



**Universidad Central de Venezuela  
Facultad de Ciencias  
Escuela de Biología  
Departamento de Tecnología de Alimentos**

## **EFFECTO DE LA LUZ UV-C SOBRE LA CALIDAD E INOCUIDAD DE ESPECIAS**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**  
Presentado ante la Ilustre Universidad  
Central de Venezuela, por la Bachiller  
Arleth Gómez Ángel como requisito para  
optar por el Título de Licenciado en  
Biología.

**Tutora: Dra. Rosa Raybaudi Massilia**

**Caracas, VENEZUELA**

**Julio, 2017**



Universidad Central de Venezuela

Facultad de Ciencias

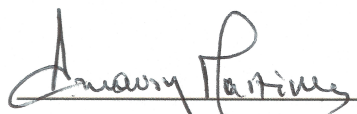
Escuela de Biología

ACTA

Los abajo firmantes, miembros del jurado designado por el Consejo de Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias, para examinar el Trabajo Especial de Grado de la Bachiller **Arleth Joselin Gómez Ángel**, C.I.: 17.078.113 titulado "Efecto de la Luz UV-C sobre la Calidad e Inocuidad de Especies", nos hemos reunido hoy, Catorce (14) de julio de 2017, en la sala de usos múltiples del Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, para atender a la defensa pública de su trabajo, después de lo cual, consideramos que amerita la calificación de Veinte (20) puntos. Certificamos así, que este trabajo Especial de Grado, cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Central de Venezuela para optar por el título de Licenciado en Biología - Mención Tecnología de Alimentos.

  
Dra. Rosa Raybaudi Massilia

Tutora

  
Prof. Amaury Martínez

Jurado

  
MSc. Alexandra Zambrano

Jurado

## DEDICATORIA

*A Dios Todopoderoso por iluminarme, guiarme y darme fuerzas para  
realizar este trabajo.*

*A mi Madre Juana Gómez Á., por ser mi apoyo incondicional, quien también ha llevado el rol de  
padre, es una guerrera incansable,  
Ella... la persona mas importante de mi vida y a quien le debo todo.  
Para ti mi primer título universitario.*

*En memoria a mi abuela María Jesús Ángel de Gómez †  
Y mis amigos eternos Juan H. Rodríguez M. † y Alí Fernández †,  
que diosito los bendiga siempre.*

## AGRADECIMIENTOS

- ❖ Gracias Diosito por ayudarme a superar los obstáculos y continuar, colocaste tu gracia en mi y me iluminaste en cada paso, en cada palabra y en cada acto, mi fe crece cada día mas y siempre tu tiempo será perfecto.
- ❖ A mi abuela María Jesús Angel de Gómez, mujer guerrera, bondadosa y de corazón puro, me enseñó a ser como ella, a luchar por lo que quiero, a llevar los pantalones y lo mas importante el valor y amor por la familia. Que diosito la tenga en la gloria.
- ❖ Madre agradezco infinitamente tu amor, tu apoyo y comprensión, mis palabras quedan cortas, no me alcanzara la vida para devolverte todo lo que has hecho por mi, pero seguiré trabajando para lograr mis metas, que mas que un logro personal, es un logro tuyo y se que te hace muy feliz.
- ❖ A mi querido abuelo Víctor Gomez, que igual a mi abuela, a sido un hombre trabajador, siempre luchando por el bienestar de su familia, gracias por tu amor y por darme una madre ejemplar. Te amo mi Lolo.
- ❖ A ti Manuel Tovar, mi Neno, mi Mor, desde que te conocí (has sido junto a mi mama) una persona importante en mi vida, agradezco porque crees en mi y estos (hasta ahora) 12 años de amor, comprensión y apoyo sincero e incondicional, eres único y le pido a Diosito mucha vida y salud para ti.
- ❖ A mis tías Filomena y Benita (mis segundas madres) y mis tíos Mario y Albino (Mis padres), de quienes estaré eternamente agradecida y han sido pilares fundamentales en mi vida, les agradezco tanto amor, apoyo y bondad.
- ❖ A Yelitza, Yetsi, Fanny y Evedith, quienes mas que primas, son mis hermanas, creen en mi y me brindan el apoyo y amor sincero, las amo.
- ❖ A mi amiga Diomarina Vivas, siempre presente, gracias por compartir gratos momentos en la uni, por las salidas (rumbitas) por tu amistad leal y cariño, te quiero mucho.

- ❖ A mis amigos Javier Torres y Eduardo Burgos, los quiero inmenso, gracias por su apoyo, cariño, por confiar en mí, por sus consejos, por compartir momentos únicos en parte de este recorrido por la uní.
  
- ❖ A mi tutora Dra. Rosa Raybaudi, quien confió en mí desde la primera conversación sobre este tema, gracias por los conocimientos aportados, por su apoyo, por la confianza depositada en mí y por permitirme desarrollar de manera exitosa el trabajo de investigación.
  
- ❖ A la profesora y amiga Lic. Oriana Melo, por su confianza, amistad, apoyo y conocimientos a lo largo del desarrollo de este trabajo, infinitamente agradecida, salud y vida para ti. A Freddy González y la Profa. Carolina Palomino, por su apoyo, paciencia y cariño durante mi estadía en el ICTA.
  
- ❖ A mis jurados Prof. Amaury Martínez y MSc. Alexandra Zambrano por sus conocimientos, confianza, apoyo, por creer en mi capacidad y reconocer mi compromiso y responsabilidad en la realización de este trabajo.
  
- ❖ A mi vecino, Landon García, siempre atento, agradecida por tu apoyo y cariño incondicional. Que Diosito te bendiga. Así como también a todas aquellas personas que de manera directa o indirectamente, colaboraron para que este trabajo de grado se hiciera realidad.
  
- ❖ Y por último, a la Universidad Central de Venezuela, magna casa de estudios, donde aprendí y me forme profesionalmente, de ahora en adelante puedo decir que soy Orgullosamente UCEVISTA.

***A ustedes, Gracias Totales!***

# INDICE

INDICE DE TABLAS

INDICE DE FIGURAS

RESUMEN .....	8
I. INTRODUCCION .....	9
II. ANTECEDENTES .....	10
1. Especies .....	10
1.1. Definiciones .....	10
1.2. Clasificación de las especias .....	11
1.3. Especies como posibles fuentes de contaminación en alimentos y tecnologías aplicadas para su control .....	12
1.4. Microorganismos asociados a la contaminación de especias .....	14
2. La Radiación UV como Nueva Tecnología aplicada a los alimentos para garantizar su calidad e inocuidad .....	16
2.1. Radiación Ultravioleta (UV) .....	17
2.1.1. Radiación UV-C .....	18
2.1.2. Fuente y proceso de la Radiación .....	19
2.1.3. Mecanismo de acción de la luz UV-C sobre los microorganismos .....	19
3. Factores que influyen en la efectividad de la Luz UV–C sobre los microorganismos .....	21
4. Unidades en las que se expresa la radiación UV-C .....	21
5. Ventajas y Desventajas de la Tecnología de Radiación UV-C .....	22

<b>III. OBJETIVOS</b> .....	23
<b>1. Objetivo General</b> .....	23
1.1. Objetivos específicos .....	23
<b>IV. MATERIALES Y METODOS</b> .....	24
<b>1. Muestras</b> .....	24
<b>2. Lugar de trabajo, Materiales y Equipo</b> .....	24
2.1. Lugar de trabajo .....	24
2.2. Materiales .....	24
2.3. Equipo de trabajo .....	25
<b>3. Microorganismo estudio</b> .....	25
<b>4. Preparación de las muestras</b> .....	25
<b>5. Análisis microbiológicos realizados a las muestras de especias</b> .....	27
5.1. Análisis de muestras sin inocular .....	27
5.1.1. Determinación de Aerobios Mesófilos .....	28
5.1.2. Determinación de Mohos y Levaduras .....	29
5.1.3. Determinación de Coliformes y <i>E. coli</i> .....	30
5.1.4. Determinación de la incidencia de <i>Salmonella</i> spp. ....	32
5.2. Análisis de muestras inoculadas con una población de <i>Salmonella</i> entérica ser. Enteritidis .....	33
<b>6. Determinación del color de las especias</b> .....	33
<b>7. Evaluación Sensorial</b> .....	33
<b>8. Análisis estadístico de los resultados</b> .....	35

<b>V. RESULTADOS Y DISCUSION</b> .....	36
1. Evaluación de la calidad e inocuidad de especias mediante la determinación de su flora nativa.....	36
2. Evaluación del efecto de la luz UV-C sobre la flora nativa de las diferentes especias.....	38
3. Evaluación del efecto de diferentes dosis de Luz UV-C sobre una población de <i>Salmonella entérica</i> ser. Enteritidis inoculada sobre distintas especias.....	47
4. Evaluación del efecto de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C sobre el color de diferentes especias.....	52
5. Evaluación del efecto de la aplicación de Luz UV-C sobre los atributos sensoriales de diferentes especias.....	55
<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	57
<b>VII. RECOMENDACIONES</b> .....	60
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	61
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	65

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación convencional de especias.....	11
<b>Tabla 2.</b> Partes de la planta que se usan como especia.....	12
<b>Tabla 3.</b> Microorganismos patógenos encontrados en distintas especias.....	14
<b>Tabla 4.</b> Tipos de luz UV y rango de longitud de onda correspondiente.....	17
<b>Tabla 5.</b> Ventajas y Desventajas de la aplicación de la luz ultravioleta C (UV-C).....	22
<b>Tabla 6.</b> Población microbiana Inicial de diferentes especias adquiridas en el Mercado Municipal El paso, ubicado en los Teques - Estado Miranda, Venezuela. ....	36
<b>Tabla 7.</b> Efecto de diferentes dosis de Luz UV-C sobre los parámetros de color de distintas especias.....	54
<b>Tabla 8.</b> Evaluación Sensorial de las distintas especias tratadas con Luz UV-C.....	56

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Espectro de la luz Ultravioleta - Rango de interés de las longitudes de onda espectrales.....	18
<b>Figura 2.</b> Inactivación del ADN por dimerización de la timina, causada por la irradiación con Luz UV-C.....	20
<b>Figura 3.</b> Esquema metodológico aplicado para el tratamiento de las especias con diferentes dosis de Luz Ultravioleta (UV-C), para evaluar su efecto sobre la microflora naturalmente presente.....	26
<b>Figura 4.</b> Efecto de diferentes dosis de luz ultravioleta (UV-C) sobre poblaciones de <i>Salmonella</i> Enteritidis inoculada en muestras de especias.....	27
<b>Figura 5.</b> Determinación de Aerobios Mesófilos, mediante el método de siembra por profundidad.....	28
<b>Figura 6.</b> Determinación de Mohos y Levaduras, mediante el método de siembra por superficie.....	29
<b>Figura 7.</b> Determinación de Coliformes totales y fecales confirmados mediante el método del Numero Mas Probable (NMP).....	30
<b>Figura 8.</b> Determinación de <i>Escherichia coli</i> , mediante el método de Número Más Probable.....	31
<b>Figura 9.</b> Determinación de la incidencia de <i>Salmonella</i> spp. en las diferentes muestras de especias.....	32
<b>Figura 10.</b> Reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en muestras de Orégano (en hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C. ....	39
<b>Figura 11.</b> Reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en muestras de Pimienta Negra (molida), en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C.....	41
<b>Figura 12.</b> Reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en muestras de Albahaca (hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C.....	43

<b>Figura 13.</b> Reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en muestras de Pimentón, en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C.....	45
<b>Figura 14.</b> Reducciones de la población de Aerobios Mesófilos naturalmente presente en muestras de Anís, en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C.....	46
<b>Figura 15.</b> Reducciones de la población de <i>S. Enteritidis</i> inoculada en muestras de Pimentón (molido), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta.....	48
<b>Figura 16.</b> Reducciones de la población de <i>S. Enteritidis</i> inoculada en muestras de Orégano (en hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz.....	49
<b>Figura 17.</b> Reducciones de la población de <i>S. Enteritidis</i> inoculada en muestras de Albahaca (en hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta .....	50
<b>Figura 18.</b> Reducciones de la población de <i>S. Enteritidis</i> inoculada en muestras de Pimienta Negra (molida), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta.....	51
<b>Figura 19.</b> Reducciones de la población de <i>S. Enteritidis</i> inoculada en muestras de Anís (semillas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta .....	52

## RESUMEN

Las especias son productos de origen vegetal obtenidos a partir de una o más partes de las plantas, que solas o en mezclas, enteras o molidas, y a pesar de que son desecadas, también representan un sustrato favorable para el transporte de microorganismos, debido a su amplia distribución e importación de diferentes países, pudiendo ser consideradas importantes fuentes de contaminación para los alimentos. Por tal motivo, el presente trabajo, tuvo como objetivo principal, evaluar el efecto de diferentes dosis de Luz UV-C (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5 y 15,7 kJ/m<sup>2</sup>) equivalentes a 0, 5, 10,15, 20, y 25 min, respectivamente, sobre la calidad e inocuidad de diferentes especias (Pimentón, Orégano, Albahaca, Pimienta Negra y Anís) pensando en una posible alternativa para su tratamiento. Las muestras fueron analizadas primeramente para determinar la microflora naturalmente presente en ellas, como: Aerobios mesófilos, Mohos, Levaduras, Coliformes, *E.coli* y *Salmonella* spp., luego fueron sometidas a las diferentes dosis de Luz UV-C para determinar su efecto sobre esa microflora y sobre los atributos sensoriales (color, olor y sabor). Adicionalmente se evaluó el efecto de las diferentes dosis de Luz UV-C sobre una población de *Salmonella* Enteritidis inoculada (10<sup>7</sup> UFC/g) en muestras de las distintas especias, con la finalidad de evaluar esta nueva tecnología como una posible alternativa para garantizar la inocuidad de este tipo de productos. Los resultados demostraron que la aplicación de Luz UV-C a especias causó reducciones de las poblaciones de la flora nativa que incrementaron significativamente ( $p < 0,05$ ) al aumentar la dosis, alcanzando niveles dichas poblaciones menores a los recomendados por la Norma COVENIN 1539-83, traduciéndose esto en una mejora de su calidad microbiológica. Por otra parte los resultados mostraron reducciones estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) para la población de *Salmonella* Enteritidis inoculada en las muestras de especias, alcanzando sus máximas reducciones (2,53; 2,46; 2,23; 1,87 y 1,37 ciclos logarítmicos para Orégano, Pimentón, Pimienta negra, Albahaca y Anís, respectivamente) con una dosis de Luz UV-C igual a 15,7 kJ/m<sup>2</sup>. Los análisis de color y Evaluación sensorial demostraron que la aplicación de Luz UV-C puede influir significativamente sobre el color, olor y sabor de algunas especias. En conclusión la aplicación de Luz UV-C a especias puede resultar una buena alternativa para mejorar la calidad microbiológica y la inocuidad de especias, sin embargo se recomendaría que se realizaran nuevas investigaciones que evalúen la combinación de esta tecnología con otras como calor en baja intensidad para tratar de disminuir el impacto sobre los atributos físicos (color) y sensoriales.

**Palabras Claves:** Especias, Luz UV-C, Inocuidad, Calidad, Aerobios mesófilos, Mohos y Levaduras, Coliformes, *E. coli*, *Salmonella*

## I. INTRODUCCION

La industria alimentaria al tratar de satisfacer las exigencias de los consumidores por obtener en el mercado productos mínimamente procesados y de larga duración ha impulsado el desarrollo y diseño de nuevas tecnologías, equipos, procesos y metodologías que permitan obtener productos con características semejantes a los alimentos frescos (Raybaudi-Massilia y col., 2006). Las tecnologías emergentes ofrecen productos en su estado más natural, aumentan la vida de anaquel y ofrecen sobre todo productos inocuos al reducir significativamente la carga total microbiana, principalmente los considerados patógenos y de deterioración en los alimentos (Raybaudi-Massilia y col., 2006). Los alimentos pueden ser contaminados por microorganismos en cualquier momento durante la cosecha, almacenamiento, procesamiento, distribución, manipulación o preparación (Pombo, 2009).

Por lo tanto, existe la demanda de tecnologías de procesamiento mínimo tales, como el uso de altas presiones, irradiación, pulsos eléctricos, ultrasonidos de potencia, ozono y los campos magnéticos oscilantes. El interés reciente en esas tecnologías es no sólo para obtener alimentos de alta calidad con características frescas, sino también, para proporcionar alimentos con funcionalidades mejoradas (Rawson y col., 2011) siendo en este caso, la radiación especialmente válido como método de descontaminación final y teniendo los mismos objetivos que otros métodos de tratamiento de los alimentos, como: reducir las pérdidas debidas a la alteración y la descomposición, y combatir los microbios y otros organismos causantes de enfermedades de transmisión alimentaria.

Se ha demostrado, que el tratamiento con luz UV-C en el procesamiento de alimentos, puede ser una buena alternativa al procesamiento térmico tradicional para alimentos líquidos como jugos naturales, refrescos y bebidas (Koutchma y col., 2009), además de ser un tratamiento aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA., 2013).

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos evaluar el efecto de diferentes dosis de radiación de luz UV-C sobre la carga microbiana naturalmente presente en distintas especias, evaluar el efecto de la luz UV-C contra poblaciones de *Salmonella enterica ser. Enteritidis* inoculadas sobre muestras de especias, así como también evaluar el efecto de la radiación de luz UV-C sobre sus atributos físicos (color) y sensoriales (color, olor y sabor).

## II. ANTECEDENTES

### 1. Especies

Las Especies y Hierbas son productos de origen vegetal que juegan un rol esencial en la vida del día a día de la humanidad como agentes aromatizantes, siendo ingredientes importantes para los productos alimenticios, bebidas y productos farmacéuticos, perfumes y cosméticos; adicionalmente pueden ser fuentes de color y sabor, así como también fuentes de compuestos con propiedades antioxidantes, antimicrobianas y medicinales (Peter, 2012); por estas razones están siendo investigadas y aprovechadas actualmente con gran interés por los fabricantes de alimentos, bebidas, cosméticos y productos farmacéuticos, para satisfacer las exigencias de los consumidores con respecto a productos con menor contenido de aditivos químicos y mas naturales.

#### 1.1. Definiciones

De acuerdo a la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN/1539-83), las especias y condimentos son: “aquellos productos vegetales aromáticos y sápidos, elaborados con una o mas partes de las plantas, solos o en mezcla, enteros o molidos y desecados; que se emplean para sazonar o modificar el aroma y sabor de los alimentos”.

Por otra parte, La Organización Internacional de Normalización (ISO 928:1997), con sede en Ginebra, define especias y condimentos, como: “productos vegetales, o mezcla de los mismos, libres de materia extraña, usados para dar sabor, condimentar e impartir aromas a los alimentos” (Peter, 2012).

La Norma Técnica Colombiana (1998), por su parte, establece que especias y condimentos vegetales son productos constituidos por ciertas plantas o partes de ellas, que por tener sustancias saborizantes o aromatizantes se emplean para aderezar, aliñar o mejorar el aroma y el sabor de los alimentos, pudiendo algunas de ellas impartir color.

Mientras que, La Asociación Española para la Calidad designa con el nombre de especia o condimento aromático a las “plantas o partes de las mismas, frescas o desecadas, enteras, troceadas o molidas, que por su color, aroma o sabor característicos se destinan a la preparación de alimentos y bebidas, con el fin de incorporarles estas características, haciéndoles más apetecibles y sabrosos y, en consecuencia, consiguiendo un mejor aprovechamiento de los mismos” (AEC, 2013).

## 1.2. Clasificación de las especias

De acuerdo a la Asociación Europea de Especias (ESA, 2004 citado por Peter, 2012), las especias se clasifican de varias maneras, como se señala a continuación, de las cuales las más utilizadas son según las partes de la planta de donde se obtienen o según la zona climática, como por ejemplo:

TR = zona tropical      TE = zona templada      SU = subtropical

Otra manera de clasificarlas es de una forma convencional como hierbas y especias (Tabla 1), dentro de la cual se dividen en: 1) Especias picantes, 2) Especias suaves, 3) Especias aromáticas, 4) Hierbas y especias aromáticas.

Tabla 1. Clasificación convencional de especias.

Clase	Especia
Especias picantes	Pimientos (ají), pimienta de cayena, pimienta blanca y negra, jengibre, mostaza
Especias suaves	Pimentón, cilantro
Especias aromáticas	Pimienta de Jamaica, cardamomo, canela, clavo de olor, comino, eneldo, hinojo, alholva, macis y nuez moscada
Hierbas	Albahaca, laurel, eneldo, mejorana, estragón, tomillo
Vegetales aromáticos	Cebolla, Ajo chalota, Apio española

**Fuente:** (Peter, 2012)

Si bien en esta clasificación el término de especias, se puede utilizar para incorporar las hierbas, la distinción entre las hierbas y especias se puede describir como se indica a continuación:

- Hierbas, definidas como las hojas secas de plantas aromáticas que se utilizan para dar sabor y olor a los alimentos con, a veces, la adición de color. Las cuales se comercializan habitualmente por separado de los tallos y peciolo de la planta.

- Especias, definidas como las partes secas de plantas aromáticas, con la excepción de las hojas. Siendo esta definición muy amplia y abarcando prácticamente todas las partes de la planta que se pueden utilizar, como se muestra en la Tabla 2.

La gran variedad de aromas que desprenden las especias se producen en casi todas las partes de las plantas, desde las hojas hasta las raíces.

**Tabla 2. Partes de la planta que se usan como especias.**

Órganos de la Planta	Especias cultivadas
Arilo	Maza de Nuez moscada
Corteza	Cassia, canela
Bayas	Pimienta de Jamaica, pimienta negra, chile
Yemas	Clavo
Bulbos	Cebolla, Ajo, puerro
Flores y Pistilo (parte femenina de la flor)	Azafrán, Clavo de olor
Grano	Nuez moscada
Hoja	Albahaca, laurel, menta, mejorana, tomillo, salvia, hojas de curry, orégano, apio, perejil
Rizoma	Jengibre, cúrcuma
Latex de rizoma	Asafoetida
Raíces	Angélica, rábano salvaje
Semillas	Ajowan, anís, alcaravea, apio, cilantro, eneldo, hinojo, fenogreco, mostaza, semilla de amapola

**Fuente:** (Peter, 2012)

### 1.3. Especias como posibles fuentes de contaminación en alimentos y tecnologías aplicadas para su control.

La inocuidad de los productos que contienen especias y hierbas aromáticas desecadas, depende de la aplicación de las buenas prácticas de manipulación a lo largo de la cadena alimentaria, durante su producción primaria, elaboración, envasado, venta al detalle y en el punto de consumo, así como de la utilización de materia prima e ingredientes de buena calidad e inocuos. Las bacterias que producen esporas, incluyendo patógenas como *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum*, así como células vegetativas que no producen esporas provenientes de microorganismos como *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., han sido encontradas en especias y hierbas aromáticas desecadas. Así pues, se han

presentado varios brotes de enfermedades asociadas con el consumo de especias y condimentos, la mayoría causados por *Salmonella* spp., que han provocado gran preocupación sobre la inocuidad de las especias y hierbas aromáticas desecadas. La complejidad de la cadena de los proveedores para las especias y las hierbas aromáticas desecadas hace que sea muy difícil identificar los puntos en donde se presenta la contaminación en la cadena alimentaria, sin embargo existen evidencias de que la contaminación puede ocurrir a lo largo de toda ésta, si no se siguen las practicas apropiadas (Codex Alimentarius - CAC/RCP 42,1995).

La inocuidad de las especias y hierbas aromáticas desecadas también puede verse afectada por mohos productores de micotoxinas, por ejemplo, aquellos que producen aflatoxinas (como *Aspergillus flavus* o *Aspergillus parasiticus*) u ocratoxina A (como *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius* o *Penicillium verrucosum*). Los peligros químicos como metales pesados y plaguicidas, además de contaminantes físicos tales como: piedras, vidrio, alambre, materia extraña y cualquier otro material inaceptable, también pudieran estar presentes en las especias y hierbas aromáticas desecadas (Codex Alimentarius - CAC/RCP 42,1995).

Las especias naturales y otros productos relacionados, como los condimentos vegetales deshidratados, pueden contener un elevado número de mohos, bacterias y esporas bacterianas termorresistentes. La irradiación acorde con las condiciones adecuadas de fabricación permite mejorar la calidad higiénica de las hortalizas, especias y hierbas deshidratadas, así como de otros ingredientes secos (Langerak, 1978; Kiss y Farkas, 1988; Katusin-Razem y col., 1988 citados por Wilkinson, 1996). Estos productos secos son mucho menos sensibles a la energía de irradiación que en su forma hidratada, de tal modo que ni siquiera a dosis tan elevadas como 10 kGy se aprecia pérdida de calidad. En la planta en desarrollo hay siempre microorganismos del suelo, cuyo número aumenta durante el proceso de desecación. Los condimentos contaminados pueden dar lugar finalmente a la descomposición de los alimentos sazonados. Así por ejemplo la carne enlatada puede llegar a descomponerse. Dosis de entre 3 y 10 kGy permiten mejorar significativamente la salubridad de las especias, hortalizas deshidratadas, hierbas y otros ingredientes secos (OMS, 1995).

La irradiación ha sido una de las tecnologías aplicadas para lograr reducir la carga microbiana en especias tanto en Europa como en Estados Unidos desde hace tiempo. Así pues, en los Estados Unidos está permitido tratarlas con dosis de incluso 30 kGy (FDA,1992; citado por OMS,1995), indicándose que un efecto beneficioso colateral es que las altas dosis empleadas destruyen cualquier posible insecto que pueda estar presente.

## 1.4. Microorganismos asociados a la contaminación de especias

Debido a las características de las especias, sobre todo por su carencia de humedad, erróneamente se cree que difícilmente las bacterias pueden estar presentes y/o sobrevivir. Sin embargo, muchas bacterias patógenas tienen la capacidad de prevalecer viables en ambientes secos, y activarse en contacto con la humedad o con un medio más propicio. Se ha detectado una gran cantidad de microorganismos en especias. De acuerdo a bases de datos de la FDA y CDC los patógenos que más se han encontrado en análisis realizados entre 1985 y 2012 en especias son: *Salmonella*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Cronobacter*, *Shigella* y *Staphylococcus* (Tabla 3). De estos géneros de bacterias, *Salmonella* es de los que más serotipos se han identificado. En este análisis se han detectado más de 200 tipos de *Salmonella* diferentes en numerosas especias. La variedad de serotipos se debe a muchos factores, uno de los principales es que las especias analizadas en Estados Unidos son de importación, por lo que provienen de otros países y diversas regiones de todo el mundo (González, 2013)

**Tabla 3.** Microorganismos patógenos encontrados en distintas especias.

MICROORGANISMO PATÓGENO	ESPECIA
<i>Salmonella</i> spp.	Semillas de alfalfa, pimienta inglesa, semillas de anís, albahaca, hoja de laurel, pimienta negra, pimienta, cardamomo, cayena, semillas de apio, canela, cilantro, comino, hojas de curry, hinojo, hojas y semillas de fenogreco, ajo, jengibre, macis, menta, semillas de mostaza, nuez moscada, orégano, perejil, salvia, tomillo, zumaque, semillas de ajonjolí, turmeric, pimienta blanca, mezclas de sazónadores.
<i>Bacillus</i> spp. (incluye <i>B. cereus</i> )	Pimienta inglesa, albahaca, hoja de laurel, pimienta negra, pimienta, alcaravea, cardamomo, semillas de cilantro, perifollo, canela, comino, clavo, cilantro, eneldo, nuez moscada, macis, mejorana, semillas de mostaza, cebolla, orégano, semilla de amapola, romero, azafrán, tomillo, turmeric, pimienta blanca, mezcla de sazónadores.
<i>Clostridium perfringens</i>	Semillas de anís, hojas de laurel, comino negro, pimienta negra, pimienta, alcaravea, cebolletas, canela, clavo, cilantro, comino, jengibre, ajo, macis, semillas de mostaza, nuez moscada, cebolla, orégano, perejil, azafrán, pimienta blanca.
<i>Cronobacter</i> spp.	Anís, romero.
<i>Shigella</i>	Hoja de laurel.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pimienta negra, pimienta, cardamomo, canela, ajo, jengibre, pimienta blanca.

Fuente: (FDA, citado por González, 2013)

## **2. La radiación UV como nueva tecnología aplicada a los alimentos para garantizar su calidad e inocuidad.**

A medida que la sociedad ha ido evolucionando hacia modelos urbanos con mayores niveles de renta y con el incremento de la migración del campo a la ciudad, la disociación entre la producción y el consumo de productos alimenticios fue haciéndose mas patente, a la vez que se alargaba la cadena entre el productor y el consumidor final, lo que conllevó al desarrollo de tecnologías de conservación para garantizar un adecuado suministro de alimentos. En la actualidad los consumidores prefieren los alimentos con mínimo procesamiento, los cuales deben tener las características de alimentos frescos, además deben ser microbiológicamente seguros y estables (Alzamora y col., 1998).

La conservación de alimentos ha evolucionado, desde un arte hacia una ciencia altamente interdisciplinaria (Rahman, 2007), debido a las demandas de los consumidores por los alimentos frescos, nutritivos y de alta calidad, lo que ha generado un interés considerable en el estudio y desarrollo de nuevas técnicas de conservación, en donde se garantice la inocuidad del alimento además de preservar sus características sensoriales esenciales (Singh y col., 2001).

Según Sancho-Madrid (2003), la conservación de alimentos se basa en tres principios: retrasar la actividad microbiana, lo cual se logra al mantener el alimento en asepsia, cuando los microorganismos son eliminados mediante algún proceso tecnológico; retrasar la auto descomposición, lo cual se logra al destruir enzimas mediante técnicas de escaldado y se retrasan las reacciones químicas; y la prevención de alteraciones ocasionadas por insectos, roedores o causas mecánicas, para así incrementar la vida útil de los productos durante su almacenamiento, idealmente, aplicando técnicas que logren impedir alteraciones microbiológicas pero manteniendo la calidad. Los métodos no térmicos de conservación de alimentos, nuevas tecnologías o tecnologías emergentes, están bajo investigación, evaluando su potencial como un proceso alternativo o complementario a los métodos tradicionales de conservación de alimentos.

La eficacia de los métodos de conservación depende principalmente del cuidado de la higiene durante la producción, siendo su objetivo disminuir la carga microbiana y evitar su desarrollo. Para tal fin muchos productos son tratados térmicamente, técnica que muchas veces modifica las características, tanto sensoriales (textura, sabor y color), como nutricionales (pérdidas de vitaminas, principalmente) del alimento. Debido a estos efectos adversos del tratamiento a altas temperaturas, se encuentran en desarrollo procesos no térmicos de conservación, también denominados tecnologías suaves. Son poco agresivos y tienen la ventaja de ofrecer productos semejantes a los frescos y por lo tanto acorde con las demandas

actuales del mercado, pero sin perder sus garantías en materia de inocuidad (Domínguez y Parzanese, 2005).

Las tecnologías emergentes ofrecen productos en su estado más natural, aumentan la vida de anaquel y ofrecen sobre todo productos inocuos al reducir significativamente la cuenta total microbiana, principalmente los considerados patógenos y de putrefacción en los alimentos (Raybaudi- Massilia y col., 2006).

Algunos métodos que se han desarrollado son las altas presiones hidrostáticas, campos magnéticos oscilantes, pulsos eléctricos de alta intensidad de campo, ultrasonido, ozono, pulsos de luz, irradiación y la tecnología de obstáculos (Barbosa y col., 1999; Rawson y col., 2011).

El interés reciente en esas tecnologías es no sólo para obtener alimentos de alta calidad con características frescas, sino también, para proporcionar alimentos con funcionalidades mejoradas (Rawson y col., 2011). Desde hace algunos años se ha venido investigando acerca de los efectos de la luz sobre bacterias y otros organismos, lo que comenzó a partir del concepto del daño celular causado por la incidencia de la radiación solar sobre organismos vivos. Posteriormente, se estudió el efecto producido por radiaciones monocromáticas del espectro ultravioleta (UV).

Una de las tecnologías no térmicas, que se está empleando en la actualidad para la desinfección de alimentos es la radiación UV-C. Así pues, en el año 2000, la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) aprobó el uso de la radiación UV-C para reducir patógenos y otros microorganismos en jugos clarificados. Aunque si bien este proceso no puede garantizar la eliminación de todos los microorganismos, puede lograr una reducción considerable de los mismos (Alzamora, 1998).

Las aplicaciones de este método comenzaron alrededor de 1901 cuando se logró producir luz artificialmente. Esta técnica se emplea para desinfectar aire, agua y superficies de materiales con posible contaminación biológica (virus, bacterias, esporas, mohos y levaduras). En la industria de alimentos se utiliza para desinfectar por ejemplo cintas transportadoras, láminas y tapas de cierre, envases; así como también superficies de algunos alimentos sólidos entre los que se pueden mencionar frutas, verduras, pescados y líquidos como jugos y agua. Asimismo se emplea en acuicultura por ejemplo para protección del flujo y de la recirculación en acuarios de agua dulce o salada (Domínguez y Parzanese, 2005).

La FDA y el USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos) han aprobado el tratamiento de especias, frutas, vegetales, trigo y harina de trigo, carne de cerdo, pollo y carnes rojas por esta tecnología (IFT, 1999; Anon., 2000 – citado por Sendra y col., 2001). Mientras que existe una demanda continua ante la FDA para la aprobación del uso de esta tecnología en otros alimentos.

## 2.1 Radiación Ultravioleta (UV)

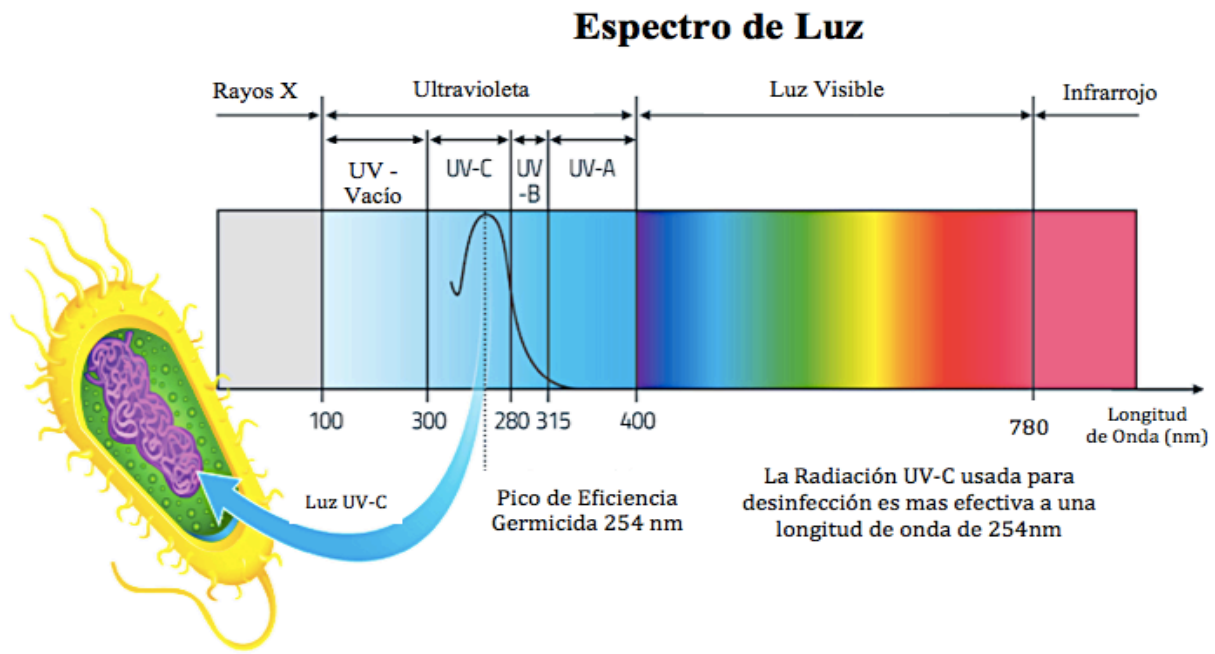
La radiación es la propagación de energía en forma de ondas electromagnéticas o partículas subatómicas a través del vacío o de un medio material. La radiación UV, o radiación ultravioleta, es la radiación electromagnética cuya longitud de onda esta comprendida entre los 200 y los 400 nm (Serway, 2000). Esta luz o radiación electromagnética abarca longitudes de onda que atraviesan por lo menos 15 órdenes de magnitud desde los rayos gama hasta las ondas de radio. La luz UV es la radiación electromagnética con longitud de onda más corta que la luz visible y más larga que los rayos X; se divide en UV-Cercano (380-200 nm), UV-Lejano (200-10 nm) y UV-Extremo (31-1 nm). Considerando el efecto de la radiación sobre la salud humana y el medio ambiente, a una longitud de onda de 100 a 400 nm, se divide en: UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm), UV-C (200-280 nm) y Vacío - UV (100-200 nm) (a veces considerada UV-C o UV Extremo). Aunque en la literatura, han sido documentadas variaciones en los intervalos y la nomenclatura. En la tabla 4. se muestran los tipos de luz UV, rango y las características correspondientes a cada una de ellas. La luz UV-C posee el mayor efecto germicida, específicamente entre 250 y 270 nm, y la máxima eficiencia para la desinfección se sitúa específicamente a 254 nm (Chisten col., 2013).

**Tabla 4.** Tipos de luz UV y rango de longitud de onda correspondiente

TIPO	LONGITUD DE ONDA	RANGO	CARACTERÍSTICAS
UV-A	Larga	320-400 nm	Provoca cambios en la piel (bronceado)
UV-B	Media	280-320 nm	Causa ardor en la piel (cáncer)
UV-C	Corta	200-280 nm	Tiene propiedades germicidas (microorganismos)
UV-V		100-200 nm	Gama UV de vacío (que puede ser absorbida por casi todas las sustancias y por lo tanto puede ser transmitida sólo en un vacío)

**Fuente:** Zhang y col., 2010; Guerrero y Barbosa-Cánovas, 2004

El componente UV en el espectro de radiación electromagnética se presenta en la Figura 1 (Russell, 2010; citado por Millán y col., 2015).



**Figura 1.** Espectro de la luz Ultravioleta - Rango de interés de las longitudes de onda espectrales (Fuente: [http://en.gla-uvc.nl/pagina/about\\_uvc](http://en.gla-uvc.nl/pagina/about_uvc))

### 2.1.1. Radiación UV-C

Las longitudes de onda más efectivas para la inactivación de bacterias, virus, mohos y esporas son las comprendidas entre 240 y 280 nm, las cuales corresponden a la región denominada UV-C.

La radiación UV-C es la porción más energética del espectro UV, no se encuentra de manera natural en la biosfera pero se utiliza de forma artificial por su importante acción bactericida y germicida (Ruiz-López y col., 2010). Varios estudios han mostrado que la radiación UV-C causa respuestas negativas en los procesos celulares, el metabolismo y crecimiento (Rastogi y col., 2010; Ruiz-López y col., 2010; Sarghein y col., 2011 citado por Foroughbakhch-Pournavab y Bacópulos-Mejía, 2015).

La radiación ultravioleta es considerada una tecnología emergente que consiste en someter la superficie del alimento a iluminación con longitudes de onda que varían entre 200-280 nm, comprobándose que se presenta una mayor acción germicida a emisiones de 254 nm (Domínguez y Parzanese, 2005).

### **2.1.2. Fuente y proceso de la Radiación UV**

Las aplicaciones prácticas de desinfección por UV dependen de fuentes artificiales. Las fuentes de UV más comunes son lámparas de arco de mercurio de baja y mediana presión que están disponibles comercialmente. La luz ultravioleta se produce por medio de lámparas de vapor de mercurio con alta y baja presión, dentro de la lámpara, existe un tubo hecho de cuarzo o sílice donde un arco golpea una mezcla de vapor de mercurio y argón que existe en el interior, la luz UV-C avanza en dirección rectilínea por esta razón la penetración en la piel humana es mínima sin embargo, se debe evitar el contacto directo de la vista o la piel con una fuente UV-C (Solsona y Méndez, 2002).

Durante el proceso de irradiación se expone el alimento a la fuente de energía de manera que absorba una dosis precisa y específica. Para hacerlo, es necesario conocer la producción de energía de la fuente por unidad de tiempo, disponer de una relación espacial definida entre la fuente y el material irradiado, y exponer el material durante un periodo de tiempo determinado.

### **2.1.3. Mecanismo de acción de la luz UV-C sobre los microorganismos.**

A excepción de las bacterias fotosintéticas, la mayoría de los microorganismos son susceptibles al daño por la radiación UV (Mendonca, 2002). El efecto destructivo de la radiación UV sobre los microorganismos está en función de la longitud de onda.

La UV-C puede reducir el 99,99% de los microorganismos presentes en el agua potable con un tiempo de tratamiento de menos de 1 minuto y es capaz de inhibir el crecimiento de microorganismos tales como bacterias, algas, protozoos, levaduras y mohos mediante la interrupción de su replicación de ADN (Bintsis y col., 2000; Muller y col., 2011 citado por Atikah, 2014). Esto debido a que la longitud de onda de 254 nm es la más eficaz en términos de efectos germicidas porque a

esta longitud de onda específica, los fotones penetran en las células e inactiva de esta manera los microorganismos (Muller y col., 2011 citado por Atikah y col., 2014). Los fotones al ser absorbidos por el ADN causan daños en la molécula y eventualmente la muerte celular no requiriéndose dosis muy altas de luz UV-C para generar mutaciones en el ADN de los microorganismos y evitar la replicación celular (Tortora, 2007; Wright y Carins, 2008; citado por Espinosa, 2014). No obstante, la eficiencia de esta tecnología dependerá de muchos factores intrínsecos y extrínsecos del alimento, afectando la acción antimicrobiana y conservante de este método.

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 UV-C y el ADN resulta en la formación de fotoproductos, entre ellos, dímeros de pirimidina (timina y citosina), aductos de pirimidina y entrecruzamientos ADN-proteínas (Figura 2). 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, 2000).



**Figura 2.** Inactivación del ADN por dimerización de la timina, causada por la irradiación con Luz UV-C. (Fuente: <http://www.sterilair.com/es/competencia/competencia/efecto.html>)

La resistencia de los microorganismos a los tratamientos UV-C, está determinada principalmente por su habilidad para reparar mediante factores proteínicos, el ADN dañado. Por lo que algunos tipos de microorganismos incapaces de reparar

esos daños son eliminados con la energía asociada a la radiación UV-C. Los efectos causados sobre los enlaces entre bases, ocurren proporcionalmente al tiempo de exposición e intensidad de luz UV aplicada (Snowball y Hornsey, 1998; Sastry y col., 2000 citados por Domínguez y Parzanese, 2005).

En general la resistencia a la radiación UV-C está dada de la siguiente manera: Gram negativos < Gram-positivos < levaduras < esporas bacterianas < hongos < virus (Adams y Moss 1995; Shama, 1999; Sastry y col., 2000; Bolton y Cotton, 2001 citados por Millán y col., 2015).

### **3. Factores que influyen en la efectividad de la Luz UV – C sobre los microorganismos**

Entre los factores que pueden afectar la efectividad de la luz UV están: **La dosis** de radiación, es decir, la cantidad de energía absorbida por el alimento, siendo el factor más importante en la radiación, **el tiempo de exposición**, como cualquier otro desinfectante, el tiempo de exposición es vital para asegurar un buen desempeño. A una intensidad dada, cuanto mas prolongada es la exposición tanto mas efectivo es el tratamiento, **la intensidad**, indicando que a menor distancia del material respecto al punto de emisión de los rayos, mayor será la intensidad de los mismos y por tanto la desinfección será más eficiente, **la distancia entre el producto y la lámpara de luz ultravioleta**, es importante destacar que al utilizar UV-C como desinfectante, el equipo debe estar localizado lo más cerca posible al producto en el sistema de proceso. Debido a que la distancia es inversamente proporcional a la intensidad (Suárez 2001). El poder germicida de la radiación disminuye al aumentar la distancia desde la fuente de luz. Por esto, el tiempo de exposición, la dosis y el perfil de flujo son esenciales para lograr la reducción microbiana necesaria (Domínguez y col., 2005), y **la penetración**, la naturaleza del objeto o materia irradiada tiene una gran influencia en la efectividad del tratamiento (Suárez., 2001).

### **4. Unidades en las que se expresa la radiación UV-C**

La radiación emitida se mide en Watts (W) y la intensidad de la radiación en W/m<sup>2</sup>. Para una desinfección eficaz es importante conocer la dosis de radiación necesaria para reducir la carga del microorganismo, la cual es el producto entre la intensidad de la radiación (I), expresada como energía por unidad de área y el tiempo de residencia o contacto con la luz UV (t) en segundos. La dosis (D) se mide en J/m<sup>2</sup> (1 Joule = 1 Watt x segundo):

$$D \text{ (J/m}^2\text{)} = I \text{ (W/m}^2\text{)} \times t \text{ (s)} \text{ También suele expresarse en ml/cm}^2 = \mu\text{W s/cm}^2$$

La efectividad germicida de la luz UV-C, puede variar entre especies de microorganismos. La longitud de onda óptima para la inactivación de *E. coli*, es de aproximadamente 265 nm, la cual es alrededor del 15% más eficaz que el pico de UV-C de 254 nm. Por otra parte, la longitud de onda óptima para la inactivación de *Bacillus subtilis* es de 270 nm, y esto es aproximadamente 40% más eficaz que el pico de UV-C de 254 nm, y la longitud de onda óptima para erradicar los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* es de 271 nm y esto es aproximadamente un 15% más eficaz que el pico de UV-C de 254 nm (Kowalski 2009 , citado por Millán y col., 2015).

## 5. Ventajas y Desventajas de la Radiación UV-C

La aplicación de las tecnologías emergentes a los procesos de conservación de alimentos deberán permitir obtener productos de excelente calidad, a un precio razonable y, por encima de todo, seguros. En general, se busca que los nuevos métodos de tratamiento y conservación sean menos agresivos con el alimento, con menores consumos energéticos y más eficaces contra enzimas, microorganismos deteriorativos y patógenos (López-Díaz y col., 2012). En la tabla 5, se señalan las ventajas y desventajas del uso de esta tecnología.

**Tabla 5.** Ventajas y Desventajas de la aplicación de la luz ultravioleta C (UV-C).

VENTAJAS	DESVENTAJAS
No produce alteraciones organolépticas en la mayor parte de los alimentos. Método físico en el cual la energía es el medio germicida, sin generar productos secundarios indeseables.	Los microorganismos pueden ser protegidos por sólidos suspendidos, principalmente en los jugos de frutas, por lo que hay poca penetración de la radiación en líquidos no transparentes
No produce residuos químicos, subproductos ni radiación.	Poca penetración en materiales sólidos y en líquidos no transparentes.
Es efectivo para desinfección de diversas superficies.	La exposición prolongada a radiación UV puede dañar la vista y causar quemaduras.
Es eficaz para la inactivación de muchos microorganismos	La unidad o equipo de UV se debe colocar tan cerca como sea posible al producto a tratar.
Es de fácil aplicación, rápida, no requiere aireación	Los microorganismos pueden reparar los efectos destructivos de la radiación UV mediante un "mecanismo de reparación", también conocido como fotoreactivación o, en ausencia de radiación, como reparación en oscuro.
Es un proceso seco y frío que requiere poco mantenimiento y es de bajo costo	

**Fuente:** Adaptada de Domínguez y Parzanese, 2011 ; Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004.

### III. OBJETIVOS

#### 1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la luz UV-C sobre la calidad e inocuidad de especias

#### 1.1. Objetivos específicos

- 1) Evaluar el efecto de la luz UV-C sobre la carga microbiana naturalmente presente en diferentes especias.
- 2) Evaluar el efecto de la luz UV-C contra una población de *Salmonella* entérica ser. Enteritidis inoculada sobre muestras de diferentes especias.
- 3) Evaluar el efecto de la luz UV-C sobre características físicas (color) de las especias en estudio a través de la utilización de un colorímetro.
- 4) Evaluar el efecto de la aplicación de luz UV-C sobre los atributos sensoriales (color, olor, sabor) de las diferentes especias, a través de un estudio de evaluación sensorial..

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Muestras

Muestras de 5 diferentes especias (Anexo 1) fueron adquiridas en el Mercado Municipal EL PASO, ubicado en Los Teques - Edo.Miranda, Venezuela, Luego fueron trasladadas al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos para ser tratadas con Luz UV-C y analizadas para evaluar el efecto de esta tecnología sobre su inocuidad y calidad.

### 2. Lugar, materiales y equipo de trabajo

#### 2.1. Lugar de trabajo

El sistema de radiación UV, que se usó en este estudio, se encuentra en el Laboratorio de Control Microbiano, cuya responsable es la Dra. Rosa Raybaudi-Massilia y está ubicado en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), de la Universidad Central de Venezuela (UCV), en Colinas de Bello Monte, Caracas-Venezuela. En este laboratorio se aplicaron los diferentes tratamientos con Luz UV-C a las muestras de especias.

#### 2.2. Materiales

❖ Agar Plate Count (PCA)	/	Caldo Rappaport Vassilidis
❖ Agar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC)	/	Caldo Urea / Caldo Nutritivo
❖ Agar Hektoen	/	Caldo Lauril Sulfato Triptosa (LST)
❖ Agar Bismuto-Sulfito	/	Caldo Bilis Verde Brillante (CBVB)
❖ Agar Kligler	/	Caldo EC
❖ Agar Hierro tres azúcares (TSI)	/	Caldo triptonado / Caldo Lactosado
❖ Agar EMB	/	Caldo malonato
❖ Peptona	/	Tubos de ensayo, Frascos
❖ Caldo Tetrionato	/	Placas de Petri de vidrio
❖ Agar verde brillante – rojo fenol	/	Caldo Lisina

### **2.3. Equipo de trabajo**

El equipo de radiación UV-C consta de una cámara construida en el ICTA/UCV, compuesta por cuatro lámparas germicidas (Sylvania, 15 watts G15T), con transmisión UV-C (220-290nm), con un pico de radiación de aproximadamente (254 nm) situadas por encima y por debajo de la plataforma donde se ubicará la muestra a tratar, encerradas en una caja fabricada en madera, recubierta con papel aluminio en su interior y en su parte externa cubierta por un forro de tela aluminizada para proporcionar protección a los operadores (Anexo 2).

Las muestras evaluadas se colocaron en bolsas de poliestireno (PS) en posición central (Anexo 2), a una distancia de 15 cm de las lámparas (tanto de arriba como de abajo) para lograr la radiación por ambas caras con las diferentes dosis establecidas, las cuales se calcularon mediante la ecuación:

$$\text{Dosis de UV (kJ/m}^2\text{)} = \text{Irradiación} \times \text{Tiempo de Exposición}$$

La irradiación se determinó por el promedio de 15 lecturas que se realizaron empleando un radiómetro/fotómetro (Internacional Light modelo IL400A), y los tiempos de exposición establecidos fueron: 0, 5, 10, 15, 20 y 25 minutos, por lo tanto, las dosis de radiación determinadas para la evaluación fueron: (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5 y 15, 7) kJ/m<sup>2</sup> respectivamente.

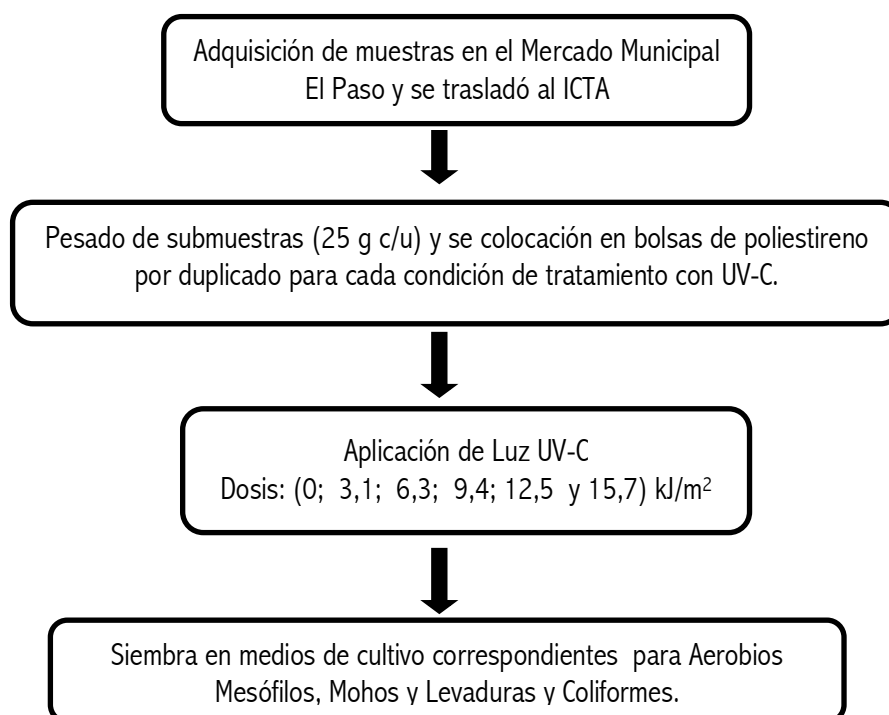
### **3. Microorganismo estudio**

El cultivo puro de *Salmonella* entérica ser. Enteritidis fue adquirido en el Centro Venezolano de Cultivo de Microorganismos (CVCM), ubicado en el Instituto de Biología Experimental (IBE), de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Central de Venezuela, Caracas-Venezuela. Este microorganismo estudio, fue cultivado en caldo tripticasa de soja durante 24 horas a 35-37°C antes de ser utilizado en los experimentos de inoculación de las muestras de especias.

### **4. Preparación de las muestras y tratamiento con luz UV-C**

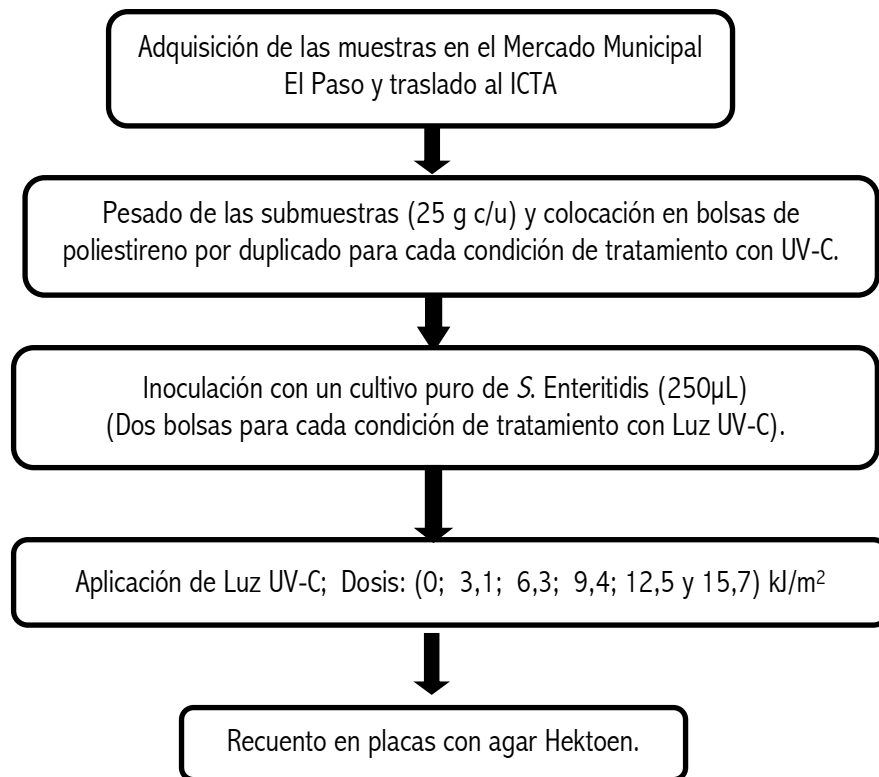
4.1. Submuestras de 25g fueron obtenidas a partir de las muestras adquiridas en el Mercado Municipal “EL PASO”, tanto para determinar la microflora naturalmente presente e dichas muestras, como para los experimentos de inoculación y fueron colocadas en bolsas de poliestireno.

4.1.1. Un total de doce (12) submuestras de 25g c/u (2 para cada condición y por cada especie) fueron obtenidas a partir de la muestra original. Dos de ellas fueron utilizadas para ser analizadas para determinar su flora microbiana naturalmente presente (Aerobios mesófilos, Mohos y Levaduras, Coliformes, *E.coli* y *Salmonella* spp.), lo que sería equivalente a la condición Dosis de Luz UV-C igual 0 o sin tratamiento (control), mientras que las otras 10 se utilizaron para determinar los efectos de los diferentes tratamientos con Luz UV-C sobre esta flora. De esta manera, un tratamiento con diferentes dosis de Luz UV-C (3,1; 6,3; 9,4; 12,5 y 15,7 kJ/m<sup>2</sup>) fue aplicado a las distintas especies con la finalidad de evaluar el efecto de esta tecnología sobre la flora naturalmente presente en las especies (Figura 3).



**Figura 3.** Esquema metodológico aplicado para el tratamiento de las especies con diferentes dosis de Luz Ultravioleta (UV-C), para evaluar su efecto sobre la microflora naturalmente presente.

4.1.2. Un total de 12 submuestras de 25g c/u (2 para cada condición y por cada especie), fueron obtenidas a partir de cada muestra original y luego inoculadas por rociado de 250 µL con un cultivo puro de *Salmonella* entérica ser. Enteritidis (10<sup>7</sup> UFC/mL). Se mantuvieron en reposo durante 20 a 25 min, para permitir que el inóculo se absorbiera y posteriormente se aplicaron las diferentes dosis de UV-C seleccionadas (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7 kJ/m<sup>2</sup>), finalmente se analizaron microbiológicamente para determinar el efecto de los tratamientos de UV-C seleccionados sobre la población del microorganismo inoculado (Figura 4).



**Figura 4.** Efecto de diferentes dosis de luz ultravioleta (UV-C) sobre poblaciones de *S. Enteritidis* inoculada en muestras de especias.

## 5. Análisis microbiológicos que se realizaron a las muestras de especias.

### 5.1. Análisis de muestras sin inocular

Las muestras sin inocular fueron analizadas para determinar Aerobios mesófilos, Mohos y Levaduras, Coliformes, *E.coli* y *Salmonella* spp. antes de aplicar los tratamientos con Luz UV-C y después de aplicar los diferentes tratamientos (0; 3,1; 6,3; 9,4 y 12,5 kJ/m<sup>2</sup>) de la siguiente manera:

### 5.1.1. Determinación de Aerobios mesófilos

Se realizó de acuerdo a la Norma Venezolana COVENIN 902-1987. El recuento de aerobios mesófilos se realizó por siembra en medio PlateCount - Agar (PCA), utilizando el método de siembra por profundidad, incubando posteriormente las placas a 35°C por 24 a 48 h. Los recuentos fueron reportados como Log<sub>10</sub> UFC/g. (Figura 5)

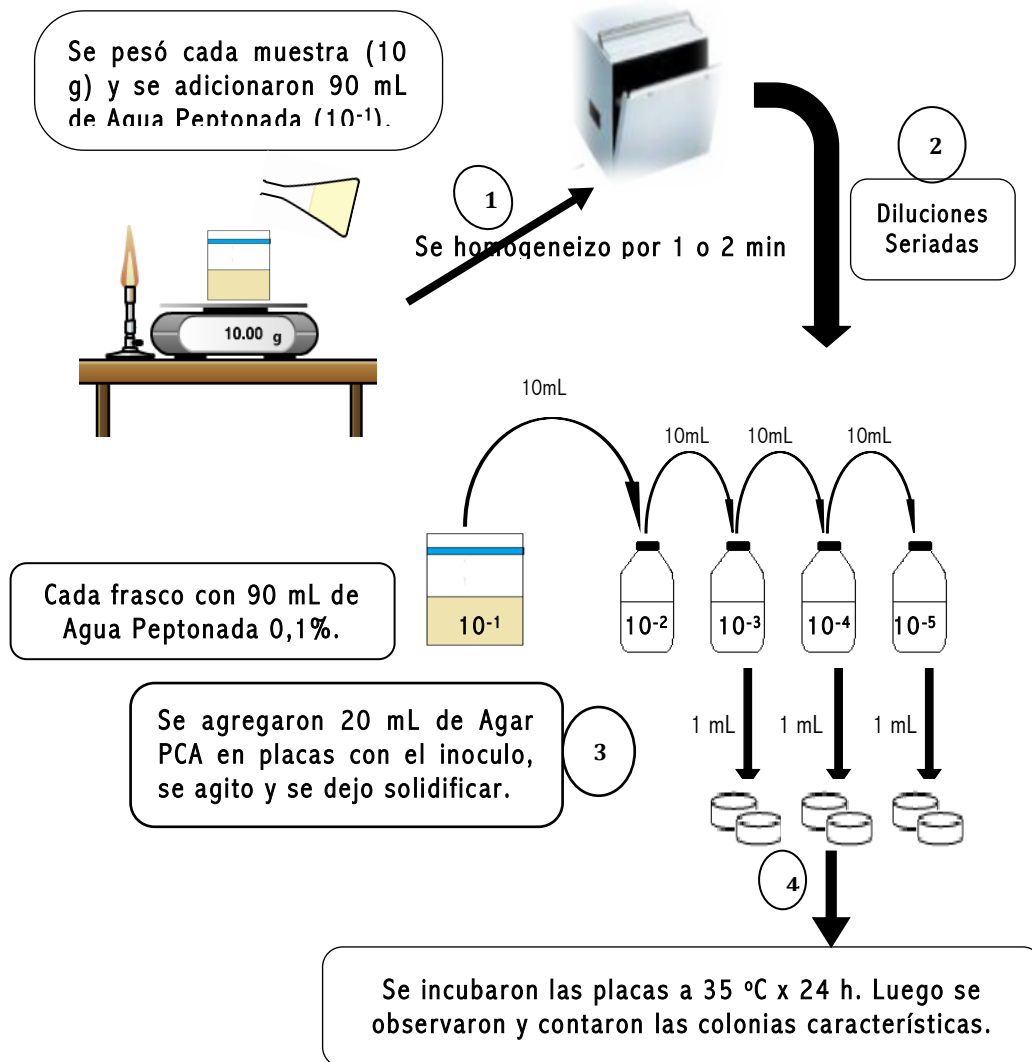


Figura 5. Determinación de Aerobios Mesófilos, mediante el método de siembra por profundidad.

### 5.1.2. Determinación de Mohos y Levaduras

Se realizó, de acuerdo a la Norma COVENIN 1337-90 con ligeras modificaciones. Se empleó el método de siembra por superficie, usando como medio de cultivo Agar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC). Posterior a la siembra, las placas se colocaron en cuarto oscuro a temperatura ambiente, durante 3 a 5 días. Los recuentos fueron reportados como  $\text{Log}_{10}$  UFC/g (Figura 6).

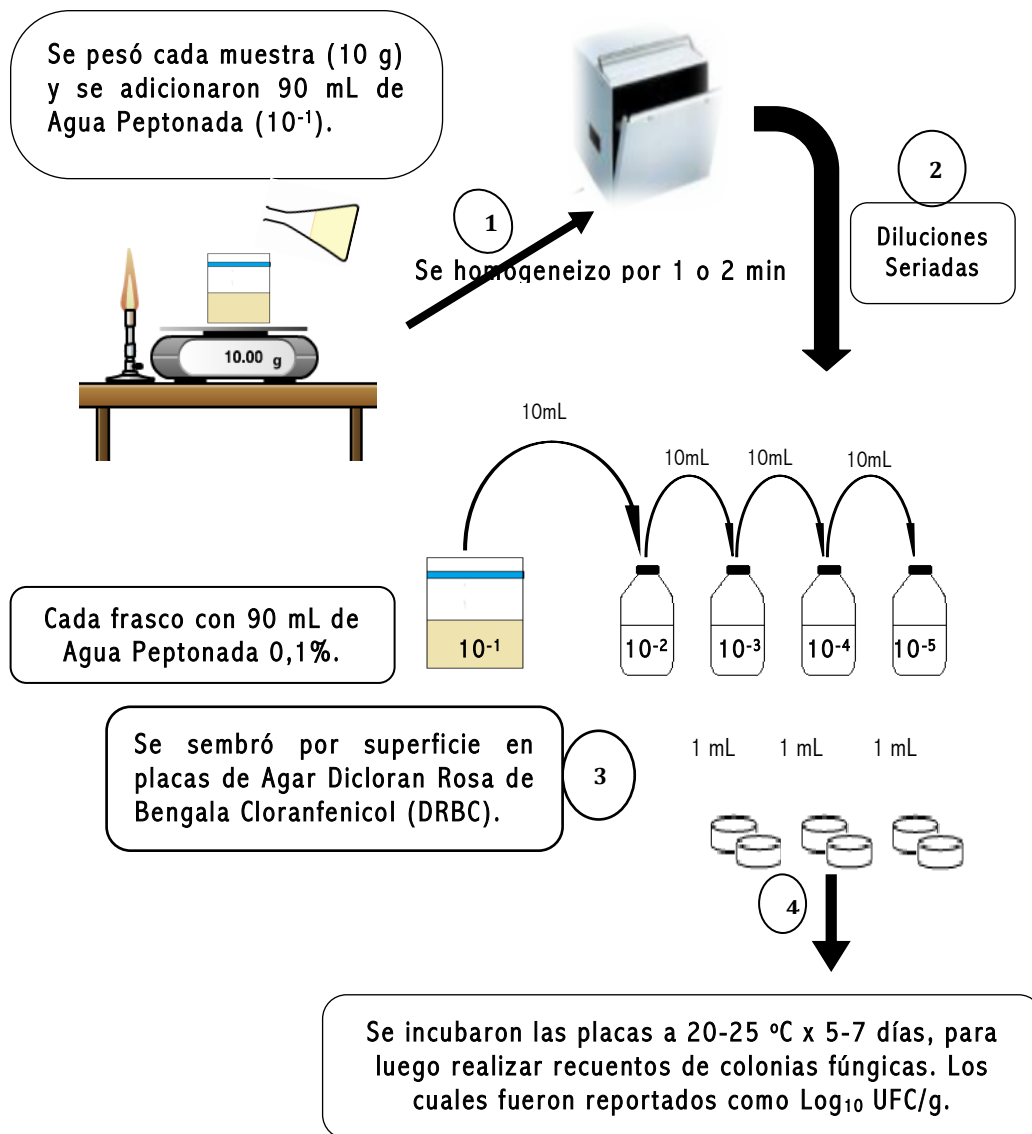


Figura 6. Determinación de Mohos y Levaduras, mediante el método de siembra por superficie.

### 5.1.3. Determinación de Coliformes y *E. coli*

Se realizó de acuerdo a la Norma Venezolana COVENIN 1104:96, recuento de coliformes empleando el método del Número Más Probable (NMP), de la siguiente manera:

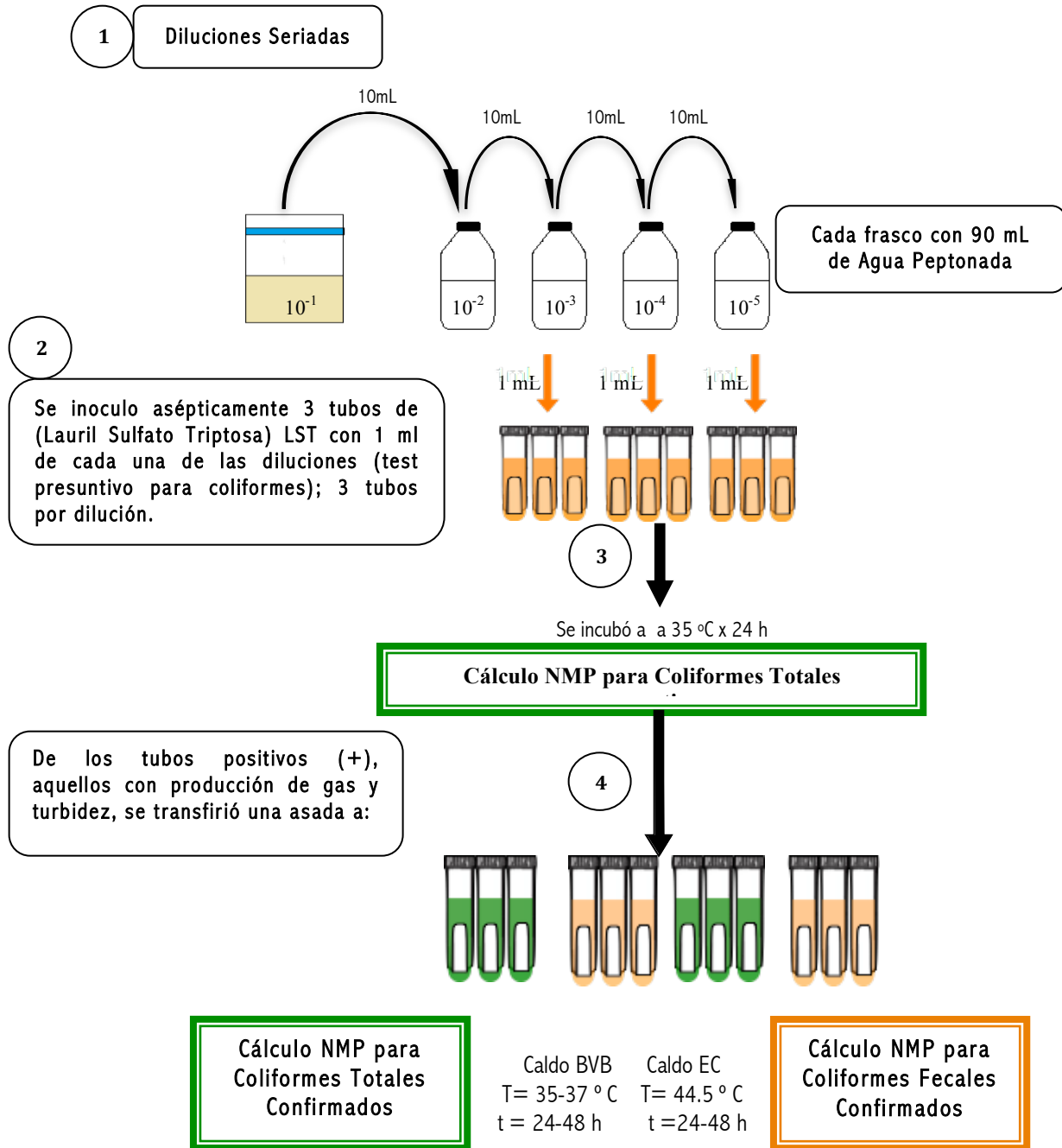


Figura 7. Determinación de Coliformes totales y fecales, mediante el método de Número Más Probable (NMP).

# *Escherichia coli*

A partir de los Tubos positivos (+) de Caldo EC

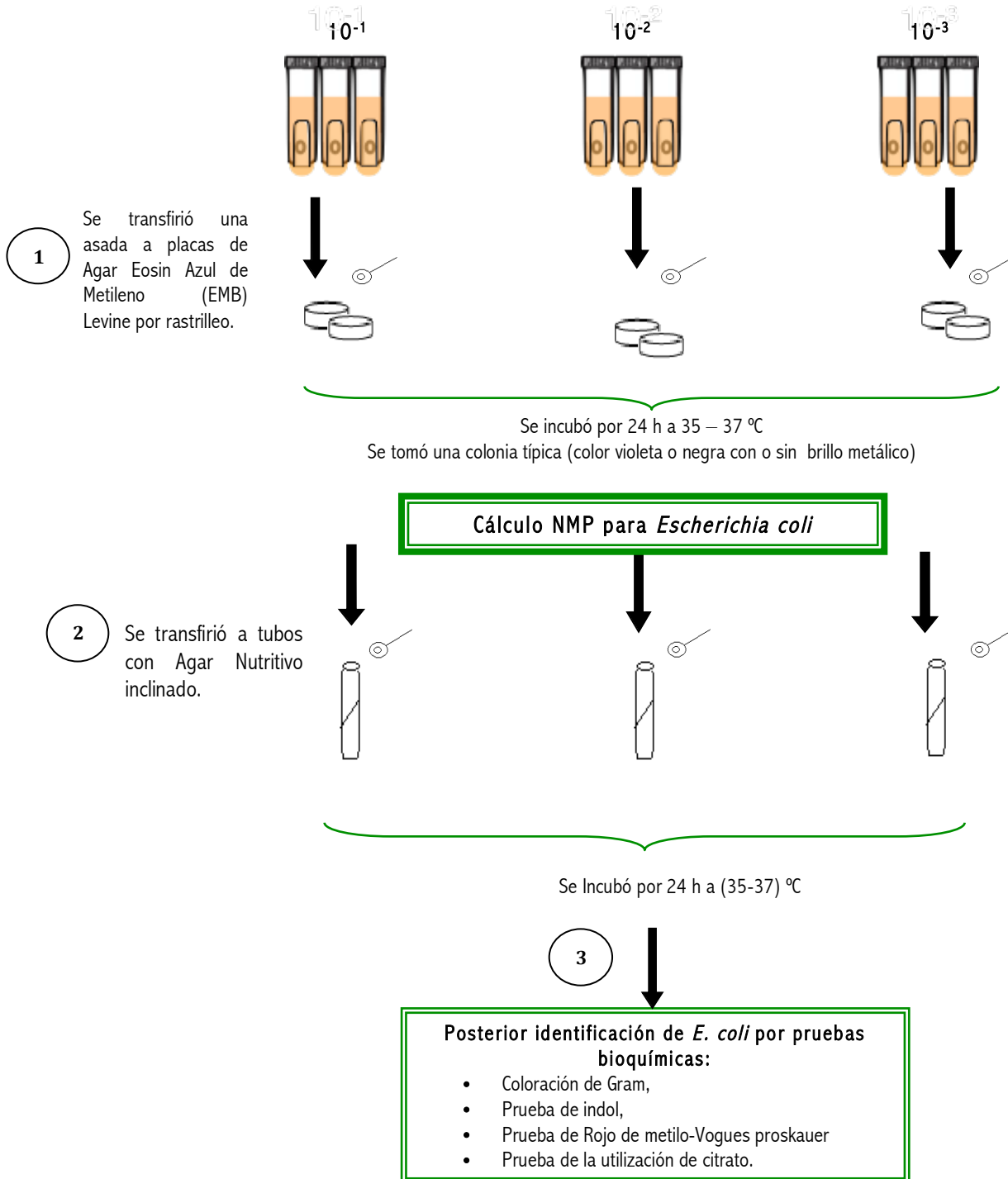


Figura 8. Determinación de *Escherichia coli*, mediante el método de Número Más Probable.

### 5.1.4. Determinación de la incidencia de *Salmonella* sp.

Se realizó de acuerdo con la Norma COVENIN 1291:88, de la siguiente manera:

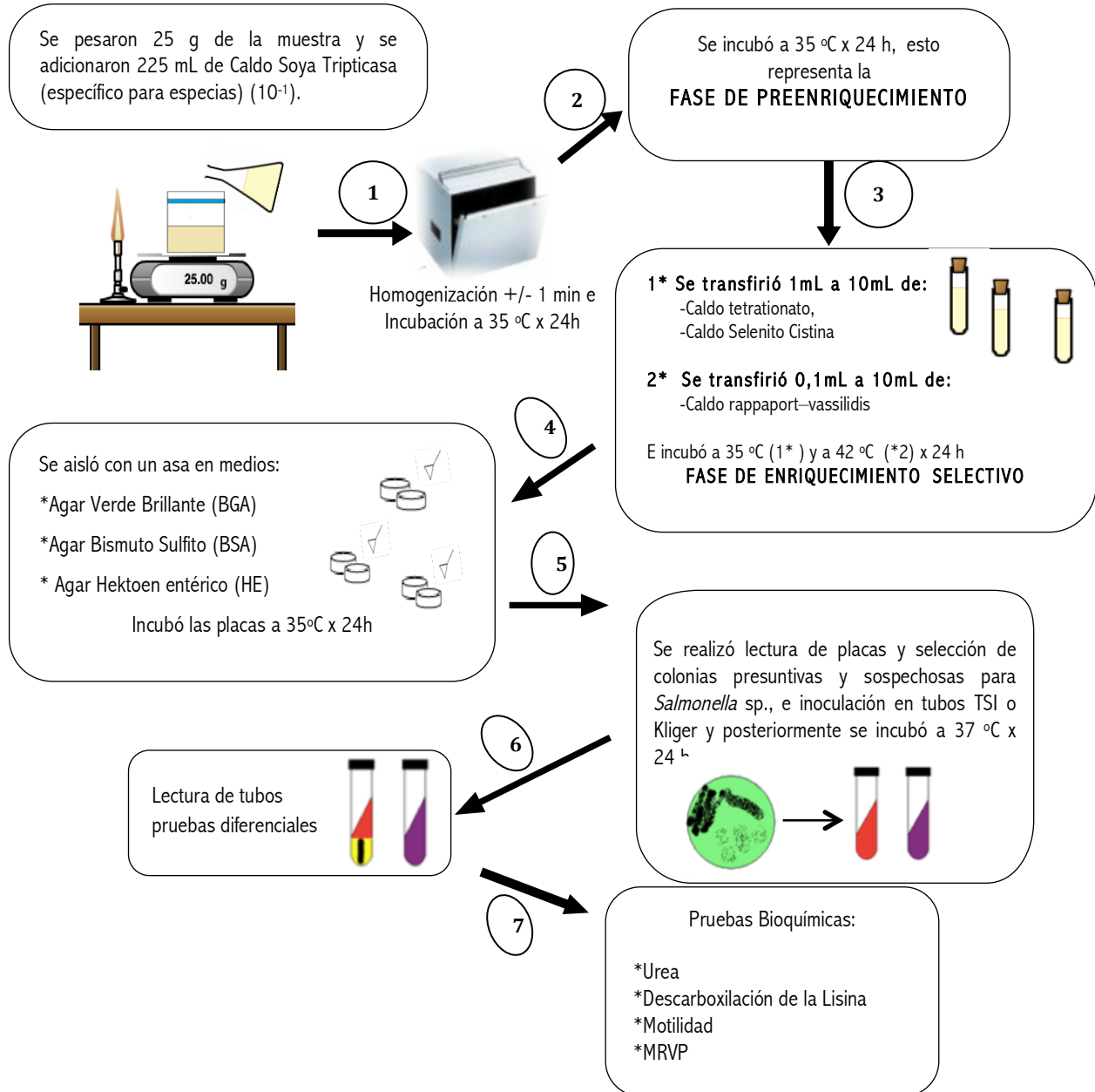


Figura 9. Determinación de la incidencia de *Salmonella* spp. en las diferentes muestras de especies.

## 5.2. Análisis de muestras inoculadas con una población de *Salmonella* entérica ser.

### Enteritidis

Para evaluar el efecto de la luz UV-C sobre la población del microorganismo patógeno *Salmonella* entérica ser. Enteritidis. se analizaron las muestras previamente inoculadas y tratadas con diferentes dosis de Luz UV-C realizando recuentos del microorganismo en estudio, utilizando el Agar selectivo Hektoen. Las muestras inoculadas y tratadas con luz UV-C fueron homogeneizadas con 225 mL de agua peptonada al 0,1% y a partir de esa primera dilución se realizaron diluciones seriadas (4). Luego fueron sembradas por superficie 0,1 mL de cada dilución por duplicado sobre el agar indicado. Las placas fueron incubadas a 35 -37°C por 24 - 48h. Los resultados fueron expresados como Log<sub>10</sub> UFC/g.

## 6. Determinación del color de las especias

Para la evaluación del efecto de la luz UV-C sobre el color de los diferentes tipos de especias, (antes y después de aplicar diferentes dosis de Luz UV-C), se realizaron 6 lecturas para cada muestra, utilizando un colorímetro Hunter Lab Color Flex, calibrando previamente con laminas blanca y negra. Se midieron los parámetros: **L\*** que representa el Índice de Luminosidad o claridad y sus valores varían entre 0 (negro) y 100 (blanco), **a\*** representa el matiz o longitud de onda predominante y **b\*** representa la intensidad del color. Los valores de **a\*** y **b\*** representan coordenadas de cromaticidad, donde existen valores que pasan por una coordenada que pasa por el cero; valores positivos de **a\*** indican rojo, el cero representa el color gris, y valores negativos indican verde, en el caso de **b\***, valores positivos indican color amarillo, el cero indica el color gris, y finalmente, valores negativos indican color azul.

## 7. Evaluación Sensorial

Se realizó el estudio de evaluación sensorial con 30 panelistas no entrenados, aplicando 2 pruebas de diferenciación de tipo DUO-TRIO y una prueba de escala descriptiva, a muestras de especias, sin tratamiento y tratadas con la dosis que resulto efectiva (15,7 kJ/m<sup>2</sup>, 25 min.) para controlar los microorganismos patógenos y deteriorativos. Las pruebas DUO – TRIO se realizaron con la finalidad de establecer si existen diferencias, entre la muestra de referencia si es significativa y diferente a

la muestra evaluada. Para ello se colocaron tres muestras simultaneas de especias, de las cuales una de ellas estaba marcada como muestra de referencia, con la letra “R” (muestra sin tratamiento con Luz UV-C) y dos muestras codificadas, con números aleatorios, de las cuales una era idéntica a la muestra R y la otra era diferente (con tratamiento) (Olivas y col.,2008).

La primera prueba se realizo para evaluar el color y olor de las diferentes especias. Se les suministro 3 muestras simultaneas de las especias (evaluadas individualmente) a los panelistas así como también la planilla correspondiente (ver planilla 1– Anexo 5). Los panelistas debían observar la muestras y colocar en el recuadro el código de la muestra que era igual a la muestra de referencia, en cuanto a los atributos evaluados.

La segunda prueba realizada fue la prueba de escala descriptiva (planilla 2 – Anexo 5), la cual permitió evaluar los atributos color y olor de las especias, siendo en este caso, dos escalas para color y una escala para el atributo olor. Cada escala contenía 9 puntos, para color la primera escala partía del punto 1 (Mas Clara) hasta 9 (Mas Oscura), para la segunda escala partía de 1 (Menos brillante) hasta 9 (Mas brillante), por ultimo, la tercera escala que correspondía al atributo olor, partía de 1 (Menos intenso) hasta 9 (mas intenso), siendo el punto 5 (punto medio) para todas las escalas, el valor asignado para comparar con la muestra de referencia R . Se les suministro dos muestras simultaneas a los panelistas, una muestra de referencia y una codificada (aquella que noto distinta a la muestra de referencia R, en la prueba 1) de esta manera se evaluó si los consumidores eran capaces de detectar cambios o no en el color y olor de las especias, colocando una X sobre el valor que consideraba adecuado en la escala .

Por ultimo se aplico una tercera prueba DUO-TRIO, para evaluar el sabor de las diferentes especias. Se les suministro a los panelistas, 3 muestras simultaneas de la especia, colocadas sobre una matriz neutra (queso requesón). Se coloco sobre un plato, dos muestras sin tratamiento (una denominada R y otra idéntica a R pero codificada) y una muestra tratada y codificada, además se suministro agua y galleta de soda, indicando a los panelistas, que lo consumieran luego de probar cada muestra, previamente se les indico que probaran primero la muestra de referencia y luego las codificadas. Finalmente debían colocar en el recuadro el código de la muestra que era igual a la muestra de referencia, en cuanto al atributo evaluado (planilla 3 – Anexo 5).

## **8. Análisis estadístico de los resultados**

Todos los resultados estadísticos para microbiología y determinación de color fueron realizados a través del programa Statistix 8.0. Los resultados microbiológicos obtenidos fueron analizados aplicando un análisis de varianza ANOVA de una vía, para determinar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las reducciones alcanzadas para las poblaciones de microorganismos en cada especie, con respecto a las distintas dosis de Luz UV-C aplicadas. Luego se realizó un Test de Rangos Múltiples para evaluar diferencias entre las reducciones alcanzadas para la población de *Salmonella entérica* ser. Enteritidis inoculada a las distintas especies, con respecto a las diferentes dosis aplicadas y entres especies.

Los resultados obtenidos para color (mediante el uso del colorímetro) fueron analizados con un ANOVA para determinar la existencia o no de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para cada parámetro ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) y cada especie con respecto a las diferentes dosis de Luz UV-C aplicadas, con un posterior Test de Rangos Múltiples para saber entre cuales existía diferencia.

Los resultados de Evaluación sensorial fueron interpretados utilizando una tabla para pruebas Duo-Trio (Disponible en: <http://apuntescientificos.org/discriminativas.html>)

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

### 1. Evaluación de la calidad e inocuidad de especias mediante la determinación de su flora nativa.

Diferentes estudios de investigación han sido realizados para evaluar la calidad e inocuidad de especias. Algunos de estos estudios han demostrado que la contaminación de las especias varía de acuerdo al tipo de especia y su procedencia, encontrándose que algunas de ellas son muy susceptibles a contaminación, como es el caso de la pimienta; resultando ser *Salmonella* uno de los principales patógenos alimentarios asociados con hierbas y especias secas. En Venezuela, se utilizan especias procedentes de diferentes lugares para impartir sabor a los alimentos, lo que implica que su calidad e inocuidad puede ser variable. Por este motivo, para esta investigación se decidió iniciar el estudio determinando la calidad e inocuidad de distintas especias comercializadas en el Mercado Municipal El Paso, ubicado en los Teques - Estado Miranda, estas fueron: pimienta negra, pimentón, orégano, albahaca y anís, para luego evaluar el efecto de la aplicación de Luz UV-C sobre la calidad e inocuidad de las mismas. Para evaluar la calidad e inocuidad inicial de las especias señaladas se procedió a determinar los recuentos de Aerobios mesófilos, Coliformes Totales, *Escherichia coli*, Mohos y Levaduras, así como también la incidencia de *Salmonella* spp, mostrándose los resultados en la Tabla 6.

Tabla 6 .- Población microbiana Inicial de diferentes especias adquiridas en el Mercado Municipal El paso, ubicado en los Teques - Estado Miranda, Venezuela.

Especia	Aerobios Mesófilos (UFC/g)	Coliformes Totales (NMP/g)	<i>E. coli</i> (NMP/g)	Mohos (UFC/g)	Levaduras (UFC/g)	<i>Salmonella</i> spp. (A/P en 25 g)
<b>PIMENTON</b>	1,30x10 <sup>7</sup>	<3	<3	7,50x10 <sup>2</sup>	<100	Ausencia en 25g
<b>PIMIENTA NEGRA</b>	1,94x10 <sup>5</sup>	84	<3	3,15x10 <sup>3</sup>	6,10x10 <sup>3</sup>	Ausencia en 25g
<b>ALBAHACA</b>	2,39x10 <sup>6</sup>	31	<3	<100	<100	Ausencia en 25g
<b>ORÉGANO</b>	3,38x10 <sup>5</sup>	41	<3	3,95x10 <sup>3</sup>	<100	Ausencia en 25g
<b>ANIS</b>	3,18x10 <sup>5</sup>	<3	<3	<100	<100	Ausencia en 25g

\*Los valores reportados representan el promedio de 2 determinaciones realizadas por duplicado (n=4) ± desviación estándar.

La Norma Venezolana COVENIN 1539-83, separa las especias y condimentos en dos grandes grupos. Para este trabajo, las especias que se analizaron y pertenecen al grupo 1 son: Pimentón y Pimienta Negra, mientras que Albahaca, Orégano y Anís, pertenecen al grupo 2, estableciendo dicha Norma distintos límites para cada grupo de microorganismos. Así pues, para Aerobios Mesófilos, la Norma COVENIN 1539-83 reporta para el grupo 1, límites entre  $10^6$  y  $10^7$  UFC/g, y para el grupo 2 límites entre  $10^4$  y  $10^6$  UFC/g, de acuerdo a esto, comenzando por las especias del primer grupo (resaltadas en color amarillo, en la Tabla 6.), la especia que presentó una alta carga microbiana inicial fue Pimentón con  $1,30 \times 10^7$  UFC/g, encontrándose en el límite máximo permisible y Pimienta Negra con  $1,94 \times 10^5$  UFC/g se encontraba por debajo del límite mínimo. Continuando con el grupo 2 (resaltadas en color verde, en la Tabla 6.), Albahaca con  $2,39 \times 10^6$  UFC/g encontrándose también en el límite máximo permisible, mientras que las demás especias Orégano y Anís se encontraban dentro del rango permitido, siendo sus recuentos  $3,38 \times 10^5$  UFC/g, y  $3,19 \times 10^5$  UFC/g, respectivamente.

Por otra parte con respecto a Coliformes, tanto Kadis (1971), como Karison y Gunderson (1965) (citados por Iracheta, 1998), reportan que es frecuente encontrar Coliformes Totales en las especias, sin embargo señalan que *E. coli* no es tan común. Para la determinación de Coliformes Totales, la Norma COVENIN 1539-83 establece un límite entre 10 y  $10^3$  UFC/g para ambos grupos de especias por el método de siembra en placas. No obstante, en este trabajo, se realizó por el método del Número Más Probable (Tabla 6), ya que de esta manera, también se podía determinar *E. coli*, encontrándose, que todas las especias presentaron recuentos que se encontraban dentro de los límites permitidos, mostrando tres tipos de especias (Orégano, Pimienta Negra y Albahaca), valores mayores (41 NMP/g, 84 NMP/g y 31 NMP/g, respectivamente) para Coliformes Totales, que las otras dos (Pimentón y Anís  $<3$  NMP/g). Luego de ello, siguiendo el orden de la metodología, se determinó *E. coli*, resultando menor de 3 NMP/g, para todas las especias en estudio, indicando de esta manera que las especias, no presentaban contaminación con materia fecal, recordando que este tipo de productos así como cualquier producto alimenticio, se exponen a contaminantes desde su cultivo hasta su consumo, por lo tanto no están exentos de peligros físicos, químicos o microbiológicos, incluyendo importantes bacterias patógenas.

En el mismo orden, para el recuento de Mohos, la Norma establece límites entre  $10^3$ - $10^5$  UFC/g para el grupo 1 y entre  $10^2$ - $10^4$  UFC/g para el grupo 2 de especias, por lo que en este trabajo, de las especias pertenecientes al grupo 1: Pimentón con  $7,50 \times 10^2$  UFC/g se ubicó por debajo de lo establecido en la norma, mientras Pimienta Negra con  $3,15 \times 10^3$  UFC/g se encontró en el límite mínimo permisible. Con respecto al grupo 2, Orégano con  $3,40 \times 10^3$  UFC/g, se encontró entre los

límites, mientras que para Albahaca y Anís, se obtuvieron recuentos  $<100$  UFC/g, manteniéndose así por debajo de los límites establecidos. Debido a que la Norma para especias no especifica determinación de Levaduras, ésta se realizó, en base a la Norma Venezolana Covenin 1337-90, contando por separado Mohos y Levaduras, siendo la única especia Pimienta Negra, la que presentó un recuento de  $6,10 \times 10^3$  UFC/g, mientras que para el resto de las especias fue  $<100$  UFC/g.

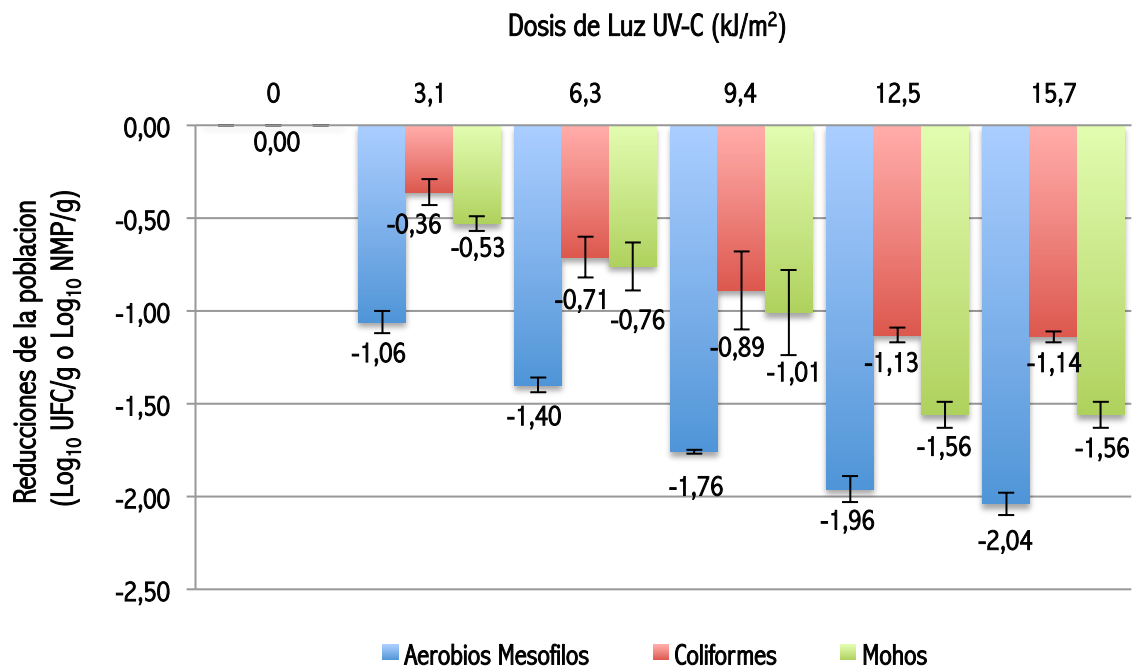
Con respecto a la incidencia de *Salmonella* spp. en las diferentes especias analizadas, se encontró que ninguna de las especias mostró la presencia de este microorganismo (Tabla 6), lo que indica que se pueden considerar inocuas las muestras evaluadas. Además este resultado junto con el resultado obtenido para la determinación de *E. coli* ( $< 3$  NMP/g) hacen referencia a la aplicación de las buenas prácticas de agricultura, manipulación y distribución. Estos resultados difieren de los reportados por otros investigadores como Laidley y col., (1974), Bruchmann (1995) y Kneifel y Fierger (1993) citados por Iracheta (1998), quienes encontraron la presencia de *Salmonella* spp. en muestras de pimienta negra y roja, así como también de los reportes mostrados por la FDA y el CDC de los análisis realizados a diferentes especias durante el período 1985-2012 (Tabla 3).

## **2. Evaluación del efecto de la luz UV-C sobre la flora nativa de diferentes especias.**

Una vez que se determinó la flora naturalmente presente en las distintas especias en estudio, se procedió a evaluar el efecto de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C sobre esas poblaciones nativas de microorganismos, observándose reducciones significativas.

En la Figura 10, se muestran las reducciones de las poblaciones microbianas naturalmente presentes en orégano (en hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7  $\text{kJ/m}^2$ ), observándose después de aplicar un análisis estadístico ANOVA que las reducciones van incrementando de una manera significativa ( $p < 0,05$ ) a medida que aumenta la dosis de Luz Ultravioleta aplicada, resultando ser la máxima dosis utilizada (15,7  $\text{kJ/m}^2$ ) la más efectiva para reducir la mayoría de las poblaciones. De esta manera, se puede ver que las máximas reducciones alcanzadas para las poblaciones de Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales y Mohos fueron de 2,04  $\log_{10}$  UFC/g, 1,14  $\log_{10}$  NMP/g y 1,56  $\log_{10}$  UFC/g, respectivamente.

La interpretación de estos datos nos conduce al resultado satisfactorio de que con un tratamiento de esta especie (Orégano) con Luz UV-C por 25 minutos, equivalente a una dosis de 15,7 kJ/m<sup>2</sup>, se logró reducir las poblaciones de los microorganismos mencionados hasta niveles que están por debajo de los límites permitidos por la Norma COVENIN1539-83. Así por ejemplo, las muestras de Orégano tenían una población inicial promedio de Aerobios Mesófilos de 3,38x10<sup>5</sup> UFC/g (5,53 log<sub>10</sub> UFC/g) (ver Tabla 6) y después de aplicar Luz UV-C en su máxima dosis (15,7 kJ/m<sup>2</sup>) se encontró una población final de 3,15x10<sup>3</sup> UFC/g (3,49 log<sub>10</sub> UFC/g) (es decir la reducción fue de 2,04 log<sub>10</sub> UFC/g, Figura 1), estando los límites permitidos por la Norma COVENIN1539-83 entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>6</sup> UFC/g (4 y 6 log<sub>10</sub> UFC/g) para el grupo 2 de especias y condimentos (dentro del cual se ubica el Orégano).



**Figura 10.-** Reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en muestras de Orégano (en hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C. Los valores representados son el promedio de 2 determinaciones realizadas por duplicado (n=4) ± desviación estándar, para cada dosis aplicada. Las reducciones de las poblaciones de Aerobios Mesófilos y Mohos son expresadas en log<sub>10</sub> UFC/g, mientras que las reducciones de la población de Coliformes Totales son expresadas en log<sub>10</sub> NMP/g, basado esto en el método de determinación utilizado.

Siguiendo el mismo orden que para el análisis anterior, con respecto a Coliformes Totales en Orégano, se encontró que inicialmente la población presentaba un recuento de 41 NMP/g (Tabla 6) lo que es equivalente a  $1,61 \log_{10}$  NMP/g, luego al aplicar el tratamiento de Luz UV-C en su dosis máxima ( $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ), se logró una reducción de  $1,14 \log_{10}$  NMP/g para dicha población (Figura 10), quedando así con un recuento final de  $<3$  NMP/g, lo que corresponde a  $< 0,48 \log_{10}$  NMP/g.

Finalmente para la población de Mohos que inicialmente se encontraba en el orden de  $3,95 \times 10^3$  UFC/g (Tabla 6.), lo que es equivalente a  $3,60 \log_{10}$  UFC/g, al aplicar tanto la dosis de  $12,5 \text{ kJ/m}^2$ , como la máxima dosis de Luz UV-C ( $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ) se logró una reducción de  $1,56 \log_{10}$  UFC/g (Figura 10), quedando así con un recuento final de  $<100$  UFC/g, lo que corresponde a  $<2,00 \log_{10}$  UFC/g, resultando así por debajo de lo establecido en la Norma Covenin 1539-83 ( $10^2 - 10^4$  UFC/g).

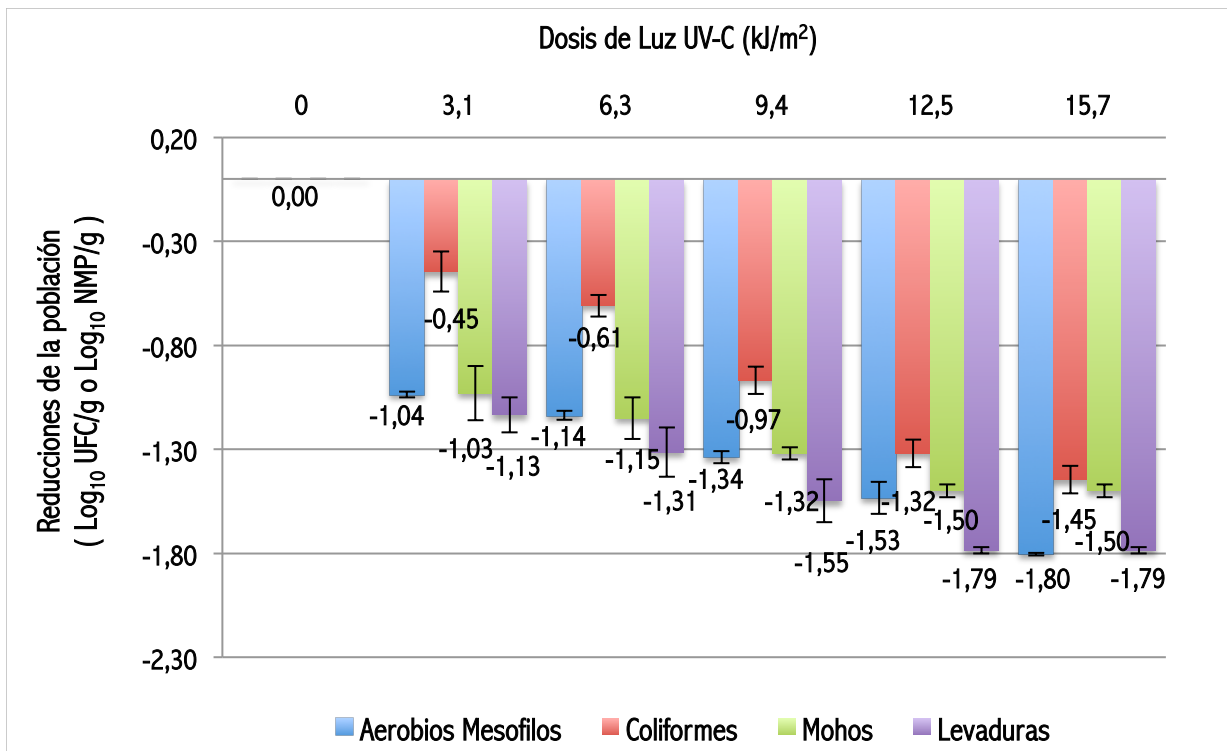
Debido a que Levaduras y otros microorganismos patógenos o indicadores de éstos como: *Salmonella* spp y *Escherichia coli* no fueron encontrados inicialmente en esta especie (orégano) ( $<100$  UFC/g, Ausente en 25 gramos y  $<3$  NMP/g, respectivamente, ver Tabla 6), no se consideró necesario realizar la determinación de ellos luego de aplicar el tratamiento con Luz UV-C.

En la Figura 11., se muestran las reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en Pimienta Negra (molida), en función de la aplicación de distintas dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5;  $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ). En esta figura se puede observar claramente que ocurre un incremento de las reducciones para la mayoría de las poblaciones a medida que aumenta la dosis de Luz UV-C aplicada. Además después de realizar un análisis estadístico de ANOVA se encontró que existían diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintas dosis aplicadas (para casi todas las poblaciones), aumentando la efectividad a medida que incrementa la dosis (en la mayoría de los casos), resultando la dosis más alta ( $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ) ser la más efectiva para reducir al máximo las poblaciones de Aerobios Mesófilos y Coliformes, mientras que para Mohos y Levaduras la dosis de  $12,5 \text{ kJ/m}^2$  y  $15,7 \text{ kJ/m}^2$  resultaron ser igualmente efectivas.

Al evaluar el efecto de la Luz UV-C sobre las diferentes poblaciones nativas encontramos, que la población de Aerobios Mesófilos que inicialmente se encontraba en  $1,94 \times 10^5$  UFC/g ( $5,29 \log_{10}$  UFC/g) (Tabla 6) se redujo en  $1,80 \log_{10}$

UFC/g (Figura 11) al aplicar la dosis máxima de Luz UV-C (15 kJ/m<sup>2</sup>), alcanzando así una población final de 4,50x10<sup>3</sup> UFC/g (3,48 log<sub>10</sub> UFC/g) quedando ahora mucho más por debajo de lo establecido en la Norma Covenin 1539-83 para esta especie (10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> UFC/g).

Con respecto a los Coliformes Totales, la población inicialmente se encontraba en 84 NMP/g (1,92 log<sub>10</sub> NMP/g) (Tabla 6) y al aplicar el tratamiento con Luz UV-C en su dosis máxima (15 kJ/m<sup>2</sup>), se logró una reducción de 1,45 log<sub>10</sub> NMP/g (Figura 11) quedando así la población en un recuento de <3 NMP/g (<0,48 log<sub>10</sub> NMP/g) después del tratamiento.



**Figura 11.** Reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en muestras de Pimienta Negra (molida), en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C. Los valores representados son el promedio de 2 determinaciones realizadas por duplicado (n=4) ± desviación estándar, para cada dosis aplicada. Las reducciones de las poblaciones de Aerobios Mesófilos, Mohos y Levaduras son expresadas en log<sub>10</sub> UFC/g, mientras que las reducciones de la población de Coliformes Totales son expresadas en log<sub>10</sub> NMP/g, basado esto en el método de determinación utilizado.

Para la población de Mohos que inicialmente se encontraba en el orden de  $3,15 \times 10^3$  UFC/g ( $3,60 \log_{10}$  UFC/g) (Tabla 6.), se logró una reducción de  $1,50 \log_{10}$  UFC/g (Figura 2) al aplicar tanto la dosis de  $12,5 \text{ kJ/m}^2$  como la máxima dosis de Luz UV-C ( $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ), resultando la población final con un recuento de  $<100$  UFC/g ( $<2,00 \log_{10}$  UFC/g) quedando así por debajo de lo establecido en la Norma COVENIN 1539-83 para esta especie (pimienta negra) ( $10^3$ - $10^5$  UFC/g).

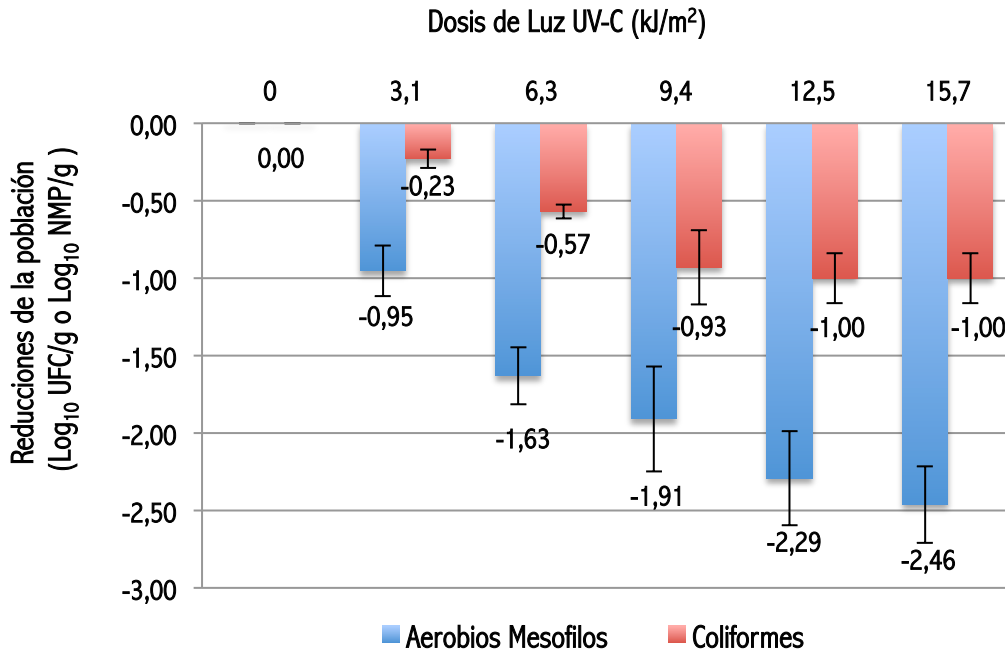
Finalmente para la población de Levaduras, que inicialmente se encontraba en  $6,10 \times 10^3$  UFC/g ( $3,79 \log_{10}$  UFC/g) (Tabla 6), al aplicar tanto la dosis de  $12,5 \text{ kJ/m}^2$  como la dosis máxima de Luz UV-C ( $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ) se logró una reducción de  $1,79 \log_{10}$  UFC/g, quedando la población final en un recuento de  $<100$  UFC/g, lo que corresponde a  $<2,00 \log_{10}$  UFC/g.

Debido a que los microorganismos *Escherichia coli* y *Salmonella* spp no fueron encontrados inicialmente ( $<3$  NMP/g y Ausente en 25 gramos, respectivamente), no se realizó la determinación de éstos microorganismos después de aplicar el tratamiento con Luz UV-C.

En la Figura 12, se muestran las reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en Albahaca (en hojas), en función de la aplicación de distintas dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5;  $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ). Esta figura muestra como las reducciones de las poblaciones de Aerobios Mesófilos y Coliformes incrementan a medida que aumenta la dosis de Luz UV-C aplicada, Además después de realizar un análisis estadístico de ANOVA se encontró que existían diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintas dosis aplicadas, aumentando la efectividad a medida que incrementa la dosis, resultando la dosis más alta ( $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ) ser la más efectiva para reducir al máximo la población de Aerobios Mesófilos, mientras que para los Coliformes Totales las dosis de  $12,5 \text{ kJ/m}^2$  y  $15,7 \text{ kJ/m}^2$  resultaron igualmente efectivas.

Al evaluar el efecto de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C sobre la población de Aerobios Mesófilos en las muestras de Albahaca (en hojas) se observó, que la población inicial de este grupo de microorganismos que se encontraba en  $2,39 \times 10^6$  UFC/g ( $6,37 \log_{10}$  UFC/g) (Tabla 6.), sufrió una reducción de  $2,46 \log_{10}$  UFC/g (Figura 12) luego de aplicar la dosis máxima de Luz UV-C ( $15 \text{ kJ/m}^2$ ), alcanzándose una población final de  $8,20 \times 10^3$  UFC/g ( $3,91 \log_{10}$  UFC/g), quedando así por debajo de lo establecido en la Norma COVENIN 1539-83, para esta especie ( $10^4$ - $10^6$  UFC/g).

Con respecto a los Coliformes Totales, se encontró que la población de este grupo de microorganismos que inicialmente era de 31 NMP/g ( $1,49 \log_{10}$  NMP/g) (Tabla 6) sufrió una reducción de  $1,00 \log_{10}$  NMP/g (Figura 12) luego de haberse aplicado tanto la dosis de  $12,5 \text{ kJ/m}^2$  como la máxima de Luz UV-C ( $15 \text{ kJ/m}^2$ ) a las muestras de Albahaca (en hojas), quedando finalmente la población en un recuento de  $<3 \text{ NMP/g}$  ( $<0,48 \log_{10}$  NMP/g).



**Figura 12.** Reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en muestras de Albahaca (hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C. Los valores representados son el promedio de 2 determinaciones realizadas por duplicado ( $n=4$ )  $\pm$  desviación estándar, para cada dosis aplicada. Las reducciones de las poblaciones de Aerobios Mesófilos son expresadas en  $\log_{10}$  UFC/g, mientras que las reducciones de la población de Coliformes Totales son expresadas en  $\log_{10}$  NMP/g, basado esto en el método de determinación utilizado.

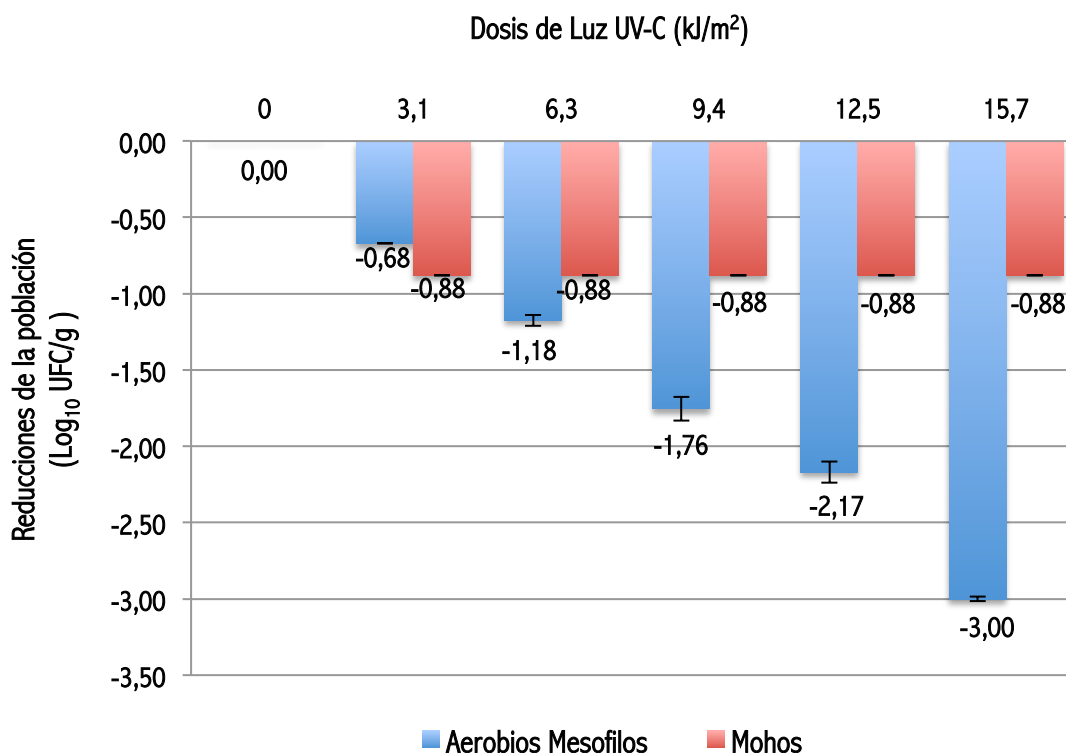
Debido a que Mohos, Levaduras y microorganismos como: *Escherichia coli* y *Salmonella* spp no fueron encontrados inicialmente en las muestras de Albahaca (en hojas) ( $<100 \text{ UFC/g}$ ,  $<100 \text{ UFC/g}$ ,  $<3 \text{ NMP/g}$ , y Ausente en 25 gramos, respectivamente), no se consideró necesario realizar la determinación de estos microorganismos luego de aplicar el tratamiento con Luz UV-C.

En la Figura 13, se pueden observar las reducciones de las poblaciones microbianas naturalmente presentes en muestras de Pimentón (en polvo), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5 7 15,7 kJ/m<sup>2</sup>). En dicha figura se puede apreciar como las reducciones de la población de Aerobios Mesófilos incrementan a medida que aumenta la dosis de Luz UV-C aplicada, Además después de realizar un análisis estadístico de ANOVA se encontró que existían diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintas dosis aplicadas, aumentando la efectividad a medida que incrementa la dosis, resultando la dosis más alta (15,7 kJ/m<sup>2</sup>) ser la más efectiva para reducir la población de Aerobios Mesófilos. Por otro lado con respecto a la población de mohos se observó que con la dosis más baja (3,1 kJ/m<sup>2</sup>) de Luz UV-C ya se logró reducir completamente su población, esto debido a que su población inicial era bastante baja.

La población de Aerobios Mesófilos en las muestras de Pimentón (en polvo) se encontraba inicialmente en  $1,30 \times 10^7$  UFC/g ( $7,11 \log_{10}$  UFC/g) (Tabla 6), sufriendo una reducción de  $3 \log_{10}$  UFC/g al aplicar la dosis máxima de Luz UV-C (15,7 kJ/m<sup>2</sup>) (Figura 13), alcanzando un recuento final de  $1,30 \times 10^4$  UFC/g ( $4,11 \log_{10}$  UFC/g), y quedando así por debajo de lo establecido en la Norma Covenin 1539-83, para esta especie ( $10^6$ - $10^7$  UFC/g).

En cuanto a la población de Mohos, inicialmente se encontró un recuento promedio de  $7,50 \times 10^2$  UFC/g ( $2,88 \log_{10}$  UFC/g) (Tabla 6) para las muestras de pimentón (en polvo), el cual sufrió una reducción de 0,88 UFC/g (Figura 4) al aplicar la dosis mínima de Luz UV-C (3,1 kJ/m<sup>2</sup> equivalente a 5 minutos) (Figura 13), quedando la población final en un recuento de  $<100$  UFC/g, lo que corresponde a  $<2,00 \log_{10}$  UFC/g, siendo este recuento menor al establecido en la Norma Covenin 1539-83 para esta especie ( $10^3$ - $10^5$  UFC/g).

Debido a que Coliformes, Levaduras y microorganismos como: *Escherichia coli* y *Salmonella* spp no fueron encontrados inicialmente ( $<3$  NMP/g,  $<100$  UFC/g,  $<3$  NMP/g, y Ausente en 25 gramos, respectivamente), no se realizó la determinación de ellos luego de aplicar el tratamiento con Luz UV-C.

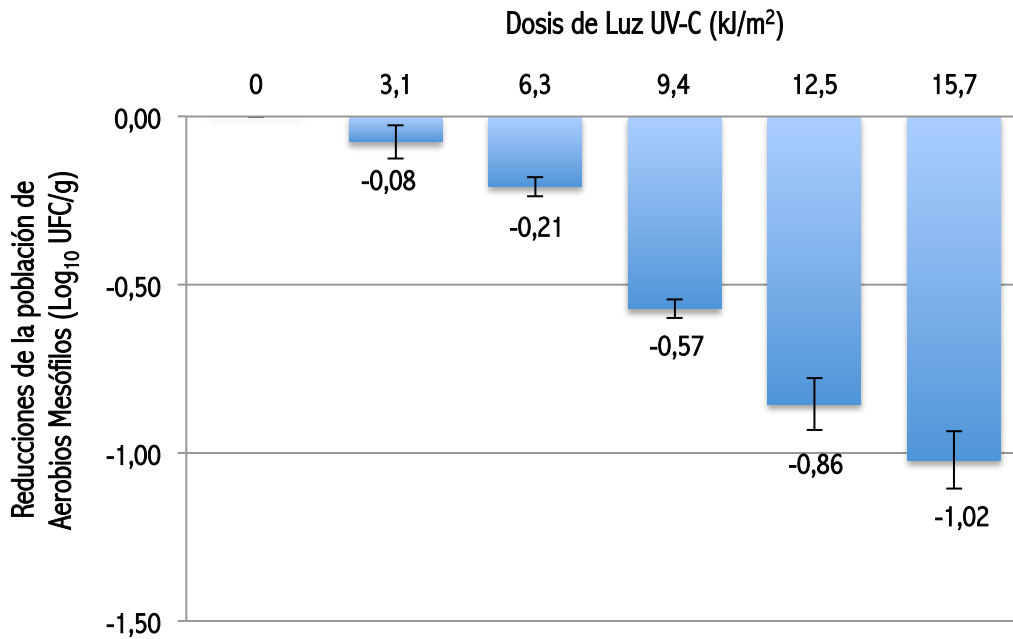


**Figura 13.** Reducciones de las poblaciones de los diferentes microorganismos naturalmente presentes en muestras de Pimentón, en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C. Los valores representados son el promedio de 2 determinaciones realizadas por duplicado ( $n=4$ )  $\pm$  desviación estándar, para cada dosis aplicada. Las reducciones de las poblaciones de Aerobios Mesófilos y Mohos son expresadas en  $\log_{10}$  UFC/g, basado esto en el método de determinación utilizado.

En la Figura 14, se observan las reducciones de la población de Aerobios Mesófilos, naturalmente presentes en muestras de Anís (semillas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7 kJ/m<sup>2</sup>). En dicha figura se puede apreciar como las reducciones de la población de Aerobios Mesófilos incrementan a medida que aumenta la dosis de Luz UV-C aplicada, Además después de realizar un análisis estadístico de ANOVA se encontró que existían diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintas dosis aplicadas, aumentando la efectividad a medida que incrementa la dosis, resultando la dosis más alta (15,7 kJ/m<sup>2</sup>) ser la más efectiva para reducir la población de Aerobios Mesófilos.

La población promedio de Aerobios Mesófilos inicialmente encontrada en las muestras de Anís fue de  $3,18 \times 10^5$  UFC/g ( $5,50 \log_{10}$  UFC/g) (Tabla 6), sufriendo una reducción de  $1,02 \log_{10}$  UFC/g (Figura 14) al aplicar la dosis máxima de Luz

UV-C a las muestras ( $15 \text{ kJ/m}^2$ ), alcanzando un recuento final de  $3,00 \times 10^4 \text{ UFC/g}$  ( $4,48 \log_{10} \text{ UFC/g}$ ), ubicándose así en el límite mínimo establecido por la Norma COVENIN 1539-83, para esta especie ( $10^4$ - $10^6 \text{ UFC/g}$ ).



**Figura 14.** Reducciones de la población de Aerobios Mesófilos naturalmente presente en muestras de Anís, en función de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C. Los valores representados son el promedio de 2 determinaciones realizadas por duplicado ( $n=4$ )  $\pm$  desviación estándar, para cada dosis aplicada. Las reducciones de las poblaciones de Aerobios Mesófilos son expresadas en  $\log_{10} \text{ UFC/g}$ , basado esto en el método de determinación utilizado.

Debido a que Coliformes, Mohos, Levaduras y microorganismos como: *Escherichia coli* y *Salmonella* spp no fueron encontrados inicialmente en las muestras de Anís ( $<3 \text{ NMP/g}$ ,  $<100 \text{ UFC/g}$ ,  $<100 \text{ UFC/g}$ ,  $<3 \text{ NMP/g}$ , y Ausente en 25 gramos, respectivamente), no se realizó la determinación de ellos luego de aplicar el tratamiento con Luz UV-C.

En general se puede decir que la aplicación de Luz UV-C a muestras de especias reduce significativamente la carga microbiana, mejorando así la calidad microbiológica de las mismas.

### 3. Evaluación del efecto de diferentes dosis de Luz UV-C sobre una población de *Salmonella entérica* ser. Enteritidis inoculada sobre distintas especias

Una vez evaluado el efecto de diferentes dosis de Luz UV-C sobre la flora nativa de distintas especias (Pimienta negra, pimentón, albahaca, orégano y anís), se procedió a evaluar el efecto de esas mismas dosis de Luz UV-C sobre una población de *Salmonella entérica* ser. Enteritidis inoculada sobre muestras de las especias mencionadas anteriormente. Esto se realizó con la finalidad de ver que tan efectiva es esta tecnología contra microorganismos patogénicos que representan un riesgo para la salud del consumidor.

*S. Enteritidis*, si bien es un enteropatógeno frecuentemente involucrado en brotes de infecciones transmitidas por alimentos, asociadas al consumo de alimentos derivados de las aves, tales como huevos y carnes insuficientemente cocidas o productos contaminados con excrementos de las mismas, es también una bacteria omnipresente y resistente que puede sobrevivir durante varias semanas en ambientes secos, así como sobrevivir en el suelo y en el agua. Es por ello que se ha vinculado a productos deshidratados, debido a la alta tolerancia a la desecación, puede sobrevivir durante un período de tiempo prolongado en especias y hierbas secas. Por lo tanto, mediante el uso de especias y hierbas no tratadas para la producción de alimentos no sometidos a un tratamiento térmico o para el condimento de productos listos para comer, podría introducirse *Salmonella* y de esta manera podría representar una amenaza para los consumidores. (Zweifel y col., 2012)

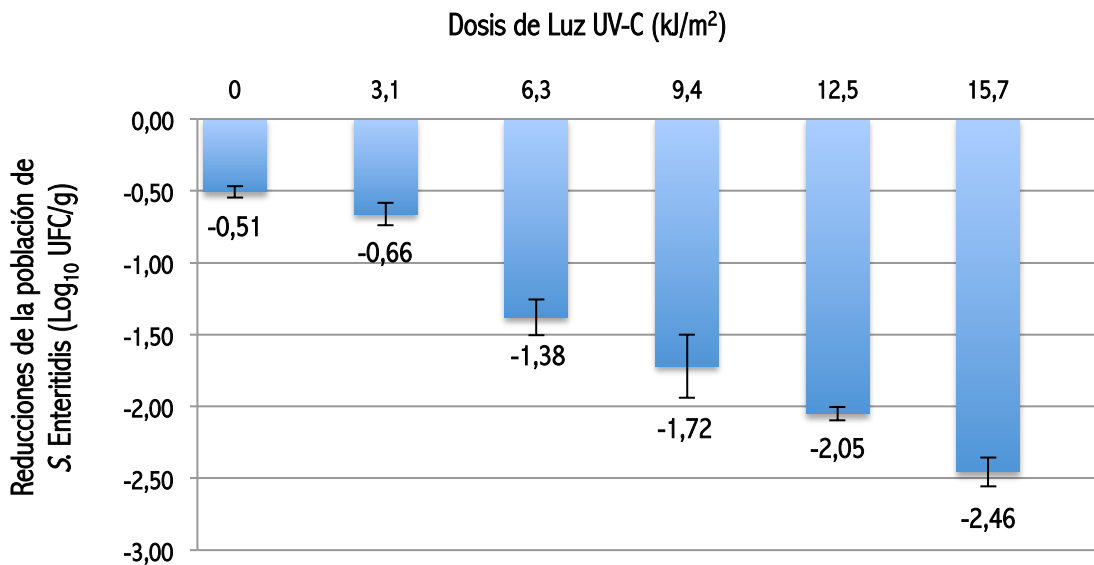
No obstante, debido a que normalmente las especias son consumidas en su forma natural y en pequeñas cantidades, los consumidores que presentan síntomas de infección difícilmente creen que el daño haya sido provocado por las especias y lo atribuyen más bien a los alimentos consumidos en mayor proporción. Esto hace que muchos casos no se reporten como enfermedades provocadas por especias. (González, 2013)

En esta investigación se consideró de gran importancia evaluar la efectividad de la tecnología de Luz UV-C sobre este patógeno, como una posible alternativa para garantizar la inocuidad de este tipo de productos.

Lo primero que se pudo observar fue que las especias por sí solas tuvieron un ligero efecto antimicrobiano sobre la población de *S. Enteritidis* inoculada, lo cual se puede apreciar en las Figuras 6 a 10 (Dosis 0), hecho que ha sido demostrado a lo largo de los años. Además se apreció que ese efecto varió en función de la especia, mostrando ser el Orégano la especia con mayor efecto antimicrobiano (reducción de 0,95 log de UFC/g; Figura 7).

Por otra parte se pudo apreciar que la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C causó importantes reducciones de la población de *S. Enteritidis* en las distintas especias, mostrando variaciones entre ellas, por lo cual se discuten por separado, aunque la tendencia general es similar (> dosis > reducción de la población del microorganismo).

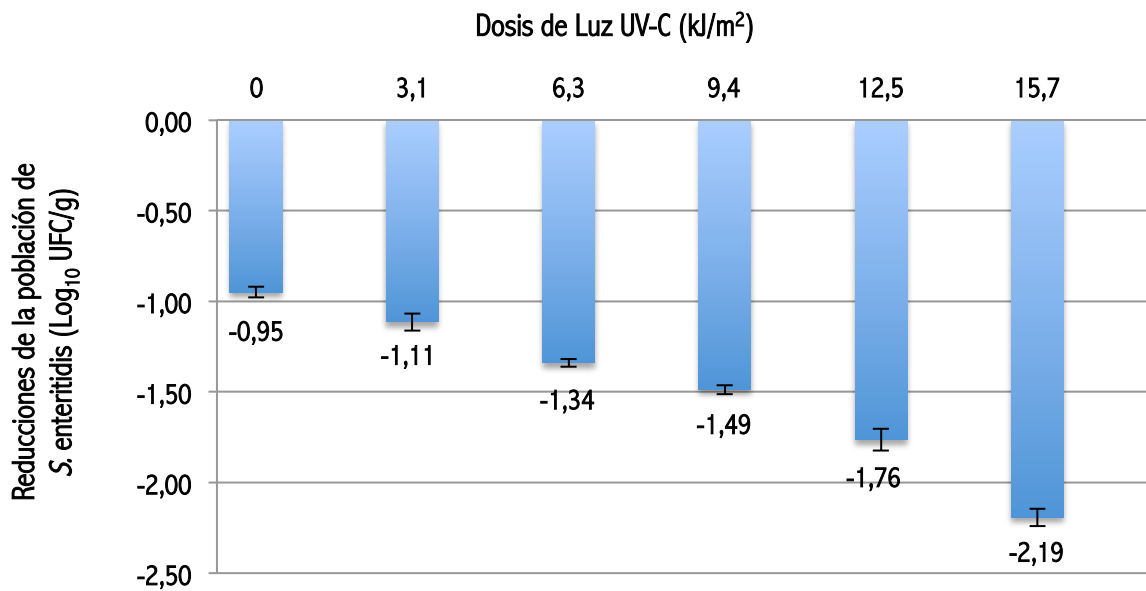
En la figura 15, se muestran las reducciones de la población de *S. Enteritidis* en muestras de Pimentón (molido), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7 kJ/m<sup>2</sup>), observándose que las reducciones van incrementando significativamente ( $p < 0,05$ ) a medida que aumenta la dosis de luz ultravioleta aplicada y obteniéndose la mayor reducción de la población de dicho microorganismo (2,46 log<sub>10</sub> UFC/g) con una dosis de (15 kJ/m<sup>2</sup>), equivalente a 25 minutos de exposición a la Luz UV-C.



**Figura 15.** Reducciones de la población de *S. Enteritidis* inoculada en muestras de Pimentón (molido), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7 kJ/m<sup>2</sup>).

Las reducciones alcanzadas para la población de *S. Enteritidis* en muestras de Pimentón (molido) en esta investigación son mayores a las reportadas por Ho-Lyeong Cheon y col, (2015) quienes señalaron que aplicando una dosis de 20,4 kJ/m<sup>2</sup> (10 min) a pimiento rojo en polvo se logró una reducción de la población de *Salmonella* de 0,29 log<sub>10</sub> UFC/g. Mientras que con un tratamiento combinado con calentamiento suave a 65°C se logró una mayor reducción del patógeno (3,06 log<sub>10</sub> UFC/g).

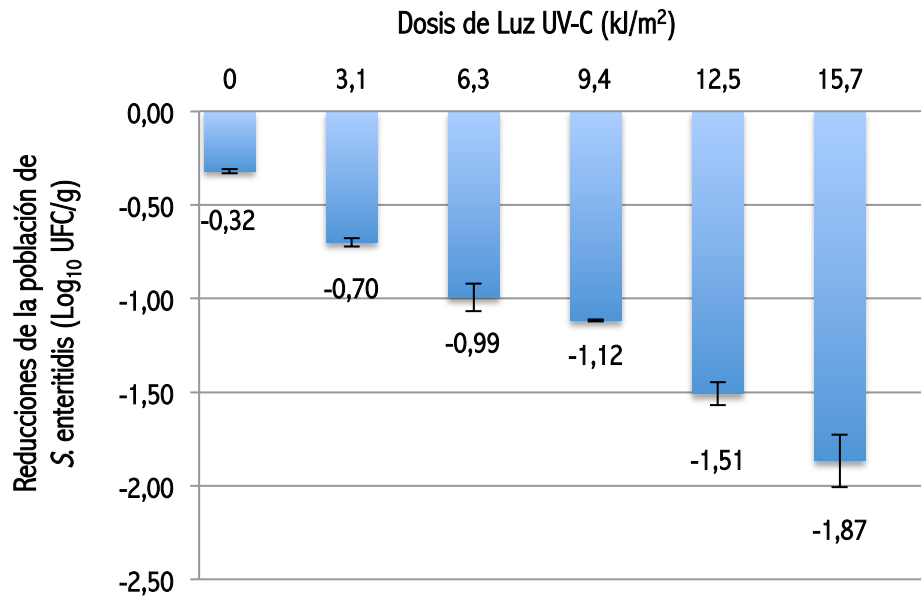
En la Figura 16, se presentan las reducciones de la población de *S. Enteritidis* en muestras de Orégano (en hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7 kJ/m<sup>2</sup>), observándose que las reducciones van incrementando significativamente ( $p < 0,05$ ) a medida que aumenta la dosis de luz ultravioleta aplicada, y obteniéndose la máxima reducción de la población de dicho microorganismo (2,19 log<sub>10</sub> UFC/g) al aplicar una dosis de 15 kJ/m<sup>2</sup>, equivalente a una exposición a Luz UV-C por 25 minutos.



**Figura 16.** Reducciones de la población de *S. Enteritidis* inoculada en muestras de Orégano (en hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7 kJ/m<sup>2</sup>).

Estudios que demuestren los efectos de la aplicación de la luz UV-C sobre poblaciones de *Salmonella* en Orégano (en hojas) no han sido reportados en la literatura, lo que nos impide comparar con otros investigadores y lo que le da relevancia a esta investigación.

En la figura 17, se muestran las reducciones de la población de *S. Enteritidis* inoculada en muestras de Albahaca (en hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7 kJ/m<sup>2</sup>), observándose que las reducciones van incrementando significativamente ( $p < 0,05$ ) a medida que aumenta la dosis de luz ultravioleta aplicada, y obteniéndose la máxima reducción de la población de dicho microorganismo (1,87 log<sub>10</sub> UFC/g) al aplicar una dosis de 15 kJ/m<sup>2</sup>, equivalente a una exposición a Luz UV-C por 25 minutos.

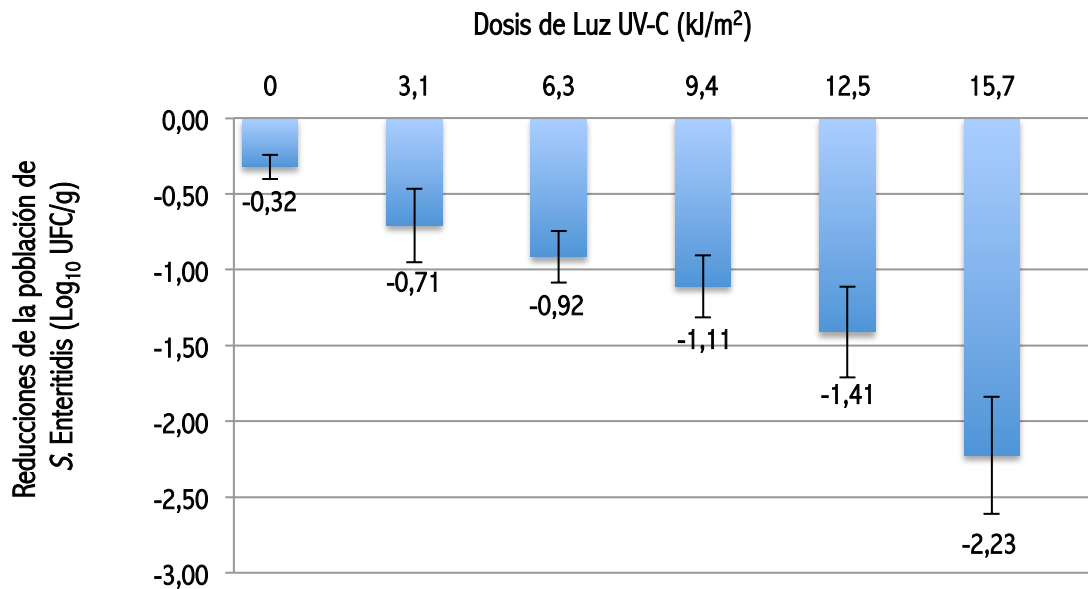


**Figura 17.** Reducciones de la población de *S. Enteritidis* inoculada en muestras de Albahaca (en hojas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7 kJ/m<sup>2</sup>).

Estudios que demuestren los efectos de la aplicación de la luz UV-C sobre poblaciones de *Salmonella* en Albahaca (en hojas), no han sido reportados en la literatura, lo que nos impide comparar con otros investigadores y lo que le da importancia a esta investigación.

En la figura 18, se muestran las reducciones de la población de *S. Enteritidis* inoculada en muestras de pimienta negra (molida), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7 kJ/m<sup>2</sup>), apreciándose que las reducciones van aumentando significativamente ( $p < 0,05$ ) a medida que incrementa la

dosis de luz ultravioleta utilizada, alcanzándose la máxima reducción de la población de dicho microorganismo ( $2,23 \log_{10}$  UFC/g) al aplicar una dosis de  $15 \text{ kJ/m}^2$ , equivalente a una exposición a Luz UV-C por 25 minutos.

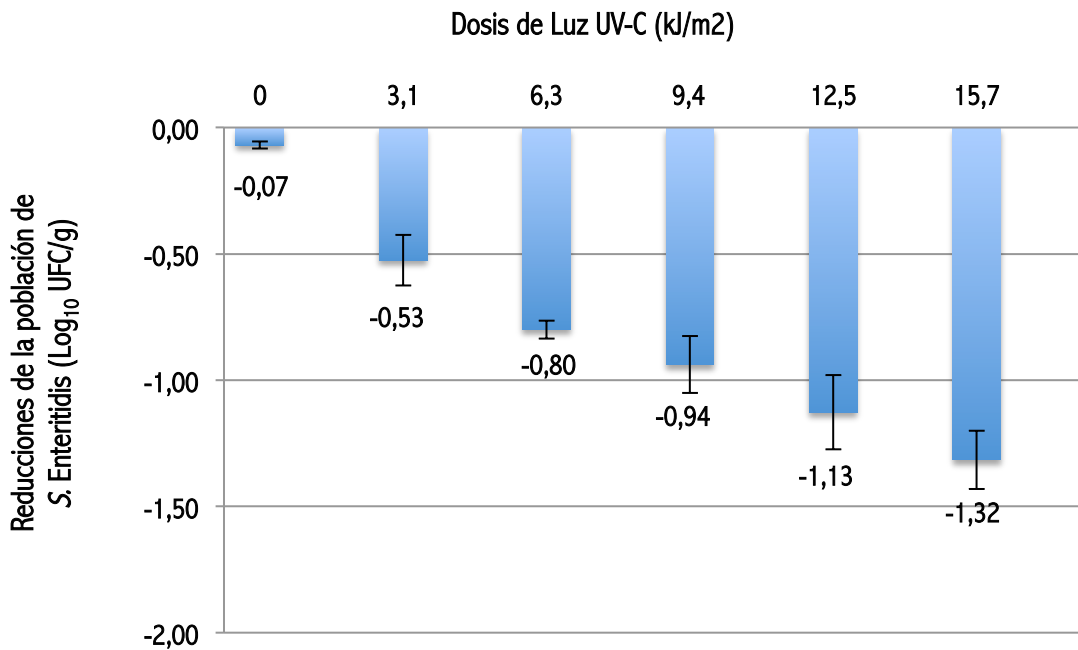


**Figura 18.** Reducciones de la población de *S. Enteritidis* inoculada en muestras de Pimienta Negra (molidas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5;  $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ).

A pesar de que la presencia de *Salmonella* ha sido reportada en pimienta negra en diferentes oportunidades (Laidley y col., (1974); Bruchmann (1995); Kneifel y Fierger (1993) citados por Iracheta (1998); FDA y el CDC (2002) citado por González, 2013), no se encontró en la literatura ningún estudio de investigación donde hayan evaluado el efecto de la Luz UV-C sobre este microorganismo, lo que le imparte mayor importancia a los resultados obtenidos en este trabajo, ya que constituyen un aporte para dar a conocer posibles alternativas que se podrían utilizar para controlar la presencia de este microorganismo en especias, contribuyendo así para garantizar la inocuidad de estos productos y garantizando la salud del consumidor.

La figura 19, muestra las reducciones de la población de *S. Enteritidis* inoculada en muestras de Anís (semillas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5;  $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ), Observándose, que las reducciones van aumentando significativamente ( $p < 0,05$ ) a medida que incrementa la dosis de luz ultravioleta utilizada,

lográndose la máxima reducción de la población de dicho microorganismo ( $1,32 \log_{10}$  UFC/g) al aplicar una dosis de  $15 \text{ kJ/m}^2$ , equivalente a una exposición a Luz UV-C por 25 minutos.



**Figura 19.** Reducciones de la población de *S. Enteritidis* inoculada en muestras de Anís (semillas), en función de la aplicación de diferentes dosis de luz ultravioleta (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5; 15,7  $\text{kJ/m}^2$ ).

La aplicación de un análisis estadístico ANOVA multifactorial demostró diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los recuentos de *Salmonella* al comparar entre las diferentes dosis de luz UV-C aplicadas y también entre especies. Lo que nos permitió llegar a la conclusión de que la dosis más efectiva para reducir al máximo las poblaciones de *Salmonella* fue  $15,7 \text{ kJ/m}^2$ , algo similar a lo que ocurrió con la mayoría de los microorganismos naturalmente presentes (Flora nativa) en las muestras de especias estudiadas.

#### 4. Evaluación del efecto de la aplicación de diferentes dosis de Luz UV-C sobre el color de diferentes especias.

Los consumidores manifiestan una fuerte preferencia por aquellos productos de apariencia atractiva y el color es el primer atributo que se juzga en los productos y se aprecia por medio del sentido físico de la vista. También puede proporcionar información sobre la calidad de comestible de un alimento, sobre su identidad o sobre la intensidad del sabor.

Por ello, en muchos casos se ha comprobado el papel decisivo que tiene el color sobre la experiencia de la persona en saborear el alimento (Badui, 2006, citado por Mathias-Rettig, 2014). Los alimentos, tanto en su forma natural como procesada, presentan un color característico y bien definido mediante el cual el consumidor los identifica (González y Vicente, 2007, citado por Mathias-Rettig, 2014).

Una vez evaluados los efectos de diferentes dosis de Luz UV-C sobre la flora nativa y sobre una población de *S. Enteritidis* inoculada en las diferentes especias en estudio (Orégano, Pimienta negra, Albahaca, Pimentón y Anís), se procedió a evaluar el efecto de esta tecnología sobre el color de dichas especias, a través de la implementación de un colorímetro Hunter Lab Color Flex, calibrando previamente con laminas blanca y negra. Esto considerando que una de las principales características o atributos sensoriales que toma en cuenta el consumidor a la hora de adquirir cualquier producto alimenticio es su apariencia (incluyendo color).

En la Tabla 7., se presentan los valores promedio obtenidos de seis lecturas realizadas para cada parámetro de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), de distintas especias (Orégano, Pimienta negra, Albahaca, Pimentón y Anís), sometidas a tratamiento con diferentes dosis de Luz UV-C (0; 3,1; 6,3; 9,4; 12,5 y 15,7  $\text{kJ/m}^2$ ), observándose que para especias como pimienta negra y anís se ve una tendencia clara para los valores de los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  que nos permite junto con los resultados de un análisis estadístico de ANOVA (con posterior Test de Rangos Múltiples) aplicado a los datos, concluir acerca del efecto de las diferentes dosis de Luz UV-C sobre el color de dichas especias. Así pues, se puede observar en la Tabla 2, que los valores de  $a^*$  y  $b^*$  de pimienta negra disminuyen de una manera estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) a medida que aumenta la dosis de Luz UV-C aplicada, lo que significa que pierde color o se torna mas opaca. Por el contrario se observa en esta tabla, que para la especia Anís los valores de  $a^*$  aumentan significativamente ( $p < 0,05$ ) al incrementarse la dosis de Luz UV-C, lo que significa que intensifica el color o se oscurece.

No obstante, para el resto de las especias estudiadas (Orégano, Albahaca, Pimentón) aunque se observa variabilidad en los valores de los diferentes parámetros ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ), no se aprecia una tendencia clara a disminuir o aumentar, lo que nos sugiere que las variaciones posiblemente no se deben al tratamiento aplicado (Luz UV-C) si no a otros factores tales como estructura física (polvo, hojas, etc.) o a la falta de homogeneidad de la muestra.

Tabla 7. Efecto de diferentes dosis de Luz UV-C sobre los parámetros de color de distintas especias

Especies	Dosis (kJ/m <sup>2</sup> )	L*	a*	b*
OREGANO	0	39,69 ± 0,87 A	4,24 ± 0,80 A	20,40 ± 0,64 A
	3,1	39,76 ± 1,24 A	4,08 ± 0,19 A	19,91 ± 0,33 A
	6,3	38,66 ± 0,45 BC	3,82 ± 0,11 AB	19,47 ± 0,09 B
	9,4	37,91 ± 1,14 C	3,60 ± 0,20 B	19,42 ± 0,71 B
	12,5	38,89 ± 0,27 ABC	3,94 ± 0,29 AB	19,61 ± 0,38 B
	15,7	39,00 ± 0,79 AB	4,04 ± 0,43 AB	20,34 ± 0,68 A
PIMIENTA NEGRA	0	50,82 ± 0,14 A	3,10 ± 0,04 A	15,37 ± 0,13 A
	3,1	51,18 ± 0,45 B	3,05 ± 0,04 B	14,74 ± 0,15 B
	6,3	51,31 ± 0,33 B	3,05 ± 0,01 B	14,76 ± 0,06 B
	9,4	51,36 ± 0,05 B	2,99 ± 0,03 C	14,77 ± 0,05 B
	12,5	50,82 ± 0,04 A	3,00 ± 0,04 C	14,71 ± 0,04 B
	15,7	51,19 ± 0,09 B	2,96 ± 0,02 C	14,57 ± 0,06 C
ALBAHACA	0	44,54 ± 0,55 A	4,06 ± 0,03 A	19,74 ± 0,17 AB
	3,1	44,10 ± 0,41 A	4,27 ± 0,02 B	19,73 ± 0,24 A
	6,3	44,35 ± 0,82 A	4,23 ± 0,09 B	19,83 ± 0,42 A
	9,4	43,44 ± 0,42 BC	4,18 ± 0,13 B	19,48 ± 0,16 B
	12,5	44,02 ± 0,48 AB	4,01 ± 0,16 A	19,62 ± 0,17 AB
	15,7	43,14 ± 0,95 C	4,25 ± 0,12 B	19,47 ± 0,36 B
PIMENTON	0	42,14 ± 0,39 AB	28,17 ± 0,06 A	40,21 ± 0,08 A
	3,1	42,07 ± 0,17 ABC	27,94 ± 0,06 B	39,25 ± 0,05 C
	6,3	41,78 ± 0,26 C	28,07 ± 0,20 AB	39,77 ± 0,44 B
	9,4	41,98 ± 0,25 BC	28,09 ± 0,19 AB	40,22 ± 0,22 A
	12,5	42,09 ± 0,20 AB	28,06 ± 0,11 AB	39,78 ± 0,20 B
	15,7	42,34 ± 0,20 A	28,14 ± 0,02 A	40,25 ± 0,12 A
ANIS	0	46,72 ± 0,82 A	6,68 ± 0,02 A	22,46 ± 0,45 A
	3,1	46,05 ± 0,02 BC	6,78 ± 0,21 A	21,64 ± 0,30 C
	6,3	46,61 ± 0,17 AB	6,69 ± 0,04 A	21,73 ± 0,14 C
	9,4	47,43 ± 0,03 D	6,70 ± 0,04 A	22,38 ± 0,30 AB
	12,5	45,97 ± 0,23 C	6,94 ± 0,11 BC	21,90 ± 0,07 C
	15,7	45,84 ± 0,91 C	7,04 ± 0,41 C	21,96 ± 0,67 BC

## 5. Evaluación del efecto de la aplicación de Luz UV-C sobre los atributos sensoriales de diferentes especias.

Basado en los resultados obtenidos previamente para el efecto de la Luz-UV-C sobre los diferentes microorganismos y en los resultados observados al evaluar los cambios de color de las especias mediante la utilización de un colorímetro, se decidió seleccionar la máxima dosis de Luz UV-C estudiada ( $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ), para garantizar las máximas reducciones de todos los microorganismos (naturalmente presentes) y evaluar si los consumidores eran capaces de detectar cambios o no en el color y otros atributos (olor y sabor) de las especias, a través de un estudio sensorial. Así pues, muestras de las distintas especias fueron tratadas con la máxima dosis de Luz UV-C seleccionada para esta investigación ( $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ) y luego fueron suministradas individualmente a 30 panelistas no entrenados junto con unas planillas (ver planillas - Anexas 5 ), para que a través de una prueba discriminativa de Duo-Trio nos permitieran deducir si existían diferencias estadísticamente significativas entre las especias tratadas con Luz-UV-C y las control. Luego de esto se les aplicó una prueba descriptiva de escala numérica (1-9) para que nos indicaran la magnitud de la diferencia entre las muestras tratadas y no tratadas (la muestra de Referencia se encontraba ubicada en el valor medio = 5). La primera escala iba de color más claro = 1 a color más oscuro = 9, la segunda escala iba de color menos brillante = 1 a color más brillante = 9 y la tercera escala iba de Olor menos intenso = 1 a Olor más intenso = 9 (ver planilla 2 - Anexo 5).

Finalmente, se le suministraron las muestras de especias, utilizando un vehículo o matriz neutra (queso requesón), colocando sobre este una cantidad proporcional, para que pudieran evaluar el sabor mediante otra prueba de Duo-Trío (ver planilla 3 – Anexo 5). De esta manera podríamos evaluar si el tratamiento con Luz UV-C tenía algún efecto o no sobre el sabor de las especias.

Los resultados de la primera prueba de Duo-Trio (Tabla 8) donde se le pedía al panelista que comparara la muestra de referencia R con dos muestras codificadas (con códigos obtenidos de la tabla de números aleatorios) y que indicara cuál de ellas era igual a la referencia con respecto al color y olor, demostraron que existen diferencias al evaluar las especias de Pimentón y Anís tratadas con Luz UV-C y sin tratar. Esta conclusión se obtuvo al comparar el número total de panelistas que

acertaron cual era la muestra igual a R (deduciendo así cual era la diferente), y comparando ese número de aciertos con el que reporta la tabla para pruebas DUO-TRIO o de una sola cola que deben acertar para un total de 30 panelistas.

**Tabla 8. Evaluación Sensorial de las distintas especias tratadas con Luz UV-C.**

Especia	Prueba 1 (Duo - Trio)	Prueba 2									Prueba 3 Sabor (Duo – Trio)
		Color (Escala descriptiva)			Color (Escala descriptiva)			Olor (Escala descriptiva)			
		<5	5	>5	<5	5	>5	<5	5	>5	
<b>Pimentón</b>	20	13	2	5	11	6	3	11	2	7	20
<b>Pimienta Negra</b>	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13
<b>Albahaca</b>	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20
<b>Orégano</b>	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16
<b>Anís</b>	21	6	6	9	12	5	4	5	1	15	20

Para el caso de Pimentón un total de 20 panelistas acertaron la respuesta, siendo este número igual al señalado en la tabla para 30 panelistas. Mientras que para Anís 21 panelistas acertaron (Prueba 1- Tabla 8). Por tal motivo se procedió analizar la segunda prueba realizada (Escala descriptiva – Tabla 8) para color y olor con escalas numéricas para estas dos especias, para poder conocer la magnitud de la diferencia encontrada por los panelistas, llegando a la conclusión de que la mayoría de los panelistas indicaron que las muestras de pimentón tratadas con Luz UV-C eran más claras, menos brillante y con un olor menos intenso. Por otra parte con respecto a las muestras de Anís la mayoría de los panelistas reportaron que las muestras tratadas con Luz UV-C eran más oscuras, menos brillantes y con un olor más intenso.

Con respecto a los resultados obtenidos para la tercera prueba (Duo-Trio - Tabla 8), para evaluar el sabor se encontró que los panelistas detectaron diferencias entre las muestras tratadas y control de las especias Anís, albahaca y Pimentón.

Si comparamos los resultados obtenidos por evaluación sensorial y por el colorímetro podemos observar que coinciden los resultados únicamente para la especia Anís. Lo que significa que definitivamente el tratamiento con Luz UV-C ejerció un efecto sobre el atributo color, causando un oscurecimiento de las muestras. No obstante para el resto de las especias estudiadas no coinciden, pudiendo deberse estas variaciones a otras variables como sensibilidad del método, variaciones entre sensibilidades de los panelistas, homogeneidad de la muestra, entre otros.

## VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos y de su interpretación se deducen las siguientes conclusiones:

- Se encontró un recuento de Aerobios Mesófilos inicial de:  $1,30 \times 10^7$ ;  $1,94 \times 10^5$ ;  $2,39 \times 10^6$ ;  $3,38 \times 10^5$  y  $3,18 \times 10^5$  UFC/g para Pimentón, Pimienta Negra, Albahaca, Orégano y Anís Dulce, respectivamente.
- Los recuentos iniciales de la población de Coliformes en las distintas especias fueron de: Pimentón  $<3$  NMP/g, Pimienta Negra 84 NMP/g, Albahaca 31 NMP/g, Orégano 41 NMP/g, y Anís Dulce  $<3$  NMP/g.
- Los recuentos iniciales de Mohos en las diferentes especias fueron de:  $7,50 \times 10^2$  UFC/g en Pimentón;  $3,15 \times 10^3$  UFC/g en Pimienta Negra;  $3,40 \times 10^3$  UFC/g en Orégano; y  $<100$  UFC/g tanto en Albahaca como en Anís Dulce.
- Los recuentos iniciales de Levaduras en las especias, fueron de:  $6,10 \times 10^3$  UFC/g en Pimienta Negra y  $<100$  UFC/g en Pimentón, Albahaca, Orégano y Anís Dulce.
- Inicialmente no se detectaron microorganismos patógenos como *Salmonella spp.* y *E.coli*. Indicando que la calidad microbiológica de las especias es buena en comparación con otros países, ya que hay reportes en donde se ha encontrado contaminación por *Salmonella* Enteritidis en muestras de pimienta negra.
- En muestras sin inocular, ninguna de las especias evaluadas (Pimentón, Orégano, Albahaca, Pimienta Negra y Anís dulce), mostró actividad antimicrobiana por sí sola, es decir, tiempo 0, observándose reducciones de las poblaciones de microorganismos (flora nativa) únicamente después de la aplicación de la Luz UVC (a partir de 5 min).
- El tratamiento con Luz UV-C aplicado que resulto mas efectivo, corresponde a la dosis máxima establecida en este trabajo de investigación, es decir,  $15,7 \text{ kJ/m}^2$ , la cual es equivalente a 25 minutos de exposición.

- Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) se hallaron para los recuentos de Aerobios mesófilos, con relación a las diferentes dosis aplicadas, encontrándose que una dosis de  $15,7 \text{ kJ/m}^2$  (25 min.), causó la mayor reducción de la población, las cuales fueron: 3,00; 1,80; 2,46; 2,04; y 1,02 ciclos logarítmicos en Pimentón, Pimienta Negra, Albahaca, Orégano, y Anís dulce, respectivamente.
- Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) se hallaron para los recuentos de la población de Coliformes , con relación a las diferentes dosis aplicadas, encontrándose que una dosis  $15,7 \text{ kJ/m}^2$  (25 min.), causó la mayor reducción de la población: 1,45 y 1,14 ciclos logarítmicos en Pimienta Negra y Orégano, mientras para la especia Albahaca se logró una reducción de 1,00 UFC/g al aplicar la dosis de  $12,5 \text{ kJ/m}^2$  (20 minutos) de Luz UV-C.
- Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) se hallaron para los recuentos de las poblaciones de Mohos en relación a las diferentes dosis aplicadas, encontrándose que una dosis  $12,5 \text{ kJ/m}^2$  (20 min.), causó la mayor reducción de la población, las cuales fueron: 1,50 y 1,56 ciclos logarítmicos en Pimienta Negra y Orégano, mientras que para la especia Pimentón, se logro una reducción de 0,88 UFC/g al aplicar la dosis mínima  $3,1 \text{ kJ/m}^2$  (5 minutos) de Luz UV-C..
- Se logro una reducción de 1,79 ciclos logarítmicos en el recuento de población de Levaduras, en Pimienta Negra, al aplicar tanto la dosis de  $12,5 \text{ kJ/m}^2$  cómo la dosis máxima de Luz UV-C ( $15,7 \text{ kJ/m}^2$ ).
- Se hallaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) para los recuentos de *S. Enteritidis* inoculada en las diferentes especias, encontrándose que una dosis de  $15,7 \text{ kJ/m}^2$ , (25 minutos), causó la mayor reducción de la población, las cuales fueron: 2,46; 2,23; 1,87; 2,19; y 1,32 ciclos logarítmicos en Pimentón, Pimienta Negra, Albahaca, Orégano, y Anís dulce, respectivamente
- En el análisis de color, realizado con el equipo Hunter Lab Color Flex, las únicas especias que demostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en los valores de  $a^*$  y  $b^*$  fueron: Pimienta Negra y Anís, encontrándose que en Pimienta negra disminuyeron a medida que aumentó la dosis de Luz UV-C aplicada, indicando que la muestra perdió color tornándose además más opaca; mientras que en Anís los valores de  $a^*$  aumentaron al incrementarse la dosis de Luz UV-C, intensificándose así el color de la especia.

- El estudio de evaluación sensorial demostró que la aplicación de una dosis  $15 \text{ kJ/m}^2$  de Luz UV-C, influyó sobre los atributos de las muestras de especias evaluadas, encontrando los panelistas que las muestras de pimentón tratadas con Luz UV-C resultaron más claras, menos brillantes y con un olor menos intenso, mientras que las muestras de Anís, resultaron más oscuras, menos brillantes y con un olor más intenso.
- Con respecto a los resultados obtenidos en la evaluación sensorial para el sabor, los panelistas encontraron diferencias entre las muestras tratadas y control de las especias Anís, albahaca y Pimentón.

Los resultados de esta investigación demostraron que la aplicación de Luz UV-C puede ser una buena alternativa para mejorar la calidad e inocuidad de especias, sin embargo se recomendaría realizar estudios de combinación de esta con otras tecnologías como calor en baja intensidad para disminuir el impacto de la Luz UV-C sobre los atributos sensoriales.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar la determinación de microorganismos esporulados que puedan estar presentes en este tipo de productos, y evaluar el efecto de la tecnología de Luz UV-C sobre dichos microorganismo.
- Se sugiere continuar realizando estudios con esta tecnología evaluada para otro tipo de especias dada la efectividad encontrada a través de este trabajo de investigación.
- Se sugiere se realicen estudios combinando esta tecnología con otras para disminuir el impacto sobre atributos sensoriales.
- Se sugiere la realización de un estudio piloto sobre la factibilidad económica para el uso de esta tecnología a nivel industrial.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alzamora, S. 2000. La Radiación ultravioleta: Una alternativa “no térmica” para la pasteurización de jugos. Ingeniería Alimentaria. Págs. 102-108. Disponible en: [http://www.ialimentaria.com/publicaciones/ia/articulos/IA68\\_S7.pdf](http://www.ialimentaria.com/publicaciones/ia/articulos/IA68_S7.pdf) (Consulta 19 de julio del 2016).
- Alzamora, S.M., Tapia, M.S. y Welti-Chanes, J.1998. New strategies for minimal processing of foods: the role of multi-target preservation. *Food Science and Technology International* 4: 353-361.
- Apuntes científicos. Evaluación Sensorial, Pruebas analíticas discriminativas <http://apuntescientificos.org/discriminativas.html>.
- Asociación Española de Elaboradores y Envasadores de Especies y Condimentos (AEC). 2013. Disponible en: <http://www.asociaciondeespecies.com>.
- Atikah M., Rosnah S., Noranizan M.A., Mohd Nizar H. 2014. Efficacy of Ultraviolet Radiation as Non-thermal Treatment for the Inactivation of Salmonella typhimurium TISTR 292 in Pineapple Fruit Juice. *Science Direct*. Pp. 173 – 180
- Barbosa-Cánovas, G.V., Pothakamury, U.R., Palou, E., & Swanson, B.G. 1999. Conservación no térmica de alimentos (in Spanish). Zaragoza, Spain: Editorial Acribia, S.A.
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E. y Robinson, R. 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80: 637-645.
- Codex Alimentarius - Código de practicas de higiene para especias y hierbas aromáticas desecadas, CAC/RCP 42-1995 Adoptado en 1995 - Revisado en 2014.
- Domínguez L., Parzanese M. 2011. Luz ultravioleta en la conservación de alimentos. *Alimentos Argentinos*. 52(2):70-76.
- Espinosa, J.E., 2014. Efecto de la radiación ultravioleta de onda corta (UV-C) en la calidad fitosanitaria de la vainilla (*Vainilla tahitensis*). Universidad San Francisco de Quito. pp.91. (Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/31444/1/000110327.pdf>)
- Food and Drug Administration (FDA). 2013. Ultraviolet radiation for the processing and treatment of food. Food and Drug Administration. Electronic Code of Federal Regulations (CFR), USA. Disponible en línea: <http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text->

[idx?SID=13e5fb3cd24c76566b0615ec4109fc2c&node=se21.3.179\\_139&rgn=div8](#) (Acceso 13.07.2016).

- Foroughbakhch-Pournavab R., Bacópulos-Mejía E., Benavides-Mendoza A. 2015. Efecto de la irradiación con UV-C en la germinación y vigor de tres especies vegetales, 2(5):129-137.
- González I. 2013. IDEA - Food Safe Innovation (FSI). Enteras o en polvo, las especias también son alimentos susceptibles. ¿Cuáles son sus contaminantes más comunes?
- Guerrero-Beltrán, J.A.y Barbosa-Cánovas, G.V., 2004. Review: Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light. Food Science Technology International. EUA.
- Hernández E., 2005. Evaluación Sensorial. UNAD - Bogotá. Pág. 52-54. Consultado el 3 de julio de 2017.
- Ho-Lyeong, Cheon y col.2003. Inactivation of foodborne pathogens in powdered red pepper (*Capsicum annuum* L.) using combined UV-C irradiation and mild heat treatment. Food Research International 36. 469–474.
- Iracheta, F. 1998. Calidad microbiológica de 5 especias que se expenden en el área metropolitana de Monterrey, N.L.
- Koutchma, T.N., Forney, L.J., Moraru, C.I. 2009. Ultraviolet Light in Food Technology: Principles and Applications. Taylor & Francis Group, LLC.
- López-Díaz A. S., Palou E. y López-Malo A. 2012. Radiación ultravioleta en jugos de frutas: fundamentos y aplicaciones. Universidad de las Américas Puebla. C.P.72810. México. Pp.79-93
- Mathias-Rettig, K.a, Ah-Hen, Kb\*.2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible. Universidad Austral de Chile. Agro Sur 42(2): X-X, 2014 .
- Millán D., Romero L., Brito M., Ramos A. 2015. Luz ultravioleta: inactivación microbiana en frutas. Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas, Escuela de Zootecnia, Departamento de Biología y Sanidad Animal, Maturín - Venezuela. Saber vol.27 no.3-Cumaná set.2015.
- Mendonca, A. F. 2002. La inactivación por irradiación. Es: V. K. Juneja y J. N. Sofos (Eds). Control de los Microorganismos Transmitidos por Alimentos. Marcel Dekker, New York. pp. 75-103.
- Norma Técnica Colombiana (NTC) – 4423 /1998. Industria alimentaria, especias y condimentos. Editada por INCOTEC. (Disponible en: [http://www.academia.edu/8646434/50168353-NTC4423\\_condimentos\\_y\\_especias](http://www.academia.edu/8646434/50168353-NTC4423_condimentos_y_especias))

- Norma Venezolana Covenin 902-87. Método para el recuento de bacterias aerobias en placas de petri. (Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/902-87.pdf>)
- Norma Venezolana Covenin 1104:1996. Alimentos. Determinación del Número Más Probable de coliformes, de coliformes fecales y de *Escherichia coli*. (Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1104-96.pdf>)
- Norma Venezolana Covenin 1291-88. Aislamiento y recuento de *Salmonella*. (Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1291-88.pdf> )
- Norma Venezolana Covenin 1337-90. Método para recuento de Mohos y Levaduras. (Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1337-1990.pdf> )
- Norma Venezolana Covenin 1539-83. Especies, Condimentos y afines. Requisitos. 1era Revisión. (Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1539-83.pdf>)
- Norma general del Codex para los alimentos irradiados (Codex Stan 106-1983, REV. 1-200).
- Organización Mundial de la Salud Ginebra, (OMS).1989. La Irradiación de los alimentos, una técnica para conservar y preservar la inocuidad de los alimentos, pp. 4-81. (Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/36940/1/9243542400\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/36940/1/9243542400_spa.pdf).)
- Organización Mundial de la Salud Ginebra, (OMS).1995. Inocuidad e Idoneidad nutricional de los alimentos irradiados, pp. (Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/36940/1/9243542400\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/36940/1/9243542400_spa.pdf) )
- Peter, K.V. 2012. Handbook of Herbs and Spices: 1 (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition). 2da Edición, Consultado el 6 de Julio de 2017. (Disponible en: [http://www.academia.edu/13434452/Handbook\\_of\\_herbs\\_and\\_spices\\_Volume\\_1\\_KV\\_Peter](http://www.academia.edu/13434452/Handbook_of_herbs_and_spices_Volume_1_KV_Peter))
- Pombo, M.A. 2009. Irradiación de frutillas con UV-C: efecto sobre la síntesis de proteínas, degradación de la pared celular y mecanismos de defensa. San Martín: Universidad Nacional de San Martín, Laboratorio de Bioquímica y Fisiología de la Maduración y Senescencia [Disertación Doctorado], pp. 120. (Disponible en: <http://www.iib.unsam.edu.ar/php/docencia/tesis/archivos/MarinaPombo.pdf> )
- Rawson A, Patras A, Tiwari B, Noci F, KoutchMa T, Brunton N. 2011. Effect of thermal and no thermal processing

technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Res. Int.* 44(7):1875- 1887.

- Raybaudi-Massilia R.M., Soliva R., Martín O. 2006. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. In: González-aguilar G.A., Gardea A.A., Cuamea- Navarro F (Eds.). *Aseguramiento de la calidad microbiológica*. CIAD, Hermosillo, Sonora, México, pp 15-21
- Ruiz-López, GA ; Qüesta AG, Rodríguez S del C. 2010. Efecto de luz UV-C sobre las propiedades antioxidantes y calidad sensorial de repollo mínimamente procesado. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 11: 101-108.
- Sancho-Madrid, M.F. 2003. *Preservation of Food*. Pp 4766-4772.
- 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.
- Sendra, E., Capellas, M. y Guarnís, B. 2001. Alimentos irradiados, *Arbor* CLXVIII, 661 / 129-153 pp.
- Singh, R., y Yousef, A. 2001. *Technical elements of new and emerging non-thermal food technologies*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization, United Nations.
- Serway J. 2000. *Física*. 4ta Edición. Editorial Panamericana.
- Solsona F., Méndez J. 2002. Desinfección del agua. CEPIS, Lima, Perú, pp.77-91.
- Suárez R. 2001. Conservación de alimentos por irradiación. *Rev. Invenio*. Vol. 4(6):85-124. (Fecha de consulta: 29 de Julio de 2016. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/877/87740608.pdf>)
- Wilkinson V.M. 1996. *Irradiation: A Reference Guide*, Butterworth-Heinemann, Linacre House, Jordan Hill, Oxford OX2-8DP
- Wright H. B. y Cairns W. L. 2004. *Luz Ultravioleta*, Trojan Technologies Inc.3020 Gore Road, London, Ontario, Canadá N5V 4T7.
- Zweifel Claudio y Stephan Roger. 2012. Spices and herbs as source of Salmonella-related foodborne diseases. *Food Research International* 45 (2012) 765–769.
- Zhang H., Barbosa-Cánovas G., V. M. Balasubramaniam, C. Patrick D., Farkas, D., Yuan J. 2010. *Nonthermal Processing Technologies for Food*, IFT-Press, Wiley Blackwell.
- Olivas R. y col., 2008. Comparación y evaluación de las pruebas de diferencia Dúo-Trío, Triangular, ABX e igual diferente. México. Pág. 70-71. Consultado el 30 de junio de 2017.

## VIII. ANEXOS

**Anexo 1.** Muestras de especias evaluadas en el presente trabajo de investigación. (1 Orégano, 2 Pimentón, 3 Anís, 4 Pimienta Negra, y 5 Albahaca)



## Anexo 2. Lugar y Equipo de trabajo

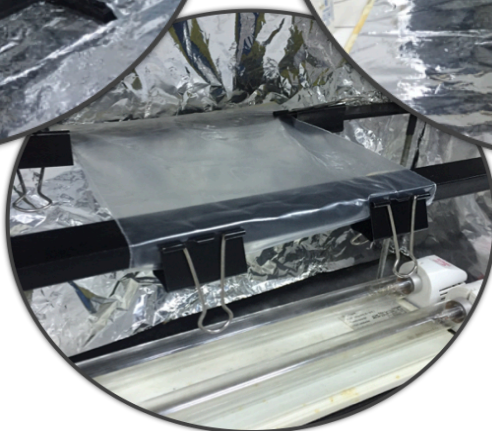
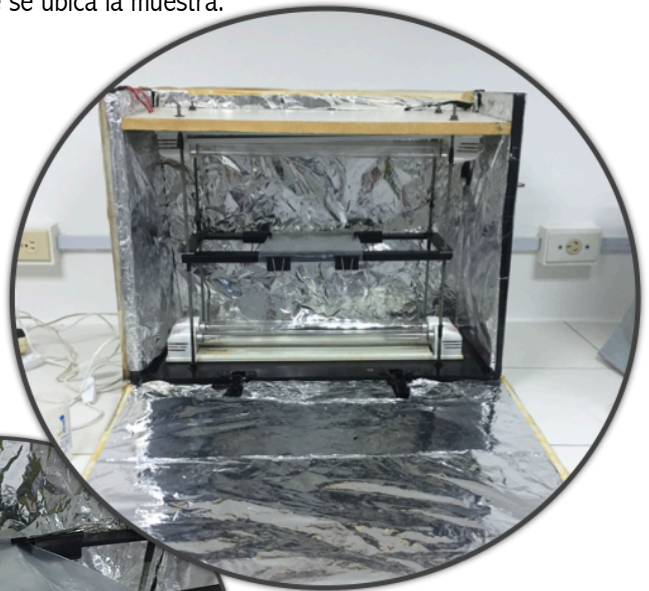
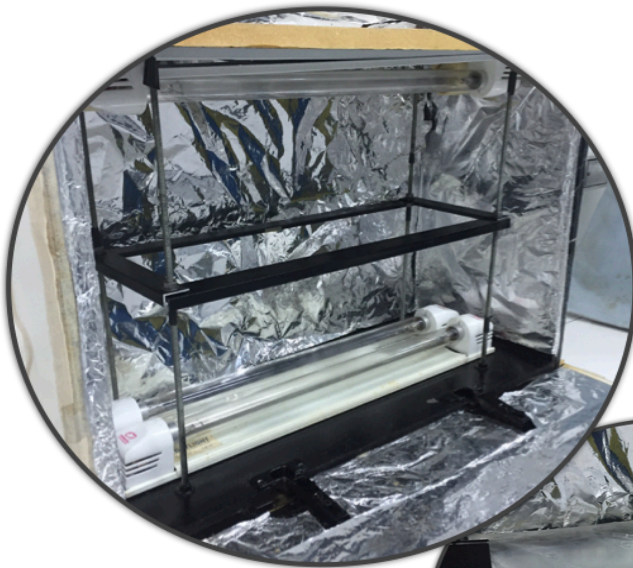
Laboratorio de Control Microbiano, ubicado en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA).



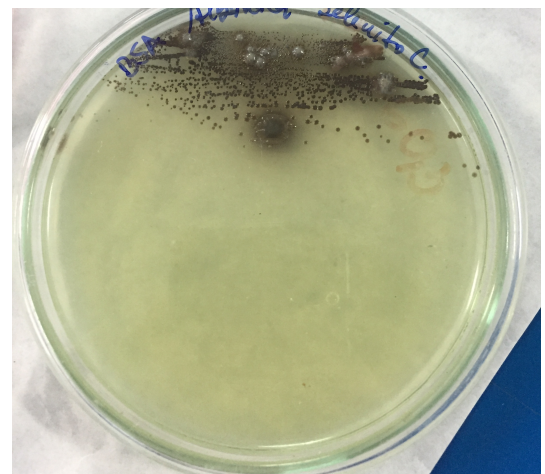
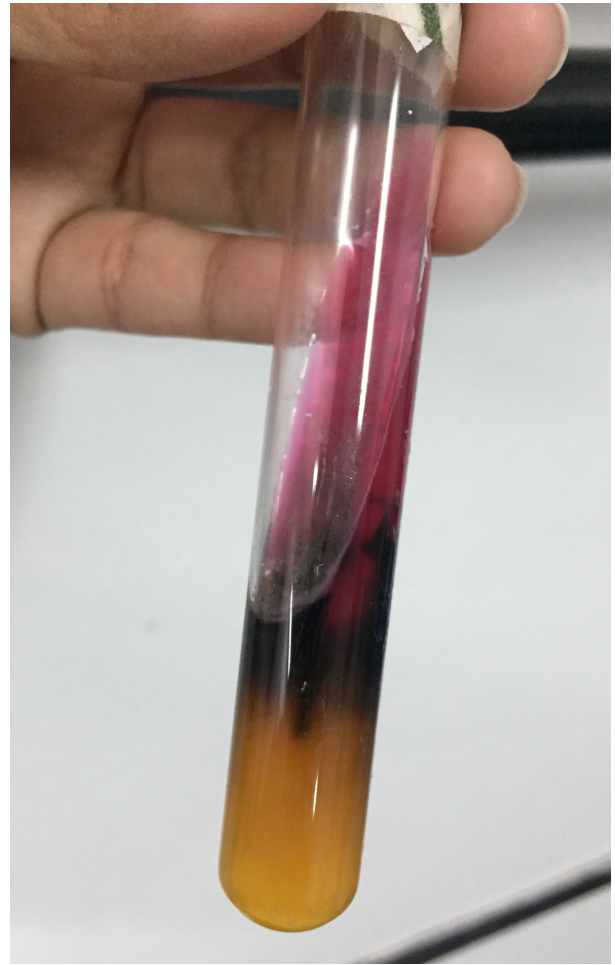
Cámara de Luz UV-C (cajón de madera MDF)



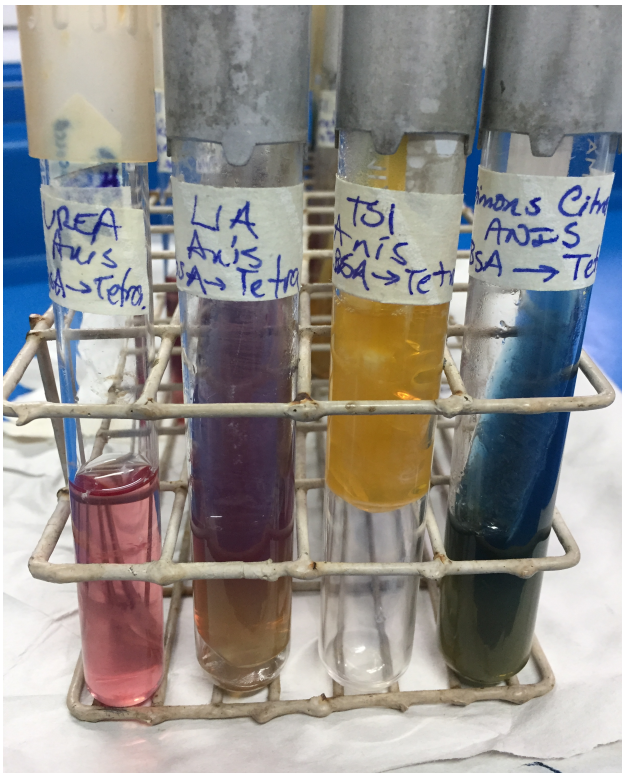
Cámara de Luz UV-C (compuesta por 4 lámparas germicidas, 2 por encima y 2 por debajo de la plataforma central donde se ubica la muestra).



Anexo 3. Prueba Bioquímica (Kligler) realizada a la cepa de *Salmonella Enteritidis* (pura)



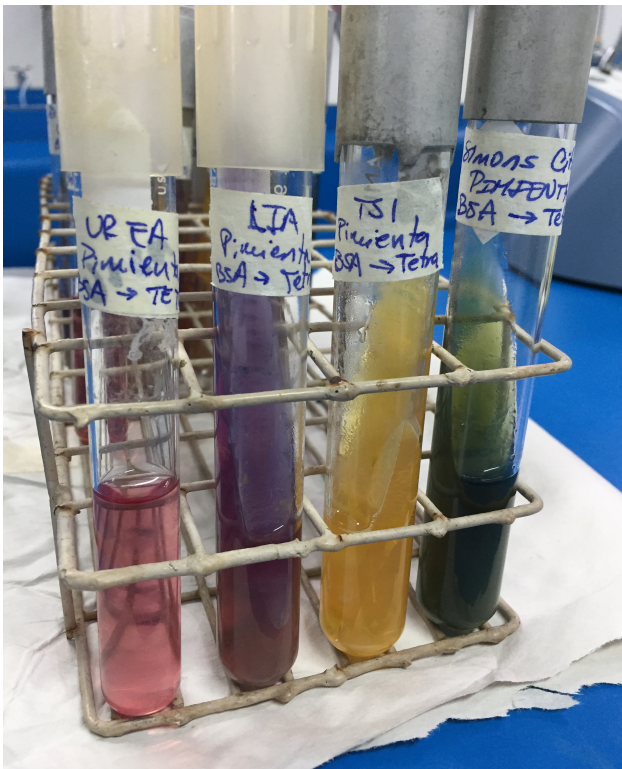
**Anexo 4.** Pruebas Bioquímicas (Urea-LIA-TSI-Sim.Citrato) realizada a las colonias sospechosas encontradas en Agar Bismuto Sulfito en especies Anís Dulce (en semilla), Orégano (en hojas) y Pimienta Negra (en polvo) .



ANIS DULCE (en semilla)



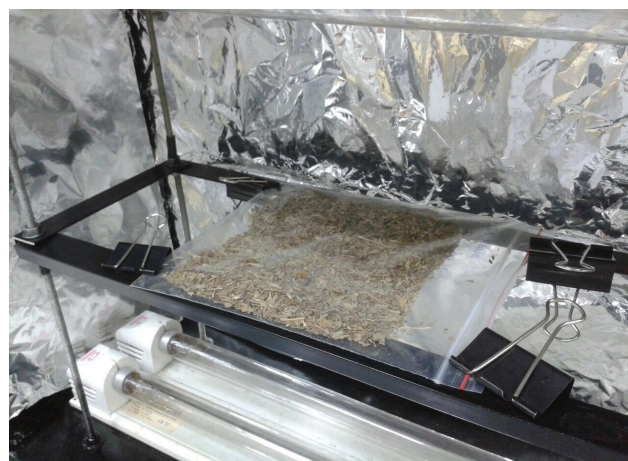
OREGANO (en hojas)



PIMIENTA NEGRA (en polvo)



Anexo 5. Tratamiento en cámara de Luz Ultravioleta a las muestras de especias (sin inocular e inoculadas)



## Anexo 5. Planillas de Evaluación Sensorial

### Planilla 1: Prueba 1 (Duo-Trio ) para evaluación de parámetros COLOR Y OLOR.

FECHA: \_\_\_\_\_

Frente a usted encontrará tres muestras de la especia **Pimentón**, de las cuales, una muestra es de referencia, marcada con la letra R y dos están codificadas.

Primero observar bien evaluar el COLOR y OLOR de la muestra R, después las otras dos muestras en el orden en que son presentadas, de izquierda a derecha (NO CAMBIAR EL ORDEN). Coloque dentro del recuadro, el numero de la muestra que **ES IGUAL** a la muestra de referencia (R).

### Planilla 2: Prueba 2 (Escala descriptiva) para evaluación de parámetros

FECHA: \_\_\_\_\_

Frente a usted encontrará dos muestras de la especia **Pimentón**, de las cuales, una muestra es de referencia, marcada con la letra R y otra codificada.

Evalúe sobre las siguientes escalas los atributos de color y olor de la muestra codificada, marcando con un X sobre el valor que usted considere adecuado y comparando con la muestra de referencia ubicada en el medio de cada escala suministrada.

**COLOR**

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Mas Clara R Mas Oscura

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Menos Brillante R Mas Brillante

**OLOR**

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Menos Intenso R Mas Intenso

**Planilla 3: Prueba 3 (Duo-Trio ) para evaluación del parámetro SABOR.**

FECHA: \_\_\_\_\_

Frente a usted encontrará tres muestras de la especia **Pimentón**, de las cuales, una muestra es de referencia, marcada con la letra R y dos están codificadas.

Primero observar bien evaluar el SABOR de la muestra R, después las otras dos muestras en el orden en que son presentadas, de izquierda a derecha (NO CAMBIAR EL ORDEN). Coloque dentro del recuadro, el numero de la muestra que **ES IGUAL** a la muestra de referencia (R).

Observaciones: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_