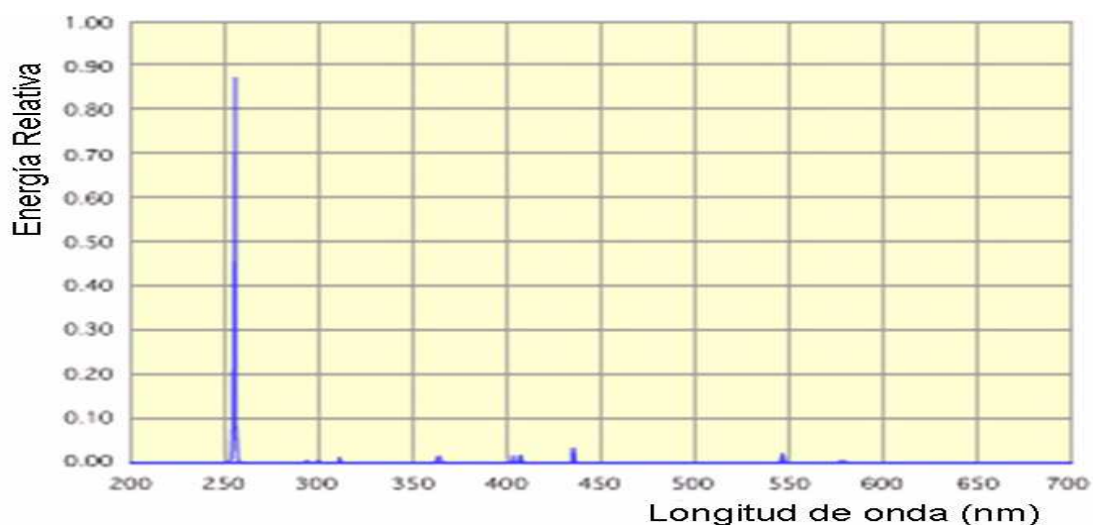


Figura 4. Espectro de emisión de la lámpara germicida Sankyo Denki G30T8. Fuente: http://www.sankyo-denki.co.jp/e2_01.html.

4.2. TRATAMIENTO DE LOS NÉCTARES Y DEL JUGO EN EL SISTEMA DE LUZ ULTRAVIOLETA

4.2.1. Materiales del sistema de luz UV

El equipo de luz UV consta de:

- Tres lámparas de baja presión de mercurio de 30 W de potencia y 13,4 W de salida de luz UV-C (253,7 nm) (Germicidal Lamp G30T8, Sankyo Denki, Japón).
- Tres tubos de acero inoxidable.
- Gomas y tuercas para armar los reactores.
- Dos intercambiadores de calor.
- Mangueras de silicón para las conexiones del equipo (Masterflex, modelo 96410-17, USA).
- Un baño de agua con regulación térmica automática (modelo Polystat 12104-00, USA).
- Un vaso de doble camisa de 2L para depositar el néctar antes del tratamiento.
- Bomba peristáltica con perilla a diferentes grados de ajuste: 0 a 10 (Fisher Scientific, modelo 96410-17, Alemania). Se usaron los grados de ajuste 5, 8 y 10.
- Un recipiente de 1L para el depósito final del néctar tratado.

4.2.2. Pasos para el tratamiento del néctar.

Las mangueras, intercambiadores de calor, vaso de doble camisa y el recipiente final deben estar esterilizados (121 °C por 15 min), y las lámparas de luz UV y los tubos de acero inoxidable deben estar limpios.

El reactor consta de una lámpara de luz UV (89,3 x 2,55 cm) dentro de un tubo de acero inoxidable (81 x 2,76 cm), el cual está cerrado en los extremos por medio de un sistema de gomas y tuercas de acero inoxidable; se obtiene una distancia de 2,1 mm entre el tubo y la lámpara, siendo éste el espacio por donde se transporta el néctar. Cada reactor (3 en total) funciona de forma independiente. Los reactores y los intercambiadores de calor están sujetos a un tabique mediante balastros.

Los intercambiadores de calor mantienen la temperatura del néctar tratado en menos de 30 °C y de esta manera se obtiene un tratamiento no térmico. Se ajusta la temperatura del baño de agua a 15 °C, temperatura óptima (Levy, 2008), se conecta al vaso de doble camisa, que contiene el néctar sin tratamiento, y a los intercambiadores de calor. En este equipo solo se puede usar agua destilada.

El néctar es depositado en el vaso de doble camisa y es impulsado por medio de la bomba peristáltica al grado de ajuste escogido. Se mantiene un flujo laminar dentro de los reactores evitando así la presencia de burbujas de aire causadas por la turbulencia del fluido que bloquean la transmisión de la radiación. Por otro lado el equipo presenta diferentes diámetros en las uniones entre los reactores y los intercambiadores de calor lo que permite la mezcla del fluido, permitiendo así una mejor exposición de los microorganismos a la radiación UV. Asimismo los intercambiadores de calor presentan cambios en el diámetro del tubo interior (paso del fluido caliente) lo que permite la mezcla del fluido mejorando así la eficiencia del proceso.

Finalmente el néctar tratado es depositado en el envase final donde una parte es destinada al análisis microbiológico y la otra para la evaluación sensorial. Este recipiente presenta un escape de aire para contrarrestar la entrada del néctar.

4.2.3. Sistema de mangueras

Los reactores se conectan a través de mangueras de silicón, las cuales presentan una elevada resistencia térmica permitiendo su esterilización en autoclave. Las conexiones son las siguientes (figura 4):

-Se conecta la manguera 1-I, la cual va desde la salida del reactor 1 a la entrada inferior del primer intercambiador (ubicado a la izquierda de la figura 4).

-La manguera I-2, la cual va desde la entrada superior del primer intercambiador a la entrada correspondiente del reactor 2.

-La manguera 2-I, la cual va desde la salida del reactor 2 a la entrada inferior del segundo intercambiador.

-La manguera I-3, la cual va desde la parte superior del segundo intercambiador a la entrada correspondiente del reactor 3.

-La manguera 3-F, la cual va desde la salida del reactor 3 a la entrada correspondiente del recipiente final; esta entrada consta de un tubo cilíndrico de vidrio, el cual posee un algodón en su parte superficial para evitar la entrada de microorganismos y debe quitarse antes de colocar la manguera.

-La manguera B se coloca en la bomba peristáltica. A esta se conecta la manguera B-1, la cual va desde la manguera B de la bomba peristáltica a la entrada del reactor 1.

-La manguera O-B, va desde el vaso de doble camisa a la manguera B de la bomba peristáltica.

4.2.4. Comienzo del proceso

Se presiona el botón encendido del enfriamiento/calentamiento del agua (ON) en el baño de agua. Cuando se haya alcanzado la temperatura en el baño de agua (15 °C) se presiona el botón encendido del transporte del agua (ON) en el baño de agua, se encienden las lámparas de luz UV. Seguidamente se mueve la perilla de la bomba peristáltica al grado de ajuste escogido y se enciende la bomba.

Luego de comenzado el proceso se revisa el buen funcionamiento del equipo. Cuando el néctar que está en el vaso de doble camisa se esté agotando se le añade la otra parte del néctar restante (3 litros en total).

Cuando ya se esté agotando todo el néctar contenido en el vaso de doble camisa, se tendrá 1 litro de néctar tratado con luz UVC; es decir, por cada 3 litros de néctar se obtendrá 1 litro de néctar tratado. El néctar restante queda dentro de los reactores y mangueras. Cuando el recipiente final contenga 1 litro de néctar tratado se apaga la bomba peristáltica, las lámparas de luz UV y el baño de agua.

4.2.5. Limpieza del sistema de luz UV

Las mangueras se desconectan de los reactores, de los intercambiadores y de la bomba y son lavadas con agua, cloro y jabón. Luego se guardan en sus estuches respectivos para ser esterilizados. El vaso de doble camisa, los intercambiadores y

el recipiente final son lavados y forrados con papel para que luego sean esterilizados.

Se desconectan del equipo los reactores. Se sacan las tuercas, se lavan los tubos de acero inoxidable, los bombillos de luz UV y las gomas. Finalmente se limpia toda la zona de trabajo.

4.3. DETERMINACION DEL FLUJO DEL NÉCTAR

Para la determinación de la dosis de luz UV recibida por los fluidos es necesario conocer el flujo de éstos a través del sistema. La bomba peristáltica tiene una perilla con diferentes grados de ajuste de 0 a 10. El caudal mínimo por el cual puede circular el néctar es 5, debido a su viscosidad. Para estudiar el efecto del tratamiento a diferentes flujos se seleccionaron tres grados de ajuste: uno de menor velocidad de transporte del néctar dentro del equipo (5), uno de mayor velocidad transporte del néctar (10) y un grado de ajuste intermedio (8). Para medir el flujo se hizo pasar el néctar sin tratamiento a través de todo el equipo de luz UV. Se sustituyó el recipiente final por un cilindro graduado de 100 mL. Se midió el tiempo (en segundos) necesarios para obtener 100 mL de néctar. Esta determinación se realizó por triplicado y se calculó un promedio. El flujo ($F = \text{mL/s}$) corresponde al volumen ($V = \text{mL}$) de líquido obtenido en el tratamiento por unidad de tiempo ($t = \text{s}$).

$$F = V (\text{mL})/t (\text{s}) \quad (1)$$

De esta manera se obtiene el flujo de un determinado néctar a un grado de ajuste específico. Se repitió este procedimiento para los otros grados de ajuste y para cada tipo de néctar.

4.4. MEDICIÓN DE LA DOSIS

Existen dos formas de reportar la dosis: en función del área iluminada y en función del volumen de líquido tratado.

4.4.1. Dosis por área

La Dosis por área (DA) es expresada en joules por centímetro cuadrado (J/cm^2) y se obtiene al multiplicar la intensidad (I) de luz UV-C emitida por el equipo de luz UV por el tiempo de retención (t_r) del néctar en el mismo. La intensidad es expresada en mili watts por centímetro cuadrado (mW/cm^2) y el tiempo en segundos (s).

$$DA (J/cm^2) = I (mW/cm^2) * t_r (s) / 1000 \quad (2)$$

La intensidad de luz UV-C se midió usando un radiómetro (radiometer photometer, ILT 1400-A, Internacional Light Technologies, USA) acoplado a un detector de luz UV (SEL 240/QNDS2/TD, Internacional Light Technologies, USA). Para ello se sujetó el radiómetro con un soporte universal y se colocó en contacto con la lámpara de luz UV, se tapó el resto del área de la lámpara y se realizaron mediciones por triplicado para cada lámpara, obteniendo un promedio; de esta manera se obtuvo la intensidad para cada lámpara.

El tiempo de retención se obtiene al dividir el volumen de cada reactor (V_r) por el flujo del néctar o jugo (F).

$$t_r (s) = V_r (mL) / F (mL/s) \quad (3)$$

El volumen del reactor es expresado en mililitros (mL); para obtenerlo se llenó con agua el reactor y se midió este volumen usando un cilindro graduado, se realiza por triplicado para cada reactor, obteniendo un promedio.

4.4.2. Dosis por Volumen

La Dosis por Volumen (DV) es expresada en kilo joules por litro (KJ/L) y se obtiene al dividir la salida total de luz ultravioleta de onda corta (UV-C), expresada en watts (W), por el flujo (F).

$$DV (KJ/L) = UV-C (W) / F (mL/s) \times (1000mL/L) * 1000 \quad (4)$$

La salida total de luz ultravioleta de onda corta (UV-C) se obtiene al multiplicar la intensidad de luz UV-C para cada reactor por el área (A) del reactor.

$$UV-C (mW) = I (mW/cm^2) * A (cm^2) / 1000 \quad (5)$$

El área iluminante de la lámpara es expresada en centímetros cuadrados (cm^2) y se obtiene al medir el diámetro (d) de cada uno de las lámparas (cilíndricos) con un vernier (Solingen, Alemania); se mide la longitud (h) del tubo y se calcula el área de un cilindro mediante la fórmula,

$$A = \pi * d * h \quad (6)$$

Las ecuaciones 1, 2, 3, 4, 5 y 6 son tomadas de Keyser y col. (2008).

4.5. MEDICIÓN DE LA ABSORBANCIA

Dado que la eficiencia de la luz UV en la inactivación microbiana en líquidos depende entre otros factores de la opacidad de éstos, se estudió la relación entre la tasa de inactivación microbiana y la absorbancia del jugo y los néctares. Para ello se determinó el espectro de absorción entre 235 y 280 nm de los néctares de guayaba y parchita y del jugo de naranja con un espectrofotómetro (Beckman, modelo DU7500, USA); y se determinó la absorbancia a 254 nm. Para ello fue necesario realizar varias diluciones para poder observar el espectro de absorción. Para las diluciones se tomaron 4 partes de agua destilada por una parte de jugo o néctar. El néctar de guayaba y el jugo de naranja se diluyeron serialmente tres veces, mientras que el néctar de parchita se diluyó solo dos veces. Para poder comparar la absorbancia a 254 nm del jugo y de los néctares diluidos en proporciones diferentes fue necesario aplicar un factor de conversión a la absorbancia para cada jugo o néctar obtenido.

Para el néctar de guayaba y el jugo de naranja se realizaron tres diluciones seriadas ($d=1/5$)³, mientras que para el néctar de parchita solo dos veces ($d=1/5$)².

Entonces:

$$(1/5)^2 / (1/5)^3 = (1/25) / (1/125) = 5$$

Se obtiene que el néctar de parchita estuvo cinco veces más concentrado que el néctar de guayaba y el jugo de naranja.

Para poder comparar la absorbancia de los néctares y el jugo tomando en cuenta los diferentes factores de dilución se usó la Ley de Lambert y Beer. En óptica esta

ley explica que hay una relación exponencial entre la transmisión de luz a través de una sustancia y la concentración de la sustancia, así como también entre la transmisión y la longitud del cuerpo que la luz atraviesa. Esta ley se define por la siguiente ecuación:

$$A = \alpha lc \quad (7)$$

Donde: A es la absorbancia, α es el coeficiente de absorción de la sustancia, l es la distancia que la luz atraviesa por el cuerpo y c es la concentración de la sustancia.

Entonces, A_1 y C_1 corresponde a la absorbancia y concentración del néctar de parchita obtenida en el espectrofotómetro mientras que A_2 y C_2 corresponden a la absorbancia y concentración corregida que debería tener dicho néctar. α y l son valores constantes para el néctar de parchita.

$$A_1 = \alpha l C_1 = 0,5465 \quad \text{y} \quad C_2 = C_1/5$$

$$A_2 = \alpha l C_2 \quad ; \quad C_1 = A_1/\alpha l \quad ; \quad A_2 = \alpha l C_1/5 = A_1/5$$

$$A_2 = 0,5465/5 = 0,1093$$

4.6. EVALUACIÓN SENSORIAL

4.6.1. Entrenamiento de los panelistas

Una vez obtenido el néctar o jugo tratado con luz UV se desea saber si el tratamiento ha modificado los atributos sensoriales del mismo. Por ello se emplea una prueba de evaluación sensorial con el uso de panelistas. Debido a que se dispuso de un mínimo de 4 y un máximo de 8 panelistas, estos debían ser

previamente entrenados en el uso de la prueba y en los parámetros del estímulo del néctar o jugo a evaluar (Pedrero y Pangborn, 1997).

Los panelistas estaban conformados por mujeres y hombres, de edades comprendidas entre 24 y 40 años y con disponibilidad para realizar las evaluaciones. Son entrenados con un mismo néctar o jugo a tres concentraciones diferentes de pulpa (o zumo) ó de °Brix, donde una de las concentraciones es la estipulada por la norma pertinente. El entrenamiento se realiza por medio de una prueba analítica descriptiva con una escala de 7 puntos donde se evalúan los atributos: color, olor, sabor, acidez y dulzor (figura 5).

Prueba analítica descriptiva para el néctar de guayaba.															
Panelista	Color			Olor			Dulzor			Sabor			Acidez		
	*C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															
8															

*C significa concentración

Escala de evaluación:

1. Me disgusta muchísimo
2. Me disgusta mucho
3. Me disgusta moderadamente
4. Ni me gusta ni me disgusta
5. Me gusta moderadamente
6. Me gusta mucho
7. Me gusta muchísimo

Figura 5. Modelo de hoja de evaluación sensorial utilizada en el entrenamiento de los panelistas.

Los panelistas evalúan, y se familiarizan con cada uno de los atributos sensoriales y seleccionan una de las concentraciones como preferida la cual es la destinada para el tratamiento con luz ultravioleta.

Se evaluó la coincidencia que tienen los panelistas en la calificación de un atributo sensorial (concordancia del juicio) así como su capacidad discriminadora con respecto al atributo. Los panelistas seleccionados para realizar la prueba de triángulo fueron aquellos que evalúan bajo una misma concordancia en los resultados, tolerancia al néctar o jugo así como disponibilidad de tiempo. También se hacen anotaciones de los criterios referentes a calidad del néctar o jugo, dificultad de la prueba y los atributos evaluados. El propósito de esta prueba es que el panelista seleccione cual es la concentración adecuada para cada néctar o jugo, así como conocer las características y atributos de cada néctar o jugo que se evaluó para luego compararla con el néctar o jugo tratado.

4.6.2. Prueba de triángulo

Una vez que los panelista han sido entrenados se realizó una evaluación sensorial, usando una prueba de diferenciación (prueba de triángulo), del néctar o jugo (guayaba, naranja o parchita) tratado con luz UV y el néctar no tratado (control). Esta es una prueba sensorial analítica discriminadora. Con la prueba de triangulo se determina si existe diferencia sensorialmente perceptible entre dos muestras, comparando tres muestras a la vez, de las cuales dos son iguales entre sí y la otra diferente (Pedrero y Pangborn, 1997).

El panel de evaluación sensorial estuvo integrado de por 4 a 6 jueces analíticos entrenados, los cuales evaluaron en dos series (repeticiones), es decir cada panelista hará dos veces la prueba de triángulo. El horario escogido para la evaluación sensorial fue a las 2 de la tarde, ya que para esta hora el néctar ya ha sido tratado y debidamente refrigerado, y el panelista ya ha tenido por lo menos una hora después de haber ingerido alimentos (Pedrero y Pangborn, 1997). La hoja de evaluación sensorial se muestra en la figura 6.

Analista: _____	Fecha: _____	
Prueba de triángulo del néctar de guayaba		
Por favor, tome agua-galleta-agua antes de probar cada muestra. Pruebe las muestras en el orden dado de izquierda a derecha, y tome agua-galleta-agua entre muestras. Coloque una X debajo del código de la muestra que es diferente a las demás.		
421	085	650
_____	_____	_____

Figura 6. Modelo de hoja de evaluación sensorial utilizada en la prueba de triángulo.

Se emplearon códigos para identificar cada una de las formulaciones empleadas los cuales se generaron a partir de números aleatorios. A cada panelista se le presentó una hoja de evaluación distinta.

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis estadístico a los recuentos microbiológicos, entrenamiento de los panelistas y a las pruebas de triángulo de los panelistas, en los cuales se determinó si hay o no diferencia estadísticamente significativa.

Se formuló como hipótesis nula que las muestras eran iguales y como hipótesis alternativa que las muestras eran diferentes. Se estableció un 5 % como nivel de significancia. Para la comparación de los datos se usó un programa estadístico de computadora STATGRAPHICS Centurion XV.II.

4.7.1. Análisis estadístico del recuento microbiológico

El análisis de varianza es una técnica estadística que, con base al principio de t de Student, permite estudiar si existe diferencia significativa entre la media de las calificaciones asignadas a más de dos muestras (Pedrero y Pangborn, 1997).

Para analizar el recuento microbiológico se usó un Análisis de Varianza de una vía, es decir, una variable independiente. La variable independiente fue la dosis y las variables dependientes fueron el recuento de microorganismos aerobios mesófilos y el recuento de hongos.

4.7.2. Análisis estadístico del entrenamiento de los panelistas

Para analizar estos datos se usó un Análisis de Varianza de dos vías, es decir, dos variables independientes. Las variables independientes fueron los panelistas y

la concentración del néctar o jugo, y las variables dependientes fueron color, olor, sabor, acidez y dulzor.

IV.7.3. Análisis estadístico de las pruebas de triángulo de los panelistas

Para la prueba de triángulo se usa la tabla de interpretación estadística de la prueba triangular para niveles de significancia del 10, 5, 1 y 0,1 % (Amerine y col., 1965). La tabla se encuentra en los anexos (tabla 28).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS NÉCTARES Y DEL JUGO

En este trabajo experimental se escogieron tres tipos néctar o jugo que fueran de fácil adquisición, económicos, de fácil almacenamiento y larga vida útil en congelación, que permitieran relacionar las características del producto y comparar resultados con los obtenidos por otros autores (jugo de naranja) así como obtener resultados pioneros (parchita y guayaba). Se realizó la caracterización de los mismos para poder comparar con otros autores (tabla 1).

Tabla 1. Caracterización de los néctares de guayaba, parchita y del jugo de naranja.

Néctar o jugo	Acidez Total Titulable (g ácido cítrico/100 mL jugo)	pH	°Brix
Naranja	1,02 ± 0,01	3,5	12
Guayaba	0,18 ± 0,01	4,0	9
Parchita	0,50 ± 0,01	3,17	12

Moreno y col. (2006) evaluaron el contenido de carotenoides totales en las cáscaras de naranjas de las variedades california, pineapple, criolla y cajera. También determinaron la acidez total titulable y el pH obteniendo los siguientes resultados: california: 0,81 ± 0,01 y 4,3; pineapple: 0,90 ± 0,01 y 3,8; criolla: 1,21 ± 0,01 y 3,5; cajera: 1,34 ± 0,01 g de ácido cítrico/100 mL jugo y 2,8 de pH. Se observa que el jugo de naranja usado en este trabajo experimental presentó una acidez total titulable y pH (tabla 1) que corresponde con la obtenida por otros autores.

La Procesadora de Jugos y Néctares Hidalgo S. A., México, es una empresa que elabora jugos y néctares guayaba, naranja, pera, manzana, durazno y mango. Reportan que el néctar de guayaba elaborado por ellos presenta una acidez titulable de 0,294 g de ácido cítrico/100 mL y un pH entre 3,5-4. (http://www.acambiode.com/producto_35546635945665076584909006060186.html). Se obtiene que el néctar de guayaba elaborado en este trabajo experimental presentó una acidez total titulable menor (tabla 1). Esto es debido a que el néctar se preparó a la menor dilución de la recomendación por la norma (30 %), el cuál fue seleccionado por los panelistas en su entrenamiento. Según los panelistas la pulpa de guayaba con la que se preparó el néctar no estaba completamente madura y recomendaron la menor dilución del mismo. De esta manera se obtiene una acidez total titulable a un 30 % de concentración la cual es menor a la reportada por La Procesadora de Jugos y Néctares Hidalgo S. A. a una concentración posiblemente mayor.

González (1984) estudió tres marcas comerciales de néctar de parchita pasteurizado, seleccionando 37 muestras de cada una de ellas, con no más de 48 horas de elaboración, de modo de poder conocer la microflora presente, algunos parámetros físico-químicos y su estabilidad comercial, siguiendo las normas establecidas por COVENIN. Obtuvo una acidez total titulable entre 0,51-0,72 g/100 mL y pH entre 2,7-3,3. Se comparó con el obtenido en este trabajo (tabla 1) y se observa que presenta una acidez total titulable ligeramente menor.

5.2. DOSIMETRÍA

5.2.1. Intensidad de luz UV

Este es el tercer trabajo experimental que se realiza en el equipo de luz UV y por lo tanto fue necesario medir la intensidad real de cada una de las lámparas con un radiómetro, sin tomar en cuenta la reportada por el fabricante. La luz de las lámparas UV pierden intensidad con el uso, especialmente en la zona UV-C (Lagunas-Solar y Gómez-López, 2007), por lo cual la intensidad reportada por el fabricante sirve sólo como punto de referencia, y no puede ser usada como dato confiable sin correr el riesgo de sobreestimación, especialmente cuando estas lámparas ya han sido usadas en dos trabajos anteriores. Además, como los reactores no tienen un volumen estándar estos se midieron para obtener un correcto cálculo de la dosis. El área de los reactores se midió y se reporta el promedio (tabla 2).

Tabla 2. Caracterización de los reactores de luz UV-C.

Reactor	Volumen (mL) del reactor	Área del reactor (cm ²)	Intensidad (mW/cm ²)
1	384,33	648,89	12,91
2	387,33	648,89	17,19
3	370,33	648,89	11,39

5.2.2. Dosis por volumen y dosis por área

Uno de los aspectos más importantes de los estudios sobre aplicaciones de luz UV-C es la dosimetría. Una dosimetría adecuadamente realizada permite comparar resultados obtenidos por distintos investigadores que han trabajado con equipos con diferentes configuraciones. Por ello se determinó la dosis por volumen y la dosis por área (tabla 3).

Tabla 3. Determinación de la dosis por volumen y dosis por área del néctar de guayaba, parchita y jugo de naranja.

Néctar o jugo	Flujo (mL/s)	DV (KJ/L)	DA (J/cm ²)
Naranja	2,70	9,97	5,87
	2,40	11,22	6,60
	1,40	19,23	11,31
Guayaba	1,85	14,55	8,56
	1,66	16,22	9,54
	1,14	23,62	13,89
Parchita	4,35	6,19	3,64
	3,70	7,28	4,28
	2,44	11,03	6,49

Los tratamientos con luz UV han sido clásicamente desarrollados para aplicación en superficies, y la dosimetría se reporta en energía por unidad de área. En el caso de líquidos, Keyser y col. (2008) proponen alternativamente reportar la dosimetría en energía por unidad de volumen, dado que en estos casos la luz UV penetra en el volumen de alimento.

Puede observarse como la dosis decrece cuando se incrementa el flujo debido a que el tiempo de residencia es menor. Por lo tanto, en flujos altos la energía incidente para inactivar los microorganismos es menor (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2006).

Según Blagoev y col. (2006), una dosis que se encuentre alrededor de 0,5-20 J/m² (0,05-2 mJ/cm²) causa la alteración directa del ADN microbiano a través de la formación de dímeros. Esta dosis es menor que las obtenidas para cada uno de los néctares y jugo (tabla 2) y, por lo tanto, se espera reducción del número de microorganismos.

5.3. INACTIVACIÓN MICROBIANA

Se calculó la reducción logarítmica del recuento de microorganismos aerobios mesófilos y de hongos por cada dosis para cada uno de los néctares y el jugo (tablas 4-9). Se obtiene que a medida que aumenta la dosis aumenta la reducción logarítmica y es debido a que se emplea mayor energía en el tratamiento. Hay que exceptuar la reducción logarítmica de hongos obtenida para el néctar de parchita (tabla 9) donde el recuento de hongos en placa se encontró fuera de las normas de contaje (<20 UFC por placa). Para este caso un aumento de la dosis no corresponde directamente a un aumento de la reducción logarítmica.

Tabla 4. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del jugo de naranja tratado con diferentes dosis de luz UV-C.

Dosis (KJ/L)	Tratamiento	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Media
9,97	Control	4,24	3,77	4,10	
	Tratado	3,84	3,27	3,80	
	Reducción logarítmica	0,40	0,50	0,30	0,40±0,10
11,22	Control	3,81	4,10	4,19	
	Tratado	3,50	3,59	3,67	
	Reducción logarítmica	0,31	0,51	0,52	0,44±0,12
19,23	Control	4,06	4,05	4,27	
	Tratado	3,00	3,16	3,46	
	Reducción logarítmica	1,06	0,89	0,81	0,92±0,13

Tabla 5. Recuento de hongos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del jugo de naranja tratado con diferentes dosis de luz UV-C.

Dosis (KJ/L)	Tratamiento	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Media
9,97	Control	5,23	5,12	4,98	0,38±0,12
	Tratado	4,89	4,84	4,47	
	Reducción logarítmica	0,34	0,28	0,51	
11,22	Control	5,13	5,17	5,33	0,43±0,04
	Tratado	4,69	4,78	4,86	
	Reducción logarítmica	0,44	0,39	0,47	
19,23	Control	5,32	5,04	5,15	0,93±0,39
	Tratado	3,95	4,22	4,54	
	Reducción logarítmica	1,37	0,82	0,61	

Tabla 6. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del néctar de guayaba tratado con diferentes dosis de luz UV-C.

Dosis (KJ/L)	Tratamiento	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Media
14,55	Control	2,20	2,47	2,22	0,17±0,17
	Tratado	1,82	2,35	2,18	
	Reducción logarítmica	0,38	0,11	0,04	
16,22	Control	2,29	2,39	1,94	0,37±0,08
	Tratado	2,00	2,01	1,48	
	Reducción logarítmica	0,29	0,38	0,45	
23,62	Control	2,64	2,73	2,59	0,51±0,09
	Tratado	2,02	2,30	2,10	
	Reducción logarítmica	0,62	0,43	0,49	

Tabla 7. Recuento de hongos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del néctar de guayaba tratado con diferentes dosis de luz UV-C.

Dosis (KJ/L)	Tratamiento	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Media
14,55	Control	3,02	3,93	3,90	0,25±0,17
	Tratado	2,73	3,86	3,49	
	Reducción logarítmica	0,28	0,07	0,41	
16,22	Control	3,74	3,21	3,95	0,37±0,05
	Tratado	3,40	2,87	3,52	
	Reducción logarítmica	0,34	0,34	0,43	
23,62	Control	3,98	3,95	3,44	0,53±0,09
	Tratado	3,56	3,36	2,85	
	Reducción logarítmica	0,42	0,59	0,59	

Tabla 8. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del néctar de parchita tratado con diferentes dosis de luz UV-C.

Dosis (KJ/L)	Tratamiento	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Media
6,19	Control	3,60	3,53	3,31	0,81±0,05
	Tratado	2,73	2,74	2,52	
	Reducción logarítmica	0,87	0,79	0,79	
7,28	Control	3,57	3,65	3,72	1,20±0,23
	Tratado	2,10	2,57	2,66	
	Reducción logarítmica	1,47	1,08	1,06	
11,03	Control	3,36	3,49	3,66	1,36±0,27
	Tratado	1,75	2,09	2,59	
	Reducción logarítmica	1,61	1,40	1,07	

Tabla 9. Recuento de hongos (\log_{10} UFC/mL) y reducción logarítmica del néctar de parchita tratado con diferentes dosis de luz UV-C.

Dosis (KJ/L)	Tratamiento	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Media
6,19	Control	2,65	2,85	2,58	0,06±0,07
	Tratado	2,52	2,80	2,58	
	Reducción logarítmica	0,13	0,05	0,00	
7,28	Control	2,71	2,53	2,62	0,52±0,13
	Tratado	2,06 *	1,95 *	2,25 *	
	Reducción logarítmica	0,65	0,58	0,37	
11,03	Control	2,30	2,13 *	2,37	0,46±0,46
	Tratado	2,20 *	1,15 *	2,07 *	
	Reducción logarítmica	0,10	0,98	0,30	

* Recuento fue menor al límite mínimo reportado por la norma ($2,3 \log_{10}$ UFC/mL).

Son pocos los trabajos realizados en descontaminación de jugos o néctares con tratamiento de luz UV-C sin inoculación de algún microorganismo. La mayoría son diseñados con fines de pasteurización donde se propone la reducción de 5 ciclos logarítmicos del patógeno pertinente, según requisito de la FDA.

Tran y Farid (2004) se propusieron inactivar la flora nativa del jugo de naranja usando un equipo de luz UV. El equipo consistía de una lámpara de UV con recirculación del jugo, flujo 0,6 L/min (10mL/s), espesor de película delgada entre 0,41-0,48 mm, temperatura del refrigerante 25 °C, y dosis 73,8 mJ/cm² (0,073 J/cm²). En estas condiciones los autores obtuvieron una reducción de 0,52 Log₁₀ (UFC/mL) del recuento de microorganismos aerobios mesófilos y 0,35 Log₁₀ (UFC/mL) del recuento de hongos.

Keyser y col. (2008) se propusieron descontaminar la flora nativa del jugo de naranja y néctar de guayaba-piña, entre otros, usando un equipo de luz UV. El equipo consistía de diez lámparas de UV con recirculación del jugo, volumen de 80 L, flujo 4000 L/min (111,1 mL/s), espesor de película delgada de 1 mm, temperatura del refrigerante 8-10 °C, y dosis 0,23-2,30 KJ/L. Trabajaron con dos tipos de jugo de naranja (A y B) y obtuvieron una reducción de 0,89 Log₁₀ (UFC/mL) del recuento de microorganismos aerobios mesófilos y 0,3 Log₁₀ (UFC/mL) del recuento de hongos, para el jugo de naranja A, a una dosis de 1,38 KJ/L. Para el jugo de naranja B obtuvieron 0,3 Log₁₀ (UFC/mL) del recuento de microorganismos aerobios mesófilos y 0,3 Log₁₀ (UFC/mL) del recuento de hongos, a una dosis de 1,61 KJ/L. En cuanto al néctar de guayaba-piña los autores obtuvieron una reducción de 3,31 Log₁₀ (UFC/mL) del recuento de microorganismos aerobios mesófilos y 4,48 Log₁₀ (UFC/mL) del recuento de hongos, a una dosis de 1,38 KJ/L.

Si comparamos los resultados obtenidos en este proyecto con los otros ya descritos se observa que los niveles de descontaminación son muy similares, aunque la dosis usada es mayor, donde se usa una dosis muy alta para obtener una reducción logarítmica similar. Esto es debido a que la bomba peristáltica usada no permitía usar flujos de menor velocidad. Además, el espesor de la película delgada fue de 2,1 mm el cual es superior al recomendado para la desinfección de jugos en equipos de luz UV, 1 mm. Según Tran y Farid (2004), ha sido reportado que cualquier líquido opaco puede ser considerado transparente a la luz UV si el espesor de la película es menor de 1,6 mm. Por lo tanto, parte del

jugo que es procesado no recibe el tratamiento y es contado como parte del volumen del equipo y como consecuencia una sobrestimación de la dosis. Es por eso que el equipo presenta diferentes diámetros en las uniones entre los reactores y los intercambiadores de calor lo que permite la mezcla del fluido, permitiendo así una mejor exposición de los microorganismos a la radiación UV. Asimismo los intercambiadores de calor presentan cambios en el diámetro del tubo interior (paso del fluido caliente) lo que permite la mezcla del fluido mejorando así la eficiencia del proceso.

5.4. TASA DE INACTIVACIÓN MICROBIANA

A continuación se presentan las curvas dosis-respuesta (figuras 7-12) para los diferentes líquidos tratados junto con su análisis estadístico; se muestra la reducción logarítmica del recuento de microorganismos aerobios mesófilos y hongos en los néctares de parchita y guayaba y jugo de naranja a diferentes dosis (por volumen). Además, se incluye el análisis estadístico de la reducción logarítmica con cada dosis. Para el análisis estadístico se uso un ANOVA de una vía.

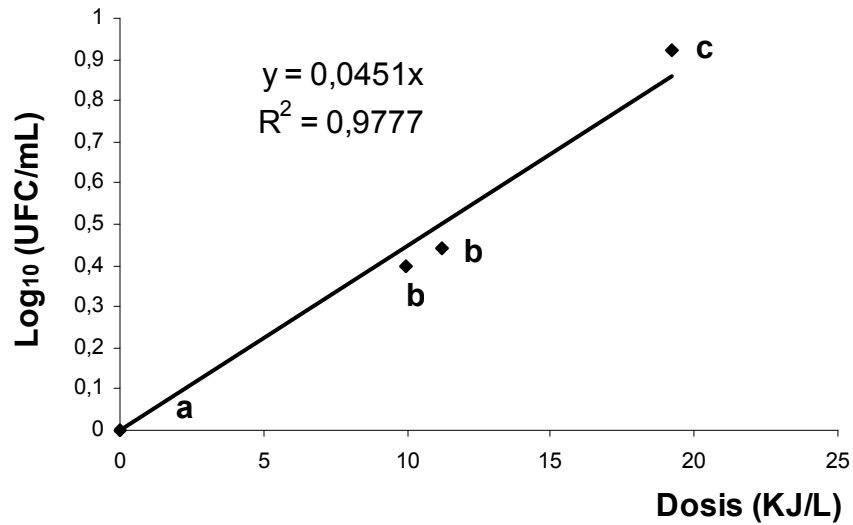


Figura 7. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de microorganismos aerobios mesófilos en el jugo de naranja después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).

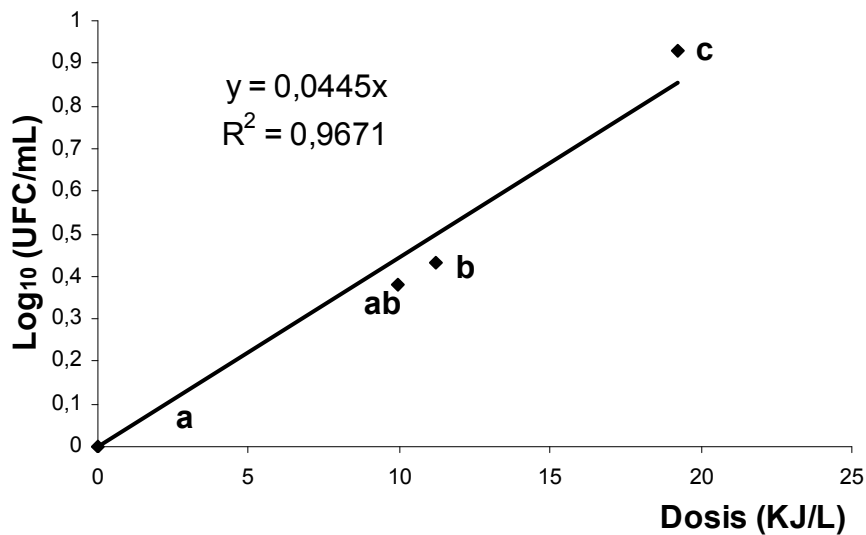


Figura 8. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de hongos en el jugo de naranja después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).

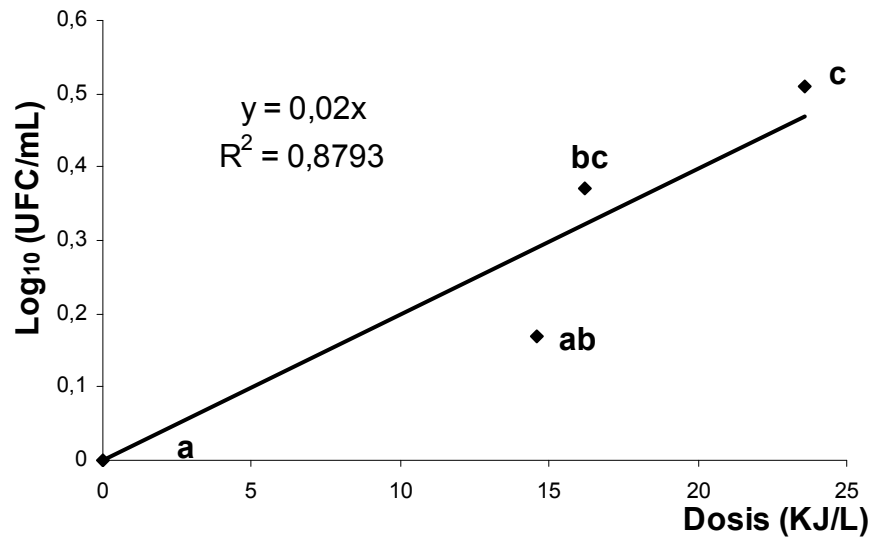


Figura 9. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de microorganismos aerobios mesófilos en el néctar de guayaba después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).

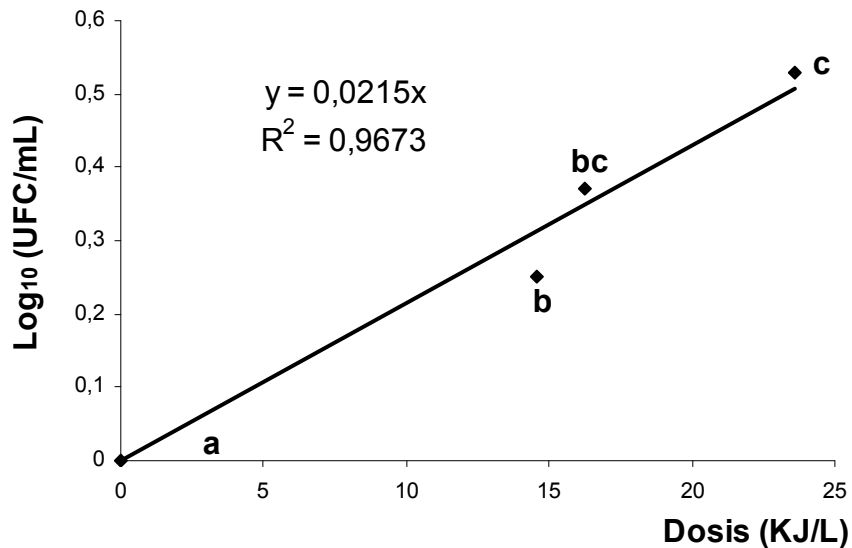


Figura 10. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de hongos en el néctar de guayaba después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).

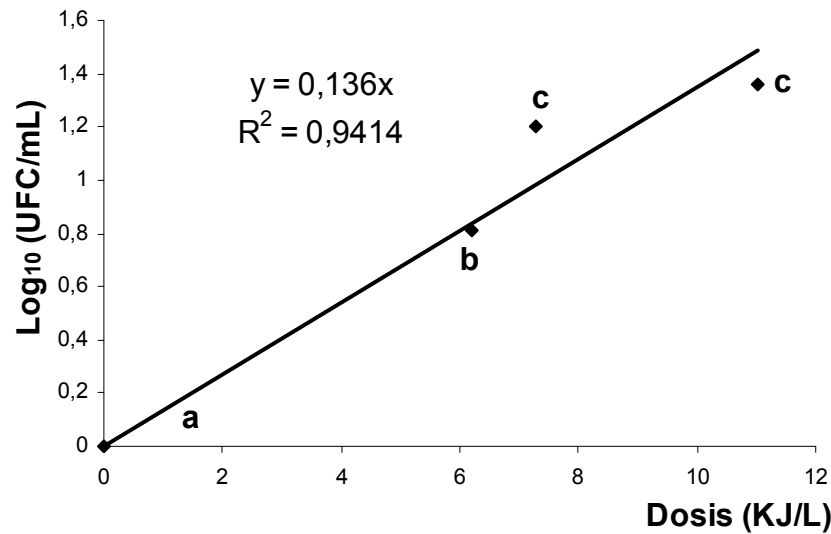


Figura 11. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de microorganismos aerobios mesófilos en el néctar de parchita después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).

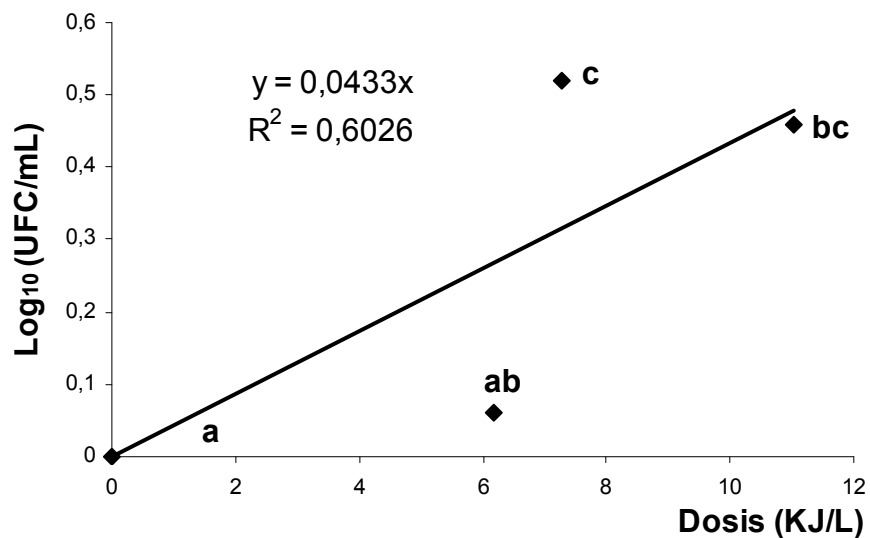


Figura 12. Reducción logarítmica y análisis estadístico del recuento de hongos en el néctar de parchita después de la exposición a diferentes dosis. Letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($\alpha > 0,05$).

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el recuento de microorganismos aerobios mesófilos y de hongos a un nivel del 95% de confianza para cada uno de los líquidos. La figura 11, referente al recuento de hongos en el néctar de parchita, se obtiene un R^2 de 0,6026, lo cual indica que la gráfica no presenta una tendencia lineal. Debido a que el néctar de parchita presentaba una carga microbiana de hongos muy baja, su recuento de hongos después del tratamiento estuvo por debajo del establecido por la metodología el cual requiere más de 20 UFC/placa, y de esta manera no se obtuvo una respuesta lineal de la dosis con respecto a la reducción logarítmica (figura 12).

En estas figuras puede observarse cómo el nivel de inactivación de ambos grupos de microorganismos se incrementa a medida que aumenta la dosis, y que esta relación es lineal. En términos generales la inactivación de ambos grupos de microorganismos fue mayor en néctar de parchita (mayor pendiente de la recta) en comparación con el jugo de naranja, y ésta a su vez fue mayor que para el néctar de guayaba. Esto puede deberse a dos factores, a diferencias en sensibilidad de la microflora natural de cada uno de ellos y/o a diferencias en absorbancia que dificultan el contacto entre la luz UV-C y los microorganismos.

5.5. RELACIÓN ENTRE ABSORBANCIA E INACTIVACIÓN MICROBIANA

Varios factores que pueden influir en la iluminación de jugos con luz UV han sido estudiados; uno de los más importantes es la absorbancia (Koutchma y col., 2004). Para establecer la posible existencia de una relación entre la eficiencia de

la luz UV-C en la inactivación microbiana entre los líquidos estudiados, se determinó la absorbancia del jugo de naranja (figura 13) y de los néctares de guayaba (figura 14) y parchita (figura 15) a diferentes longitudes de onda de luz UV-C, incluyendo especialmente 254 nm, la cual representa la longitud de onda de máxima emisión de las lámparas usadas (figura 4). Los resultados se muestran en las siguientes figuras haciendo énfasis en la absorbancia a 254 nm. Se observa que la absorbancia aumenta a longitudes de onda menores a 254 nm y disminuye a longitudes de onda mayores a 254 nm.

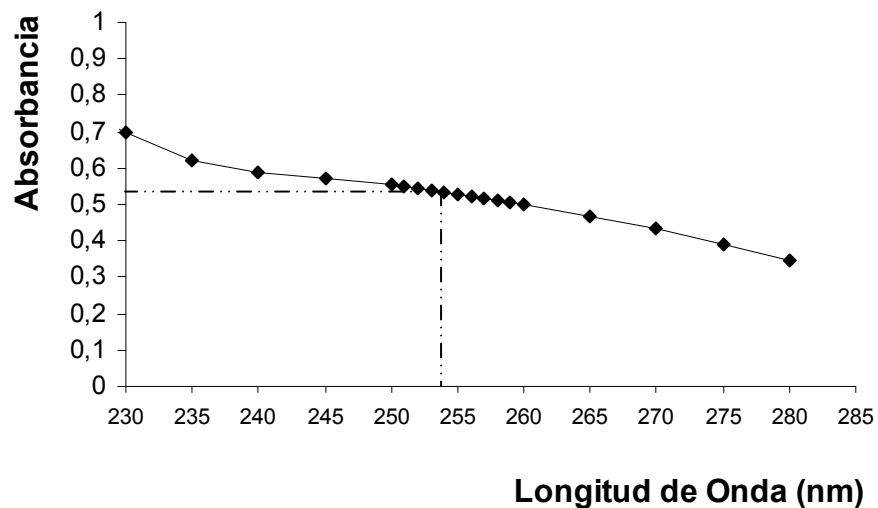


Figura 13. Absorbancia del jugo de naranja (dilución $d=1/125$) a diferentes longitudes de onda de luz UV-C.

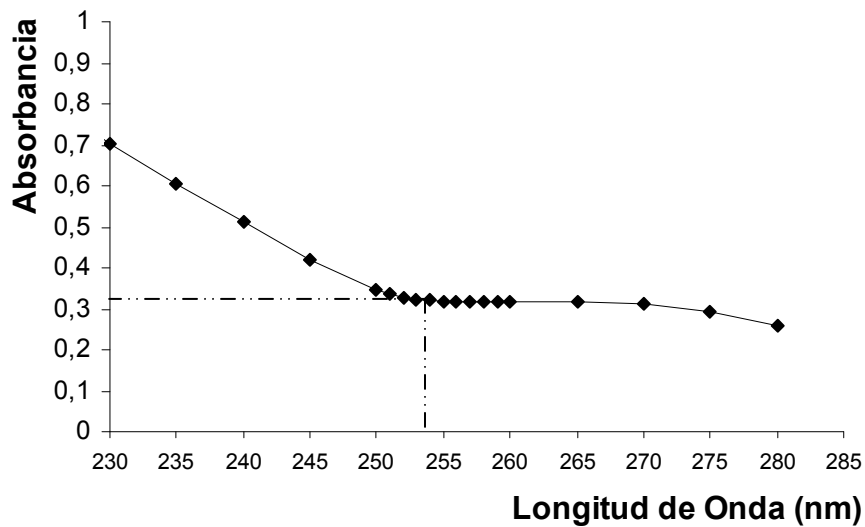


Figura 14. Absorbancia del néctar de guayaba (dilución d=1/125) a diferentes longitudes de onda de luz UV-C.

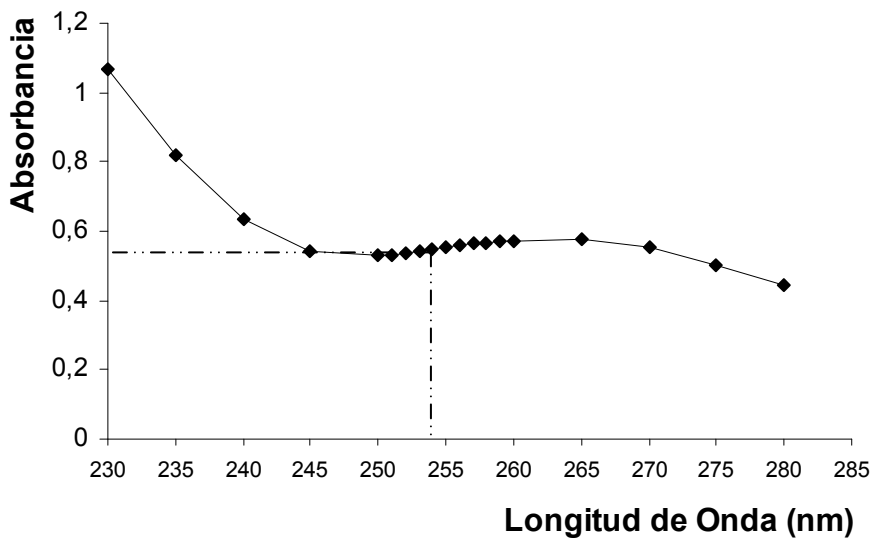


Figura 15. Absorbancia del néctar de parchita (dilución d=1/25) a diferentes longitudes de onda de luz UV-C.

Shama (1992) propuso que los líquidos con una alta absorbancia a la luz UV presentan una baja eficiencia en la reducción de los microorganismos. Usando un equipo de luz UV, procesó agua ($A_{254} = 0,18$) y una solución de ácido húmico 50

mg/L ($A_{254} = 4,0$), ambas inoculadas con *Escherichia coli* en una concentración de $1,2 \times 10^7$ UFC/mL. El equipo UV consistía de 5 lámparas de baja presión de mercurio con 42 W de potencia, temperatura del refrigerante 18 °C, espesor de la película delgada 1 mm. Obtuvo una reducción de cinco ciclos logarítmicos para el agua y cuatro ciclos logarítmicos para la solución de ácido húmico, en 30 min de recirculación. También Koutchma y col. (2004) observaron una menor tasa de inactivación microbiana al aumentar la turbiedad de sidra de manzana.

La inactivación microbiana obtenida va a depender de forma inversa a la absorbancia del néctar o jugo tratado en el equipo de luz UV, sin embargo, está directamente relacionada con el título microbiano inicial del néctar o jugo.

Es de resaltar que los estudios que relacionan la tasa de inactivación microbiana con turbiedad o absorción de luz UV por el líquido tratado se realizan comparando un mismo líquido base al cual se le varía artificialmente la turbiedad; mientras que en el presente trabajo se intentó hallar una correlación entre estos parámetros comparando jugos diferentes.

Se obtuvo que el néctar de parchita es el que absorbe menos luz UV (0,11, absorbancia corregida), seguido del néctar de guayaba y luego el jugo de naranja. El jugo de naranja fue el más concentrado ya que no fue diluido y por éllo, el de mayor absorbancia, mientras que los néctares fueron diluidos con agua destilada

esterilizada. La pulpa de parchita resultó ser calidad inadecuada pues ya venía diluida obteniéndose un líquido claro, siendo el néctar con menor absorción de luz UV. Además, como los néctares y el jugo son simplemente diferentes, no se espera que tengan una misma absorbancia, y como la carga inicial de microorganismos para cada néctar y jugo no era la misma, no se espera necesariamente que el de mayor absorbancia sea el de menor reducción logarítmica y viceversa (tabla 10).

Tabla 10. Comparación de la absorbancia a 254 nm, título inicial y tasa de inactivación (\log_{10} UFC/KJ) para jugo de naranja y los néctares de guayaba y parchita.

Néctar o Jugo	Absorbancia	Microorganismos	Título inicial \log_{10} (UFC/mL)	Tasa de inactivación
Naranja	0,53	Aerobios mesófilos	4,09	0,0451
		Hongos	5,15	0,0445
Guayaba	0,32	Aerobios mesófilos	2,39	0,0200
		Hongos	3,58	0,0215
Parchita	0,11	Aerobios mesófilos	3,56	0,1360
		Hongos	3,58	0,0433

La absorbancia de los néctares de guayaba y parchita y del jugo de naranja fue comparada con la pendiente de la recta de reducción logarítmica de cada una (figuras 6-11). El valor de esta pendiente indica la velocidad de inactivación de los microorganismos con respecto a la dosis de exposición, es decir, la tasa de inactivación. En cuanto a los aerobios mesófilos se obtiene que el néctar de parchita, el de menor absorbancia a 254 nm, presentó una mayor velocidad de inactivación, a pesar de no tener el mayor título microbiano y es seguido del jugo de naranja (título microbiano más alto) y el néctar de guayaba. En cuanto a los hongos la carga microbiana en el néctar de parchita (menor absorbancia) era muy

baja e incluso por debajo de las reglas de contaje en placa. El jugo de naranja, el cual presentó el mayor recuento inicial de hongos, fue el de mayor velocidad de inactivación seguido del néctar de guayaba.

5.6. ENTRENAMIENTO DE LOS PANELISTAS

Dado que el diseño de este trabajo incluía pruebas de evaluación sensorial por el método del triángulo, fue necesario seleccionar y entrenar a los participantes en ellas. El análisis estadístico del entrenamiento de los panelistas se muestra en la tabla 11. Para el análisis estadístico se usó un ANOVA de dos vías.

Tabla 11. Análisis estadístico del entrenamiento de los panelistas.

Néctar o Jugo	Comparación de concentraciones		Color	Olor	Dulzor	Sabor	Acidez
Naranja	12 °Brix al 60 %	7 °Brix al 60%	A **	-	-	-	B
	12 °Brix al 100 %	12 °Brix al 60%	Ca	-	b	-	-
	12 °Brix al 100 %	7 °Brix al 60 %	c	d	e	-	-
Guayaba	40 %	20 %	-	a *	b	c	-
	40 %	30 %	-	-	-	d	-
	30 %	20 %	-	f	g	h	-
Parchita	12 °Brix	6 °Brix	-	-	a	b	-
	12 °Brix	9 °Brix	-	-	c	-	d
	9 °Brix	6 °Brix	-	-	-	e	-

* Letras minúsculas indican que hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de cada atributo sensorial, entre una concentración y otra, ($\alpha > 0,05$).

** Letras mayúsculas indican que hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de cada atributo sensorial, entre un panelista y otro, ($\alpha > 0,05$).

- La ausencia de letras indica que no hay diferencia estadísticamente significativa.

Del análisis estadístico se obtiene que los néctares de guayaba, parchita y el jugo de naranja presentaron diferencias estadísticamente significativas en los atributos sensoriales, entre una concentración y otra (letras minúsculas de la tabla 11), con

un nivel del 95% de confianza. Los panelistas detectaron diferencias en el olor, dulzor y sabor del néctar de guayaba cuando a este se le varía la concentración de la pulpa y por lo tanto, las tres concentraciones evaluadas fueron estadísticamente diferentes. Al variar la concentración de °Brix en el néctar de parchita los panelistas detectaron diferencias en el dulzor, sabor y acidez y por lo tanto, las tres concentraciones evaluadas fueron estadísticamente diferentes. En el jugo de naranja se varió tanto la concentración del jugo como los °Brix y se obtuvo que los panelistas detectaron diferencias en el color, olor y dulzor cuando se varía la concentración del jugo y por lo tanto, esas concentraciones son diferentes; sin embargo, no detectaron diferencias en el jugo cuando se le varía la concentración de °Brix y por lo tanto, estas dos concentraciones evaluadas son estadísticamente iguales. Es posible que la acidez del jugo atenuara la percepción de los atributos sensoriales y de esta manera no se aprecian las modificaciones hechas en los °Brix.

En el jugo de naranja los panelistas detectaron diferencias en los atributos sensoriales color y acidez, entre un panelista y otro (letras mayúsculas de la tabla 11), con un nivel del 95% de confianza. Esto significa que no hubo concordancia en la valoración de los atributos color y acidez (escala de evaluación de 1 a 7) del jugo de naranja. Entonces, el entrenamiento se completó para la evaluación de los atributos sensoriales entre una concentración y otra, pero podría mejorarse para lograr una concordancia similar en la evaluación de los atributos sensoriales por parte de los panelistas. Sin embargo, debido a que los panelistas son entrenados para realizar la prueba de triángulo, donde el objetivo es encontrar diferencias

entre tres muestras, solo es necesario que detecten diferencias entre los atributos de los néctares y del jugo entrenado y no importaría la escala de diferenciación de los mismos. Si fueran entrenados para realizar una prueba con escala hedónica, donde se califica de acuerdo a una escala de valores, si sería necesario completar adecuadamente el entrenamiento.

5.7. EFECTO DEL TRATAMIENTO UV-C SOBRE LA CALIDAD SENSORIAL DE LOS NÉCTARES Y EL JUGO

Se realizó una prueba de triángulo con panelistas entrenados para analizar los néctares de guayaba, parchita y jugo de naranja con y sin tratamiento. Los resultados se encuentran reportados en la tabla 12.

Tabla 12. Análisis estadístico de la prueba de triángulo.

Néctar o jugo	Dosis (KJ/L)	Respuestas totales	Respuestas correctas	Respuestas incorrectas	Valor de significancia
Naranja	9,97	16	12	4	9
	19,23	18	15	3	10
Guayaba	14,55	16	12	4	9
	23,62	14	11	3	9
Parchita	6,19	20	18	2	11
	11,03	16	14	2	9

Tanto para los néctares de guayaba y parchita como para el jugo de naranja se obtuvo que el número mínimo de respuestas correctas fue mayor que el reportado en la tabla (valor de significancia) y, por lo tanto, se determinó que los néctares y el jugo tratado con luz UV son diferentes al control (sin tratamiento), con un nivel

de 95% de confianza. Para obtener el valor de significancia se usó la tabla de interpretación estadística de la prueba triangular para niveles de significancia del 10, 5, 1 y 0,1 % (ver anexos, tabla 28).

Según los panelistas las diferencias que encontraron en los néctares y jugos, se caracterizaron por un cambio de color, olor y/o la presencia de un sabor metálico en el néctar o jugo tratado con el sistema de luz UV-C.

5.8. PRODUCTO SECUNDARIO POSIBLEMENTE FORMADO EN EL TRATAMIENTO CON LUZ UV-C

Los panelistas notaron cambios en el color, olor y/o presencia de un sabor metálico en el néctar o jugo tratado con luz UV-C. El néctar o jugo al final del tratamiento alcanza temperaturas inferiores a 30 °C y el cambio en el olor del mismo podría ser debido a un compuesto volátil como el furano. El furano es un líquido de olor a cloroformo, estable al aire y a los álcalis de punto de ebullición 32 °C (Hans, 1987), que ha sido detectado en jugos luego de tratamiento con luz UV-C (Fan y Geveke, 2007).

Levy (2008), quien diseñó el equipo de luz UV-C usado en este trabajo, desarrolló varias formulaciones a base de concentrado de pulpa de parchita donde variaba las condiciones de pH, °Brix y acidez total titulable, para ser tratadas con luz UV-C. Este autor reportó una disminución de la acidez total titulable y de los °Brix así como un aumento del pH después del tratamiento. Además determinó variación en el color del concentrado de parchita antes y

después del tratamiento con luz UV-C. Señaló que existe un aumento en la luminosidad del producto, un aumento de los tonos amarillos y un cambio de verde a rojo, lo que hace que el concentrado adquiera una apariencia anaranjada dando la impresión de un oscurecimiento y esta variación debía estar relacionada por compuestos formados a partir de una polimerización de los azúcares, donde este posible compuesto podría ser el furano.

El furano es un posible carcinógeno humano cuya formación es inducida por el tratamiento térmico de los alimentos. La luz ultravioleta (UV-C) se utiliza para la descontaminación de sidra de manzana y para esterilizar soluciones de azúcar, sin embargo se desconoce si ésta induce la formación de furano en la sidra o soluciones de sus principales componentes. Fan y Geveke (2007) realizaron un estudio para investigar la posible formación de furano por efecto del tratamiento con luz UV-C en la sidra de manzana y en soluciones de sus principales componentes (soluciones de fructosa, glucosa sacarosa, ácido ascórbico). Encontraron que el tratamiento con luz UV-C induce la formación de furano en la sidra de manzana, y la principal fuente de furano es aparentemente la fructosa. Las soluciones de fructosa tratadas con luz UV-C (dosis de 9 J/cm^2) producen una mayor cantidad de furano que las soluciones de glucosa y de sacarosa, y prácticamente no se detectó en las soluciones de ácido ascórbico o de ácido málico. Sugieren que la luz UV-C podría inducir la formación de furano, pero cuando se utiliza con el propósito de pasteurización de jugos, se induce muy poca cantidad en la sidra de manzana.

Por lo tanto, es posible que los cambios en el color, olor y sabor detectado por los panelistas entrenados por nosotros se deba a la formación de furano inducida por la luz UV-C.

Otros autores han reportado cambios en la calidad de los alimentos tratados con luz UV-C. Según Shama (1999), el tratamiento intenso de alimentos con longitudes de onda corta UV puede causar pérdidas en la calidad del alimento. Gardner y Shama (2000) señalan que el uso de la luz UV para la desinfección de alimentos ha sido erróneamente asociado con pérdida del valor nutricional y apariencia indeseable, lo cual es posible al usar dosis de luz UV muy altas.

6. CONCLUSIONES

En general, los tratamientos con luz UV-C usados lograron inactivar microorganismos presentes en jugo de naranja y néctares de guayaba y parchita, pero alteraron sus características sensoriales.

Los tratamientos lograron un máximo de inactivación en el recuento de microorganismos aerobios mesófilos de 1,36 \log_{10} UFC/mL (néctar de parchita) a una dosis de 11,03 KJ/L, 0,92 \log_{10} UFC/mL (jugo de naranja) a una dosis de 19,23 KJ/L y 0,51 \log_{10} UFC/mL (néctar de guayaba) a una dosis de 23,62 KJ/L. En cuanto a los hongos se obtuvo un máximo de inactivación de 0,93 \log_{10} UFC/mL (jugo de naranja) a una dosis de 19,23 KJ/L, 0,53 \log_{10} UFC/mL (néctar de guayaba) a una dosis de 23,62 KJ/L y 0,52 \log_{10} UFC/mL (néctar de parchita) a una dosis de 7,28 KJ/L. Estos resultados son comparables a los reportados en la literatura, aunque obtenidos mediante el uso de dosis mayores.

El nivel de inactivación de ambos grupos de microorganismos se incrementó a medida que aumentó la dosis, siendo esta una relación lineal. En términos generales la inactivación de ambos grupos de microorganismos fue mayor en néctar de parchita que en jugo de naranja, y ésta a su vez mayor que en néctar de guayaba.

La mayor absorbancia a luz UV-C fue obtenida en el jugo de naranja (0,53), seguido del néctar de guayaba (0,32) y por último el néctar de parchita (0,11). Al comparar la inactivación microbiana de los néctares de guayaba, parchita y del jugo de naranja no se observó que estuviera relacionada con diferencias en el título inicial ni la absorbancia.

El panel entrenado observó diferencias que resultan estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las muestras tratadas y las controles. Se especula que esto sea efecto de la formación de furano inducida por luz UV-C.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alzamora, S. La Radiación ultravioleta: Una alternativa “no térmica” para la pasteurización de jugos. *Ingeniería Alimentaria*. Pags. 102-108. http://www.ialimentaria.com/publicaciones/ia/articulos/IA68_S7.pdf (Consulta 01 de mayo del 2008).
- Amerine, M., Pangborn, R., Roessler, E. 1965. Principles of sensory evaluation of foods. Primera Edición, Academic Press, New York, USA.
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki E., Robinson, R. 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry – a critical review. *J. Sci. Food Agr.* **80**: 637-645.
- Blagoev, K., Alexandrov, B., Goodwin, E., Bishop, A. 2006. Ultra-violet light induced changes in DNA dynamics may enhance TT-dimer recognition. *DNA Repair.* **5**: 863-867.
- CODEX STAN. 2005. Norma 247. Norma general del codex para zumos (jugos) y néctares de frutas. México. <http://www.codexalimentarius.net/search/advancedsearch.do> (Consulta 22 de septiembre del 2009).
- COVENIN. 1944. Norma Venezolana 1699. Jugo de naranja. 2º Revisión, Ministerio de Fomento, Caracas, Venezuela.
- COVENIN. 1987. Norma Venezolana 902. Alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de petri. 2º Revisión, Ministerio de Fomento, Caracas, Venezuela.

- COVENIN. 1989. Norma Venezolana 1126. Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. 1º Revisión, Ministerio de Fomento, Caracas, Venezuela.
- COVENIN. 1990. Norma Venezolana 1337. Alimentos. Método para recuento de mohos y levaduras. Ministerio de Fomento, Caracas, Venezuela.
- COVENIN. 1995. Norma Venezolana 1030. Jugos y Néctares. Características Generales. 1º Revisión. Ministerio de Fomento, Caracas, Venezuela.
- De La Hoz, G. 2008. Desarrollo de un texturizado de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) tratado con luz ultravioleta (UV-C). Tesis de Licenciatura en Biología, Instituto de Tecnología de Alimentos, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Fan, X. y Geveke, D. 2007. Furan formation in sugar solution and apple cider upon ultraviolet treatment. *J. Agric. Food Chem.* **55**: 7816-7821.
- FDA, 2001. Code of federal regulations. Hazard analysis and critical control point (HAACP); procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice; Final rule. 21 CFR 120. <http://www.foodsafety.gov/~lrd/fr01119a.html> (consulta 10 de junio del 2009).
- Gardner D. y Shama, G. 2000. Modeling UV-induced inactivation of microorganisms on surfaces. *J. Food Protect.* **63**: 63-70.
- González, A. 1984. Estudio de algunos aspectos microbiológicos y físico químicos en néctar de parchita pasteurizado comercialmente. Tesis de Ingeniería en Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.

- Guerrero-Beltrán, J. y Barbosa-Cánovas, G. 2004. Review: Advantages and limitations of processing foods by UV light. *Food Sci. Technol. Int.* **3**: 137-147.
- Guerrero-Beltrán, J. y Barbosa-Cánovas, G. 2006. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and polyphenoloxidase in mango nectar treated with UV light. *J. Food Protect.* **2**: 362-368.
- Hans, W. 1987. Compuestos Heterocíclicos. Págs. 772 en Barluenga, J. (ed.). Manual de química orgánica. Versión española de la décima novena edición alemana, Editorial Reverté S.A., Barcelona, España.
- Keyser, M., Müller, I., Cilliers, F., Nel, W., Gouws, P. 2008. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **9**: 348-354.
- Koutchma, T., Keller, S., Chirtel, S., Parisi, B. 2004. Ultraviolet disinfection of juice products in laminar and turbulent flow reactors. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **5**: 179-189.
- Lagunas-Solar, M y Gómez-López, V. 2007. Cost subcommittee report on UV units, UV sources specifications and experimental procedures. Libro de Proceedings del Cost action 924 working group meeting. The use of UV as a Postharvest Treatment: status and prospects. 9-11 de Noviembre del 2007. Antalya, Turquía. (Escrito por encargo del grupo de trabajo Cost 924).
- Levy, D. 2008. Uso de la luz ultravioleta en alimentos. Tesis de Maestría en Ciencias opción: Ciencia y Tecnología de Alimentos, Curso de Postgrado Interfacultades en Ciencia y Tecnología de Alimentos., Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

- Lodi, R., Brasca, M., Malaspina, P., Nicosia, P. 1996. Improvement of the microbiological quality of goat milk by UV treatment. *Dairy Sci Abstr.* **58**: 484.
- López-Malo, A., Palou, E., Arce-García, M., Beristain, L., Bermudez-Aguirre, D., Gómez-Díaz, J. 2001. Short-wave ultraviolet light irradiation effect on carrot juice. Institute of Food Technologist Annual Meeting, New Orleans, L.A.
- Masschelein, W. 2002. Ultraviolet light in water and wastewater sanitation. Lewis Publ., EE.UU.
- Moreno, M., Belén, D., García, D., Mendoza, L. 2006. Evaluación del contenido de carotenoides totales en cáscaras de algunas variedades de naranjas venezolanas. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. **23**: 298-305.
- Pedrero, D. y Pangborn, R. 1997. Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos. Primera Edición, Alhambra Mexicana, Colonia del Valle, México.
- Sears, F., Mark, Y., Hugh, F. 2005. Física universitaria con física moderna. Onceava Edición, Pearson Education, México.
- Shama, G. 1992. Ultraviolet irradiation apparatus for disinfecting liquids of high ultraviolet absorptivities. *Lett. Appl. Microbiol.* **15**: 69-72.
- Shama, G. 1999. Ultraviolet light. Págs. 2208-2214 en Robinson R., Batt C., Patel P. (eds.), *Encyclopedia of food microbiology*. Tercera Edición, Academic Press, London, Reino Unido.
- Snowball, M. y Hornsey, I. 1988. Purification of water supplies using ultraviolet light. Págs 171-192 en Robinson, R (ed.), *Developments in food microbiology-3*, Elsevier applied science, London Reino Unido.

- Tran, M. y Farid, M. 2004. Ultraviolet treatment of orange juice. . *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **5**: 495-502.

Recurso Electrónico:

http://www.sankyo-denki.co.jp/e2_01.html (Consulta 21 de junio del 2009).

http://www.acambiode.com/producto_35546635945665076584909006060186.html
(consulta 26 de septiembre del 2009).

8. ANEXOS

El flujo de los néctares y jugo se determina mediante la ecuación 1, que se encuentra en materiales y métodos.

Tabla 13. Determinación del flujo en el jugo de naranja.

Perilla de ajuste (bomba peristáltica)	Volumen (mL)	Tiempo (s)	Flujo (mL/s)
10	100	37	2,7
8	100	42	2,4
5	100	74	1,4

Tabla 14. Determinación del flujo en el néctar de guayaba.

Perilla de ajuste (bomba peristáltica)	Volumen (mL)	Tiempo (s)	Flujo (mL/s)
10	100	54	1,85
8	100	60	1,66
5	100	88	1,14

Tabla 15. Determinación del flujo en el néctar de parchita.

Perilla de ajuste (bomba peristáltica)	Volumen (mL)	Tiempo (s)	Flujo (mL/s)
10	100	23	4,35
8	100	27	3,7
5	100	41	2,44

El tiempo de retención (T_r) se determina mediante la ecuación 3.

Tabla 16. Tiempo de retención en el jugo de naranja.

Reactor	Volumen del reactor (mL)	Flujo (mL/s)	T_r (s)
1	384,33	2,7	142,34
1	384,33	2,4	160,14
1	384,33	1,4	274,52
2	387,33	2,7	143,46
2	387,33	2,4	161,39
2	387,33	1,4	276,66
3	370,33	2,7	137,16
3	370,33	2,4	154,30
3	370,33	1,4	264,52

Tabla 17. Tiempo de retención en el néctar de guayaba.

Reactor	Volumen del reactor (mL)	Flujo (mL/s)	T_r (s)
1	384,33	1,85	207,75
1	384,33	1,66	231,52
1	384,33	1,14	337,13
2	387,33	1,85	209,37
2	387,33	1,66	233,33
2	387,33	1,14	339,76
3	370,33	1,85	200,18
3	370,33	1,66	223,09
3	370,33	1,14	324,85

Tabla 18. Tiempo de retención en el néctar de parchita.

Reactor	Volumen del reactor (mL)	Flujo (mL/s)	T _r (s)
1	384,33	4,35	88,35
1	384,33	3,7	103,87
1	384,33	2,44	157,51
2	387,33	4,35	89,04
2	387,33	3,7	104,68
2	387,33	2,44	158,74
3	370,33	4,35	85,13
3	370,33	3,7	100,09
3	370,33	2,44	151,77

El área iluminante de la lámpara se obtiene mediante la ecuación 6.

Tabla 19. Área de exposición a luz UV.

Radio (cm)	Altura (cm)	Área (cm ²)
1,275	81	648,89

Aunque se calculó la intensidad según datos del fabricante, esta no fue usada y solo se tomó como dato de referencia y comparación con las lámparas usadas.

Tabla 20. Intensidad calculada según datos del fabricante.

UV-C (W)	Área (cm ²)	Intensidad (mW/cm ²)
13,4	648,89	20,65

La salida total de luz ultravioleta de onda corta (UV-C) se obtiene usando la ecuación 5.

Tabla 21. Salida total de luz UV-C.

Reactor	Intensidad (mW/cm ²)	Área (cm ²)	UV-C Total (mW)	UV-C Total (W)
1	12,91	648,89	8377,17	8,38
2	17,19	648,89	11154,42	11,15
3	11,39	648,89	7390,86	7,39

La dosis por volumen se obtuvo mediante la ecuación 4.

Tabla 22. Dosis por volumen en el jugo de naranja.

Reactor	UV-C (W)	Flujo (mL/s)	Dosis (W*s/mL)	Media (J/L)	Dosis por volumen (KJ/L)
1	8,38	2,7	3,1	9971,28	9,97
2	11,15	2,7	4,13		
3	7,39	2,7	2,74		
1	8,38	2,4	3,49	11217,69	11,22
2	11,15	2,4	4,65		
3	7,39	2,4	3,08		
1	8,38	1,4	5,98	19230,32	19,23
2	11,15	1,4	7,97		
3	7,39	1,4	5,28		

La dosis por área se obtuvo mediante la ecuación 2.

Tabla 23. Dosis por área en el jugo de naranja.

Reactor	Flujo (mL)	T _r (s)	Intensidad (mW/cm ²)	Dosis (mW*s/cm ²)	Media (mJ/cm ²)	Dosis por área (J/cm ²)
1	2,7	142,34	12,91	1837,67		
2	2,7	143,46	17,19	2466	5865,91	5,87
3	2,7	137,16	11,39	1562,24		
1	2,4	160,14	12,91	2067,38		
2	2,4	161,39	17,19	2774,25	6599,15	6,6
3	2,4	154,3	11,39	1757,52		
1	1,4	274,52	12,91	3544,07		
2	1,4	276,66	17,19	4755,86	11312,83	11,31
3	1,4	264,52	11,39	3012,9		

Tabla 24. Dosis por volumen en el néctar de guayaba.

Reactor	UV-C (W)	Flujo (mL/s)	Dosis (W*s/mL)	Media (J/L)	Dosis por volumen (KJ/L)
1	8,38	1,85	4,53		
2	11,15	1,85	6,03	14552,67	14,55
3	7,39	1,85	4,00		
1	8,38	1,66	5,05		
2	11,15	1,66	6,72	16218,34	16,22
3	7,39	1,66	4,45		
1	8,38	1,14	7,35		
2	11,15	1,14	9,78	23616,18	23,62
3	7,39	1,14	6,48		

Tabla 25. Dosis por área en el néctar de guayaba.

Reactor	Flujo (mL)	T _r (s)	Intensidad (mW/cm ²)	Dosis (mW*s/cm ²)	Media (mJ/cm ²)	Dosis por área (J/cm ²)
1	1,85	207,75	12,91	2682,00		
2	1,85	209,37	17,19	3599,03	8561,06	8,56
3	1,85	200,18	11,39	2280,03		
1	1,66	231,52	12,91	2988,98		
2	1,66	233,33	17,19	4010,97	9540,94	9,54
3	1,66	223,09	11,39	2541,00		
1	1,14	337,13	12,91	4352,37		
2	1,14	339,76	17,19	5840,53	13892,95	13,89
3	1,14	324,85	11,39	3700,05		

Tabla 26. Dosis por volumen en el néctar de parchita.

Reactor	UV-C (W)	Flujo (mL/s)	Dosis (W*s/mL)	Media (J/L)	Dosis por volumen (KJ/L)
1	4,35	8,38	1,93		
2	4,35	11,15	2,56	6189,07	6,19
3	4,35	7,39	1,70		
1	3,7	8,38	2,26		
2	3,7	11,15	3,01	7276,34	7,28
3	3,7	7,39	2,00		
1	2,44	8,38	3,43		
2	2,44	11,15	4,57	11033,79	11,03
3	2,44	7,39	3,03		

Tabla 27. Dosis por área en el néctar de parchita.

Reactor	Flujo (mL)	T _r (s)	Intensidad (mW/cm ²)	Dosis (mW*s/cm ²)	Media (mJ/cm ²)	Dosis por área (J/cm ²)
1	4,35	88,35	12,91	1140,62		
2	4,35	89,04	17,19	1530,62	3640,91	3,64
3	4,35	85,13	11,39	969,67		
1	3,7	103,87	12,91	1341,00		
2	3,7	104,68	17,19	1799,51	4280,53	4,28
3	3,7	100,09	11,39	1140,02		
1	2,44	157,51	12,91	2033,48		
2	2,44	158,74	17,19	2728,77	6490,97	6,49
3	2,44	151,77	11,39	1728,71		

Tabla 28. Tabla de interpretación estadística de la prueba triangular para niveles de significancia del 10, 5, 1 y 0,1 %.

Nivel de confianza (%)					Nivel de confianza (%)				
n	10	5	1	0.1	n	10	5	1	0.1
3	3	3	-	-	26	13	14	15	17
4	4	4	-	-	27	13	14	16	18
5	4	4	5	-	28	14	15	16	18
					29	14	15	17	19
6	5	5	6	-	30	14	15	17	19
7	5	5	6	7					
8	5	6	7	8	31	15	16	18	20
9	6	6	7	8	32	15	16	18	20
10	6	7	8	9	33	15	17	18	21
					34	16	17	19	21
11	7	7	8	10	35	16	17	19	22
12	7	8	9	10					
13	8	8	9	11	36	17	18	20	22
14	8	9	10	11	42	19	20	22	25
15	8	9	10	12	48	21	22	25	27
					54	23	25	27	30
16	9	9	11	12	60	26	27	30	33
17	9	10	11	13					
18	10	10	12	13	66	28	29	32	35
19	10	11	12	14	72	30	32	34	38
20	10	11	13	14	78	32	34	37	40
					84	35	36	39	43
21	11	12	13	15	90	37	38	42	45
22	11	12	14	15	96	39	41	44	48
23	12	12	14	16					
24	12	13	15	16					
25	12	13	15	17					