



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO



FCA
FACULTAD DE
CIENCIAS AGRARIAS

**TESIS DE GRADO
LICENCIATURA EN BROMATOLOGÍA**

**EFECTO DE LA RADIACIÓN
ULTRAVIOLETA SOBRE LA CALIDAD DE
HORTALIZAS DESHIDRATADAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO
ALMIRANTE BROWN 500. CHACRAS DE CORIA - LUJÁN DE CUYO.**

**Tesista: Andrea Cabral
Directora de tesis: Dra. Adriana Giménez
Codirectora: Bqca. Silvina Farrando
2017**

Tema: Efecto de la radiación ultravioleta sobre la calidad de hortalizas deshidratadas

Autor: Andrea Cabral

Dirección postal: Barrio MEBNA M-O C-16, San Martín - Mendoza

Correo electrónico: acabralz@hotmail.com

Directora: Dra. Adriana Gimenez

Codirectora: Bqca. Silvina Farrando

Miembros del comité evaluador:

- Presidente: Ing. Cora Dediol
- Vocales: Lic. Nancy Ventretra
Lic. Nora Martinengo
- Suplente: Ing. Alim. Olga Tapia

RESUMEN

La empresa agroalimentaria Ecogénesis S.A., ubicada en San Rafael, no ha logrado alcanzar las especificaciones establecidas por sus clientes en cuanto al número de microorganismos en productos deshidratados. Se propuso la irradiación de los mismos con luz ultravioleta (UV).

El rango germicida de la luz UV se encuentra entre 240 y 280 nm, obteniéndose la máxima eficiencia a los 254 nm. Como resultado de su aplicación los microorganismos son inactivados debido al daño causado en sus ácidos nucleicos.

Los productos analizados fueron zapallo en cubos, zanahoria en escamas y espinaca en polvo. De cada producto se tomaron nueve muestras aleatorias, las que por triplicado fueron sometidas a la luz ultravioleta durante cinco minutos, aplicando las siguientes dosis: 0 mWs/cm² (testigos), 85 mWs/cm² y 170 mWs/cm². Luego se realizaron recuentos de microorganismos aerobios mesófilos, levaduras y mohos y Coliformes, presencia de *Escherichia coli* y determinación de color.

El recuento de microorganismos aerobios mesófilos y de levaduras y mohos se realizó por la técnica Pour Plate utilizando agar para recuento en placa y agar levaduras y mohos respectivamente. El recuento de coliformes se realizó utilizando el método de Número Más Probable (NMP) en Caldo Mac Conkey. Luego se sembraron los tubos positivos y se realizaron pruebas IMViC para confirmar la presencia de *Escherichia coli*.

Para la medición de color se realizó la técnica de captación de imagen digital con PC + Scanner. Luego se obtuvieron los valores de luminosidad (L), coloración de verde a rojo (a) y coloración de azul a amarillo (b) al procesar la imagen en el sistema Lab con el software COREL PHOTO PAINT8 de Microsoft.

Al aplicar dosis de 85 mWs/cm² se reduce el recuento de aerobios mesófilos en los tres productos; sin embargo, en zanahoria y espinaca éstos siguen siendo superiores al límite. Respecto a levaduras y mohos, la misma dosis no ejerce efecto positivo en zapallo, pero sí en zanahoria y espinaca, si bien en esta última los recuentos fueron superiores al máximo permitido. Los recuentos de coliformes totales en zanahoria disminuyeron por debajo del límite especificado, mientras que en zapallo y espinaca no hubo crecimiento y por lo tanto no se pudo evaluar los efectos de la radiación.

La aplicación de dosis de 170 mWs/cm² afectó en mayor proporción el crecimiento de aerobios mesófilos en los tres productos, obteniéndose recuentos por debajo del límite en todos ellos. En cuanto a levaduras y mohos en zapallo no se reportaron cambios respecto al testigo, en zanahoria los resultados fueron similares a los obtenidos al irradiar con la menor dosis y en espinaca los recuentos disminuyeron, aunque no por debajo del límite establecido. Los recuentos de coliformes totales en zanahoria también disminuyeron en mayor proporción al duplicar las dosis.

Respecto a las mediciones de color no se registraron cambios significativos en el color de zapallo, zanahoria y espinaca al ser irradiados con dosis de 85 mWs/cm² y 170 mWs/cm².

Por lo tanto, se recomienda la aplicación de 170 mWs/cm² sobre zanahoria y espinaca deshidratada para disminuir los recuentos de los microorganismos estudiados por debajo de los límites establecidos.

ABSTRACT

The agro-food Ecogénesis S.A. corporation, located in San Rafael, has not been able to reach the specifications established by its clients in terms of the number of microorganisms in dehydrated products. To that effect, it was suggested to irradiate ultraviolet (UV) light on these microorganisms.

The UV light germicidal range is between 240 and 280 nm, obtaining the maximum efficiency at 254 nm. As a result of its implementation, the microorganisms are deactivated due to the damage caused to its nucleic acids.

The analyzed products were squash cubes, carrot flakes and spinach powder. Nine random samples were taken from each product that – in triplicate – were exposed to UV light during five minutes with the following doses: 0 mWs/cm² (blank samples), 85 mWs/cm² and 170 mWs/cm². Later, enumeration of aerobic mesophilic microorganisms, yeasts and molds and Coliforms, presence of *Escherichia coli* and color determination were accomplished.

The pour-plate technique was used for enumerating aerobic mesophilic microorganisms, yeasts and molds using plate count agar and yeast and mold agar. Coliforms were enumerated using the most probable number method (MPN) on MacConkey Agar. Positive tubes were then sown and IMViC tests were carried out to confirm the presence of *Escherichia coli*.

For color measurement, an image was digitized with a PC and a Scanner. The lightness (L) and green-red (a) and yellow-blue (b) opponent colors values were then obtained by processing the image in the Lab color space with the Microsoft Corel Photo-Paint 8 software.

When applying an 85 mWs/cm² dosage, the aerobic mesophilic enumeration reduces in all three products; nevertheless, in carrots and spinach, it remains above the limit. Regarding yeasts and molds, the same dosage does not have a positive effect on squashes, though it does on carrots and spinach; in the latter, enumerations were higher than the maximum allowed. The total Coliforms enumeration in carrots decreased below the specified limit, whereas in squashes and spinach there was no growth of coliforms; therefore, the effects of radiation could not be assessed.

The application of a 170 mWs/cm² dosage affected, to a greater extent, the growth of mesophilic aerobes in all three products, thus obtaining enumerations below the limit in all of them. In terms of yeasts and molds in squashes, no changes were reported in relation to the sample; in carrots, the results were similar to those obtained when irradiating the lowest dosage; and in spinach, enumerations decreased, although not below the established limit. The total Coliforms enumeration in carrots also decreased when the dosage was doubled.

Regarding color measurements, there were no significant changes in the color of squashes, carrots and spinach when irradiated with 85 mWs/cm² and 170 mWs/cm² doses.

Therefore, it is recommended to apply a 170 mWs/cm² dosage on dry carrots and spinach to reduce below the established limits the studied microorganisms enumerations.

PALABRAS CLAVE

Alimentos deshidratados, microorganismos, radiación ultravioleta, color.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. LUZ ULTRAVIOLETA	1
1.1.1. Historia	1
1.1.2. Mecanismo de desinfección UV.....	2
1.1.3. UV-C en los alimentos sólidos	2
1.1.4. Relación entre dosis y efecto	3
1.1.5. Aplicaciones y efectos	5
1.2. DESHIDRATADOS.....	8
1.2.1. Cinética del secado	8
1.2.2. La empresa deshidratadora	9
1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	9
1.4. OBJETIVOS GENERALES.....	10
1.5. OBJETIVOS PARTICULARES	10
1.6. HIPÓTESIS	10
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
2.1. Muestreo.....	11
2.2. Aplicación del tratamiento.....	11
2.3. Determinación microbiológica.....	12
2.3.1. Microorganismos aerobios mesófilos	12
2.3.2. Levaduras y mohos	13
2.3.3. Coliformes totales.....	13
2.3.4. Coliformes termotolerantes.....	15
2.3.5. <i>Escherichia coli</i>	15
2.3.5.1. Puebas IMViC.....	16
2.4. Determinación de color	16
2.5. Análisis Estadístico.....	17
3. RESULTADOS	18
3.1. Determinación microbiológica.....	18
3.1.1. Zapallo en cubos	18
3.1.1.1. Aerobios mesófilos	18
3.1.1.2. Levaduras y mohos	19
3.1.1.3. Coliformes	21
3.1.2. Zanahoria en escamas	22
3.1.2.1. Aerobios mesófilos	22
3.1.2.2. Levaduras y mohos	23
3.1.2.3. Coliformes totales.....	24

3.1.3.	Espinaca.....	25
3.1.3.1.	Aerobios mesófilos	25
3.1.3.2.	Levaduras y mohos	26
3.1.3.3.	Coliformes totales.....	27
3.2.	Resultados de la determinación de color	28
3.2.1.	Zapallo.....	28
3.2.2.	Zanahoria	31
3.2.3.	Espinaca.....	34
4.	DISCUSIÓN.....	37
5.	CONCLUSIÓN.....	38
6.	BIBLIOGRAFIA.....	39
7.	ANEXOS	43
7.1.	ANEXO I: Conversión de unidades de irradiancia	44
7.2.	ANEXO II: Plano de la empresa Ecogénesis S.A.....	45
7.3.	ANEXO III: Diagramas de flujo de la producción de deshidratados.....	46
7.4.	ANEXO IV: Ficha técnica y preparación de medios de cultivo	49
7.5.	ANEXO V: Preparación de diluciones	55
7.6.	ANEXO VI: Análisis de la varianza para zapallo	56
7.7.	ANEXO VII: Análisis de la varianza para zanahoria	58
7.8.	ANEXO VIII: Análisis de la varianza para espinaca.....	61
7.9.	ANEXO IX: Obtención de valores “L – a – b” en Corel Photo Paint 8.....	63

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Dosis de UV ($\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$) para inactivación de 1Log (90%) o 2 Log (99%) de población microbiana	4
Cuadro 2: Valores de irradiancia según intensidad de los tubos y distancia al alimento.....	5
Cuadro 3: Inactivación microbiana en frutas enteras tratadas con luz ultravioleta.....	6
Cuadro 4: Inactivación microbiana en frutas cortadas tratadas con luz ultravioleta	7
Cuadro 5: Investigaciones recientes en diferentes sustratos alimenticios utilizando tratamientos de luz ultravioleta	7
Cuadro 6: Especificaciones microbiológicas	10
Cuadro 7: Codificación de las muestras.....	11
Cuadro 8: Número más probable (NMP) de bacterias; tres tubos por cada dilución.....	15
Cuadro 9: Recuento de aerobios mesófilos en muestras de zapallo	18
Cuadro 10: Recuento de levaduras y mohos en muestras de zapallo	20
Cuadro 11: Recuento de Coliformes totales en muestras de zapallo	21
Cuadro 12: Recuento de aerobios mesófilos en muestras de zanahoria.....	22
Cuadro 13: Recuento de levaduras y mohos en muestras de zanahoria.....	23
Cuadro 14: Recuento de coliformes totales en muestras de zanahoria.....	25
Cuadro 15: Recuento de aerobios mesófilos en muestras de espinaca	26
Cuadro 16: Recuento de levaduras y mohos en espinaca	27
Cuadro 17: Recuento de coliformes totales en muestras de espinaca	28
Cuadro 18: Resultado de determinaciones de color en muestras de zapallo	29
Cuadro 19: Resultado de determinaciones de color en muestras de zanahoria.....	31
Cuadro 20: Resultado de determinaciones de color en muestras de espinaca	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Dimerización de timina en microorganismos irradiados con luz UV	2
Figura 2: Cinética del secado.....	8
Figura 3: Técnica de NMP para recuento de coliformes totales	14
Figura 4: Espacio de color CIE Lab.....	17
Figura 5: Placas con crecimiento de aerobios mesófilos.....	18
Figura 6: Gráfico de barras para la media del Log de aerobios mesófilos en zapallo	19
Figura 7: Crecimiento de levaduras y mohos en placa 1a dilución 10^{-1}	19
Figura 8: Gráfico de barras para la media del Log de levaduras y mohos en zapallo	20
Figura 9: Tubos negativos para coliformes totales	21
Figura 10: Tubos sospechosos de coliformes totales.....	21
Figura 11: Crecimiento de aerobios mesófilos en muestras de zanahoria.....	22
Figura 12: Gráfico de barras para la media del Log de aerobios mesófilos en zanahoria.....	23
Figura 13: Placa 4c con crecimiento de levaduras y mohos y placa 6c invadida.	23
Figura 14: Gráfico de barras para la media del Log de levaduras y mohos en zanahoria	24
Figura 15: Tubos con desarrollo de microorganismos en caldo Mac Conkey	24
Figura 16: Gráfico de barras para la media del Log de coliformes totales en zanahoria.....	25
Figura 17: Gráfico de barras para la media del Log de aerobios mesófilos en espinaca	26
Figura 18: Gráfico de barras para la media del Log de levaduras y mohos en espinaca	27
Figura 19: Placa con colonias típicas de <i>E. coli</i>	28
Figura 20: Gráfico de barras para el parámetro “L” en muestras de zapallo.....	29
Figura 21: Muestra testigo 1C en comparación con muestra irradiada 3B	30
Figura 22: Gráfico de barras para el parámetro “a” en muestras de zapallo.....	30
Figura 23: Gráfico de barras para el parámetro “b” en muestras de zapallo.....	31
Figura 24: Gráfico de barras para el parámetro “L” en muestras de zanahoria	32
Figura 25: Comparación de muestras 4A y 6B.....	33
Figura 26: Gráfico de barras para el parámetro “a” en muestras de zanahoria	33
Figura 27: Gráfico de barras para el parámetro “b” en muestras de zanahoria	33
Figura 28: Gráfico de barras para el parámetro “L” en muestras de espinaca.....	35
Figura 29: Comparación de muestras 9C y 7A.....	35
Figura 30: Gráfico de barras para el parámetro “a” en muestras de espinaca.....	36
Figura 31: Gráfico de barras para el parámetro “b” en muestras de espinaca.....	36
Figura 32: Preparación de diluciones.....	55

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LUZ ULTRAVIOLETA

La radiación ultravioleta (UV) es una energía de onda corta que pertenece al grupo de radiación óptica. Por lo tanto, esta radiación se puede redireccionar, desviar, romper y reflejar. No obstante, permanecen invisibles para el ojo humano

La luz ultravioleta es producida de manera artificial por lámparas de vapor de mercurio, de las que existen varios tipos dependiendo del uso y la potencia necesaria.

El uso de la tecnología UV con fines de desinfección involucra a la región ultravioleta del espectro electromagnético con un rango de longitud de onda entre 100 y 400 nm. Éste puede subdividirse en (González, 2001; Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas 2004):

- UV de onda corta (UV-C): entre 200 y 280 nm.
- UV de onda media (UV-B): entre 280 y 315 nm.
- UV de onda larga (UV-A): entre 315 y 400 nm.

La luz UV-C es una forma de radiación no ionizada que no penetra más allá de las superficies y es generalmente conocida como germicida (Fonseca, 2009).

Las longitudes de onda con mayor efecto bactericida son las cercanas a 260 nm. Debido a que la composición del ADN varía entre las especies, se reporta que el pico de absorción de UV-C está en el rango de 260 a 265 nm, correspondiente a la principal emisión de onda de la lámpara de mercurio (Hg) de baja presión (253,7nm) y a la eficiencia de inactivación microbiana de estas fuentes de rayos UV-C (Del Campo-Sacre, 2009).

Se utiliza en una variedad de aplicaciones, tales como alimentos, aire y purificación de agua. La UV-C puede inactivar bacterias, hongos y virus (Fonseca, 2009).

1.1.1. Historia

Perspectivas históricas de la desinfección UV han sido publicadas en varios artículos (Grocock, 1984; Schenck, 1981; USEPA, 1996).

1801: El físico alemán Johann W. Ritter descubrió que los rayos invisibles situados justo detrás del extremo violeta del espectro visible eran especialmente efectivos oscureciendo el papel impregnado con cloruro de plata. Denominó a estos rayos "rayos desoxidantes". Poco después se adoptó el término "rayos químicos".

1878: Los científicos Downes y Blunt descubrieron que los microorganismos dejaban de multiplicarse al ser sometidos a una intensa radiación solar.

1901: Aplicación práctica de UV a partir del desarrollo de la lámpara de vapor de Hg como fuente artificial. Si bien la falta de fiabilidad y de rentabilidad de estas lámparas impidió la difusión de esta tecnología.

1905: Reconocimiento del cuarzo como la envoltura ideal de la lámpara.

1910: Los primeros intentos experimentales para usar UV como desinfectante de agua se hicieron en Marsella, Francia.

1916 – 1926: Desinfección de agua y provisión de agua potable para los barcos en Estados Unidos. Sin embargo, el bajo costo de la desinfección de agua con cloro combinado con problemas operativos y de confiabilidad observados en los primeros equipos retardó el crecimiento en la aplicación de UV hasta 1950 (Wright – Cairns, 1998).

1950 - 1970: El auge de la tecnología de esterilización UV-C comenzó tras la Segunda Guerra Mundial. Con el descubrimiento de la estructura del ADN en forma de doble hélice se pudo obtener la clave de la explicación.

1970 - 1990: La confianza cada vez mayor en los antibióticos, los nuevos conservantes y medios de limpieza y desinfección hicieron que disminuyera el interés en esta técnica de profilaxis temporalmente a partir de los años 80.

1990: Los gérmenes resistentes a los antibióticos aumentaron. Con una creciente opinión crítica frente a los desinfectantes químicos, la tecnología UV-C experimentó un renacimiento.

En la actualidad: Hoy día, las compañías de aguas de todo el mundo confían en una esterilización con UV-C. En muchas áreas de la producción industrial de productos de alimentación y de embalajes se utiliza con éxito este procedimiento respetuoso con el medio ambiente, sin aditivos, inodoro e insípido.

1.1.2. Mecanismo de desinfección UV

Los microorganismos son inactivados por la luz UV como resultado del daño fotoquímico a sus ácidos nucleicos. La radiación UV es absorbida por los nucleótidos, los bloques constitutivos del ADN y ARN de la célula, según la longitud de onda, con los valores más altos cerca de 200 y 260 nm (Sonntag y Schuchmann, 1992). La luz UV absorbida promueve la formación de enlaces entre nucleótidos adyacentes, con lo que se crean moléculas dobles o dímeros (Jagger, 1967). Si bien la formación de dímeros de timina-timina (figura 1) son los más comunes, también suelen ocurrir dímeros de citosina-citosina, citosina-timina y dimerización del uracilo. La formación de un número suficiente de dímeros dentro de un microorganismo impide que éste replique su ADN y ARN, lo que imposibilita su reproducción. Debido a la dependencia de la longitud de onda para la absorción de UV por parte del ADN, la inactivación de los microorganismos también está en función de la longitud de onda.

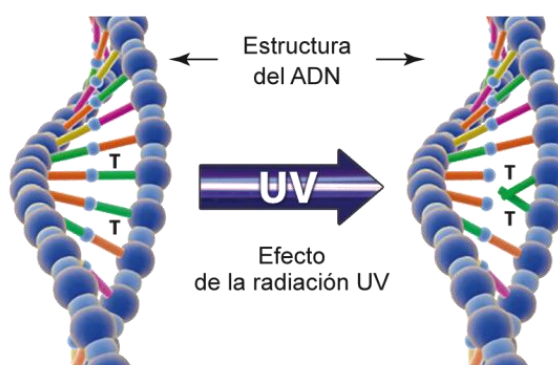


Figura 1: Dimerización de timina en microorganismos irradiados con luz UV

Fuente: LIT, tecnología ultravioleta. (2017)

Sin embargo, es posible que ocurra una reactivación dado que el ADN puede ser reparado por factores proteínicos (Yajima et al., 1995) cuando las células dañadas se exponen a longitudes de onda superiores a 330 nm (Liltved y Landfald, 2000). Puede estimularse la separación del ácido nucleico debido a la activación de la enzima fotoliasa que monomeriza los dímeros (separación de tiaminas y otras pirimidinas) formados después del proceso de radiación (Stevens et al., 1998). Vale aclarar que un ambiente oscuro puede evitar la foto-reactivación de productos tratados con radiación UV o restaurar las células expuestas. Estas células foto reactivadas pueden ser más resistentes a la radiación UV cuando se aplica un segundo tratamiento de UV (Sasthy, et al., 2000).

1.1.3. UV-C en los alimentos sólidos

Al aplicar radiación UV en frutas y vegetales, adicionalmente a la reducción de la carga microbiana inicial en la superficie, se produce un fenómeno denominado “efecto hormético” (Stevens et al., 1997, 1999). Dicho efecto puede mejorar la resistencia al ataque de ciertos microorganismos tales como mohos y levaduras, dado que puede estimular la producción de fenilalanina amonía-liasa, que induce la formación de compuestos fenólicos (fitoalexinas), tóxicos para ellos.

La luz UV se ha aplicado en la superficie de distintos tipos de carne (pescado, pollo, carne bovina) antes de su refrigeración para reducir la carga microbiana en dos o tres ciclos logarítmicos dependiendo de la dosis aplicada, lo que puede aumentar varios días su vida

útil (Domínguez L. y Parzanese M. 2011). No obstante es posible que se generen sustancias iniciadoras de la oxidación del alimento, por lo que existe el riesgo de que las características organolépticas del producto se modifiquen.

Dentro de su aplicación en alimentos existen algunos en los que el tratamiento con UV-C podría ser especialmente interesante. Uno de ellos son las especias, que en general poseen elevada contaminación en origen, lo que puede provocar que la mayor parte de la carga de microorganismos en un alimento especiado provenga de estas y no del alimento fresco. Otro grupo con potencial es el de las harinas y cereales, donde la luz UV podría reducir la carga microbiana, especialmente la descontaminación de patógenos como *Bacillus cereus* (Domínguez L. y Parzanese M., 2011). También es importante su aplicación en aquellos productos que no poseen en su proceso alguna etapa de reducción de microorganismos, como el tratamiento térmico.

La resistencia de los organismos a la luz ultravioleta es variada. El ambiente en el que se encuentran también influye en la dosis necesaria para su destrucción.

1.1.4. Relación entre dosis y efecto

La radiación emitida se mide en Watts (W) y la intensidad de la radiación (irradiancia) en W/m^2 . 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) y el tiempo de residencia o contacto con la luz UV (t) en segundos. La dosis (D) se mide en J/m^2 (1 Joule = 1 Watt x segundo):

$$D (J/m^2) = I (W/m^2) \times t (s)$$

También suele expresarse en $\mu J/cm^2 = \mu Ws/cm^2$ (en el anexo I se pueden ver las distintas conversiones para las unidades de irradiancia).

La mayoría de las bacterias requieren en general dosis $10.000 \mu Ws/cm^2$ a 254 nm para su inactivación completa (99,99 %). Vale recordar que pese a ser una tecnología aplicable a muchos alimentos, es necesario tener en cuenta la composición de cada producto, ya que se requieren dosis distintas de radiación UV según la matriz (composición química y ordenamiento estructural) propia del alimento. Por esto, sería importante realizar ensayos de laboratorio de rutina a fin de evaluar la eficacia del procedimiento.

La relación entre la dosis y la destrucción de un microorganismo por tratamiento con luz UV puede verse de la siguiente forma (Mani, 2003):

$$N = N_0 e^{-KD}$$

Donde:

- N_0 = número inicial de microorganismos
- N = Numero de microorganismos después del tratamiento
- K = Constante de velocidad de inactivación
- D = Dosis

Según la relación anterior, si se duplica la dosis aplicada la destrucción de microorganismos aumentará en un factor de 10. Por lo tanto al duplicar la dosis requerida para la destrucción del 90 % se reducirá el 99 % de los microorganismos. Si se triplica la dosis, la reducción producida será 99,9 %, y así sucesivamente.

El cuadro 1 presenta la dosis de UV para la inactivación del 90 % y el 99 % de microorganismos patógenos (virus, bacterias y protozoarios) así como grupos microbianos indicadores. Las tasas de inactivación microbiana varían dependiendo de la especie de microorganismo, la población microbiana y la longitud de onda de la luz UV.

Como norma general se aplica lo siguiente: cuanto más simple esté estructurado el microorganismo, menos problemático será inactivarlo mediante la radiación UV. Por tanto, los virus o bacterias (células procarióticas) se pueden destruir mucho más fácilmente que los microorganismos complejos, como las levaduras y hongos vegetativos (células eucarióticas).

Normalmente las bacterias son menos resistentes a la UV a 254 nm que los virus, los cuales a su vez son menos resistentes que las endoesporas bacterianas. Los quistes y oocitos de protozoarios son considerados como los patógenos microbianos más resistentes a UV a 254 nm (Bukhari et al. 1998). En general, las bacterias Gram positivas son más resistentes que las Gram negativas.

Puede observarse en el cuadro 1 que, salvo contadas excepciones, las dosis de inactivación de bacterias patógenas son muy similares a las dosis requeridas para la desinfección de grupos de indicadores fecales como los coliformes fecales. Se requieren dosis más altas de UV cuando la bacteria tiene un exterior excepcionalmente protector que limita la absorción de UV como en el caso de algunas esporas bacterianas (Munakata et al., 1991).

Cuadro 1: Dosis de UV ($\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$) para inactivación de 1Log (90%) o 2 Log (99%) de población microbiana

Microorganismos	1Log	2Log	Microorganismos	1Log	2Log
BACTERIAS					
<i>Bacillus anthracis</i>	4500	8700	<i>Vibrio cholerae (V.comma)</i> ⁶	X	6500
<i>Bacillus subtilis, esporas</i>	12000	22000	<i>Yersinia enterocolitica</i> ⁵	1100	X
<i>Bacillus subtilis</i>	7100	11000	Coliformes fecales	3400	6800
<i>Campylobacter jejuni</i> ⁵	1100	X			
<i>Clostridium tetani</i> ¹	12000	22000	VIRUS		
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ¹	3400	6500	MS-2 Coliphage ⁵	18600	X
<i>Escherichia coli</i>	3000	6600	F-específica bacteriophage ²	6900	X
<i>Klebsiella terrigena</i> ⁵	2600	X	Hepatitis A ^{5,6}	7300	X
<i>Legionella pneumophila</i> ⁴	900	2800	Influenza virus ²	3600	6600
<i>Sarcina lutea</i>	20000	26400	Polio virus ^{5,6}	5770	X
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6000	10000	Rotavirus ^{5,6}	8110	X
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ⁶	5500	10500			
<i>Salmonella enteritidis</i>	4000	7600	PROTOZOARIOS		
<i>Salmonella paratyphi</i> ³	3200	X	<i>Giardia lamblia</i>	1100	8100
<i>Salmonella typhi</i> ⁵	2100	X	<i>Cryptosporidium parvum</i>	2500	21700
<i>Salmonella typhimurium</i>	3000	6000			
<i>Shigella dysenteriae</i>	2200	4200	ALGAS		
<i>Shigella flexneri (paradysenteriae)</i>	1700	3400	Azul-verde ^{1,3}	300000	600000
<i>Shigella sonnei</i> ⁵	3000	X	<i>Chlorella vulgaris</i> ^{1,2}	12000	22000
<i>Staphylococcus aureus</i>	5000	6600			
<i>Streptococcus faecalis</i> ⁵	4400	X	LEVADURA		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2200	X	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ¹	7300	13200

*Referencias: 1. Legan (1980), 2. Jevons (1982), 3. Grocock (1984), 4. Antopol (1979), 5. Wilson et al. (1993), 6. Wolfe (1990).

Fuente: H. B. Wright y W. L. Cairns. (1998).

En un artículo publicado por la empresa Alimentodo, que trata sobre radiación UV germicida, se puede apreciar el siguiente cuadro, en el cual figuran las irradiancias de tubos de 15, 30 y 36 Watt y los tiempos necesarios para llegar a la dosis mínima de 10.000 $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$ según la distancia de la lámpara al alimento.

Cuadro 2: Valores de irradiancia según intensidad de los tubos y distancia al alimento

Distancia a la lámpara en cm	Factor de intensidad	Irradiancia		Irradiancia		Irradiancia	
		Tubo de 15 W $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	Tiempo para inactivar bacterias Seg	Tubo de 30 W $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	Tiempo para inactivar bacterias Seg	Tubo de 36 W $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	Tiempo para inactivar bacterias Seg
0	354	13098	0,76	29382	0,34	33276	0,30
2,5	127	4699	2,13	10541	0,95	11938	0,84
5	69	2553	3,92	5727	1,75	6486	1,54
10	32	1184	8,45	2656	3,77	3008	3,32
15	20	740	13,51	1660	6,02	1880	5,32
20	14	518	19,31	1162	8,61	1316	7,60
25	14	518	19,31	1162	8,61	1316	7,60
38	6	222	45,05	498	20,08	564	17,73
50	4	148	67,57	332	30,12	376	26,60
64	3	111	90,09	249	40,16	282	35,46
76	2	74	135,14	166	60,24	188	53,19
88	1,4	51,8	193,05	116,2	86,06	131,6	75,99
100 cm (1m)	1	37	270,27	83	120,48	94	106,38

Fuente: Alimentodo. (2017).

1.1.5. Aplicaciones y efectos

Algunas dosis de luz ultravioleta pueden provocar daños en frutos, como es el caso de dosis de $1,0 \text{ kJ}/\text{m}^2$ que según lo reportado por Baka et al. (1999), provocó daños en fresas frescas en las que se buscaba controlar la descomposición causada por *Botrytis cinerea*. Por otra parte, según lo reportado por Márquez y Pretell (2013)., dosis de irradiación UV-C de $14 \text{ kJ}/\text{m}^2$ permite obtener mayores características antioxidantes y menor recuento microbiano en frutas tropicales como mango, piña y mamey mínimamente procesadas. Además la exposición postcosecha de diferentes cultivos a bajas dosis de irradiación muestran una mejora en el almacenamiento (Allothman et al. 2009). También se ha reportado que la exposición a dosis bajas de UV-C retrasa la maduración y la senescencia de manzanas, tomates, naranjas, uvas de mesa, mango y duraznos (González Aguilar et al. 2007a).

El tiempo de aplicación de UV-C oscila entre uno y cinco minutos, periodo que no incrementa significativamente la temperatura del tejido ($1-3^\circ\text{C}$), no produce alteraciones y no favorece los procesos deteriorativos del producto (Rivera-Pastrana et al. 2007). Sin embargo, González Aguilar et al. (2007a) estudiaron el efecto de diversos tiempos de exposición a luz UV-C en mangos variedad "Haden" enteros, utilizando tiempos de cinco y diez minutos de irradiación. La energía total por estos tiempos de tratamientos fue de $2,46$ y $4,93 \text{ kJ}/\text{m}^2$ respectivamente, donde la fruta tratada durante 10 minutos se mostró mejor conservada que la fruta tratada durante cinco minutos. A su vez, Manzocco et al. (2011b) describieron el efecto de la luz UV-C en la descontaminación de la superficie de corte de manzanas (*Malus domestica Borkh*) "Pink Lady" frescas cortadas, donde utilizaron un tiempo de exposición de 20 min (con una dosis de $24,0 \text{ kJ}/\text{m}^2$) y posteriormente redujeron el tiempo a 10, 5 y 1 minutos. Observaron un efecto germicida similar cuando el tiempo de exposición se redujo. Este resultado indicó que los tratamientos de intensidad leve de luz UV-C a tiempos entre uno y cinco minutos son suficientes para impartir el efecto germicida para los microorganismos indicadores de contaminación (entre uno y dos ciclos logarítmicos). También Perkins-Veazie et al. (2008) estudiaron el efecto de la luz UV-C en arándanos enteros (como tratamiento postcosecha) con tiempos de exposición que variaron de 1 a 15 minutos, obteniendo dosis de irradiación de 1, 2 y $4 \text{ kJ}/\text{m}^2$; describiéndose que la dosis con mayor efectividad es la de $2 \text{ kJ}/\text{m}^2$, puesto que logra reducir eficazmente una enfermedad primaria presente en dos variedades de arándanos.

Según Rodrigues y Narciso (2012) un tratamiento óptimo con luz UV puede aumentar la vida útil de fresas, manzanas y duraznos por la reducción de la tasa de respiración y la pérdida de peso, reteniendo la calidad visual total, retrasando la maduración, la fuga de electrolitos y manteniendo la firmeza por tiempos más prolongados en comparación con los controles. Con el fin de aumentar la vida útil, las condiciones de procesamiento, la dosis de UV (kJ/m^2) y los espectros de emisión deben ser optimizados para un producto dado. Se ha recomendado $1,0 \text{ kJ}/\text{m}^2$ como fluencia óptima para el procesamiento con luz ultravioleta de

fresas ya que en tratamientos superiores los autores observaron pardeamiento y deshidratación de los sépalos. Estos mismos autores han encontrado niveles de fluencia UV-C de aproximadamente 4-5 kJ/m² que tienen el efecto más beneficioso sobre la vida útil y la calidad de frutos de mango. Beaulieu (2007) y Lamikanra et al. (2005) informaron que las frutas procesadas con luz UV conservan su aroma y sabor al igual que las muestras control que no fueron tratadas.

En un estudio realizado sobre muestras de repollo mínimamente procesado se pudo observar que las muestras irradiadas con luz UV-C en las dosis estudiadas (0,6 y 1,2 J/cm²) presentaron un mejor comportamiento en cuanto a mantener el nivel de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en concentraciones superiores respecto de las muestras no tratadas. Desde el punto de vista sensorial, las dosis utilizadas no modificaron las características del producto durante su refrigeración. (Ruiz-López, Qüesta y Rodríguez, 2010).

Debido a la efectividad de la luz ultravioleta como agente desinfectante se han realizado diversas investigaciones para ampliar sus usos en la industria alimentaria, sobre todo para su utilización en las frutas frescas cortadas como productos de cuarta (IV) gama; por lo cual es necesario mencionar los factores críticos del proceso, las diferencias en los equipos, las condiciones experimentales de los estudios realizados y la variedad de sustratos utilizados que condicionan la efectividad de la luz ultravioleta sobre los microorganismos. No obstante, debido a las diferentes condiciones de estudio, se han arrojado conclusiones que podrían servir como modelo para futuras investigaciones en este campo. Por lo cual, los cuadros 3 y 4 se muestran los resultados más relevantes de los estudios realizados sobre inactivación microbiana mediante el uso de luz UV en frutas enteras y cortadas.

Cuadro 3: Inactivación microbiana en frutas enteras tratadas con luz ultravioleta

Sustrato tratado	Microorganismo	Inóculo inicial	Tiempo de exposición	Dosis de exposición	Distancia (cm)	Reducción microbiana	Referencia
Fruta entera							
Mora azul	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10 ⁹ UFC/mL	1, 5 y 10 min	20 mW/cm ²	0,9	5,83 log UFC/g	Kim y Hung (2012)
Fresa	<i>Botrytis cinerea</i>	10 ⁴ conidios/mL	NI	0,25 - 4,00 kJ/m ²	25	NR	Nigro et al. (2000)
Pera	<i>Escherichia coli</i>	4,5 ± 1,2x10 ⁹ UFC/mL	4 min	7,56 kJ/m ²	NR	3,70 ± 0,13 log UFC/g	Syamaladevi et al. (2012)
Durazno	<i>Escherichia coli</i>	4,5 ± 1,2x10 ⁹ UFC/mL	4 min	7,56 kJ/m ²	NR	2,91 ± 0,28 log UFC/g	Syamaladevi et al. (2012)
Manzanas	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	NI	NI	1,5 a 24 mW/cm ²	NR	3,3 log UFC/g	Yaun et al. (2004)
Tomates	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	NI	NI	2,9 - 57,6 kJ/m ²	NR	2,7 log UFC/mL	Bermúdez y Barbosa (2013)
Peras	<i>Penicillium expansum</i>	1,6x10 ⁷ UFC/mL	NI	1,7 kJ/m ²	NR	2,8 log UFC/mL	Syamaladevi et al. (2013)
Aguacate	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria innocua</i> <i>Salmonella</i> spp.	10 ⁷ UFC/mL	30 s	0,5; 1,0 y 3,0 kJ/m ²	15	1,0 - 3,5 log 1,0 - 3,5 log 5,0 log	Nunes et al. (2011)

NR: no reportado, UFC: unidades formadoras de colonias.

Fuente: Millán, D., Romero, L., Brito, M. y Ramos A. (2015).

Cuadro 4: Inactivación microbiana en frutas cortadas tratadas con luz ultravioleta

Sustrato tratado Fruta cortada	Microorganismo	Inóculo inicial	Tiempo de exposición (min)	Dosis de exposición	Distancia (cm)	Reducción microbiana	Referencia
Fresa	<i>Botrytis cinerea</i>	NI	5, 7,5 y 10	NI	30, 40 y 50	< 2,40x10 ² UFC/g	Beltrán <i>et al.</i> (2010)
Fresa	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella enteritidis</i> <i>Listeria innocua</i>	107 - 108 UFC/g	10, 20, 30, 45 y 60	1,2; 2,4; 3,6; 5,4 y 7,2 J/cm ²	8	1-1,4 log UFC/g	Birmpa <i>et al.</i> (2013)
Manzana	<i>Listeria innocua</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5x10 ⁻⁴ - 8x10 ⁻⁶ UFC/g	10, 15 y 25	5,6; 8,4 y 14,1 kJ/m ²	10	1,0 - 1,9 0,2 - 0,7	Gómez <i>et al.</i> (2010)
Guayaba	Aerobios mesófilos Levaduras y Mohos	NI	NI	2,4 kJ/cm 2,4 kJ/cm	NR	0,51 UFC 0,53 UFC	Guevara <i>et al.</i> (2011)
Papaya	<i>Rhodotorula glutinis</i>	107 UFC/g	9	8,64 kJ/m ²	15	6,3 log UFC/g	Calderón-Gabaldón <i>et al.</i> (2012)
Papaya	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella enterica ser. Poona</i>	107 UFC/mL	0, 1, 3, 6 y 9	0,00; 0,96; 2,88; 5,76 y 8,64 kJ/m ²	15	3,15 log UFC/g 5,28 log UFC/g	Raybaudi-Massilia <i>et al.</i> (2013)

Fuente: Millán, D., Romero, L., Brito, M. y Ramos A. (2015).

El cuadro 5 muestra un resumen de algunos trabajos presentados el año 2009 utilizando la tecnología de luz ultravioleta para la inactivación de microorganismos.

Cuadro 5: Investigaciones recientes en diferentes sustratos alimenticios utilizando tratamientos de luz ultravioleta

Sustrato tratado	Microorganismo	Inóculo Inicial	Tiempo de exposición (min)	Dosis de Exposición	Distancia (cm)	Reducción Microbiana	Referencia
Néctar de granadilla	Aerobios mesófilos Levaduras y Mohos	NI	NI	0,024 kJ/cm 0,011 kJ/mL	NR	0,51-0,53 UFC/mL 1,36 UFC/mL	Guevara <i>et al.</i> (2011)
Zapallo anco	Aerobios mesófilos Levaduras y Mohos	2,59 log UFC/g 2,68 log UFC/g	NI	3,140 kJ/m ² 2,08 kJ/m ²	30	> 1 log UFC/g < 1 log UFC/g	Sgroppo y Sosa (2009)
Jugo de pitahaya	Aerobios mesófilos Levaduras y Mohos	NI	5, 10, 15, 20 y 25	57 μW/cm ²	NR	2,11 ciclos log 1,14 ciclos log	Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán (2012)
Lechuga	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella enteritidis</i> <i>Listeria innocua</i>	107-108 UFC/g	10, 20, 30, 45 y 60	1,2; 2,4; 3,6; 5,4 y 7,2 J/cm ²	8	3,04 1,71 5,72 1,78 log UFC/g	Birmpa <i>et al.</i> (2013)

NR: no reportado. UFC: unidades formadoras de colonias.

Fuente: Millán, D., Romero, L., Brito, M. y Ramos A. (2015).

1.2. DESHIDRATADOS

Los vegetales pueden ser conservados por disminución de su contenido de agua a través de procesos tales como la concentración (productos finales fluidos), la criodeshidratación, la deshidratación o desecación (productos finales sólidos).

Según el artículo 821 del Código Alimentario Argentino (CAA) “Se entiende por hortaliza desecada o deshidratada la que ha sido privada de la mayor proporción del agua de constitución. El nombre de hortaliza desecada se empleará para la obtenida por exposición al aire y al sol, y el de deshidratada, para la que se obtiene por medios artificiales”.

El desarrollo de diversas técnicas de deshidratado de alimentos surgió a partir de la Segunda Guerra Mundial debido a la necesidad de obtener productos comestibles livianos, de menor costo de transporte y fácil almacenamiento. La producción de ellos ha continuado hasta nuestros días debido a la creciente demanda de los mismos.

Los principales objetivos del secado de frutas y hortalizas pueden resumirse en los siguientes aspectos:

- Inhibición de la acción enzimática que afecta la calidad del alimento por deterioro de las características organolépticas, físicas y químicas.
- Reducción de fletes, costos de embalaje y almacenaje, brindando más eficiencia a la logística y comercialización.
- Aumento cuantitativo de la eficiencia de extracción de los principios activos en el caso de vegetales ‘aromáticos y medicinales’.

La elección del método de secado, dependerá fundamentalmente de la calidad del producto que se desee obtener, de la disponibilidad económica y de las condiciones climáticas de la zona geográfica de la cual se trate. Sin embargo actualmente las exigencias de calidad, trazabilidad, Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y otras actuales normativas, hacen que el secado en hornos sea la tendencia de hoy, pues las condiciones estandarizadas del proceso aseguran tiempos de secado menores, bajo deterioro químico y sensorial, poca contaminación del producto final y más homogeneidad en las distintas partidas o lotes (Gascón, 2013).

1.2.1. Cinética del secado

Desecar o deshidratar vegetales conllevan el mismo principio físico que implica dos fenómenos que son: la migración o movimiento del agua hacia la superficie (estado líquido en soluciones diluidas) y la evaporación desde la superficie al ambiente que la rodea (evaporación de una solución concentrada).

Si se observa el proceso de deshidratado en el tiempo, se obtiene una cinética como la indicada en la figura 2, donde puede observarse que al principio hay una caída muy rápida del contenido de humedad y luego se va desacelerando y haciéndose asintótico. Esto quiere decir que, cuanto más baja es la humedad final, más dificultosa es su extracción del tejido vegetal.

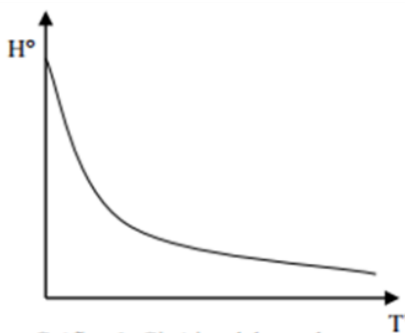


Figura 2: Cinética del secado
Fuente: Gascón, Muravnick, Andreuccetti. (2013).

En general, la velocidad de secado se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$V = \frac{H \text{ final} - H \text{ inicial}}{\text{Area} \times \Delta T}$$

En donde:

- V = velocidad de secado,
- H inicial = peso de muestra + humedad en el instante T0,
- H final = peso de muestra + humedad en el instante T1 en que se haga la determinación,
- A = área específica de evaporación y
- ΔT = intervalo de tiempo deseado.

Normalmente se habla de 'secado o fase principal' al primer tramo de velocidad alta y se considera que se extrae la fracción de agua libre del vegetal, vale decir desde humedad de composición en fresco hasta un 18% aproximadamente. El segundo tramo se denomina de 'secado o fase terminadora' y corresponde a un descenso desde 15% hasta cerca del 4-5%, esta etapa es mucho más lenta y estaría afectando el agua contenida en capilares que está débilmente retenida.

1.2.2. La empresa deshidratadora

Ecogénesis S.A es una empresa familiar que inició sus actividades en el año 2007, por lo cual ya cuenta con 10 años de presencia y trayectoria en el mercado. Sus dueños fueron quienes construyeron gran parte de las maquinarias para poder llevar a cabo el sueño de tener su propia industria deshidratadora, por lo que la empresa se fue desarrollando poco a poco para llegar a ser lo que es hoy en día.

En Ecogénesis cada año se deshidratan diferentes productos según la época y la demanda de los mismos, estos son: ajo, cebolla, papa, zanahoria, zapallo y espinaca. Cada uno de ellos es producido en distintas presentaciones como escamas, cubos o polvo y a su vez cada presentación puede clasificarse según su granulometría permitiendo una mayor variedad según la necesidad de los consumidores. Los principales usos que se pueden dar a estos deshidratados son la elaboración de sopas instantáneas, caldos saborizantes, salsas y pastas entre otros.

En los anexos II y III se puede observar el plano de la empresa y los diagramas de flujo de los productos de interés para la presente tesis.

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La tesis surge ante la necesidad de resolver un problema recurrente en una empresa agroalimentaria de hortalizas deshidratadas, la cual busca disminuir los recuentos microbiológicos de sus productos para poder cumplir con las especificaciones establecidas por los clientes.

Si bien en los alimentos deshidratados el riesgo de descomposición o crecimiento microbiano es mínimo, una vez rehidratados estos riesgos aumentan considerablemente. Por este motivo es importante obtener productos con bajo contenido microbiano, tarea que no es fácil de lograr, sobre todo en industrias pequeñas, con insuficiente espacio, equipamiento y recursos económicos.

Teniendo en cuenta que este problema no ha podido ser resuelto con la maquinaria disponible en la empresa se propuso la aplicación de un nuevo tratamiento, el cual consiste en irradiar el producto terminado con luz ultravioleta.

Para evaluar la efectividad del método se llevó a cabo sobre diferentes productos y en distintas presentaciones, los cuales son: zapallo en cubos, zanahoria en escamas y espinaca en polvo. Las especificaciones establecidas por diferentes clientes para los productos mencionados anteriormente se encuentran detalladas en el cuadro 6.

Cuadro 6: Especificaciones microbiológicas

Producto	Aerobios mesófilos (ufc/g)	Levaduras y mohos (ufc/g)	Coliformes (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)
Zapallo	$<5 \times 10^4$	$<1 \times 10^3$	$<1 \times 10^3$	<10
Zanahoria	$<5 \times 10^4$	$<1 \times 10^3$	$<1 \times 10^3$	<10
Espinaca	$<5 \times 10^5$	$<1 \times 10^3$	$<1 \times 10^3$	<10

Fuente: Ecogénsis S.A. (2017)

De los productos mencionados, la espinaca es la que presenta mayores dificultades para poder cumplir con los requerimientos microbiológicos debido principalmente al mayor contenido de tierra que puede quedar entre sus hojas; mientras que en zapallo y zanahoria los recuentos suelen ser inferiores a los límites, ya que al sufrir un escaldado en su proceso gran parte de los microorganismos son destruidos.

1.4. OBJETIVOS GENERALES

- Evaluar el efecto de la irradiación con luz ultravioleta sobre la carga microbiana y el color en alimentos deshidratados.

1.5. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el efecto de la radiación ultravioleta sobre el número de levaduras y mohos, aerobios mesófilos y coliformes totales y la presencia *Escherichia coli* en zapallo, zanahoria y espinaca deshidratadas.
- Evaluar si la radiación ultravioleta presenta efecto sobre el color de estas hortalizas deshidratadas.
- Adquirir destreza en el laboratorio de microbiología con un nivel de bioseguridad II.

1.6. HIPÓTESIS

Es posible reducir el número de microorganismos en productos deshidratados mediante la aplicación de radiación ultravioleta, de forma tal que cumplan con los requisitos establecidos, sin producir decoloraciones que desvaloricen el producto.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Muestreo

Materiales

- Saca-muestras
- Bolsas de polietileno
- Selladora de bolsas.

Método

El tipo de muestreo aplicado fue aleatorio estratificado. En este se divide la población en grupos en función de un carácter determinado y después se muestrea cada grupo aleatoriamente para obtener la parte proporcional de la muestra. En el caso de estudio cada grupo se formó por los diferentes deshidratados presentes en la empresa (zapallo, zanahoria y espinaca).

En el muestreo realizado se tomaron de cada producto deshidratado un total de nueve muestras (tres para ser tratadas con una luz UV, tres para ser tratadas con dos luces UV y tres testigo) representativas del total de la partida, utilizando un saca-muestras y bolsas de polietileno para su recolección y traslado. Luego las bolsas fueron selladas para evitar posibles contaminaciones y se las rotuló para su identificación y envío a laboratorio.

Teniendo en cuenta el tipo de hortaliza y tratamiento a aplicar, la codificación del producto se realizó de la siguiente manera:

Cuadro 7: Codificación de las muestras

Producto	Tratamiento con luz UV	Código de tratamiento	Código de repeticiones
Zapallo	Testigo	1	A
			B
			C
	Dosis 1	2	A
			B
			C
	Dosis 2	3	A
			B
			C
Zanahoria	Testigo	4	A
			B
			C
	Dosis 1	5	A
			B
			C
	Dosis 2	6	A
			B
			C
Espinaca	Testigo	7	A
			B
			C
	Dosis 1	8	A
			B
			C
	Dosis 2	9	A
			B
			C

2.2. Aplicación del tratamiento

Debido a la dificultad de poder medir la irradiancia de los tubos utilizados en el ensayo (ya que no ha sido especificada por el fabricante y para medirla se requiere de

equipos especiales), se tendrá en cuenta el cuadro 2 en el cual se detallan los valores para tubos de distinta intensidad.

Conociendo la distancia de la lámpara al alimento (64 cm) y la potencia de la misma (40 W) podríamos decir que la irradiancia de los tubos utilizados fue superior a $282 \mu\text{W}/\text{cm}^2$. Este valor es el correspondiente para tubos de 36 W a 64 cm y será tomado como referencia en el ensayo, ya que se desconoce la irradiancia para tubos de 40 W.

Materiales:

- Lámparas de luz UV con las siguientes características: 7171 EI, 40 W, 220 V, 50 Hz
- Cámara para aplicación del tratamiento
- Ventilador
- Bolsas de polietileno

Método

Una vez recolectadas las muestras fueron sometidas a la acción de luz ultravioleta germicida dentro de la cámara de tratamiento la cual cuenta con un techo en el que se encuentran las luces, paredes cubiertas de papel de aluminio para reflejar la luz y evitar posibles pérdidas de radiación y un piso móvil también forrado en papel aluminio.

Para el estudio se realizaron dos tipos de tratamiento: uno de ellos con una sola lámpara y el otro con dos, duplicando las dosis aplicadas en una primera instancia. El tiempo de exposición escogido, por factibilidad en la industria y según la bibliografía consultada fue de cinco minutos.

Para llevar a cabo el tratamiento se colocaron 300 g de cada muestra sobre el piso de la cámara esparcida uniformemente. En la puerta de entrada del producto se colocó un ventilador para evitar la acumulación de ozono en el interior de la cámara, ya que este absorbe parte de la radiación y podría interferir en los resultados finales. Al terminar cada tratamiento se colocó el producto en nuevas bolsas de polietileno y se desinfectó la cámara con algodones embebidos en alcohol para volver a colocar nuevo producto. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

Teniendo en cuenta la irradiancia de las lámparas y el tiempo de exposición, las dosis aplicadas fueron las siguientes:

$$D = I \cdot t$$

$$D_1 = 282 \mu\text{W}/\text{cm}^2 \cdot 300 \text{ s} = 84.600 \mu\text{Ws}/\text{cm}^2 = 84,6 \text{ mWs}/\text{cm}^2$$

$$D_2 = D_1 \cdot 2 = 84.600 \mu\text{Ws}/\text{cm}^2 \cdot 2 = 169.200 \mu\text{Ws}/\text{cm}^2 = 169,2 \text{ mWs}/\text{cm}^2$$

Para facilitar la interpretación y lectura de los datos, se aproximarán estos valores a 85 y 170 mWs/cm^2 respectivamente.

2.3. Determinación microbiológica

Se realizó el recuento de microorganismos aerobios mesófilos y de levaduras y mohos mediante técnica Pour Plate utilizando agar para recuento en placa (API) y agar levaduras y mohos respectivamente. El recuento de coliformes se realizó utilizando el método de Número Más Probable (NMP) en Caldo Mac Conkey. En el anexo IV se puede ver la ficha técnica y los procedimientos a seguir para la preparación de los medios de cultivo utilizados.

2.3.1. Microorganismos aerobios mesófilos

En este grupo se incluyen todos los microorganismos capaces de desarrollar en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una óptima entre 30°C y 40°C (ANMAT, 2014).

El recuento de microorganismos aerobios mesófilos estima la microbiota total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja las condiciones higiénicas de la materia prima, así como las mismas durante la manipulación, la elaboración y conservación. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas,

de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de microorganismos patógenos (Pascual-Anderson y Calderón, 2000).

Materiales

- Diluciones de muestra
- Cajas de Petri estériles
- Pipetas de 1 ml estériles
- Estufa de a 28 °C
- Agar para recuento en placa (API) fundido y enfriado a 45 °C

Método

El recuento se realizó por la técnica Pour Plate. Para ello se sembró en cajas de Petri estériles 1ml de las siguientes diluciones (obtenidas según el procedimiento indicado en el anexo V):

- Zapallo: 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}
- Zanahoria: 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}
- Espinaca: 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6}

Luego se añadieron aproximadamente 20 ml de Agar API previamente fundido y enfriado a 45 °C, se homogeneizaron con movimientos circulares hacia ambos sentidos y luego de 15 minutos se incubaron en estufa a 28 °C durante 24 - 48 h.

El recuento se realizó en aquellas placas que tenían entre 30 y 300 colonias. El resultado se expresó en ufc/g.

2.3.2. Levaduras y mohos

La contaminación fúngica de un alimento deshidratado tiene gran importancia, no sólo por su acción alterante que disminuye las características organolépticas propias de las materias primas y productos manufacturados, sino también por la capacidad de algunos hongos para sintetizar gran variedad de micotoxinas, provocar infecciones e incluso, reacciones alérgicas en personas hipersensibles a los antígenos fúngicos. Por estos motivos, para conocer la calidad microbiológica de un producto deshidratado es pertinente realizar un recuento de hongos y levaduras (ANMAT, 2014).

Materiales

- Muestras preparadas
- Cajas de Petri estériles
- Pipetas de 1 ml estériles
- Estufa de a 28 °C
- Agar para Levaduras y Mohos fundido y enfriado a 45°C

Método

El recuento se realizó por la técnica Pour Plate. En el caso de levaduras y mohos se sembró 1 ml de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} (ver anexo V) de cada muestra en placas de Petri estériles. Luego se añadieron aproximadamente 20 ml de Agar para Levaduras y Mohos previamente fundido y enfriado a 45 °C, se homogeneizaron las placas con movimientos circulares hacia ambos sentidos y se dejaron reposar 15 minutos. Por último se incubaron en estufa a 28 °C durante una semana.

El recuento se realizó en aquellas placas que tenían entre 30 y 300 colonias. El resultado se expresó en ufc/g.

2.3.3. Coliformes totales

Las bacterias del grupo coliformes se definen como: bacilos cortos, Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa a 35 °C en menos de

48 h, con producción de ácido y gas. Incluye los géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter* (Pascual-Anderson y Calderón, 2000).

Se consideran un excelente indicador de la eficiencia de los procesos de sanitización y desinfección, así como de calidad sanitaria en diversos productos.

Materiales

- Muestras preparadas
- Tubos de ensayo con caldo Mac Conkey simple concentración y campanas de Durham
- Gradillas
- Pipetas estériles de 1 ml
- Estufa de cultivo a 37 °C

Método

Para el recuento de coliformes totales se llevó a cabo el método de Número Más Probable (NMP), para lo cual se prepararon 3 series de 3 tubos cada una con 9 ml de caldo Mac Conkey con campana de Durham.

Como indica la figura 3, se añadió 1ml de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} (ver anexo V) a cada tubo de cada serie, los cuales se incubaron a 37 °C durante 24-48 h. Transcurrido el tiempo de incubación se contó la cantidad de tubos positivos por dilución, para esto se tuvo en cuenta el cambio de color del medio (de violeta a amarillo), desarrollo de turbidez y producción de gas.

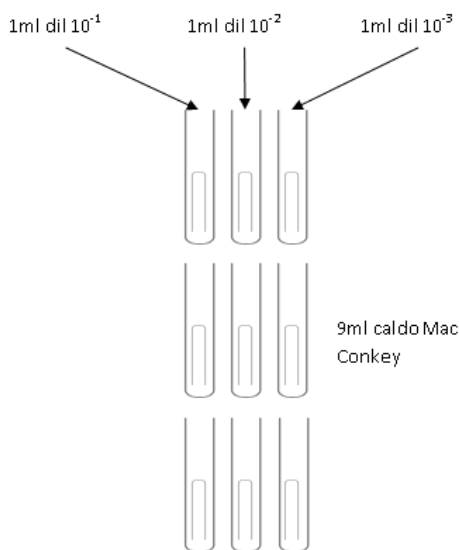


Figura 3: Técnica de NMP para recuento de coliformes totales

Teniendo en cuenta el siguiente cuadro se obtuvo el valor de NMP según la cantidad de tubos positivos.

Cuadro 8: Número más probable (NMP) de bacterias; tres tubos por cada dilución

Tubos positivos			NMP/g
Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³	
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
3	0	0	23
3	0	1	40
3	1	0	40
3	1	1	70
3	2	0	90
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	200
3	3	1	500
3	3	2	1100

Fuente: International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 2000.

2.3.4. Coliformes termotolerantes

Dentro del grupo coliformes, los de origen fecal son capaces de fermentar la lactosa también a 44,5 °C. Indican probable contaminación con heces de animales.

Materiales

- Tubos positivos para coliformes totales
- Asa en arito
- Tubos con caldo BRILLA y campana de Durham
- Baño María a 45°C

Método

De los tubos que dieron resultados positivos en el recuento de coliformes totales se tomaron 2 ansadas y se sembraron en tubos con caldo BRILLA y campana de Durham. Luego se colocaron en Baño María a 45 °C durante 24-48 h.

Los tubos que presentaron desarrollo de turbidez y producción de gas se consideraron positivos para el crecimiento de coliformes termotolerantes y se prosiguió a determinar la posible presencia de *Escherichia coli*.

2.3.5. *Escherichia coli*

Se considera indicador de contaminación fecal reciente, humana o animal en productos como agua embotellada, leche y jugos, alimentos infantiles y alimentos procesados en general. Se caracteriza por ser un microorganismo coliforme termotolerante (fermenta lactosa a 44.5 °C) que produce indol a partir de triptofano y produce β-glucuronidasa.

Materiales

- Tubos positivos para coliformes termotolerantes
- Ansa acodada
- Cajas de Petri con Agar eosina azul de metileno
- Estufa a 37 °C

Método

A partir de los tubos que dieron positivo en la prueba de coliformes termotolerantes se tomó una ansada y se sembró por estrías en Agar Eosina Azul de Metileno. Las placas se dejaron reposar unos minutos y luego fueron incubadas a 37 °C durante 24 a 48 h. Transcurrido el tiempo de incubación se observó la presencia de colonias típicas (colonias verdosas con brillo metálico y centro negro azulado). Al constatar la presencia de colonias típicas se realizaron las pruebas IMViC.

2.3.5.1. Pruebas IMViC

Para poder confirmar la presencia de *E. coli* se realizaron las siguientes determinaciones: Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato. El fundamento de cada determinación se detalla a continuación:

- Indol: Determina si la bacteria posee enzima triptofanasa, la cual hidroliza el triptófano a indol y alanina. El indol se detecta empleando reactivo de Kovacs. Un anillo rosa-rojizo en la superficie indica un resultado positivo.
- Rojo de Metilo: Detecta la fermentación ácido-mixta. La cantidad de ácidos que se forman durante esta fermentación disminuye el pH del medio por debajo de 4,5 produciendo el viraje del indicador (rojo de metilo) de amarillo a rojo.
- Voges – Proskauer: Detecta la fermentación butanodiólica. En esta determinación se detecta la presencia de un precursor del butanodiol, la acetoina. Esta reacción se ve favorecida en medio alcalino y en presencia de oxígeno. En un resultado negativo no se produce cambio de color y en uno positivo aparece un color rosa a carmesí.
- Citrato (según Simmons): Determina la utilización de citrato como única fuente de carbono. La degradación del citrato por los microorganismos da lugar a la alcalinización del medio de cultivo, que se evidencia por un viraje del verde al azul oscuro del azul de bromotimol presente en el medio.

El resultado de este test se expresa mediante el símbolo positivo o negativo según el resultado de cada prueba, siguiendo siempre el orden establecido por las iniciales del método. Así por ejemplo, el IMViC de la bacteria *E. coli* es +/- + - - (Cátedra de microbiología, 2012).

2.4. Determinación de color

El color corresponde a una percepción e interpretación subjetiva. Dos personas mirando un mismo objeto pueden usar puntos de referencia distintos y expresar el mismo color con una gran variedad de palabras diferentes. Para evitar esto y asegurar que una muestra cumpla con el estándar, el color debe ser expresado en términos numéricos y objetivos.

El espacio de color $L^*a^*b^*$ fue modelado en base a una teoría de color oponente que establece que dos colores no pueden ser rojo y verde o amarillo y azul al mismo tiempo, tal como lo indica la figura 4. En este espacio “L” indica la luminosidad y “a” y “b” son las coordenadas cromáticas.

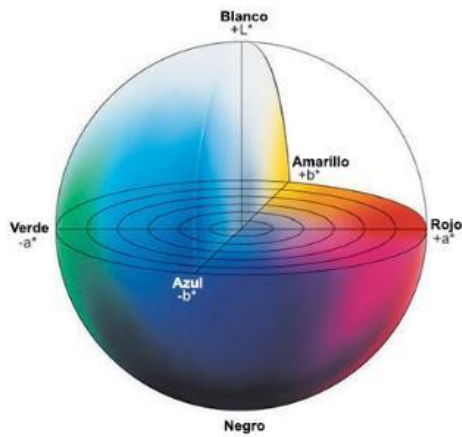


Figura 4: Espacio de color CIE Lab.
Fuente: Konica Minolta. 2014.

Materiales

- Muestras
- Scanner
- Programa Corel Photo Paint 8

Método

El estudio se realizó utilizando la técnica de medición por captación de imagen digital con PC + Scanner. Para ello se escanearon las muestras utilizando la cantidad necesaria para cubrir el área de una hoja A4 aproximadamente.

Una vez obtenido el perfil de referencia se obtuvieron las lecturas de las imágenes, normalizadas en 200 píxeles en RGB y transformadas a coordenadas L, a, b con el software COREL PHOTO PAINT 8 de Microsoft. El programa permite obtener los histogramas correspondientes para: Luminosidad (l), coloración de verde a rojo (a), coloración de azul a amarillo (b).

2.5. Análisis Estadístico

Se utiliza el Análisis de la varianza para tratar los datos de recuentos microbiológicos y de color. Este análisis permite probar si más de dos medias poblacionales son iguales.

3. RESULTADOS

3.1. Determinación microbiológica

Finalizada la incubación de las muestras a las temperaturas y tiempos indicados en el inciso 2.3 se procedió al recuento de los microorganismos correspondientes.

3.1.1. Zapallo en cubos

3.1.1.1. Aerobios mesófilos

En la siguiente figura se muestran los resultados de dos placas con crecimiento de aerobios mesófilos en muestras de zapallo.

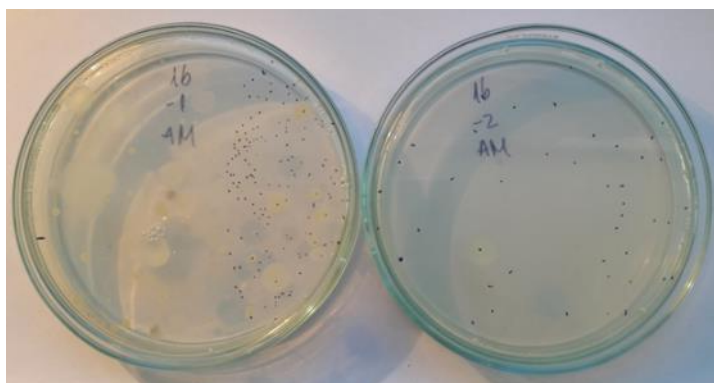


Figura 5: Placas con crecimiento de aerobios mesófilos.

Los resultados obtenidos en el recuento de aerobios mesófilos en zapallo son presentados en el siguiente cuadro.

Cuadro 9: Recuento de aerobios mesófilos en muestras de zapallo

Dosis	Muestra	Aerobios mesófilos (ufc/g)	Log N (ufc/g)	\bar{x} Log N (ufc/g)
Testigo	1A	$4,1 \times 10^3$	3,61	3,62
	1B	$4,4 \times 10^3$	3,64	
	1C	$4,1 \times 10^3$	3,61	
85 mWs/cm ²	2A	$2,7 \times 10^3$	3,43	3,47
	2B	$4,7 \times 10^3$	3,67	
	2C	$2,1 \times 10^3$	3,32	
170 mWs/cm ²	3A	$2,7 \times 10^3$	3,44	3,31
	3B	$1,3 \times 10^3$	3,13	
	3C	$2,3 \times 10^3$	3,37	

Como se puede observar en el cuadro 9, los recuentos se encuentran todos debajo del límite de 5×10^4 mencionado en el cuadro 6.

El ADEVA indica que las medias poblacionales son estadísticamente iguales (p-valor mayor al nivel de significancia de 0,05), o sea que los recuentos de aerobios mesófilos serán iguales sin importar el tratamiento aplicado (ver anexo VI).

En la figura 6 se puede observar la escasa variabilidad que existe entre las medias de los diferentes tratamientos, produciéndose una disminución de tan solo 0,15 Log al irradiar muestras de zapallo con una dosis de 85 mWs/cm²; mientras que al irradiar este mismo producto con 170 mWs/cm² la disminución es de 0,31 Log.

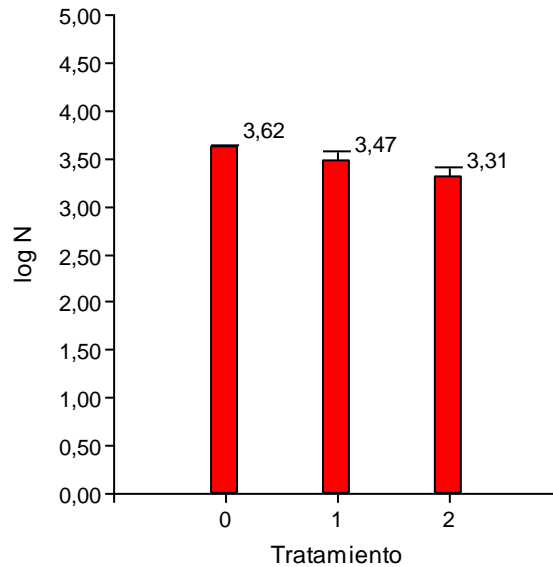


Figura 6: Gráfico de barras para la media del Log de aerobios mesófilos en zapallo

En base a los resultados obtenidos se puede decir que la disminución en el recuento de aerobios mesófilos en zapallo debida a la irradiación con dosis de luz ultravioleta de 85 y 170 mWs/cm² no es significativa. Además no se puede asegurar el cumplimiento de la hipótesis en esta determinación, ya que los valores siempre se encontraron por debajo del límite.

3.1.1.2. Levaduras y mohos

En el caso de levaduras y mohos la mayoría de los recuentos fueron tomados de diluciones 10⁻¹ ya que el crecimiento fue escaso en esta dilución y nulo en las siguientes, tal como se muestra en la figura 7.

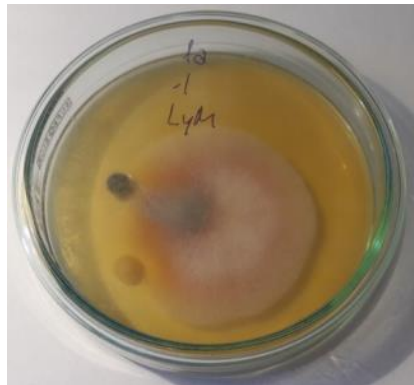


Figura 7: Crecimiento de levaduras y mohos en placa 1a dilución 10⁻¹

Los resultados obtenidos respecto al número de levaduras y mohos en zapallo son presentados en el cuadro 10.

Cuadro 10: Recuento de levaduras y mohos en muestras de zapallo

Dosis	Muestra	Levaduras y mohos (ufc/g)	Log N (ufc/g)	\bar{x} Log N (ufc/g)
Testigo	1A	4×10^1	1,60	1,67
	1B	5×10^1	1,70	
	1C	5×10^1	1,70	
85 mWs/cm ²	2A	$1,6 \times 10^2$	2,20	2,25
	2B	$2,3 \times 10^2$	2,36	
	2C	$1,5 \times 10^2$	2,18	
170 mWs/cm ²	3A	6×10^1	1,78	1,66
	3B	4×10^1	1,60	
	3C	4×10^1	1,60	

Al igual que para los recuentos de aerobios mesófilos, los de levaduras y mohos también se encuentran debajo de su límite máximo de 1×10^3 .

El ADEVA para levaduras y mohos indica que existe al menos una media poblacional estadísticamente diferente (p-valor menor al nivel de significancia de 0,05), o sea que los recuentos difieren según el tratamiento. El Test de Tukey indica que la muestra cuya media es diferente es aquella irradiada con dosis de 85 mWs/cm² (ver anexo VI).

En la figura 8 se puede ver que los recuentos de las muestras irradiadas con dosis de 85 mWs/cm² fueron siempre mayores a los de las muestras testigos, mientras que al aplicar dosis de 170 mWs/cm² no se observaron cambios significativos.

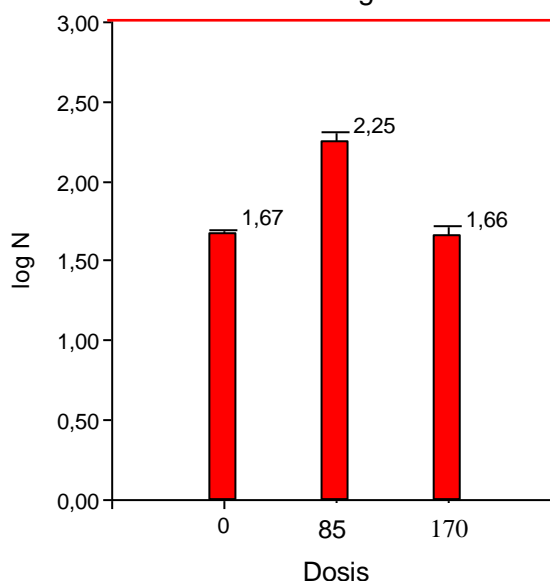


Figura 8: Gráfico de barras para la media del Log de levaduras y mohos en zapallo

Según datos aportados por la empresa, los recuentos de cada muestra se encuentran dentro de los valores normalmente obtenidos, incluso aquellos pertenecientes a muestras irradiadas con 85 mWs/cm², por lo que podría pensarse que la variación de los datos ha sido causa de la toma de muestra aleatoria ya que sería poco probable una contaminación que afectara de igual forma a las tres muestras irradiadas con dosis menores.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se podría decir que la radiación UV no cumplió con los efectos esperados sobre levaduras y mohos en zapallo ya que no hubo una disminución en los recuentos. En este estudio no se puede asegurar el cumplimiento de la hipótesis ya que todos los resultados fueron siempre inferiores al límite máximo permitido.

3.1.1.3. Coliformes

Respecto al recuento de coliformes totales la mayoría de los tubos sembrados no presentaron cambios, quedando el medio de color violeta característico, sin formación de precipitado, gas ni turbidez. Solo dos tubos dieron resultados sospechosos ya que presentaron cambio de color a amarillo y una leve producción de gas, por lo que se procedió a sembrar los tubos sospechosos nuevamente en caldo MacConkey para confirmar presencia de coliformes y en caldo BRILLA para descartar o comprobar presencia de termotolerantes según procedimientos descritos en los puntos 2.3.3 y 2.3.4.

Luego de las 48 h de incubación no se observaron cambio en ambas series de tubos sembrados, tanto en MacConkey a 37°C para coliformes totales como en BRILLA a 44,5 °C para termotolerantes. Por lo que el resultado se expresa como número de Coliformes Totales < 3 NMP/g, que es el límite de detección de la técnica.

En las siguientes figuras se puede apreciar los resultados obtenidos para el análisis de coliformes totales.



Figura 9: Tubos negativos para coliformes totales

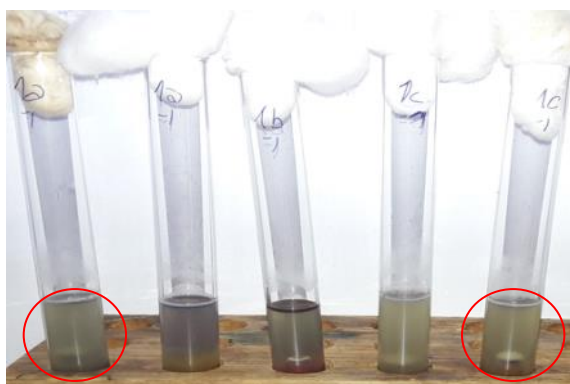


Figura 10: Tubos sospechosos de coliformes totales

Los resultados obtenidos en el recuento son presentados en el siguiente cuadro.

Cuadro 11: Recuento de Coliformes totales en muestras de zapallo

Dosis	Muestra	Coliformes (NMP/g)
Testigo	1A	<3
	1B	<3
	1C	<3
85 mWs/cm ²	2A	<3
	2B	<3
	2C	<3
170 mWs/cm ²	3A	<3
	3B	<3
	3C	<3

Al igual que para las determinaciones anteriores, estos valores son inferiores al límite especificado (1×10^3).

Debido a que no hubo crecimiento en ninguna de las muestras, no se puede decir si la irradiación de zapallo con luz UV es efectiva contra el desarrollo de coliformes totales, termotolerantes y *Escherichia coli*. Tampoco se puede asegurar el cumplimiento de la hipótesis.

3.1.2. Zanahoria en escamas

3.1.2.1. Aerobios mesófilos

En la figura 11 se puede observar tres cajas con crecimiento de aerobios mesófilos, correspondientes a las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} de muestras de zanahoria tratadas con una dosis de 85 mWs/cm^2 .

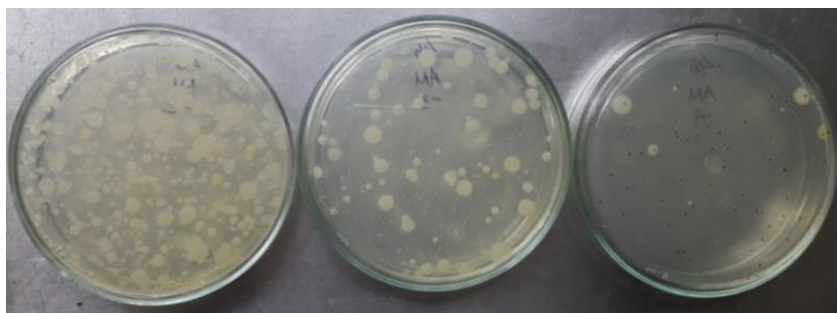


Figura 11: Crecimiento de aerobios mesófilos en muestras de zanahoria

Los resultados obtenidos en los recuentos de cada muestra son detallados en el siguiente cuadro.

Cuadro 12: Recuento de aerobios mesófilos en muestras de zanahoria

Dosis	Muestra	Aerobios mesófilos (ufc/g)	Log N (ufc/g)	\bar{x} Log N (ufc/g)
Testigo	4A	$4,4 \times 10^5$	5,64	5,23
	4B	$6,8 \times 10^5$	5,83	
	4C	$1,6 \times 10^4$	4,20	
85 mWs/cm^2	5A	$1,1 \times 10^5$	5,03	4,61
	5B	$3,1 \times 10^4$	4,50	
	5C	2×10^4	4,29	
170 mWs/cm^2	6A	$3,1 \times 10^4$	4,49	4,46
	6B	$2,4 \times 10^4$	4,38	
	6C	$3,3 \times 10^4$	4,52	

En el cuadro 12 se puede ver que dos de los recuentos de las muestras testigo superaron el límite de 5×10^4 , al igual que el recuento de la muestra 5A, irradiada con 85 mWs/cm^2 .

El ADEVA indica que las medias poblacionales son estadísticamente iguales, ya que el p-valor es mayor al nivel de significancia de 0,05, por lo que los recuentos de aerobios mesófilos serán iguales independientemente del tratamiento aplicado (ver anexo VII). Sin embargo, como se puede observar en la figura 12, al irradiar las muestras con dosis de 85 y 170 mWs/cm^2 se produce una disminución en los recuentos de $0,62$ y $0,77$ log respectivamente.

Aunque en el tratamiento con dosis de 85 mWs/cm^2 la barra de error sobrepasa el límite máximo, al aplicar mayores dosis se puede ver que se reducen los recuentos por debajo del mismo. En este último caso podemos decir que se ha cumplido con la hipótesis propuesta, ya que al irradiarse las muestras de zapallo con 170 mWs/cm^2 los recuentos fueron menores al máximo permitido.

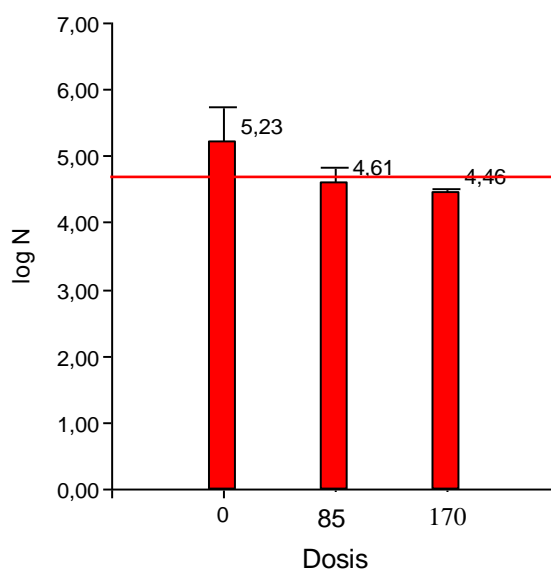


Figura 12: Gráfico de barras para la media del Log de aerobios mesófilos en zanahoria

3.1.2.2. Levaduras y mohos

Los recuentos de levaduras y mohos en zanahoria fueron algo superiores a los de zapallo. En algunos casos se pudo contar fácilmente mientras que en otros, debido a la invasión de hongos en la placa, el recuento se dificultó y se prosiguió a contar en la dilución siguiente. La figura 13 muestra lo explicado anteriormente.



Figura 13: Placa 4c con crecimiento de levaduras y mohos y placa 6c invadida.

En el siguiente cuadro se detallan los recuentos obtenidos para las distintas muestras.

Cuadro 13: Recuento de levaduras y mohos en muestras de zanahoria

Dosis	Muestra	Levaduras y mohos (ufc/g)	Log N (ufc/g)	\bar{x} Log N (ufc/g)
Testigo	4A	$1,2 \times 10^3$	3,07	2,97
	4B	$1,3 \times 10^3$	3,10	
	4C	$5,5 \times 10^2$	2,74	
85 mWs/cm ²	5A	$1,2 \times 10^3$	3,08	2,81
	5B	$5,4 \times 10^2$	2,73	
	5C	$4,1 \times 10^2$	2,61	
170 mWs/cm ²	6A	$4,5 \times 10^2$	2,65	2,84
	6B	$1,1 \times 10^3$	3,03	
	6C	$6,7 \times 10^2$	2,83	

Como se puede observar en el gráfico 13, las muestras 4A, 4B, 5A y 6B superan el límite máximo de recuentos para levaduras y mohos indicado en el cuadro 6.

Teniendo en cuenta los resultados del ADEVA para levaduras y mohos en zanahoria (anexo VII), se puede decir que las medias poblacionales son estadísticamente iguales, por lo que los recuentos serán iguales sin importar el tratamiento aplicado. Sin embargo, en la figura 14 se puede observar que el valor de las muestras testigo se encuentra muy cercano al límite y que su barra de error sobrepasa el mismo, lo que indica que es posible obtener recuentos por encima de éste; en cambio, las muestras irradiadas presentaron una leve disminución, permitiendo así reducir los recuentos por debajo del límite máximo permitido y confirmando la hipótesis propuesta.

En este caso en particular no se observa variación entre ambos tratamientos.

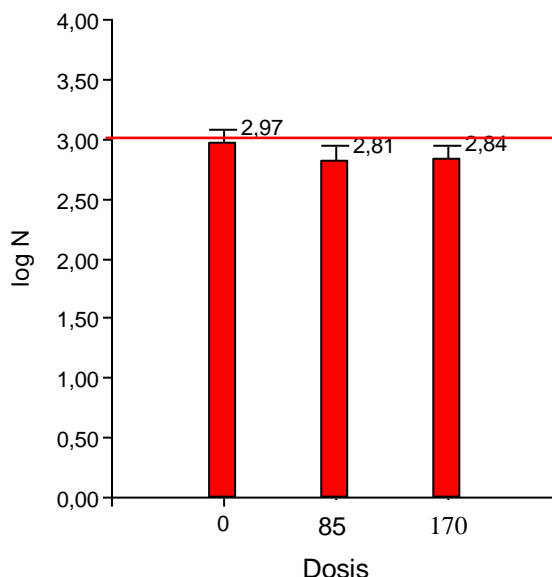


Figura 14: Gráfico de barras para la media del Log de levaduras y mohos en zanahoria

3.1.2.3. Coliformes totales

Una vez que se cumplieron los tiempos de incubación de los tubos con caldo Mac Conkey se pudo observar que casi la totalidad de ellos presentaban un viraje en el color del medio de violeta característico a amarillo, aunque no en todos hubo producción de gas y por lo tanto se consideraron como negativos. La figura 15 muestra dos tubos con cambio de color del medio, uno de ellos con acumulación de gas en la campana de Durham y otro sin.



Figura 15: Tubos con desarrollo de microorganismos en caldo Mac Conkey

Los tubos que dieron un resultado positivo se utilizaron para inocular tubos con caldo BRILLA para saber si el crecimiento era debido a coliformes termotolerantes. Finalmente los resultados dieron negativo.

El siguiente cuadro contiene los resultados obtenidos.

Cuadro 14: Recuento de coliformes totales en muestras de zanahoria

Dosis	Muestra	Coliformes (NMP/g)	Log N (ufc/g)	\bar{X} Log N (ufc/g)
Testigo	4A	1100	3,04	3,04
	4B	1100	3,04	
	4C	1100	3,04	
85 mWs/cm ²	5A	1100	3,04	2,81
	5B	500	2,70	
	5C	500	2,70	
170 mWs/cm ²	6A	4	0,60	0,60
	6B	4	0,60	
	6C	4	0,60	

En el cuadro 14 se puede observar que los recuentos de las muestras testigo fueron superiores al límite especificado (1×10^3) y que disminuyeron al irradiar las muestras de zanahoria con dosis de 85 y 170 mWs/cm².

El ADEVA realizado demuestra que las medias poblacionales son estadísticamente diferentes, ya que el p-valor es menor que el nivel de significancia de 0,05, lo que quiere decir que al menos uno de los tratamientos ha sido efectivo en la disminución de los recuentos de coliformes totales en zanahoria. El Test de Tukey indica que la muestra diferente es la irradiada con dosis de 170 mWs/cm² (ver anexo VII).

En la figura 16 se observa una disminución de 0,23 log en muestras irradiadas con 85 mWs/cm² y de 2,44 log en aquellas irradiadas con dosis de 170 mWs/cm² de luz ultravioleta, hecho que demuestra que el tratamiento es efectivo en la reducción de coliformes totales, siendo mucho mayor la efectividad al aplicar el doble de la dosis inicial.

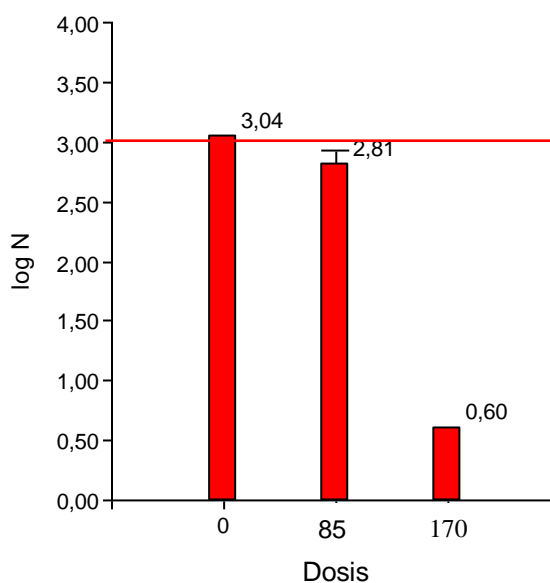


Figura 16: Gráfico de barras para la media del Log de coliformes totales en zanahoria

En este caso se cumple con la hipótesis propuesta, ya que se logró reducir los recuentos por debajo del límite de especificación en ambos tratamientos.

3.1.3. Espinaca

3.1.3.1. Aerobios mesófilos

Los resultados obtenidos en el recuento de aerobios mesófilos en espinaca son detallados en el cuadro 15.

Cuadro 15: Recuento de aerobios mesófilos en muestras de espinaca

Dosis	Muestra	Aerobios mesófilos (ufc/g)	Log N (ufc/g)	\bar{x} Log N (ufc/g)
Testigo	7A	$3,2 \times 10^5$	5,51	5,75
	7B	$8,8 \times 10^5$	5,94	
	7C	$6,3 \times 10^5$	5,80	
85 mWs/cm ²	8A	5×10^5	5,70	5,73
	8B	$5,5 \times 10^5$	5,74	
	8C	$5,8 \times 10^5$	5,76	
170 mWs/cm ²	9A	8×10^4	4,90	4,69
	9B	3×10^4	4,48	
	9C	5×10^4	4,70	

En el cuadro 15 se puede ver que los recuentos de dos muestras testigo y de las muestras irradiadas con dosis de 85 mWs/cm² fueron superiores al límite especificado (5×10^5) y que éstos se redujeron en el segundo tratamiento.

El ADEVA permite decir que existe al menos una media poblacional diferente ya que el p-valor es menor que el nivel de significancia de 0,05, lo que quiere decir que existe al menos un tratamiento eficiente en la disminución de los recuentos. El test de Tukey indica que la muestra diferente es la irradiada con dosis de 170 mWs/cm² (ver anexo VIII).

En la siguiente figura se representan los datos obtenidos para el recuento de aerobios mesófilos en espinaca.

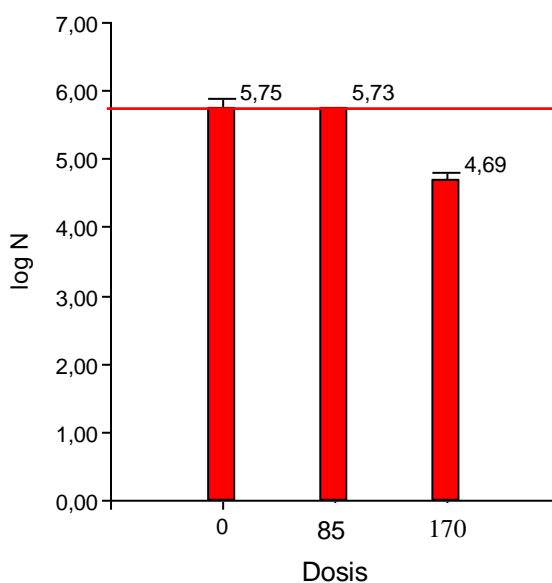


Figura 17: Gráfico de barras para la media del Log de aerobios mesófilos en espinaca

En la figura 17 se puede observar que al irradiar muestras de espinaca con dosis de 85 mWs/cm² se produce una disminución de 0,02 log en el recuento de microorganismos aerobios mesófilos, mientras que una dosis de 170 mWs/cm² ocasiona una reducción de 1,06 log por lo que con dosis mayores se logra reducir los recuentos a un nivel inferior al límite de especificación.

En la irradiación de espinaca en polvo, la hipótesis propuesta se cumple al aplicar dosis de 170 mWs/cm².

3.1.3.2. Levaduras y mohos

En el cuadro 16 se especifican los valores obtenidos en recuentos de levaduras y mohos en muestras de espinaca.

Cuadro 16: Recuento de levaduras y mohos en espinaca

Dosis	Muestra	Levaduras y mohos (ufc/g)	Log N (ufc/g)	\bar{x} Log N (ufc/g)
Testigo	7A	1×10^4	4,02	4,52
	7B	$7,3 \times 10^4$	4,86	
	7C	$4,7 \times 10^4$	4,67	
85 mWs/cm ²	8A	$1,2 \times 10^4$	4,08	4,17
	8B	$1,5 \times 10^4$	4,18	
	8C	$1,8 \times 10^4$	4,26	
170 mWs/cm ²	9A	1×10^4	4,01	4,05
	9B	$1,2 \times 10^4$	4,10	
	9C	$1,1 \times 10^4$	4,03	

Al observar cada uno de los recuentos se puede ver que todos ellos han sido superiores al límite máximo especificado en el cuadro 6 (1×10^3).

Recuentos tan elevados son poco usuales en alimentos deshidratados y estos valores pueden indicar una deshidratación incompleta o una mala conservación del producto, lo que pudo llevar a un aumento en la humedad del mismo y por lo tanto, al desarrollo de este tipo de microorganismos.

El ADEVA (ver anexo VIII) realizado sobre levaduras y mohos indica que no existe diferencia estadística entre las medias poblacionales al aplicar diferentes dosis de radiación ultravioleta, por lo que los recuentos serán iguales en cada tratamiento. No obstante en la figura 18 se puede ver que los recuentos disminuyen en un valor de 0,45 log al irradiar muestras de espinaca con dosis de 85 mWs/cm² y que al duplicar esta dosis la reducción es de 0,47 log.

Por lo tanto ambos tratamientos son efectivos en la disminución de recuentos de levaduras y mohos en espinaca en polvo, aunque las dosis utilizadas no han sido suficientes para disminuir los recuentos por debajo del límite máximo, por lo tanto la hipótesis no se cumple en este caso.

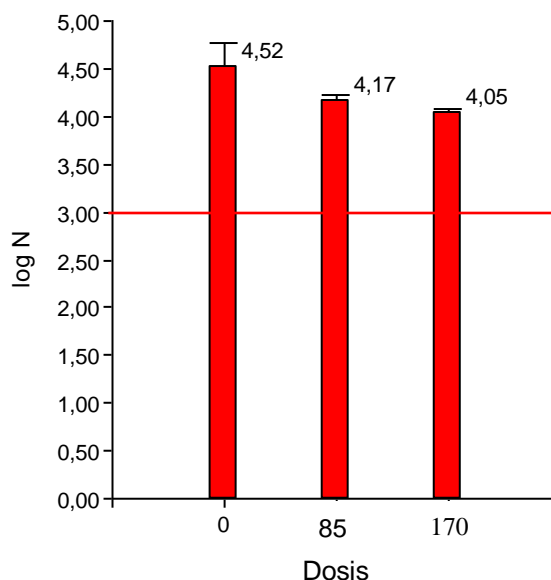


Figura 18: Gráfico de barras para la media del Log de levaduras y mohos en espinaca

3.1.3.3. Coliformes totales

En la determinación de coliformes totales en espinaca en polvo solo dos tubos dieron resultado positivo, los cuales fueron sembrados en tubos con caldo BRILLA. Luego ambos tubos también dieron un resultado positivo, confirmando la presencia de coliformes

termotolerantes, por lo que se prosiguió a sembrar por estrías en placas con Agar eosina azul de metileno para saber si se trataba de *Escherichia coli*.

Una vez cumplido el tiempo de incubación necesario se pudo observar el crecimiento de colonias típicas en ambas placas, siendo éstas de color verdosas con brillo metálico y centro negro azulado, como lo muestra la figura 19. Luego se tomó una colonia para preparar una suspensión y realizar las pruebas IMViC.

Los resultados obtenidos fueron: + - - +. Por lo tanto se descarta la presencia de *E. coli*.

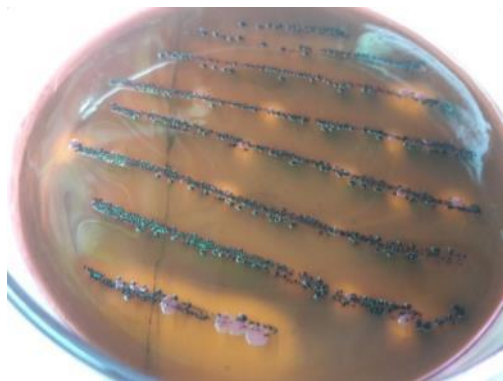


Figura 19: Placa con colonias típicas de *E. coli*

En el cuadro 17 se expresan los resultados de la determinación de coliformes totales en espinaca en polvo.

Cuadro 17: Recuento de coliformes totales en muestras de espinaca

Dosis	Muestra	Coliformes (NMP/g)	Promedio (NMP/g)
Testigo	7A	<3	<3
	7B	<3	
	7C	<3	
85 mWs/cm ²	8A	<3	4,33
	8B	7	
	8C	<3	
170 mWs/cm ²	9A	<3	<3
	9B	<3	
	9C	<3	

Como se puede observar todos los recuentos fueron inferiores al límite de especificación de 1×10^3 . Aunque se logra advertir una pequeña variación de los recuentos en el primer tratamiento, esta se mantiene cercana a los valores inferiores.

En este caso no se puede decir si la irradiación de zanahoria con dosis de 85 y 170 mWs/cm² de luz ultravioleta es efectiva en la disminución de coliformes totales. Por lo tanto tampoco se puede asegurar el cumplimiento de la hipótesis propuesta.

3.2. Resultados de la determinación de color

En el Anexo IX se puede observar de qué forma se obtuvieron los valores “L – a – b” en el programa Corel Photo Paint 8 de Microsoft, los cuales serán detallados a continuación para cada producto analizado.

3.2.1. Zapallo

Los valores arrojados por el programa Corel Photo Paint 8 para muestras de zapallo sin tratar y muestras irradiadas con 85 y 170 mWs/cm² son detallados en el siguiente cuadro.

Cuadro 18: Resultado de determinaciones de color en muestras de zapallo

Parámetro	Tratamiento	Muestra	Media (\bar{x})	Promedio de \bar{x}
L	Testigo	1A	2,05	6,10
		1B	7,85	
		1C	8,41	
	85 mWs/cm ²	2A	5,15	4,68
		2B	6,80	
		2C	2,08	
	170 mWs/cm ²	3A	8,29	4,25
		3B	2,04	
		3C	2,42	
a	Testigo	1A	27,22	26,69
		1B	26,45	
		1C	26,40	
	85 mWs/cm ²	2A	26,79	26,60
		2B	26,15	
		2C	26,86	
	170 mWs/cm ²	3A	25,43	26,09
		3B	26,65	
		3C	26,20	
b	Testigo	1A	41,21	42,49
		1B	43,33	
		1C	42,94	
	85 mWs/cm ²	2A	42,23	41,81
		2B	41,81	
		2C	41,40	
	170 mWs/cm ²	3A	42,10	41,47
		3B	41,43	
		3C	40,89	

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el ADEVA realizado a los tres parámetros (L-a-b), se puede decir que las medias poblacionales son estadísticamente iguales al ser el p-valor mayor al nivel de significancia de 0,05, o sea que los valores serán iguales sin importar el tratamiento aplicado (ver anexo VI). Aunque en la figura 21 se observa una disminución en los valores de luminosidad de 6,1 a 4,68 y a 4,25 al aplicar dosis de 85 mWs/cm² y 170 mWs/cm² respectivamente.

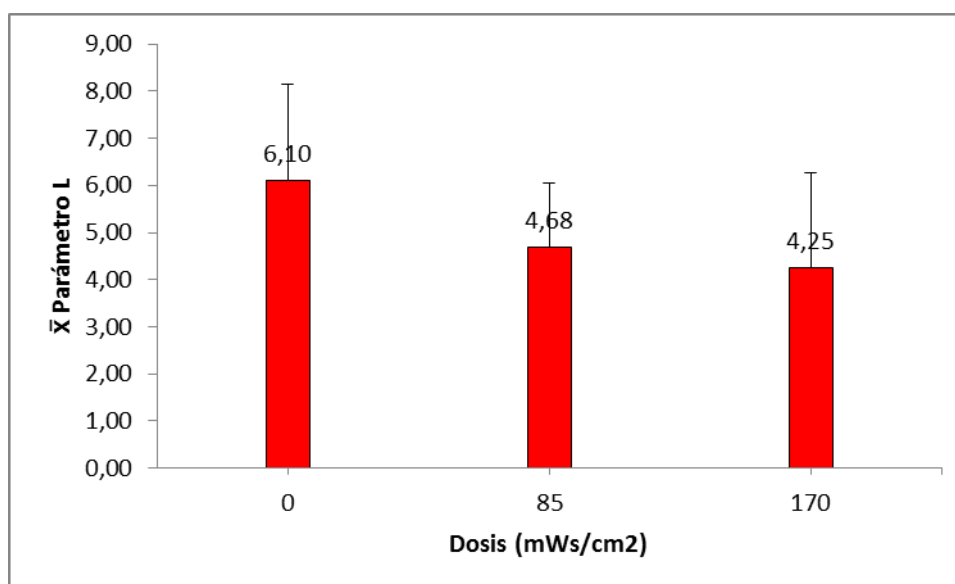


Figura 20: Gráfico de barras para el parámetro "L" en muestras de zapallo

Aunque estos cambios no se aprecian con facilidad a simple vista, tal como lo demuestra la figura 21, en la cual se comparan imágenes de una muestra testigo que posee un alto valor de “L” (mayor luminosidad) y de una muestra irradiada con un bajo valor de “L” (menor luminosidad).

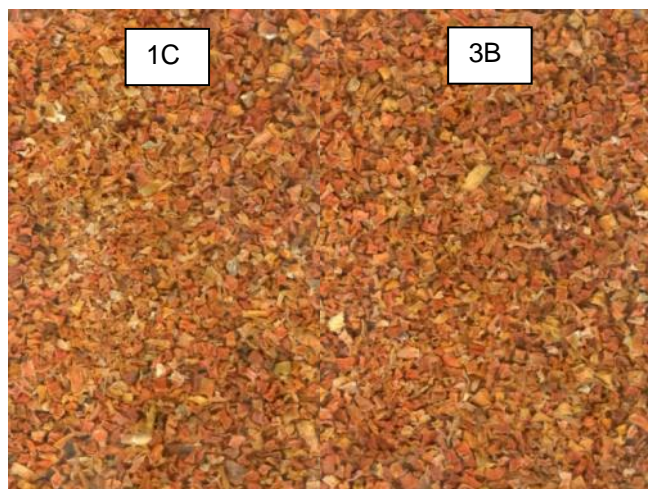


Figura 21: Muestra testigo 1C en comparación con muestra irradiada 3B

Por lo tanto se considera que los cambios detectados en el parámetro “L” han sido causados por la variabilidad del producto en sí y no por el tratamiento aplicado, ya que al tratarse de un producto en cubos, se produjeron sombras en el escaneado del mismo, las cuales disminuyen la luminosidad. Además de las sombras, la presencia de más o menos semillas también puede afectar la medición del parámetro “L”, produciendo un aumento del mismo al haber mayor cantidad de semillas o partes blancas.

Continuando con el análisis de color en muestras de zapallo, se puede observar en las figuras 22 y 23 los resultados de los parámetros “a” y “b”.

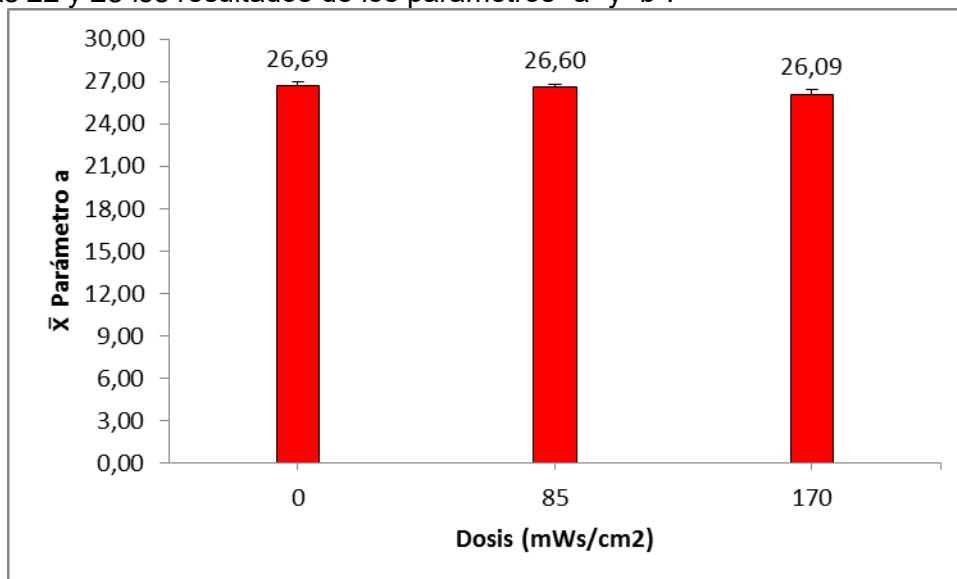


Figura 22: Gráfico de barras para el parámetro “a” en muestras de zapallo

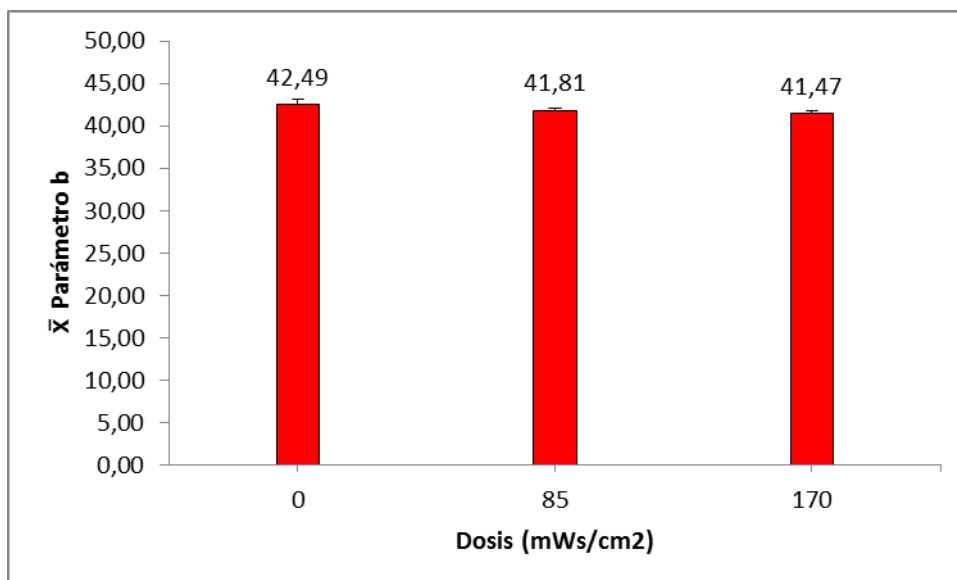


Figura 23: Gráfico de barras para el parámetro “b” en muestras de zapallo

En los dos gráficos anteriores se pone de manifiesto que al irradiar muestras de zapallo en cubos con dosis de 85 y 170 mWs/cm² no se producen cambios significativos en los parámetros de color “a” y “b”.

A modo de conclusión se puede decir que la irradiación de muestras de zapallo en cubo deshidratado con dosis de luz UV estudiadas no produce modificaciones en la coloración del producto, cumpliéndose de esta manera la hipótesis propuesta.

3.2.2. Zanahoria

En el cuadro 19 se indican los valores de los parámetros “L”, “a” y “b” de muestras de zanahoria deshidratada irradiada y sin irradiar.

Cuadro 19: Resultado de determinaciones de color en muestras de zanahoria

Parámetro	Tratamiento	Muestra	Media (x̄)	Promedio de x̄
L	Testigo	4A	16,06	14,43
		4B	14,04	
		4C	13,18	
	85 mWs/cm ²	5A	13,06	15,47
		5B	18,86	
		5C	14,50	
	170 mWs/cm ²	6A	13,97	14,79
		6B	19,35	
		6C	11,04	
a	Testigo	4A	27,45	27,35
		4B	27,31	
		4C	27,29	
	85 mWs/cm ²	5A	28,14	27,60
		5B	26,65	
		5C	28,01	
	170 mWs/cm ²	6A	27,95	27,46
		6B	26,24	
		6C	28,19	

Continuación cuadro19

b	Testigo	4A	36,77	37,15
		4B	35,41	
		4C	39,28	
	85 mWs/cm ²	5A	37,78	37,82
		5B	36,31	
		5C	39,36	
	170 mWs/cm ²	6A	37,23	38,35
		6B	38,90	
		6C	38,93	

El ADEVA de los tres parámetros (L-a-b) indica que no existe diferencia estadística entre las medias poblacionales (p-valor mayor al nivel de significancia de 0,05), por lo que los valores serán iguales sin importar el tratamiento aplicado (ver anexo VII).

En la figura 24 se aprecia un aumento en la luminosidad de zanahoria de 14,43 a 15,47 al ser irradiada con dosis de luz UV de 85 mWs/cm², mientras que para dosis de 170 mWs/cm² la variación es de tan solo 0,36 unidades.

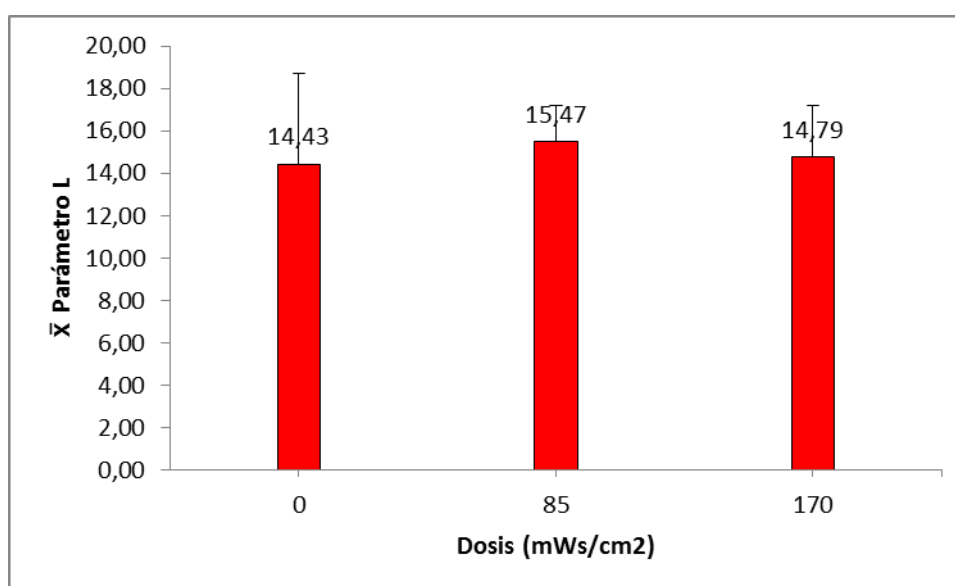


Figura 24: Gráfico de barras para el parámetro "L" en muestras de zanahoria

En la figura 26 se puede ver que al comparar la muestra testigo 4A, la cual posee un valor de luminosidad alto (16,06) con la muestra irradiada 6B que arrojó el más alto valor de "L" (19,35), el cambio de color no es evidente. Esta comparación se realiza para demostrar que una variación de 3 unidades en el parámetro "L" no es perceptible y que es normal la aparición de valores altos también en muestras testigos, causados por variaciones propias del producto. Por ejemplo, puede haber partidas de mayor cantidad de zanahorias con centro blanquecino, lo cual aumentaría la luminosidad.

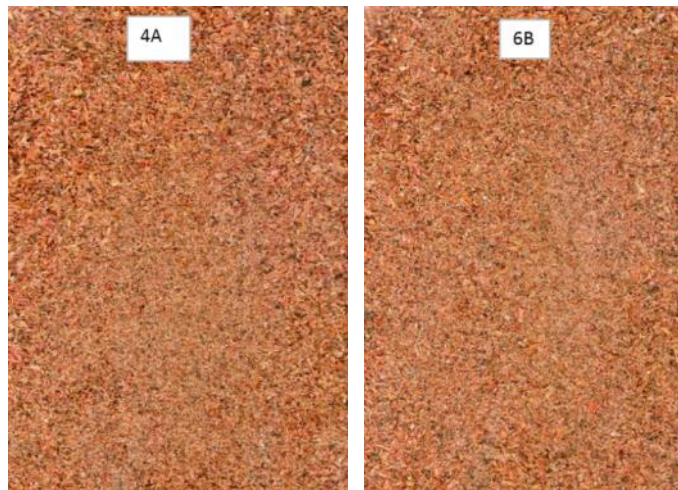


Figura 25: Comparación de muestras 4A y 6B.

Se puede concluir entonces que la radiación ultravioleta no ejerce efectos significativos sobre la luminosidad de muestras de zanahoria en escamas deshidratada.

En las figuras 26 y 27 se puede observar los efectos producidos por la radiación sobre los parámetros “a” y “b”.

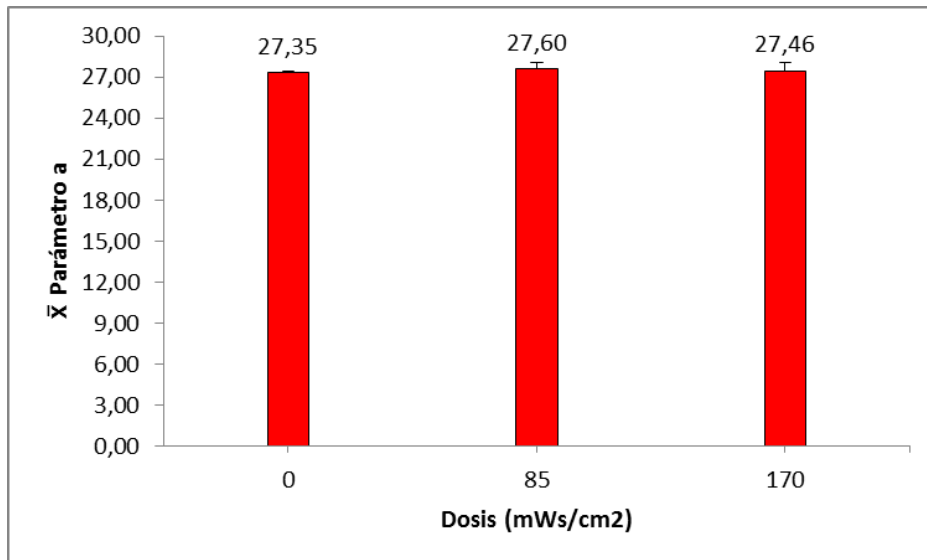


Figura 26: Gráfico de barras para el parámetro “a” en muestras de zanahoria

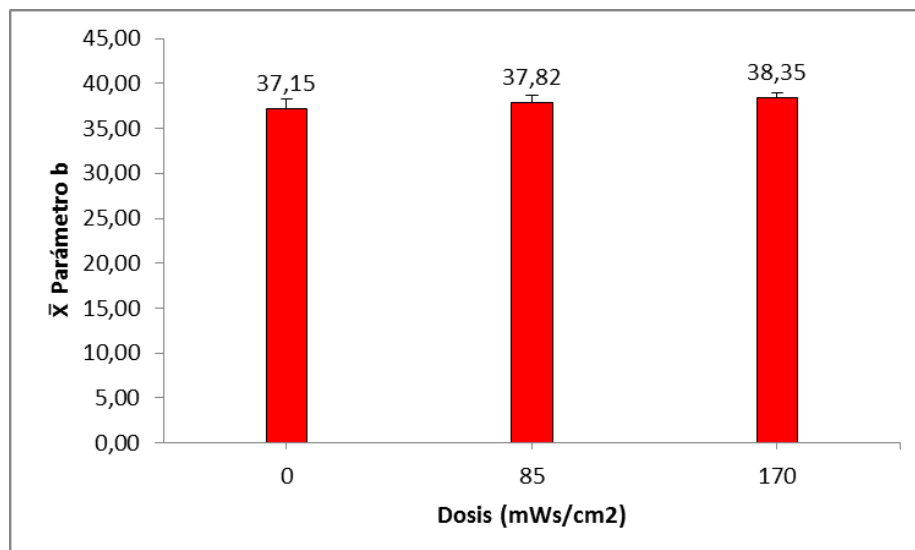


Figura 27: Gráfico de barras para el parámetro “b” en muestras de zanahoria

En la figura 26 se puede ver que no hay variaciones significativas entre muestras testigos e irradiadas con 85 y 170 mWs/cm² en cuanto al parámetro “a”.

En la figura 27 respecto al parámetro “b” se observa un ligero incremento en sus valores al aumentar las dosis de luz UV. Si bien esta variación es pequeña y puede considerarse como no significativa.

Como conclusión se puede decir que la irradiación de muestras de zanahoria en escamas con dosis de luz UV de 85 y 170 mWs/cm² no afecta de forma significativa el color del producto y por lo tanto se cumple la hipótesis ya que no hay desvalorización del mismo.

3.2.3. Espinaca

En el siguiente cuadro se pueden observar los valores de los parámetros L-a-b obtenidos para muestras de espinaca en polvo.

Cuadro 20: Resultado de determinaciones de color en muestras de espinaca

Parámetro	Tratamiento	Muestra	Media (x̄)	Promedio de x̄
L	Testigo	7A	46,15	43,40
		7B	42,02	
		7C	42,02	
	85 mWs/cm ²	8A	29,24	35,97
		8B	39,55	
		8C	39,12	
	170 mWs/cm ²	9A	39,56	40,39
		9B	42,98	
		9C	38,62	
a	Testigo	7A	-11,77	-11,53
		7B	-11,31	
		7C	-11,52	
	85 mWs/cm ²	8A	-10,57	-10,90
		8B	-11,17	
		8C	-10,97	
	170 mWs/cm ²	9A	-11,14	-11,13
		9B	-11,43	
		9C	-10,83	
b	Testigo	7A	41,37	41,19
		7B	40,96	
		7C	41,25	
	85 mWs/cm ²	8A	42,99	42,04
		8B	41,99	
		8C	41,15	
	170 mWs/cm ²	9A	41,63	41,02
		9B	40,81	
		9C	40,61	

En el cuadro 20 se puede observar que la muestra 8A arrojó un valor de “L” 10 unidades menor que las otras dos muestras, aunque a simple vista este cambio no es evidente. Por lo que se puede decir que esta disminución ha sido causada por una variación en la iluminación del scanner.

El ADEVA realizado a los tres parámetros (L-a-b) indica que las medias poblacionales son estadísticamente iguales, ya que el p-valor es mayor al nivel de significancia de 0,05, lo que quiere decir que los valores serán iguales sin importar el tratamiento aplicado (ver anexo VIII).

En el siguiente gráfico se representan los promedios de los valores obtenidos para el parámetro “L”.

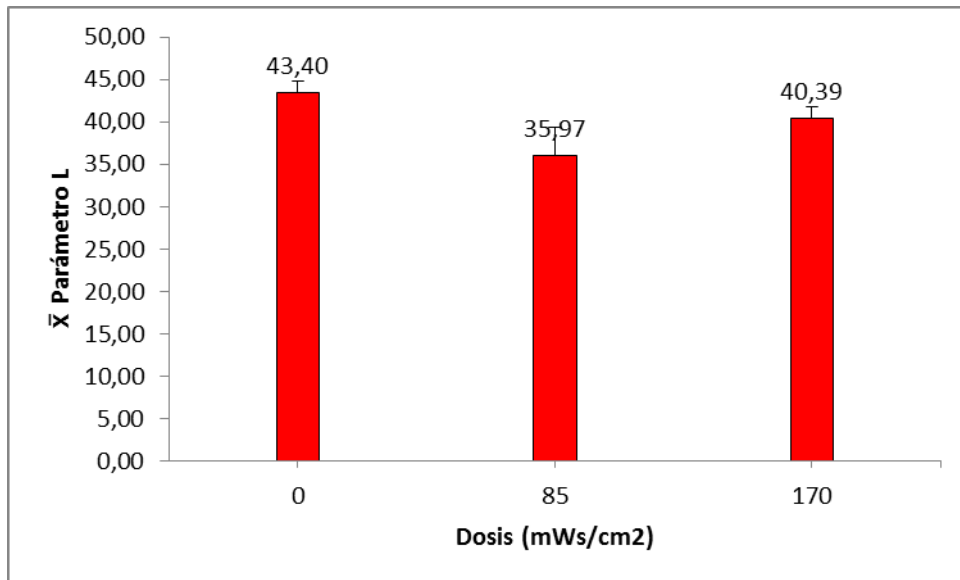


Figura 28: Gráfico de barras para el parámetro "L" en muestras de espinaca

En la figura 28 se puede observar que al aplicar una radiación de 85 mWs/cm² a muestras de espinaca en polvo se produce una disminución en la luminosidad de 43,4 a 35,97, mientras que la variación es menor al aplicar dosis de 170 mWs/cm².

Estos resultados se deben a que en el primer tratamiento se obtuvo un valor muy bajo para la muestra 8A, la cual influyó considerablemente en el promedio final.

Si se considerase inválido el resultado de la muestra 8A y se compararan los valores más bajos y altos obtenidos, se podría ver que no existen diferencias significativas en la coloración de espinaca en polvo a pesar del rango que separa a ambos valores.

En la figura 29 se compara a una muestra testigo (7A), la cual posee el más alto valor de "L" con una muestra irradiada (9C), con el más bajo valor de "L". En esta comparación se puede observar que no existen cambios visibles en la luminosidad de ambos productos.

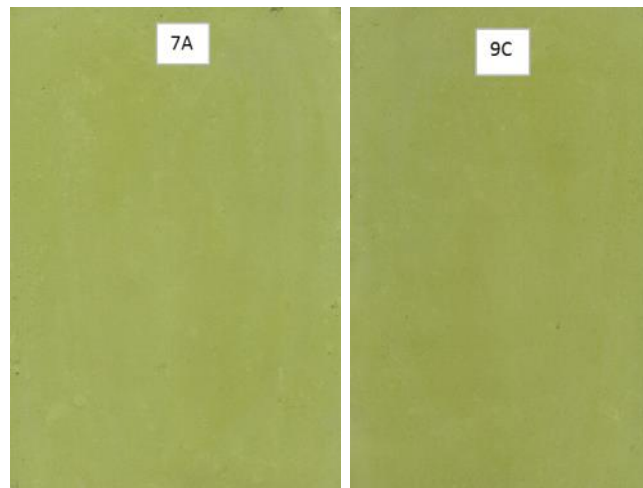


Figura 29: Comparación de muestras 9C y 7A.

En las siguientes figuras se representan los valores promedios de los parámetros "a" y "b" obtenidos de muestras de espinaca en polvo irradiadas y sin irradiar.

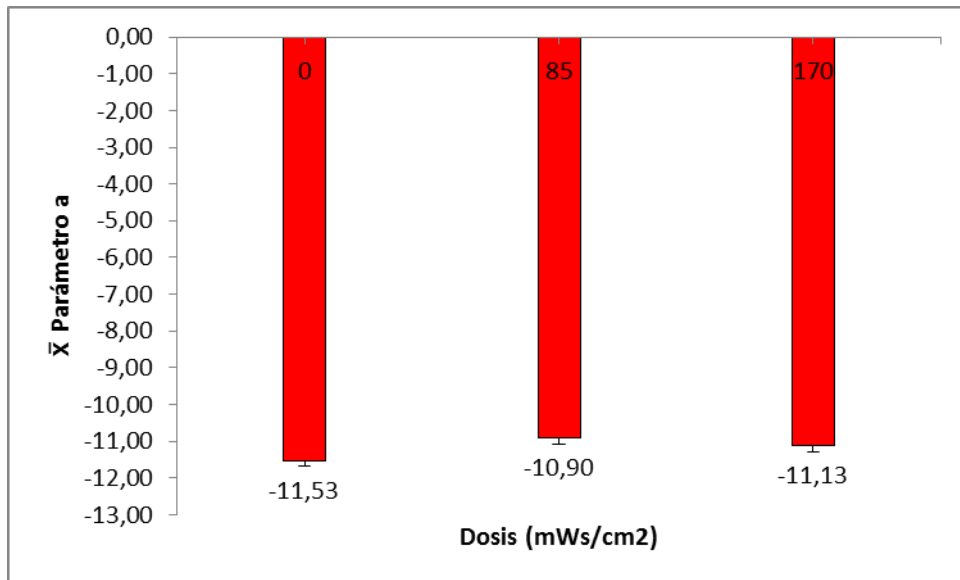


Figura 30: Gráfico de barras para el parámetro "a" en muestras de espinaca

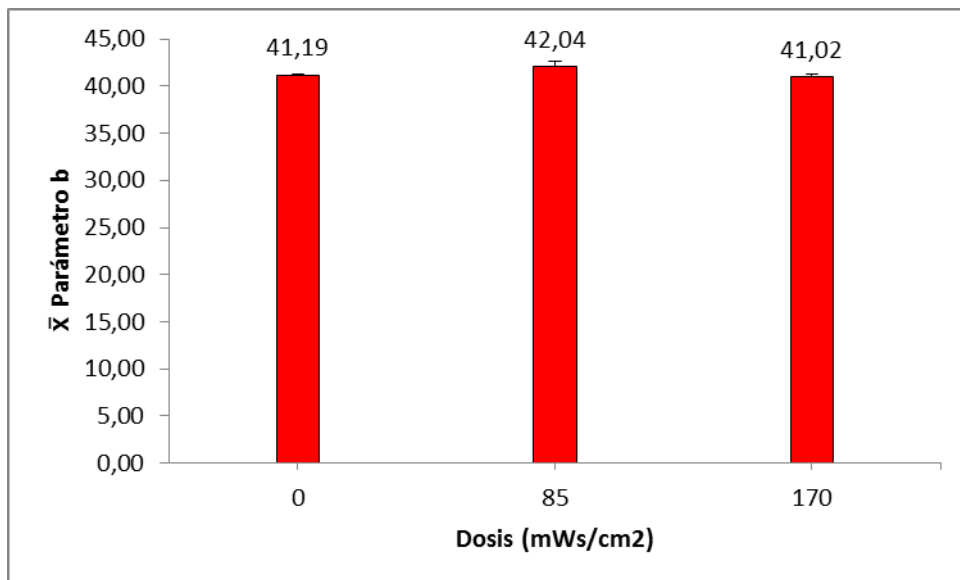


Figura 31: Gráfico de barras para el parámetro "b" en muestras de espinaca

En la figura 30 y 31 se puede observar que al aplicar dosis de 85 mWs/cm² y 170 mWs/cm² de radiación ultravioleta en espinaca en polvo los parámetros "a" y "b" varían en menos de una unidad.

En base a los resultados obtenidos se puede decir que para las dosis aplicadas de radiación ultravioleta no se producen cambios en la coloración que puedan desvalorizar el producto. Por lo tanto se cumple la hipótesis para espinaca en polvo.

4. DISCUSIÓN

La espinaca irradiada con dosis de luz UV-C de 170 mWs/cm² reveló una reducción en el recuento de microorganismos aerobios mesófilos de aproximadamente 1 Log, mientras que con dosis de radiación de 85 mWs/cm² la reducción fue mucho menor. Sgroppo y Sosa (2009) obtuvieron resultados semejantes al aplicar dosis de 208 y 314 mWs/cm² en zapallo anco (*Cucurbita moschata*) fresco cortado, al igual que en estudios realizados por Fonseca y Rushing (2006) en sandías tratadas con dosis de 140, 410 y 690 mWs/cm² de luz UV-C.

En general la reducción logarítmica de levaduras y mohos fue menor que la reducción de aerobios mesófilos para los productos tratados con ambas dosis. Iguales comportamientos presentaron los zapallos irradiados en investigaciones de Sgroppo y Sosa (2009). Sin embargo Erkan et al., (2001) encontraron que la irradiación con luz UV-C de rodajas de zucchini (*Cucurbita pepo* cv. "Tigress") tuvo un efecto más pronunciado sobre hongos y levaduras, lo cual probablemente se deba a diferencias de la matriz vegetal.

De igual forma, Manzocco et al. (2011b) concluyeron que tras aplicar dosis de 120 – 600 mWs/cm² se logra reducir entre 1 y 2 ciclos logarítmicos los recuentos de microorganismos indicadores de contaminación en manzanas.

La capacidad de la radiación UV-C para reducir el crecimiento microbiano es confirmada por varios autores (Allende y Artés, 2003a, Barka et al., 2000; Vicente et al., 2004; Guevara et al., 20011). El beneficio de esta técnica radica en la capacidad de la radiación UV-C en ocasionar daños de diferente magnitud en el ADN celular, afectando a la viabilidad de las células microbianas (Bintisis et al., 2000), además, induce la síntesis de compuestos antifúngicos en el melón cantaloupe (*Cucumis melo* var. *cantalupensis*) mínimamente procesado (Lamikarna et al., 2002).

Por último no se puede asegurar que la radiación sea efectiva sobre microorganismos coliformes en zapallo y espinaca debido a la ausencia de los mismos en las muestras testigo y por lo tanto en las irradiadas, sin embargo en muestras de zanahoria, donde si hubo presencia de coliformes, se puede decir que la radiación ultravioleta afecta el desarrollo y produce una disminución en el recuento de los mismos. No se hallaron reportes de la incidencia de luz UV sobre coliformes en frutas u hortalizas, sin embargo algunos autores como Kim y Hung (2012), Syamaladevi et al. (2012), Yaun et al. (2004), Bermúdez y Barbosa (2013) estudiaron los efectos de la radiación ultravioleta sobre *Escherichia coli* en mora azul, pera, durazno, manzana y tomate y consiguieron una reducción en el recuento de este microorganismo en más de 2,7 logaritmos.

En cuanto a los resultados obtenidos en las mediciones de color no se observan cambios evidentes independientemente de las dosis aplicadas en zapallo, zanahoria y espinaca deshidratada. En un estudio realizado por Henríquez Bucheli (2012) sobre carambola (*Averrhoa carambola* L.) mínimamente procesada se pudo confirmar que la radiación UV-C mantiene la calidad en cuanto al color. Similares resultados fueron reportados en floretes de brócoli irradiado por Costa et al., (2006).

Sin embargo, Guerrero et al. (2010) concluyeron que la irradiación con UV-C de uvas afecta la calidad organoléptica de las mismas, especialmente el color y sabor. Iguales resultados obtuvieron Nigro, Ippolito & Lima (1998) al aplicar dosis superiores a 100 mWs/cm² en uvas de mesa (*Vitis vinífera* L.) en las cuales se produjeron manchas y decoloraciones.

La irradiación UV-C es considerada por Rivera et al., (2007); Guerrero y Barbosa (2004) y Pombo, (2009) como una atractiva opción de tratamiento poscosecha para la conservación de frutas y hortalizas ya que es de fácil aplicación, poco mantenimiento y bajos costos.

5. CONCLUSIÓN

Se recomienda a la empresa Ecogénesis S.A. la aplicación de radiación ultravioleta sobre zanahoria y espinaca deshidratada en dosis de 170 mWs/cm^2 , ya que esta dosis disminuyó de forma considerable los recuentos de aerobios mesófilos y levaduras y mohos en ambos productos y también consiguió reducir los recuentos de coliformes totales en zanahoria. Además, dosis de 170 mWs/cm^2 no producen decoloraciones que puedan desvalorizar estos productos. No se recomienda la aplicación de tecnología UV sobre zapallo deshidratado, ya que los recuentos de los microorganismos estudiados se encuentran siempre por debajo de sus límites correspondientes y su aplicación significaría realizar gastos innecesarios.

De todas maneras sería conveniente realizar investigaciones acerca de los efectos que puede producir la misma dosis (170 mWs/cm^2) sobre otras hortalizas elaboradas por la empresa, como por ejemplo: papa, ajo y cebolla deshidratada. Si esta tecnología resultara útil para el resto de los productos, sería una buena inversión para reducir los recuentos de microorganismos de una manera rápida, barata y eficaz.

6. BIBLIOGRAFIA

- Alimentodo. Información sobre radiación UV germicida. Recuperado de: [http://www.alimentodo.com.ar/Productos/Info%20UV.htm]
- Allende, A., Artes, F. 2003a. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed "Lollo Rosso" lettuce. *Food Research International*, 36, 739-746.
- Alothman, M., Bhat, R., Karim, A. 2009. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plants produce. *Trends Food Sci. Technol.* 20(5):201-212.
- ANMAT. 2014. Análisis microbiológico de los alimentos: Microorganismos indicadores. Recuperado de: http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_III.pdf
- Baka, M.; Mercier, J.; Corcuff, R.; Castaigne, F.; Arul, J. 1999. Photochemical Treatment to Improve Storability of Fresh Strawberries. *J. of food science*, 64, N°6.
- Barka, E.A., Kalantari, S., Makhoulf, J., Arul, J., 2000. Impact of UV-C irradiation on the cell wall-degrading enzymes during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum L.*) fruit. *J. Agric. Food Chem.* 48: 667–671.
- Beaulieu, J. 2007. Effect of UV irradiation on cut cantaloupe: terpenoids and esters. *J. Food Sci.* 72(4):272-281.
- Bermúdez, D., Barbosa, G. 2013. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. *Food Control.* 29(1):82-90.
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., Robinson, R. K. 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry-a critical review. *J. Sci. Food Agr.*, 80: 637–645.
- Britania. Hongos y levaduras medio. Recuperado de: [http://britannialab.com.ar/esp/productos/b02/honglevdmedio.htm]
- Britania. Macconkey Agar. Recuperado de: [http://www.britnialab.com.ar/esp/productos/b02/maconkeyagar.htm]
- Britania. Recuento en placa Agar. Recuperado de: [http://britannialab.com.ar/esp/productos/b02/recplacagar.htm]
- Britania. Verde Brillante Bilis 2% Caldo. Recuperado de: [http://www.britnialab.com.ar/esp/productos/b02/verdebribilis.htm]
- Bukhari, Z., Hargy, T.M., Bolton, J.R., Dussert, B. and Clancy, J.L. 1998. Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts using medium-pressure ultraviolet light.
- Cátedra de microbiología. 2012. Análisis de agua: Pruebas IMViC. Apuntes Microbiología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias – UNCuyo.
- Código Alimentario Argentino - Capítulo XI - Alimentos vegetales
- Código Alimentario Argentino, Capítulo XI, Artículo 821 – Hortaliza seca o desecada.
- Costa, L., Vicente, A. R., Civello, P. M., Chaves, A. R., Martínez, G. A. 2006. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology.* 39: 204-210.
- Del Campo-Sacre, J.A. 2009. Inactivación de esporas de *Aspergilli* con radiación UVC y sorbato de potasio en néctar de durazno. Recuperado de: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-2/TSIA-3(2)-Del-Campo-Sacre-et-al-2009.pdf]
- Domínguez, L., Parzanese, M. 2015. Luz ultravioleta en la conservación de alimentos. Recuperado de [http://copal.org.ar/wp-content/uploads/2015/06/luzultravioleta.pdf]

- Ecogénesis S.A. 2017. Tabla de especificaciones microbiológicas.
- Erkan, M., Wang, S., Krizek, D. T. 2001. UV-C irradiation reduces microbial populations and deterioration in *Cucurbita pepo* fruit tissue. *Environmental and Experimental Botany*. 45:1-9.
- Fonseca, J. M. 2009. Luz Ultravioleta para inactivar bacterias, hongos y virus en hortalizas. Recuperado de [<http://www.hortalizas.com/poscosecha-y-mercados/inocuidad-certificacion/luz-ultravioleta-para-nactivar-bacterias-hongos-y-virus-en-hortalizas/>]
- Fonseca, J. M., Rushing, J. W. 2006. Effect of ultraviolet-C light on quality and microbial population of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*. 40(3): 256-261
- Gascón, A.; Muravnick, N.; Andreuccetti, C. 2013. Manual y Esquemas de las Elaboraciones Industriales: Deseccación y deshidratación de vegetales. Mendoza, Argentina. Recuperado de: [www.fundacionrural.org.ar/filefield-private/files/87/field_material_privado/204]
- González, C. 2001. Luz ultravioleta en la conservación de alimentos. *Ambiental Socoter*.
- González-Aguilar G. A., Zavaleta-Gatica R., Tiznado Hernández M.E. 2007a. Improving postharvest quality of mango 'Haden' by UV-C treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 45(1):108-116.
- Grocock, N. H. 1984. Disinfection of drinking water by ultraviolet light. *J. of the Institute of Water Engineers and Scientists*, vol. 38 (20): 163-172.
- Guerrero, R.F., Puertas, B., Jiménez, M. J., Cacho, J., Cantos-Villar, E. 2010. Monitoring the process to obtain red wine enriched in resveratrol and piceatannol without quality loss. *Food and Chemistry*. 122: 195-202.
- Guerrero-Beltrán, J.A., Barbosa-Cánovas, G.V. 2004. Review: Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food Science and Technology International*, 10(3): 137-147.
- Henríquez Bucheli, A.M. 2012. Cambios en la capacidad antioxidante de carambola (*Averrhoa carambola L.*) mínimamente procesada tratada con radiación UV-C. Recuperado de: [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/4923/1/47739_1.pdf]
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 2000. Microorganismos de los alimentos, Volumen 1. Su significado y métodos de enumeración (2ª edición). Editorial Acribia.
- Jagger, J. 1967. Introduction to research in ultraviolet photobiology. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice-Hall Inc.
- Kim, C., Hung, Y. 2012. Inactivation of *E. coli* 0157:H7 on blueberries by electrolyzed water, ultraviolet light, and ozone. *J. Food Sci.* 77(4):206-211.
- Konica Minolta. 2014. Entendiendo el espacio de color CIE L*A*B*. Recuperado de: [<http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>]
- Lamikanra, O., Kueneman, D., Ukuku, D., Bett-Garber, K. 2005. Effect of processing under ultraviolet light on the shelf life of fresh-cut cantaloupe melon. *J. Food Sci.* 70(9):C534-C539.
- Lamikanra, O., Richard, O., Parker, A. 2002. Ultraviolet induced stress response in fresh cut cantaloupe. *Phytoch.* 60: 27-32.
- Liltved, H., Landfald, B. 2000. Effects of high intensity light on ultraviolet-irradiated and non-irradiated fish pathogenic bacteria. *Water Research*. 34(2): 481-486.
- LIT. 2017. Tecnología de desinfección UV. Recuperado de: [<http://www.lit-uv.com/es/technology/>]

- Manzocco, L., Da Pieve, S., Bertolini, A., Bartolomeoli, I., Maifreni, M., Vianello, A., Nicoli, M. 2011b. Surface decontamination of fresh-cut apple by UV-C light exposure: Effects on structure, colour and sensory properties. *Postharvest Biol. Technol.* 61(2-3):165-171.
- Márquez, L., Pretell, C., Minchón, C. 2012. Efecto de la dosis de irradiación UV-C y tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y antioxidantes en rebanadas de carambola (*Averrhoa carambola L.*), variedad *Golden Star* mínimamente procesada. *Pueblo Cont.* 23(2):353-369.
- Millán, D., Romero, L., Brito, M., Ramos, A. 2015. Luz ultravioleta: inactivación microbiana en frutas. Venezuela. Recuperado de [<http://www.redalyc.org/pdf/4277/427743080011.pdf>]
- Munakata, N., Daito, M. and Hieda, K. 1991. Inactivation spectra of *Bacillus subtilis* spores in extended ultraviolet wavelengths (50-300nm) obtained with synchrotron radiation. *Photochemistry and Photobiology*, vol. 54(5):761-768.
- Nigro, F., Ippolito, A., Lima, G. 1998. Use of UV-C light to reduce Botrytis storage rot of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.*, 13: 171–181.
- Pascual Anderson, M. A., Calderón V. 2000. Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas (2ª edición). Editorial Acribia.
- Perkins-Veazie, P., Collins, J., Howard, L. 2008. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest Biol. Technol.* 47(3):280-285.
- Pombo, M. 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.
- Rivera-Pastrana, D., Gardea-Béjar, A., Martínez-Téllez, M. A., Rivera-Domínguez, M., González-Aguilar, G. 2007. Efectos bioquímicos postcosecha de la irradiación UV-C en frutas y hortalizas. *Rev. Fitotec. Mex.* 30(4):361-372.
- Rodrigues, S., Narciso, F. 2012. *Advances in Fruit Processing Technologies*. CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, USA, pp. 472.
- Ruiz López, G. A.; Qüesta, A. G.; Rodríguez, S. 2010. Efecto de luz UV-C sobre las propiedades antioxidantes y calidad sensorial de repollo mínimamente procesado. [<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81315093013>]
- Sastry, S. K., Datta, A. K., Worobo, R. W. 2000. Ultraviolet light. *Journal of food science. Supplement: Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies.* 65(58):90-92.
- Schenck, G. O. 1981. Ultraviolet Sterilization. En: W. Lorch. *Handbook of Water Purification*. Chichester: Ellis Horwood Ltd. 530-595.
- Sgroppo S. C., Sosa C. 2009. Zapallo anco (*Cucurbita moschata, d.*) fresco cortado tratado con luz UV-C. Recuperado de: [<http://exa.unne.edu.ar/revisfacena/25/7-19.pdf>]
- Sonntag, C.; Schuchmann, H-P. 1992. UV disinfection of drinking water and byproduct formation-some basic considerations. *J Water SRT–Aqua*, vol. 41(2):67-74.
- Stevens, C., Kanh, V. A., Lu, Y. J., Wilson, C. L., Chalutz, E., Droby, S., Kabwe, M. K., Haung, O., Adeyeye, O., Pusey, P. L., Tang, A. 1999. Induced resistance of sweetpotato to *Fusarium root* by UV-C hormesis. *Crop Protection.* 18: 463-470
- Stevens, C., Kanh, V. A., Lu, Y. J., Wilson, C. L., Pusey, P. L., Kabwe, M. K., Igwegbe, E. C., Chalutz, E., Droby, S. 1998. The germicidal and hermetic effects of UV-C light on reducing brown rot disease and yeas microflora of peaches. *Crop Protection.* 17(1): 75-84.

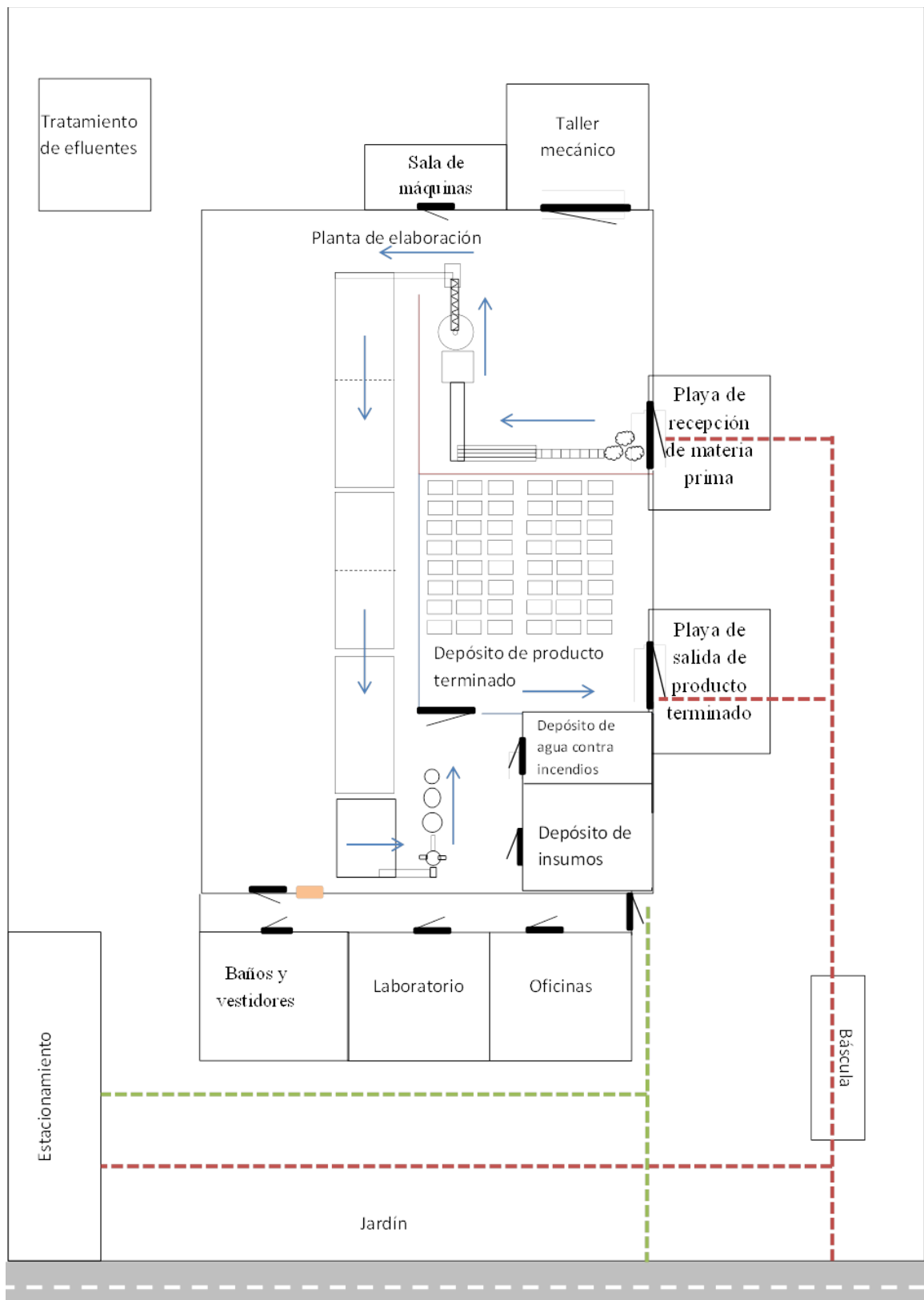
- Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Pusey, P.L., Igwegbe, E.C.K. 1997. Integration of ultraviolet (UV-C) light with yeast treatment for control of postharvest storage rots of fruits and vegetables. *Biol. Control* 10:98-103
- Syamaladevi, R., Lu, X., Sablani, S., Insan, S., Adhikari, A., Killinger, K., Rasco, B., Dhingra, A., Bandyopadhyay, A., Annapure, U. 2012. Inactivation of *Escherichia coli* population of fruit surface using ultraviolet-C light: influence of fruit surface characteristics. *Food Bioprocess. Technol.* 6(11):2959-2973.
- USEPA. 1997. Community water systems survey, Volume I: Overview. Washington, DC: United States Environmental Protection Agency.
- Vicente, A., Repice, B., Mart'inez, G., Chaves, A., Civello, M., Sozzi, G., 2004. Maintenance of fresh boysenberry fruit quality with UV-C light and heat treatments combined with low storage temperature. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 79: 246–251.
- Wright H. B. y Cairns W. L. 1998. Luz ultravioleta. Recuperado de [<http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/e/fulltext/simposio/ponen10.pdf>]
- Yajima, H., Takao, M., Yasuhira, S., Zhao, J. H., Ishii, C., Inoue, H., Yasui, A. 1995. A eukaryotic gene encoding an endonuclease that specifically repairs DNA damage by ultraviolet light. *The EMBO Journal.* 14(10): 2393-2399.
- Yaun, B., Sumner, S., Eifert, J., Marcy, J. 2004. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *Int. J. Food Microbiol.* 90(1):1-8.





7. ANEXOS

7.1. ANEXO I: Conversión de unidades de irradiancia

	kW/m^2	W/m^2	mW/m^2	mW/cm^2	$\mu\text{W/cm}^2$
1 kW/m^2	1	10^3	10^6	100	10^5
1 W/m^2	10^{-3}	1	10^3	0,1	100
1 mW/m^2	10^{-6}	10^{-3}	1	10^{-4}	0,1
1 mW/cm^2	0,01	10	10^{-4}	1	10^3
1 $\mu\text{W/cm}^2$	10^{-5}	0,01	0,1	10^{-3}	1

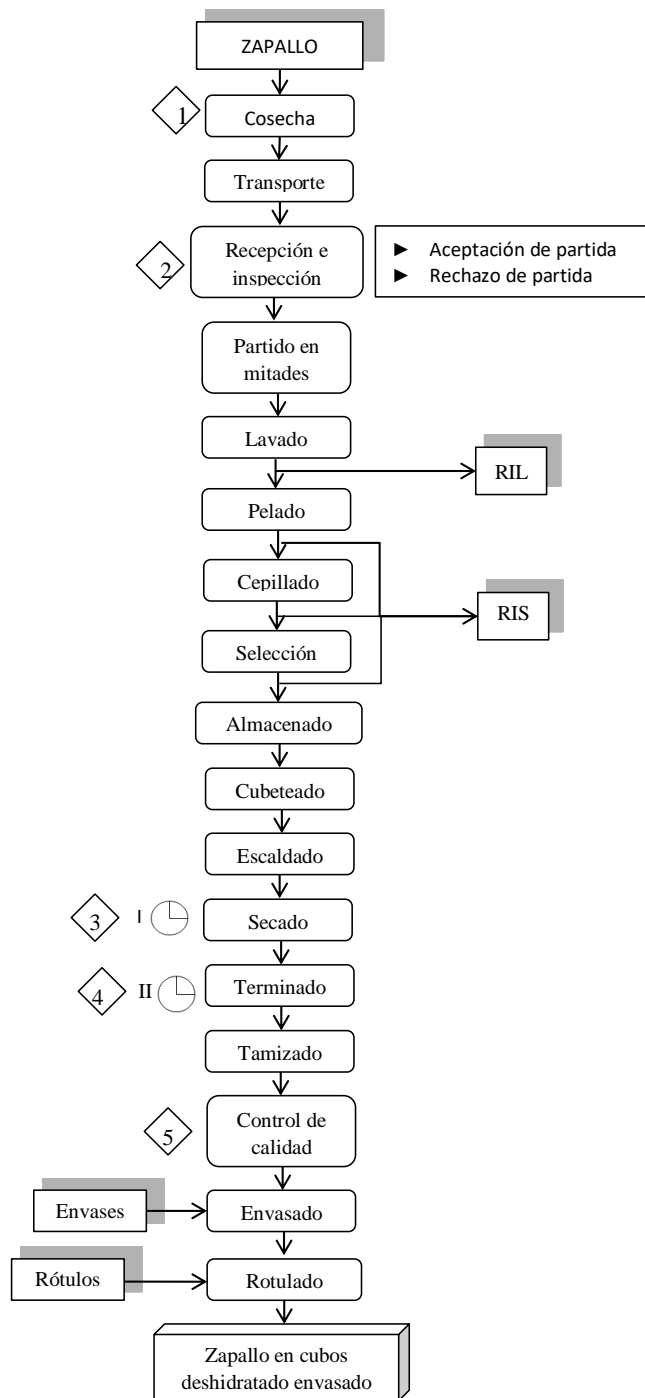
7.2. ANEXO II: Plano de la empresa Ecogénesis S.A.



	Circulación de vehículos
	Circulación de peatones
	Flujo de proceso
	Marcado de entrada de personal

7.3. ANEXO III: Diagramas de flujo de la producción de deshidratados

7.3.1. Zapallo



RIS: Residuo Industrial Sólido
 RIL: Residuo Industrial Líquido



Condición de control

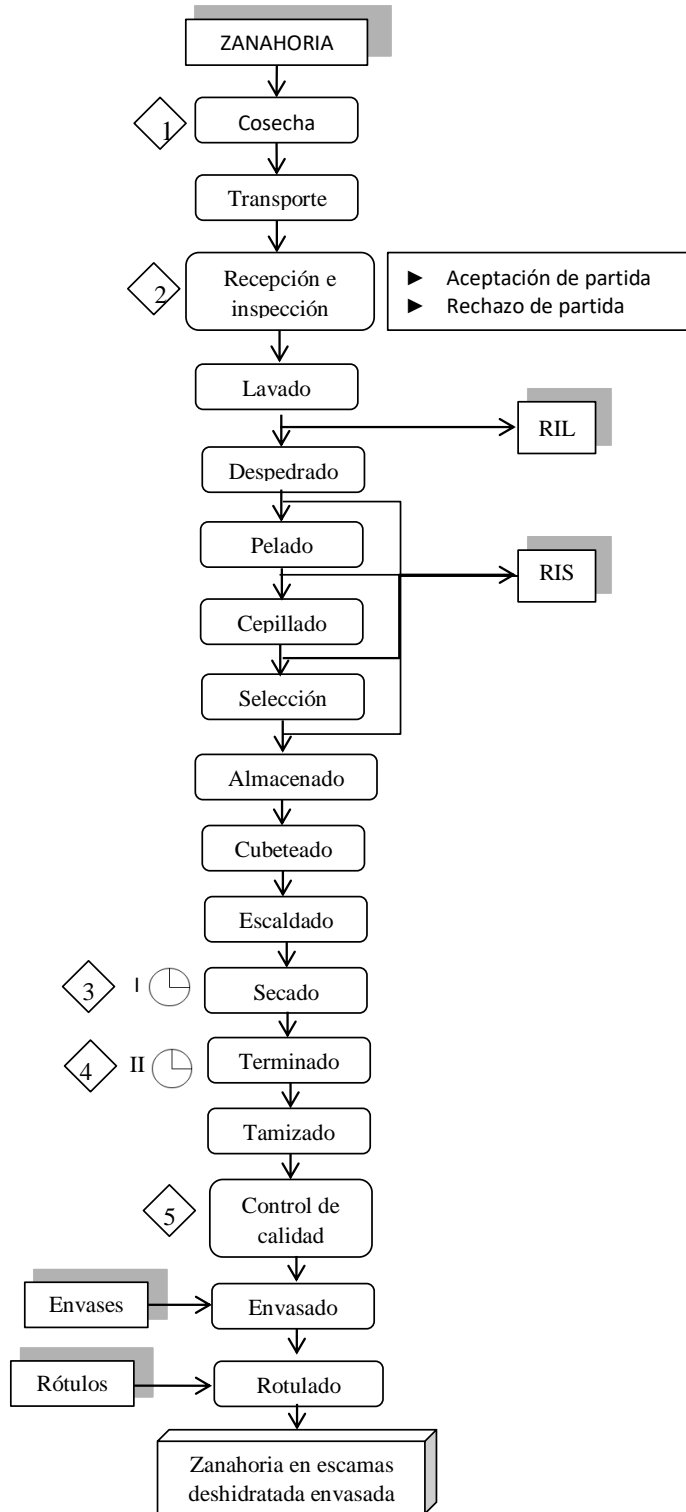
1. Cosecha: Momento oportuno de cosecha.
2. Recepción e inspección: Control de peso. Análisis fitosanitario visual. Planillas
3. Secado: 100°C – 50°C.
4. Terminado: 50°C.
5. Control de calidad: Humedad, defectos (color, semillas, partes no comestibles), granulometría, determinaciones microbiológicas.



Evento reloj

1. 4 horas de secado en horno
2. 4 horas de secado en terminador

7.3.2. Zanahoria



RIS: Residuo Industrial Sólido
 RIL: Residuo Industrial Líquido



Condición de control

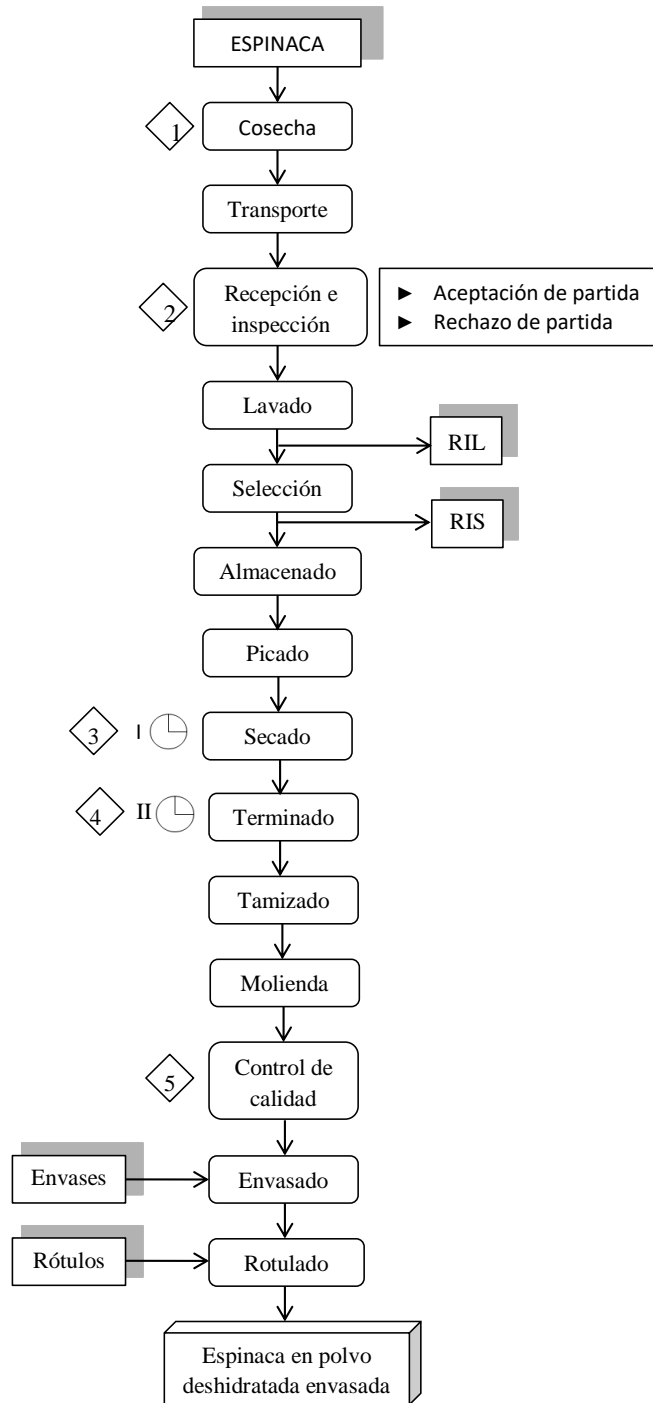
- 6. Cosecha: Momento oportuno de cosecha.
- 7. Recepción e inspección: Control de peso. Análisis fitosanitario visual. Planillas
- 8. Secado: 100°C – 50°C.
- 9. Terminado: 50°C.
- 10. Control de calidad: Humedad, granulometría, defectos (color, partes no comestibles) determinaciones microbiológicas.



Evento reloj

- 3. 4 horas de secado en horno
- 4. 4 horas de secado en terminador

7.3.3. Espinaca



RIS: Residuo Industrial Sólido
 RIL: Residuo Industrial Líquido

- ◇ Condición de control
 - 11. Cosecha: Momento oportuno de cosecha.
 - 12. Recepción e inspección: Control de peso. Análisis fitosanitario visual. Planillas
 - 13. Secado: 100°C – 50°C.
 - 14. Terminado: 50°C.
 - 15. Control de calidad: Humedad, granulometría, defectos (color, partes no comestibles), determinaciones microbiológicas.
- ⌚ Evento reloj
 - 5. 4 horas de secado en horno
 - 6. 4 horas de secado en terminador

7.4. ANEXO IV: Ficha técnica y preparación de medios de cultivo

7.4.1. Agua peptonada

Materiales

- Peptona de carne
- 9 frascos
- Erlenmeyer de 2l
- Balanza
- Probeta
- Agua destilada
- Autoclave

Método

1. Pesar 2g de peptona de carne.
2. Medir 2l de agua destilada con ayuda de una probeta. Añadir parte del agua a un erlenmeyer de 2l.
3. Agregar al erlenmeyer la peptona anteriormente pesada y homogeneizar
4. Agregar el resto del agua homogeneizando suavemente y procurando limpiar el cuello del erlenmeyer
5. Con ayuda de una probeta pequeña, medir 25 ml de agua destilada y añadirlos al erlenmeyer
6. Fraccionar en 9 frascos (225ml en cada uno)
7. Tapar con tapas para frascos
8. Esterilizar en autoclave a 121°C 15 minutos
9. Dejar enfriar y conservar para su posterior uso

7.4.2. Agar para recuento en placa (API)

Medio de cultivo recomendado para el recuento de bacterias aeróbicas en aguas, aguas residuales, productos lácteos y otros alimentos. También es recomendado como medio general para determinar poblaciones microbianas.

Fundamento: La productividad de este medio, está basada en el alto contenido nutricional de sus componentes, que permite el desarrollo de las bacterias presentes en la muestra (Britania, s.f.).

Fórmula (en gramos por litro)	
Extracto de levadura	2.5
Tripteína	5.0
Glucosa	1.0
Agar	15.0
pH final: 7.0 ± 0.2	

Resultados:

Microorganismos	Crecimiento
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bueno
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	Bueno
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bueno
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	Regular
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 13813	Bueno

7.4.2.1. Preparación

Materiales

- Agar para recuento en placa (API)
- 3 erlenmeyer de 200ml
- Balanza

- Probeta
- Agua destilada
- Autoclave

Método

1. Pesar 4,7g de agar API.
2. Medir 200ml de agua destilada con ayuda de una probeta. Añadir parte del agua a un erlenmeyer de 200ml.
3. Agregar al erlenmeyer el medio anteriormente pesado y homogeneizar
4. Agregar el resto del agua homogeneizando suavemente y procurando limpiar el cuello del erlenmeyer
5. Repetir los pasos 1 a 5 hasta obtener 3 erlenmeyer de 200ml
6. Tapar con algodón
7. Esterilizar en autoclave a 121°C 15 minutos
8. Dejar enfriar y conservar para su posterior uso

7.4.3. Agar para levaduras y mohos

Medio destinado al recuento de hongos y levaduras en alimentos.

Fundamento: Este medio fue desarrollado por Mossel y colaboradores y propuesto por la Federación Internacional de Lechería F.I.L.-I.D.F. norma N° 94-1980. Es un medio selectivo para el recuento de levaduras y hongos a partir de una gran variedad de muestras alimenticias. El medio tiene un pH casi neutro, usándose el cloranfenicol como agente selectivo para suprimir el crecimiento bacteriano (Britania, s.f.).

Fórmula (en gramos por litro)	
Extracto de levadura	5.0
Glucosa	20.0
Cloranfenicol	0.1
Agar	15.0
pH final: 6.6 ± 0.2	

Resultados:

Microorganismos	Crecimiento
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	Bueno
<i>Aspergillus niger</i>	Bueno
<i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibido
<i>Escherichia coli</i>	Inhibido

7.4.3.1. Preparación

Materiales

- Agar para levaduras y mohos
- 3 erlenmeyer de 200ml
- Balanza
- Probeta
- Agua destilada
- Autoclave

Método

1. Pesar 8g de agar para levaduras y mohos.
2. Medir 200ml de agua destilada con ayuda de una probeta. Añadir parte del agua a un erlenmeyer de 200ml.
3. Agregar al erlenmeyer el medio anteriormente pesado y homogeneizar

4. Agregar el resto del agua homogeneizando suavemente y procurando limpiar el cuello del erlenmeyer
5. Repetir los pasos 1 a 5 hasta obtener 3 erlenmeyer de 200ml
6. Tapar con algodón
7. Esterilizar en autoclave a 121°C 15 minutos
8. Dejar enfriar y conservar para su posterior uso

7.4.4. Caldo Mac Conkey

Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa en muestras clínicas, de agua y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae desarrollan en el mismo.

Fundamento: En el medio de cultivo, las peptonas, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva.

Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares.

Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras (Britania, s.f.).

Fórmula (en gramos por litro)	
Peptona	17.0
Pluripeptona	3.0
Lactosa	10.0
Mezcla de sales biliares	1.5
Cloruro de sodio	5.0
Agar	13.5
Rojo neutro	0.03
Cristal violeta	0.001
pH final: 7.1 ± 0.2	

Resultados

Microorganismos	Colonias
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Rojas con halo turbio
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	Rosadas mucosas
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Incoloras, transparentes
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Incoloras, transparentes
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Incoloras, transparentes
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Diminutas, incoloras, opacas

7.4.4.1. Preparación

Materiales

- Caldo Mac Conkey
- Erlenmeyer de 800ml
- Balanza
- Probeta
- Agua destilada
- Pipeta de 10ml
- 81 Tubos de ensayo
- 81 campanas de Durham
- Gradillas

- Autoclave

Método

1. Pesar 28g de caldo Mac Conkey.
2. Medir 800ml de agua destilada con ayuda de una probeta. Añadir parte del agua a un erlenmeyer de 800ml.
3. Agregar al erlenmeyer el medio anteriormente pesado y homogeneizar
4. Agregar el resto del agua homogeneizando suavemente y procurando limpiar el cuello del erlenmeyer
5. Distribuir con ayuda de una pipeta 9ml en 81 tubos de ensayo
6. Añadir a cada tubo campanas de Durham
7. Tapar con algodón
8. Esterilizar en autoclave a 121°C 15 minutos
9. Dejar enfriar y conservar para su posterior uso

7.4.5. Caldo BRILLA

Este medio está recomendado para el recuento de coliformes totales y fecales, por la técnica del número más probable.

Fundamento: En el medio de cultivo, la peptona aporta los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano, la bilis y el verde brillante son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas y Gram negativas a excepción de coliformes, y la lactosa es el hidrato de carbono fermentable.

Es una propiedad del grupo coliforme, la fermentación de la lactosa con producción de ácido y gas (Britania, s.f.).

Fórmula (en gramos por litro)	
Bilis de buey deshidratada	20.0
Lactosa	10.0
Peptona	10.0
Verde brillante	0.0133
pH final: 7.2 ± 0.2	

Resultados

- Positivo: presencia de gas.
- Negativo: ausencia de gas.

Microorganismos	Crecimiento	Gas
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+*
<i>Enterobacter spp.</i>	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	+	+*
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	+	-
<i>Bacterias no fermentadores de lactosa</i>	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-

+* ó -* 10-25% de cepas negativas o positivas

7.4.5.1. Preparación

Materiales

- Caldo BRILLA
- Agua destilada
- Probeta
- Balanza
- Autoclave
- Tubos de ensayo
- Campana de Durham

- Gradillas
- Erlenmeyer de 200ml

Método

1. Pesar en cantidades necesarias según el número de tubos positivos en el recuento de coliformes totales. Formulación indicada en el envase: 40 g/l
2. Medir el agua necesaria con ayuda de una probeta y añadir parte de esta a un erlenmeyer
3. Incorporar el medio, homogeneizar y añadir el resto de agua homogeneizando suavemente y procurando limpiar el cuello del erlenmeyer
4. Fraccionar en tubos de ensayo con campanas de Durham (9ml en cada tubo)
5. Tapar con tapones de algodón
6. Esterilizar en autoclave a 121°C 15 minutos
7. Dejar enfriar y conservar para su posterior uso

7.4.6. Agar eosina azul de metileno

Este medio (también denominado E.A.M.) es utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae.

Fundamento: Este medio combina las fórmulas de Holt-Harris y Teague con la de Levine, para obtener un mejor rendimiento en el aislamiento selectivo de enterobacterias y otras especies de bacilos Gram negativos. La diferenciación entre organismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y aquellos que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores eosina y azul de metileno; éstos ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas. Muchas cepas de *Escherichia coli* y *Citrobacter spp.* presentan un característico brillo metálico. Las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras. Este medio permite el crecimiento de *Candida spp.* como colonias rosadas y puntiformes; la siembra en profundidad permite el desarrollo de clamidosporas en *C. albicans*. *Enterococcus spp.* crece en este medio como colonias puntiformes y transparentes, mientras que *Acinetobacter spp.* y otras bacterias oxidativas pueden dar colonias de color azul lavanda; esto puede ocurrir aunque las cepas no sean capaces de acidificar a partir de lactosa al 0.5% y ello se debe a la incorporación de azul de metileno a sus membranas. En este medio se obtiene además, un buen desarrollo de especies de *Salmonella* y *Shigella* (Britania, s.f.).

Fórmula (en gramos por litro)	
Peptona	10.0
Lactosa	5.0
Sacarosa	5.0
Fosfato dipotásico	2.0
Agar	13.5
Eosina	0.4
Azul de metileno	0.065
pH final: 7.2 ± 0.2	

Resultados

Microorganismos	Tipo de Colonia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Verdosas con brillo metálico y centro negro azulado
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	Mucosas, rosa púrpura, confluentes
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Incoloras
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Incoloras, pequeñas, puntiformes
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Incoloras
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Incoloras

7.4.6.1. Preparación

Materiales

- Agar Eosina Azul de Metileno
- Agua destilada
- Probeta
- Balanza
- Autoclave
- Erlenmeyer de 200ml

Método

1. Pesar en cantidades necesarias según el número de tubos positivos en el recuento de coliformes termotolerantes. Dilución indicada en el envase: 36 g/l
2. Medir el agua necesaria con ayuda de una probeta y añadir parte de esta a un erlenmeyer
3. Incorporar el medio, homogeneizar y añadir el resto de agua homogeneizando suavemente y procurando limpiar el cuello del erlenmeyer
4. Tapar con tapones de algodón
5. Esterilizar en autoclave a 121°C 15 minutos
6. Dejar enfriar y conservar para su posterior uso

7.5. ANEXO V: Preparación de diluciones

Materiales

- Balanza analítica
- Tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril
- Frascos con 225 ml de solución de agua peptonada estéril al 0,1 %
- Pipetas de 1 ml estériles
- Agitador Vórtex

Método

Se pesaron en forma estéril 25 g de cada muestra y se añadieron a frascos con 225 ml de agua peptonada estéril al 0,1 % obteniéndose así la dilución 10^{-1} . Luego de homogeneizar las diluciones, se tomó 1 ml con pipetas estériles y se añadió a tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril para obtener la dilución 10^{-2} . Inmediatamente se homogeneizó con ayuda de un agitador Vórtex y se repitió el proceso hasta obtener la máxima dilución requerida (Zapallo: 10^{-3} , zanahoria: 10^{-4} , espinaca: 10^{-6}). En la figura 3 se puede observar el proceso realizado.

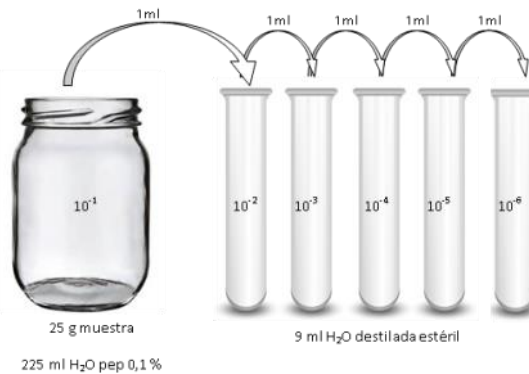


Figura 32: Preparación de diluciones

7.6. ANEXO VI: Análisis de la varianza para zapallo

7.6.1. Aerobios mesófilos

Medidas resumen

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV
0	log N	3	3,62	0,02	0,49
1	log N	3	3,47	0,18	5,18
2	log N	3	3,31	0,16	4,90

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
log N	9	0,55	0,41	4,04

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,15	2	0,07	3,73	0,0884
Tratamiento	0,15	2	0,07	3,73	0,0884
Error	0,12	6	0,02		
Total	0,26	8			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,35134

Error: 0,0197 gl: 6

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2	3,31	3	0,08	A
1	3,47	3	0,08	A
0	3,62	3	0,08	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

7.6.2. Levaduras y mohos

Medidas resumen

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV
0,00	log N	3	1,67	0,06	3,36
1,00	log N	3	2,25	0,10	4,45
2,00	log N	3	1,66	0,10	6,12

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
log N	9	0,94	0,91	4,76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,68	2	0,34	43,52	0,0003
Tratamiento	0,68	2	0,34	43,52	0,0003
Error	0,05	6	0,01		
Total	0,73	8			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,22163

Error: 0,0078 gl: 6

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2,00	1,66	3	0,05	A
0,00	1,67	3	0,05	A
1,00	2,25	3	0,05	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

7.6.3. Color

7.6.3.1. Parámetro L

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	3	18,31	6,103333333	12,4005333
85	3	14,03	4,676666667	5,73763333
170	3	12,75	4,25	12,2773

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	5,65226667	2	2,826133333	0,27875292	0,766015742
Dentro de los grupos	60,8309333	6	10,13848889		
Total	66,4832	8			

7.6.3.2. Parámetro a

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	3	80,07	26,69	0,2113
85	3	79,8	26,6	0,1531
170	3	78,28	26,09333333	0,38063333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	0,62082222	2	0,310411111	1,2499217	0,351739366
Dentro de los grupos	1,49006667	6	0,248344444		
Total	2,11088889	8			

7.6.3.3. Parámetro b

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	3	127,48	42,49333333	1,27323333
85	3	125,44	41,81333333	0,17223333
170	3	124,42	41,47333333	0,36743333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	1,6184	2	0,8092	1,33907	0,330501774
Dentro de los grupos	3,6258	6	0,6043		
Total	5,2442	8			

7.7. ANEXO VII: Análisis de la varianza para zanahoria

7.7.1. Aerobios mesófilos

Medidas resumen

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV
0	log N	3	5,23	0,89	17,07
1	log N	3	4,61	0,38	8,19
2	log N	3	4,46	0,07	1,62

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
log N	9	0,34	0,12	11,77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,99	2	0,49	1,57	0,2836
Tratamiento	0,99	2	0,49	1,57	0,2836
Error	1,89	6	0,31		
Total	2,87	8			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,40493

Error: 0,3145 gl: 6

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2	4,46	3	0,32	A
1	4,61	3	0,32	A
0	5,23	3	0,32	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

7.7.2. Levaduras y mohos

Medidas resumen

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV
0	log N	3	2,97	0,20	6,71
1	log N	3	2,81	0,24	8,63
2	log N	3	2,84	0,19	6,64

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
log N	9	0,14	0,00	7,36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	2	0,02	0,50	0,6293
Tratamiento	0,04	2	0,02	0,50	0,6293
Error	0,27	6	0,04		
Total	0,31	8			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,52909

Error: 0,0446 gl: 6

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
1	2,81	3	0,12	A
2	2,84	3	0,12	A
0	2,97	3	0,12	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

7.7.3. Coliformes totales

Medidas resumen

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV
0	log N	3	3,04	0,00	0,00
1	log N	3	2,81	0,20	7,03
2	log N	3	0,60	0,00	0,00

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
log N	9	0,99	0,99	5,30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10,89	2	5,45	417,99	<0,0001
Tratamiento	10,89	2	5,45	417,99	<0,0001
Error	0,08	6	0,01		
Total	10,97	8			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,28594

Error: 0,0130 gl: 6

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2	0,60	3	0,07	A
1	2,81	3	0,07	B
0	3,04	3	0,07	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

7.7.4. Color

7.7.4.1. Parámetro L

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0	3	43,28	14,42666667	2,18573333
85	3	46,42	15,47333333	9,12053333
170	3	44,36	14,78666667	17,7642333

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	1,69662222	2	0,848311111	0,0875435	0,917327702
Dentro de los grupos	58,141	6	9,690166667		
Total	59,8376222	8			

7.7.4.2. Parámetro a

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0	3	82,05	27,35	0,0076
85	3	82,8	27,6	0,6811
170	3	82,38	27,46	1,1307

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	0,0942	2	0,0471	0,07766297	0,926191068
Dentro de los grupos	3,6388	6	0,606466667		
Total	3,733	8			

7.7.4.3. Parámetro b

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	3	111,46	37,15333333	3,85443333
85	3	113,45	37,81666667	2,32663333
170	3	115,06	38,35333333	0,94663333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	2,16802222	2	1,084011111	0,45625284	0,653954074
Dentro de los grupos	14,2554	6	2,3759		
Total	16,4234222	8			

7.8. ANEXO VIII: Análisis de la varianza para espinaca

7.8.1. Aerobios mesófilos

Medidas resumen

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV
0	log N	3	5,75	0,22	3,89
1	log N	3	5,73	0,03	0,57
2	log N	3	4,69	0,21	4,54

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
log N	9	0,92	0,89	3,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,20	2	1,10	34,19	0,0005
Tratamiento	2,20	2	1,10	34,19	0,0005
Error	0,19	6	0,03		
Total	2,39	8			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,44943

Error: 0,0322 gl: 6

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2	4,69	3	0,10	A
1	5,73	3	0,10	B
0	5,75	3	0,10	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

7.8.2. Levaduras y mohos

Medidas resumen

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV
0	log N	3	4,52	0,44	9,77
1	log N	3	4,17	0,09	2,12
2	log N	3	4,05	0,05	1,12

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
log N	9	0,47	0,29	6,15

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,36	2	0,18	2,65	0,1499
Tratamiento	0,36	2	0,18	2,65	0,1499
Error	0,41	6	0,07		
Total	0,77	8			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,65448

Error: 0,0683 gl: 6

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
2	4,05	3	0,15	A
1	4,17	3	0,15	A
0	4,52	3	0,15	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

7.8.1. Color

7.8.1.1. Parámetro L

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	3	130,19	43,39666667	5,68563333
85	3	107,91	35,97	34,0159
170	3	121,16	40,38666667	5,26493333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	83,7224222	2	41,86121111	2,79282858	0,13889664
Dentro de los grupos	89,9329333	6	14,98882222		
Total	173,655356	8			

7.8.1.2. Parámetro a

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	3	-34,6	-11,53333333	0,05303333
85	3	-32,71	-10,90333333	0,09333333
170	3	-33,4	-11,13333333	0,09003333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	0,6098	2	0,3049	3,86928934	0,0832968
Dentro de los grupos	0,4728	6	0,0788		
Total	1,0826	8			

7.8.1.3. Parámetro b

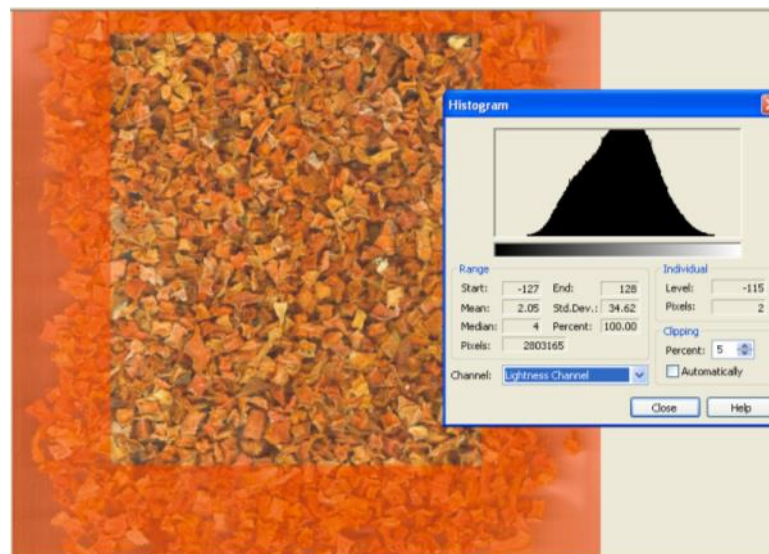
RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	3	123,58	41,19333333	0,04443333
85	3	126,13	42,04333333	0,84853333
170	3	123,05	41,01666667	0,29213333

ANÁLISIS DE VARIANZA

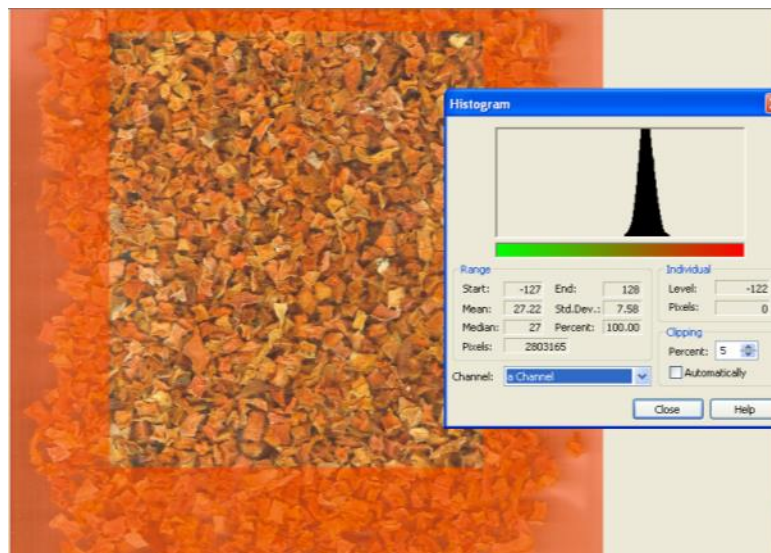
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	1,80775556	2	0,903877778	2,28810508	0,18258434
Dentro de los grupos	2,3702	6	0,395033333		
Total	4,17795556	8			

7.9. ANEXO IX: Obtención de valores “L – a – b” en Corel Photo Paint 8

7.9.1. Obtención del valor “L”



7.9.2. Obtención del valor “a”



7.9.3. Obtención del valor “b”

