



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA - ALIMENTOS

PROTOCOLO DE TESIS

APLICACIÓN DE MODELOS MATEMÁTICOS LINEALES
Y NO LINEALES PARA EVALUAR EL EFECTO DE LA LUZ
ULTRAVIOLETA DE ONDA CORTA SOBRE *Lactobacillus*
rhamnosus INOCULADO EN SOLUCIONES MODELO

PRESENTA: DIANA ISABEL ARRIAGA LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. CARLOS ENRIQUE OCHOA VELASCO

CO-DIRECTOR DE TESIS

DRA. PAOLA HERNÁNDEZ CARRANZA

Octubre 2022

Dedicatoria

A mis padres, Gabino Arriaga Cisneros y Sofía López Felipe por ser mi guía, mi sustento y mi apoyo, todo lo que soy se los debo a ustedes.

A mi hijo, Matías Arriaga López, por ser mi motivación de todos los días.

A mi hermano, Erick Omar Arriaga López por su apoyo.

A todos mis maestros, en especial al Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco y la Dra. Paola Hernández Carranza, gracias por la labor tan noble que realizan.

Y a todas y cada una las personas que confiaron en mí y que me han brindado su apoyo en este largo camino, no me alcanza el papel para tantos nombres.

Con agradecimiento y amor, Diana Isabel.

Agradecimientos



“HUP, 50 años de enseñanza y salud”

OFICIO C.Q./CT 055P/2022

**C. Diana Isabel Arriaga López
PRESENTE**

Toda vez que se cuenta con la aprobación del Coordinador del Área de Bioquímica-Alimentos, le comunico que su anteproyecto de Tesis denominado:

“APLICACIÓN DE MODELOS MATEMÁTICOS LINEALES Y NO LINEALES PARA EVALUAR EL EFECTO DE LA LUZ ULTRAVIOLETA DE ONDA CORTA SOBRE *Lactobacillus rhamnosus* INOCULADO EN SOLUCIONES MODELO”

ha sido autorizado, siendo:

**Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco, Director de Tesis
Dr. Paola Hernández Carranza, Co-Director de Tesis**

Y con esta fecha se registra en los archivos de la Dirección de esta Facultad, para los fines legales que tenga lugar.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., 20 de octubre de 2022

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena digital: 9Re)Xz.Bv-Qm%Bz&Ha\$Ew(Lk,Ei)Hf\$In'Ed)Ve.Ns*Sy.Mg-Rn'Fw&Fq)Hi"Uz"Qd'Rc(Gv+Wp\$Wf-Sj#Kc%Tv.Nf*Zd%Lh-Dm"Jz-Zr)Ja#Em+Wt-Kg*Ev.Tu/Co"Lt#Vt*Oq-Ej)Gg)Uj,Cr)Ea'Oz)Yq#Mn,Wy"Xm,Mn.Jn&Sb-Xf#Lj,Ny%Wb(Ez&Bu%Vh.Aa%Lo&Dx&Wm*Dd#Vj/Ep,Id*Nv!Pi/Kx)Ge/Gh,Ce%Df)Cz"Dp(Ae*Eh.Sc!Xk%Dt+Wf#Pb*Cl-Bo)Qh&

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390



BUAP

D.C. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director de la Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad
Autónoma de Puebla
PRESENTE

Por este conducto reciba un cordial saludo y de la manera más atenta le solicito sea registrado el protocolo de tesis presentado por la alumna:

p. QFB. Diana Isabel Arriaga López (201510653)

cuyo título será el siguiente:

“Aplicación de modelos matemáticos lineales y no lineales para evaluar el efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre *Lactobacillus rhamnosus* inoculado en soluciones modelo”

Siendo sus asesores los profesores:

Director: D.C. Carlos Enrique Ochoa Velasco
Co-Director: D.C. Paola Hernández Carranza

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su atención y apoyo quedo de usted

Atentamente
“Pensar bien, para vivir mejor”
H. Puebla de Z. a 18 de agosto del 2022.

D. C. Laura Morales Lara
Coordinadora del Departamento Bioquímica-Alimentos

Departamento de
Bioquímica-Alimentos
Facultad de Ciencias
Químicas

Edificio 1FCQ9 Ciudad Universitaria.
Col. San Manuel, Puebla Pue.
01(222)2295500
ext. 3771



"HUP, 50 años de enseñanza y salud"

OFICIO C.Q./CT 044A/2022

Dr. Jorge R. Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis de la alumna de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Diana Isabel Arriaga López

realizada en el área de Bioquímica-Alimentos, comunican a Usted la autorización para la publicación del Trabajo de tesis bajo la dirección del D.C. Carlos Ochoa Velasco y la D.C. Paola Hernández Carranza, con el siguiente título:

"APLICACIÓN DE MODELOS MATEMÁTICOS LINEALES Y NO LINEALES PARA EVALUAR EL EFECTO DE LA LUZ ULTRAVIOLETA DE ONDA CORTA SOBRE *Lactobacillus rhamnosus* INOCULADO EN SOLUCIONES MODELO"

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 8 de noviembre de 2022.

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a 10 de noviembre de 2022

D.C. Raúl Ávila Sosa Sánchez, PRESIDENTE

D.C. Armando Mena Contla, SECRETARIO

M.C. Armando Cortés Lozada, VOCAL
c.c.p. Archivo

Cadena digital: 6NI,Ke.Ma)Jg+So&Pl.Cy,Af&Wv#Pc&Kq)Vy-Vj(Yq\$Dt+Md)Nh#Du(Xv\$Z#Nk#At&Xf%In!Ph**Tf/Wm,Nj*Kj!Lm&dz%Ht%Yu(Ek*Ti\$Ad)Vp%Da/Ce*Ch(YLWh'Vs(Lz)]f-Sq]k/Tm,Wr+Cj%jt-Qs'Dz#Rf#Kf&At(Ag,VfBx)Au'Xj(Vg)Ga\$In+Zo**Ty'Oc/Xu!Uw'Ts/Gq)Hq(Pz-Cb/ClAm'Zw(Pc'Nu&Ta,Ug+Vp.Zp,Vs+Mo\$Gx!Sx'Xt)Af/Xy/ll(1t%

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	10
2. ANTECEDENTES	12
2.1 Conservación de alimentos	12
2.1.1 Tratamientos químicos.....	13
2.1.2 Métodos biológicos de conservación.....	14
2.1.3 Tratamientos físicos	14
2.1.4 Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos	15
2.1.5 Luz Ultravioleta	16
2.2 Modelos matemáticos	23
2.2.1 Modelos lineales	25
2.2.2 Modelos matemáticos no lineales	26
3. JUSTIFICACIÓN	30
4. OBJETIVOS	31
4.1 Objetivo general	31
4.2 Objetivos específicos	31
5. DIAGRAMA DE TRABAJO	32
6. MATERIALES Y MÉTODOS	33
7. METODOLOGÍA	34
7.1 Preparación de soluciones modelo	34
8. RESULTADOS	36
8.1 Reducción microbiana mediante aplicación de luz UV-C.....	36
8.2 Modelo de primer orden	38
8.3 Modelo de Weibull	43
8.4 Modelo de Gompertz Modificado.....	46
9. CONCLUSIONES	49
10. RECOMENDACIONES Y/O PERSPECTIVAS	50
11. BIBLIOGRAFÍA	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la luz ultravioleta, de acuerdo a la longitud de onda	17
Tabla 2. Métodos y referencias utilizadas	33
Tabla 3. Equipos utilizados en este estudio	33
Tabla 4. Soluciones modelo utilizadas en este estudio.....	34
Tabla 5. Valor de D (5 min de tratamiento) de la inactivación de <i>L. rhamnosus</i> en soluciones modelo tratadas con luz UV-C. ^a	40
Tabla 6. Parámetros de Weibull de la inactivación de <i>L. rhamnosus</i> en soluciones modelo tratadas con luz UV-C. ^a	44
Tabla 7. Parámetros de Gompertz modificado de la inactivación de <i>L. rhamnosus</i> en soluciones modelo tratadas con luz UV-C. ^a	47

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Espectro electromagnético. Fuente: Adaptación extraída de Guerrero*Beltrán & Barbosa* Cánovas, 2004.	20
Figura 2. Diagrama de trabajo para aplicación de modelos matemáticos lineales y no lineales para evaluar el efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre <i>Lactobacillus rhamnosus</i> inoculado en soluciones modelo.	32
Figura 4. Cinética de primer orden de inactivación de <i>L. rhamnosus</i> en soluciones modelo tratadas con luz UV-C. a) 13.4 mL/s, b) 82.5 mL/s. ■= °Bx=8, pH=3; ◆= °Bx=8, pH=6; ▲ = °Bx=10, pH=4.5; ●=12 °Bx, pH=3; □= °Bx=12, pH=6.....	41
Figura 5. Efecto de la velocidad de flujo sobre la inactivación de <i>L. rhamnosus</i> inoculado en solución modelo (pH= 3, SST= 12) utilizando la cinética de primer orden. Línea azul= 13.4 mL/s, línea gris= 82.5 mL/s.....	42
Figura 6. Simulación de la inactivación de <i>L. rhamnosus</i> en soluciones modelo tratadas con luz UV-C utilizando el modelo de Weibull. a) 13.4 mL/s, b) 82.5 mL/s. ■= °Bx=8, pH=3; ◆= °Bx=8, pH=6; ▲ = °Bx=10, pH=4.5; ●=12 °Bx, pH=3; □= °Bx=12, pH=6.	45
Figura 7. Simulación de la inactivación de <i>L. rhamnosus</i> en soluciones modelo tratadas con luz UV-C utilizando el modelo de Gompertz modificado. a) 13.4 mL/s, b) 82.5 mL/s.	48

RESUMEN

En la actualidad, se han buscado alternativas para conocer la capacidad de los tratamientos emergentes en la conservación y procesamiento de alimentos, y poder así estimar la vida en anaquel de estos. Una de estas alternativas es la aplicación de modelos matemáticos, los cuales han demostrado ser un método eficaz ya que se toman en cuenta muchas de las variables que están involucradas en el deterioro de los alimentos. El objetivo de este trabajo fue utilizar modelos matemáticos para evaluar los efectos que tiene el tratamiento con luz ultravioleta de onda corta (UV-C) sobre la inactivación de *Lactobacillus rhamnosus*. El microorganismo fue inoculado previamente en una serie de soluciones modelo con diferente cantidad de sólidos solubles totales (8, 10 y 12%) y pH (3, 4.5 y 6). Las nueve soluciones modelo fueron inoculadas con el microorganismo de trabajo, hasta alcanzar un crecimiento microbiano aproximado de 10^8 UFC/mL. Para posteriormente aplicar el tratamiento con luz UV-C a dos diferentes velocidades de flujo (13.4 y 82.5 mL/s). Durante el tratamiento con luz UV-C se tomaron muestras cada 2 minutos durante 12 minutos para posteriormente sembrarlas en agar MRS y hacer un recuento microbiano después de 24-48 horas a una temperatura constante de 37°C. Las curvas de inactivación microbiana fueron modeladas siguiendo el modelo lineal de primer orden y los modelos no-lineales de Weibull y Gompertz modificado. Los resultados obtenidos arrojaron que después de 6 minutos de tratamiento con luz UV-C, se alcanzaron a reducir los 5 ciclos logarítmicos por la FDA para considerar a la luz UV-C como un método de pasteurización. Por otra parte, dentro de las variables estudiadas, se determinó que la velocidad de flujo es la que afecta en mayor medida la inactivación del microorganismo de referencia, siendo esta mayor a mayor velocidad de flujo. Durante los primeros minutos del proceso la inactivación microbiana sigue una cinética lineal; sin embargo, se observa un fenómeno de cola después de 5 minutos de tratamiento. Ambos modelos no lineales ajustaron de manera adecuada la cinética de inactivación completa del microorganismo con luz UV-C, siendo el modelo de Gompertz modificado el que presentó un mejor ajuste ($R^2 > 0.89$).

1. INTRODUCCIÓN

La radiación ultravioleta, es un tipo de energía capaz de propagarse a través de la materia o del vacío en forma de ondas o partículas. Esta forma parte del espectro electromagnético y se encuentra en el intervalo de 100 a 400 nm aproximadamente. Se puede subdividir en UV de onda corta (UV-C), UV de onda media (UV-B) y UV de onda larga (UV-A). Dentro de las radiaciones no ionizantes es la de mayor contenido energético. Desde hace muchos años se han investigado los efectos que tiene la luz ultravioleta en las células eucariotas y procariotas, posteriormente, gracias a estas investigaciones la radiación UV-C se convirtió en un buen método para combatir los problemas originados por microorganismos en distintas áreas de aplicación. Es así como en la actualidad la luz UV-C es ampliamente utilizada para fines médicos e industriales, sobre todo en la industria de alimentos en donde es considerada una tecnología novedosa porque ofrece mejoras en cuanto a la preservación de las características sanitarias de productos alimenticios, cuidando al mismo tiempo sus propiedades nutricionales y sensoriales. Por lo que existe una creciente tendencia en su aplicación como método de pasteurización en frío.

La microbiología predictiva se encuentra en una fase creciente de aplicación para evaluar métodos de conservación alimenticios porque es una herramienta adecuada para estudiar el comportamiento microbiano bajo distintos factores ambientales que son controlables, obteniendo respuestas cuantificables mediante ecuaciones matemáticas. Su importancia radica en la reducción de tiempos de diagnóstico microbiológico, contrario a lo que se obtiene con las técnicas de laboratorio de detección de microorganismos tradicionales, de este modo se reducen costos en la industria porque beneficia a la toma de decisiones rápida. La microbiología predictiva no reemplaza al diagnóstico y aislamiento de microorganismos ya establecido, ambos métodos se complementan para un mejor análisis.

Hasta el momento, hay pocas investigaciones que se enfoquen en estudiar el efecto de la luz UV-C en soluciones modelo (que puedan representar un alimento líquido

de manera adecuada) a través de la modelación matemática, por lo que su estudio es de gran relevancia, ya que puede sentar las bases para futuras investigaciones relacionadas con la inactivación microbiana con luz UV-C. Por lo anterior el objetivo de esta tesis es evaluar el efecto de la luz UV-C sobre *Lactobacillus rhamnosus* inoculado en soluciones modelos formuladas a diferentes concentraciones de sólidos y pH, y aplicar modelos matemáticos lineales y no lineales para conocer parámetros cinéticos de inactivación.

2. ANTECEDENTES

2.1 Conservación de alimentos.

En la historia del hombre, la alimentación ha sido el factor evolutivo más fuerte (Arsuaga, 2013). Desde los inicios de la humanidad, el hombre se tuvo que enfrentar a los desafíos que conllevaban los avances de su manera de alimentarse, se encontraron ante la problemática de la escases de alimentos debido a cambios estacionales durante ciertas épocas de año, surgiendo así su necesidad de preservar por más tiempo los alimentos y por transformarlos. Con esto podemos decir que la necesidad por preservar los alimentos emergió como respuesta al reto de la poca disponibilidad de alimentos al que se enfrentaron los primeros seres humanos. La conservación de alimentos inicio de manera experimental sin tener conocimiento de las causas del deterioro de los alimentos. Por ejemplo, en los países cuyo clima era de varios grados bajo cero, el hombre primitivo se percató que la carne enterrada en el hielo se conservaba mejor durante cierto periodo de tiempo. De igual manera con la observación empírica se descubrió que la fermentación, la deshidratación con el sol y algunos tratamientos térmicos prolongan la vida útil de los alimentos, así como también adicionar sal o ahumar la carne era un buen método para conservarla (Arsuaga, 2013).

Gracias al trabajo que realizaron algunos investigadores al pasar de la historia, se fueron conociendo los fenómenos asociados al deterioro de los alimentos; La composición química y las características biológicas que poseen los alimentos son algunos de los factores desencadenantes de su deterioro, ya que estos propician el desarrollo de microorganismos patógenos y deterioradores.

Tenemos así, por ejemplo, a Louis Pasteur quién fue pionero en demostrar que la presencia de microorganismos era capaz de causar deterioro en los alimentos sentando de esta manera las bases científicas de los procesos de preservación. Por otro lado y conforme ha ido avanzando el tiempo y la tecnología, tenemos los trabajos de conservación de alimentos esterilizados de Nicolás Appert, la manera

de transportar pescado congelado utilizando una mezcla de hielo y sal, y la invención de los compresores que dio pauta a creación de sistemas frigoríficos. Actualmente, para retrasar el proceso natural de descomposición, es necesario emplear métodos de conservación que ayudan a controlar las variables intrínsecas y extrínsecas de los alimentos, prolongando así la vida útil de estos y manteniendo la calidad de estos (Castro, 2011). Por ejemplo, con el desarrollo de tecnologías para la obtención de polímeros sintéticos, se dio lugar a la invención de los envases que actualmente están presentes en el mercado de alimentos. Por otro lado, los aportes y avances que se han hecho en la rama de la física y del conocimiento de la materia, en particular de las radiaciones, han sido de gran relevancia en la evolución experimentada por las ciencias relacionadas directa o indirectamente con las técnicas de conservación de alimentos. Sin embargo, los métodos de conservación de alimentos siguen teniendo como primer objetivo la preservación de la calidad higiénica sanitaria de los productos, aunque sin perder de vista aspectos importantes como la preservación de su valor nutricional, o de su calidad sensorial (Díaz, 2009).

Es así como las principales técnicas de conservación de alimentos pueden agruparse de acuerdo con el objetivo higiénico sanitario que persigan de la siguiente manera:

2.1.1 Tratamientos químicos

Este método se basa en el uso de aditivos químicos. Estas sustancias son capaces de evitar el crecimiento microbiano, prolongando la vida útil de los alimentos, porque evitan el deterioro causado por microorganismos y sus toxinas, la oxidación (lipídica y enzimática), los cambios de color y la inestabilidad de los componentes de los alimentos. Los conservadores químicos pueden ser orgánicos e inorgánicos y se pueden obtener a partir de fuentes naturales o síntesis química (Toledo del Árbol, 2016). Algunos de los conservantes más empleados son: nitritos, fosfatos, sulfitos, ácidos orgánicos, por ejemplo el ácido sórbico, acético, láctico y benzoico, así como ésteres derivados de estos ácidos.

2.1.2 Métodos biológicos de conservación

También existen sustancias de naturaleza proteica, que son de origen animal, como las lisozimas y lactoferrinas, a las que se les han atribuido cierta actividad antibacteriana y pueden ser utilizadas en la conservación de alimentos (Toledo del Árbol, M.J., 2016) y las bacteriocinas, tales como sakacinas, carnobacteriocinas, bifidocinas, lactocinas, lactococcinas o pentocinas, las cuales han mostrado ~~muestran~~ una actividad variada frente a bacterias patógenas o alterantes en carne o volatería crudas (Aymerich et al, 1998; Gálvez et al., 2008). Los conservadores precedentes de fuentes biológicas son conocidos como bioconservantes. Estos métodos de conservación también son considerados como tecnologías emergentes.

2.1.3 Tratamientos físicos

Los métodos físicos para conservación de alimentos se basan en la aplicación de diferentes temperaturas y en la reducción de la actividad de agua para inhibir, destruir o eliminar microorganismos indeseables.

Dentro de los tratamientos térmicos está la aplicación de altas temperaturas. Esto tiene como objetivo desnaturalizar proteínas e inactivar enzimas, con la finalidad de reducir la carga microbiana o bien conseguir la inactivación total de microorganismos de riesgo alimentario (Toledo del Árbol, 2016). Los tratamientos con elevación de temperatura más conocidos son: el escaldado o blanqueado, termización, pasteurización, uperización o ultrapasteurización y esterilización. Por el contrario, se encuentran también los métodos que se basan en la disminución de la temperatura, estos consisten en retardar las reacciones químicas, que a su vez retrasan o inhiben el crecimiento de microorganismos o las enzimas presentes en los alimentos. Algunos de los métodos que utilizan bajas temperaturas son: refrigeración, congelación y ultracongelación (Casp & Abril, 2003).

Otros métodos clasificados dentro de los tratamientos físicos son: Liofilización, concentración por evaporación, deshidratación y secado. En los que se ve limitada la disponibilidad de agua en el alimento con el objetivo de reducir la actividad de agua (A_w) y afectar a la reproducción, actividad metabólica, resistencia y sobrevivencia de los microorganismos (Ramírez, 2006).

Así es como la conservación de alimentos ha ido evolucionando junto con la humanidad. Se han ido desarrollando más métodos conforme avanza la tecnología y la ciencia, y dependiendo del alcance y objetivos que se quieren alcanzar.

Debido a que la industria alimenticia se ha visto obligada a ser transformada por la creciente globalización y por las nuevas exigencias de los consumidores, se han buscado alternativas más sofisticadas y eficientes para ofrecer productos de calidad cuidando muy bien la seguridad e inocuidad (Rodríguez et al., 2014), pero sin dejar de lado las características sensoriales y el valor nutrimental que hay en los productos alimenticios. Así surgen nuevas tecnologías para la conservación de los alimentos, métodos innovadores que aportan mejoras frente a los métodos más tradicionales.

2.1.4 Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos

Como se mencionó anteriormente, la demanda creciente de productos alimenticios con características propias de productos frescos ha introducido nuevas tecnologías en el ámbito de la conservación de alimentos. Son llamadas tecnologías emergentes por haber sido desarrolladas en años recientes, algunas de estas ya se usan a nivel industrial y otras están próximas a usarse (Rodiles & Zamora, 2021). Entre los métodos que encontramos están: Irradiación con rayos gamma, rayos x y haces de electrones, conservación mediante alta presión, pulsos de campos eléctricos, calentamiento por infrarrojo, calentamiento óhmico, microondas, atmósferas modificadas, envases inteligentes y luz ultravioleta (Castro, 2011).

2.1.5 Luz Ultravioleta

La radiación UV es una tecnología novedosa ampliamente utilizada como un método de conservación físico para desinfectar agua y superficies, desde que científicos e investigadores descubrieron el potencial que posee para causar daño a nivel de ácido desoxirribonucleico (ADN). Motivo por el cuál, hoy en día es utilizada también para la pasteurización de productos alimenticios desde que fue aprobado por la FDA como método de pasteurización de jugos de frutas (Ochoa et al., 2020).

En el año 1801, el físico alemán Johann Wilhelm Ritter descubrió que la radiación invisible situada justo detrás del color violeta del espectro visible provocaba en diferentes materiales cambios químicos, su experimento se basó en impregnar papel con cloruro de plata y al aplicar esta radiación el papel se oscurecía, así fue como denominó a estos rayos “rayos desoxidantes” y posteriormente “rayos químicos”; en 1877, los científicos Arthur Downes y Thomas Blunt reportaron que el crecimiento de bacterias había sido inhibido por exposición a luz solar (Hockberger, 2000).

En 1901, se empezó a aplicar luz UV a partir del desarrollo de fuentes artificiales como las lámparas de vapor de mercurio, pero estas eran poco confiables y rentables por lo que no se difundió a gran escala esta tecnología. En años posteriores se descubrió que el cuarzo era un material excelente para contener las lámparas de luz UV. Fue hasta el año de 1910, en la ciudad de Marsella, en donde se llevaron a cabo los primeros intentos para usar la radiación UV como desinfectante de agua; pocos años después en Estados Unidos se utilizó para proveer a los barcos de agua potable (Wright & Cairns, 1998). Esta tecnología de esterilización tuvo un gran avance después de la segunda guerra mundial, a partir de 1950 y hasta 1970, cuando se descubrió la estructura del ADN lo que conllevó a la explicación por la cual funcionaba la luz UV. Y aunque el incremento en la utilización de antibióticos y sustancias desinfectantes opaco el auge de la tecnología UV, en 1990 cuando los microorganismos empezaron a crear resistencia a ellos

resurgió la luz ultravioleta nuevamente como método de desinfección, empezando a tomar gran fuerza e importancia en varias áreas (Cabral, 2017).

Actualmente, distintos tipos de industrias utilizan la radiación UV-C para la desinfección del agua en sus plantas, ya que ha resultado ser un método amigable con el ambiente, además de no provocar cambios significativos en cuanto al olor, sabor o apariencia del agua, eliminando por completo el uso de aditivos como el cloro, el cual genera compuestos organoclorados que pueden ser potencialmente peligrosos para el ser humano, el medio ambiente y otros seres vivos (Wolfe, 1990).

La radiación UV es parte del espectro electromagnético y se encuentra entre las longitudes de onda de los rayos X y la luz visible. Con longitudes de onda que comprenden entre los 10 y los 400 nm. Según el área de estudios, la radiación UV tiene dos clasificaciones en las que el rango de longitudes de onda es distinto (Wilches et al., 2021). (Tabla 1)

Tabla 1 Clasificación de la luz ultravioleta, de acuerdo a la longitud de onda

Clasificación convencional	
UVA	320-400 nm
UVB	280-320 nm
UVC	200-280 nm
Clasificación astrocientífica	
UV cercana (NUV)	300-400 nm
UV media (MUV)	200-300 nm
UV lejana (FUV)	100-200 nm
UV extrema (EUV)	10-110 nm

Tomado de: Wilches *et al.*, 2021.

La radiación UV-C se divide en dos subclases: Lejana, abreviada como UVC-L, esta comprende entre los 207 y los 222 nm, y UV-C germicida (UVC-G) que va de 254 a 265 nm (Horton et al., 2020; Kim et al., 2016).

La luz solar es la principal fuente de radiación UV-A y UV-B que es emitida a la tierra, las moléculas de ozono absorben el 99% de la radiación ultravioleta, y de no ser por el ozono estratosférico la vida en el planeta tierra no sería posible tal como la conocemos. La UV-A es capaz de penetrar la piel causando daños físicos como manchas y arrugas en los humanos, mientras que la UV-B provoca quemaduras solares más graves, daños al sistema inmunológico y deterioro de la vista, además de ser la principal causa del cáncer de piel (Sánchez, 2008). La radiación UV-C no despliega su energía a la tierra debido a que la gran mayoría es absorbida por el oxígeno atmosférico antes de que esta atraviese la capa de ozono y por lo tanto es producida únicamente de manera artificial (Mackenzie, 2020; Mishra, 2020).

Las principales fuentes artificiales de radiación UV son las lámparas negras de vapor de mercurio de media presión, que emiten radiación UV-C con un pico a 254 nm, su carcasa puede estar hecha de cuarzo natural o cuarzo sintético, ésta cubierta es necesaria para transmitir la radiación UV-C y por la resistencia que posee a la alta temperatura a la que funciona, entre 500 y 900°C (razón por la cual estas lámparas no son recomendables para uso en materiales que son sensibles al calor debido a que pueden deformarlos), son funcionales a 100 KPa, son libres de ozono y su vida útil va desde 1000 hasta 1500h. Otra fuente de radiación UV son las lámparas de mercurio de baja presión, también conocidas como “lámparas germicidas”, generalmente constan de dos tubos coaxiales con una mezcla de gas de mercurio y argón en el interior y se consideran de baja presión porque son funcionales a 1 Pascal, estas lámparas tienen la capacidad de convertir hasta el 40% de energía eléctrica en radiación UV-C con una emisión monocromática a 254 nm para aplicaciones germicidas y trabajan a una temperatura de entre 5°C a 40°C su vida útil es hasta de 16000 h (Wilches et al., 2021).

Ambos tipos de lámparas cuenta con un largo historial de uso entre los cuales encontramos la desinfección de aguas residuales para la eliminación de bacilos y bacterias provenientes del tracto gastrointestinal de humanos y animales (Chevrefils et al., 2006). Sin embargo, el uso de mercurio en estas lámparas suscita problemas ambientales para su eliminación por lo que existe otra alternativa, las lámparas

excímer. La lámpara de excímeros es también una fuente de luz ultravioleta producida por la emisión espontánea de moléculas de excímeros. Estas lámparas están compuestas por un gas noble y un halógeno. Las más importantes para fines de desinfección son las de XeBr y KrCl que emiten radiación UV a 222 nm y 282 nm, respectivamente, las excímer no son tan eficientes como las lámparas de mercurio anteriormente mencionadas pero son más amigables con el medio ambiente y funcionan bien para la desinfección de agua potable y aire, además no necesitan calentarse para funcionar ya que la temperatura de la pared es menor a 100°C (Schalk et al., 2006; Ahmad et al., 2017; Naunovic et al., 2008; Mishra, 2020).

Las fuentes de radiación se caracterizan por su potencia, es decir, por su irradiancia o intensidad y por su dosis o fluencia. La dosis hace referencia a la cantidad de energía emitida por unidad de área del material o del tejido irradiado y la intensidad se refiere a la dosis emitida por unidad de tiempo (Bachmann, 2020). La eficacia de la esterilización con radiación UV dependerá en gran medida de las propiedades ópticas del material irradiado, tales como: el coeficiente de dispersión, coeficiente de absorción, índice de refracción y anisotropía, todas pueden estar relacionadas con el grado de penetración que se logra con la radiación en el material o en el alimento irradiado y por lo tanto con el grado de daño provocado (Matthes, 2004; Wang & Wu, 2007; Fernández et al., 2013). Así como también el tiempo de exposición será un factor determinante en la desinfección con UV-C.

La luz ultravioleta de onda corta (UV-C) que comprende la longitud de onda ubicada entre 200 y 280 nm (Fig.1), es una forma de radiación “no ionizante”. Es la más peligrosa debido a que su capacidad de penetración es suficiente para llegar a las membranas celulares y causar daños en el ADN, ARN y proteínas, provocando mutaciones en las células, de aquí radica su capacidad germicida ya que provoca también daños en la replicación y transcripción del material genético de bacterias, hongos y virus.

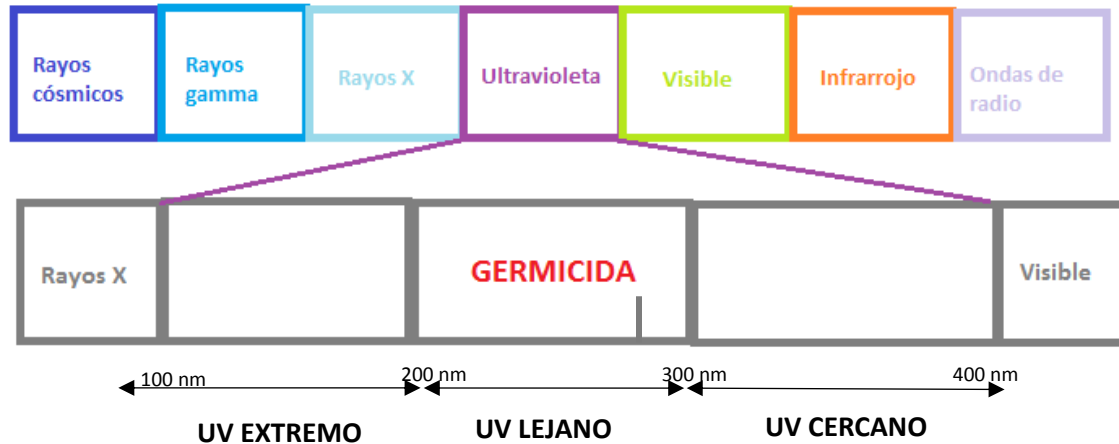


Figura 1. Espectro electromagnético. Fuente: Adaptación extraída de Guerrero Beltrán & Barbosa Cánovas, 2004.

Además se debe considerar también que el pico de absorción de radiación UV para ácidos nucleicos se encuentra entre 250 y 260 nm (Sharma, 1999), por lo que la mayor contribución mutagénica está dada por la UV-C, sin embargo la UVB también puede causar daños al material genético para valores de fluencia altos (Buonanno et al. 2013; Cadet & Douki, 2018). Y con la UV-A se necesitarían mayores dosis para lograr una absorción en proteínas y ácidos nucleicos.

Particularmente en la industria alimenticia, la radiación UV-C es la que se utiliza como tratamiento no-térmico, de baja temperatura, que produce subproductos poco tóxicos o no tóxicos significativos durante el tratamiento, con una pérdida mínima de atributos sensoriales y un bajo consumo de energía (Silveira et al., 2015). Se ha demostrado que la luz UV-C, en particular, tiene efectos letales en bacterias, levaduras, mohos y virus. Aunado a esto el tratamiento con UV-C es capaz de inactivar las esporas bacterianas. Los efectos que puede tener la luz UV-C sobre los microorganismos dependen de muchos factores; entre estos, las especies y cepas con las que se esté tratando, el medio de crecimiento y la etapa en la que se encuentre el cultivo al momento de la irradiación (Wright et al., 2000).

Cada especie microbiana tiene un grado de resistencia característico a la radiación ultravioleta. Este factor depende de la fase de crecimiento y del estado fisiológico en el que se encuentran las células microbianas, algunos factores que por ejemplo, causan un aumento en la resistencia a la radiación UV es el agrupamiento de las bacterias y la formación de capsulas (Suárez, 2001). La efectividad de la irradiación con luz UV-C dependerá también del tipo y la composición del alimento irradiado ya que la capacidad de penetración se puede ver disminuida cuando los productos líquidos contienen sólidos en suspensión o no son transparentes en su totalidad. El tamaño de los microorganismos también puede afectar en la correcta pasteurización, por ejemplo, los hongos y las levaduras presentan un alto grado de resistencia durante la desinfección debido a su mayor tamaño (Guerrero & Barbosa, 2004). Los fotones de la luz UV-C son capaces de causar entrecruzamiento entre bases nucleotídicas de pirimidina vecinas (tímidica y citosina) en la misma hebra de ADN; esta mutación puede afectar la formación de enlaces de hidrógeno en la cadena opuesta de este modo los procesos de transcripción y replicación del ADN se detienen, provocando el retraso de la reproducción o la muerte celular (Ochoa et al., 2020). De este modo se restringe la capacidad de los microorganismos para crecer y multiplicarse. Los efectos de la reticulación en el ADN son proporcionales a la cantidad de luz UV-C a la que se ven expuestos los microorganismos. La radiación UV-C también es capaz de provocar mutaciones en el ADN del organismo lesionado (Sastry et al. 2000).

Una de las grandes ventajas que tiene el uso de luz UV-C como método de conservación es que tiene menos efectos negativos en compuestos bioactivos tales como la vitamina C, los compuestos fenólicos de frutas y otros productos, así como la capacidad antioxidante, esta última dependiendo de la fruta o el alimento irradiado. En cuanto a los atributos sensoriales también se ha estudiado y llegado a la conclusión de que la luz UV-C no provoca grandes cambios en cuanto al olor, dulzura, sabor y acidez, siempre y cuando no sean grandes dosis de irradiación y dependiendo del alimento (Guerrero & Ochoa, 2021). Por estas razones la radiación UV-C se considera una tecnología no térmica viable para sustituir procesamientos térmicos, con la que se pueden ofrecer alimentos seguros porque están libres de

microorganismos y enzimas peligrosos, y con características muy similares a los alimentos frescos (Butz & Tauscher, 2002).

La cantidad de microorganismos que pudieran estar presentes en un producto alimenticio, se vincula directamente al potencial genético que posee el propio microorganismo para sobrevivir y reproducirse, y de los parámetros físico-químicos del medio en el que se encuentra. Algunos de los factores influyentes son: la contaminación que pudo darse previamente, la cantidad de nutrientes presentes en el medio que el microorganismo es capaz de utilizar para fines energéticos y biosintéticos, el pH, la temperatura, la actividad de agua (A_w), la presencia de conservadores y aditivos, la composición atmosférica y la salinidad (Whiting, 1993). Bajo estos factores los microorganismos pueden presentar tres comportamientos: Crecimiento, inactivación o muerte y supervivencia. El crecimiento microbiano se puede subdividir en cuatro fases:

1. Fase lag: Periodo de ajuste metabólico, en este los microorganismos se adaptan a las condiciones del medio en el que se encuentran. El número de microorganismos permanece constante, y una vez adaptados al medio empieza su multiplicación lentamente.
2. Fase de crecimiento exponencial o fase logarítmica: Periodo en el que los microorganismos se multiplican y aumentan su número exponencialmente cada determinado tiempo. Bajo las condiciones ambientales apropiadas la velocidad de crecimiento es máxima.
3. Fase estacionaria: Debido al consumo de nutrientes esenciales y a la acumulación de metabolitos inhibidores se establece un equilibrio entre la reproducción y muerte de los microorganismos, por lo que el número de microorganismos permanece constante.
4. Fase de muerte o declive: El número de células que mueren supera a las que se forman, debido a que las condiciones que prevalecen no pueden sostener más el crecimiento.

(Tortora et al., 2007)

2.2 Modelos matemáticos

Infortunadamente, en la actualidad la incidencia de las enfermedades que son transmitidas por alimentos no cesa, los métodos usados tradicionales son insuficientes para tratar de forma verdaderamente eficiente la seguridad microbiológica alimentaria. La industria de alimentos ha considerado esta problemática, además del aumento de la población que es susceptible a las enfermedades transmitidas por alimentos, estos han sido los motivos por los cuales se han ido desarrollando estrategias para garantizar la inocuidad de los alimentos. Dentro de estas estrategias está la microbiología predictiva (Klotz, 2011). La microbiología predictiva es un área de investigación que se encuentra dentro de la ciencia de los alimentos y se basa en la premisa de que las respuestas de las poblaciones de microorganismos a los factores ambientales son reproducibles, siendo así posible, desde observaciones realizadas, predecir las respuestas de estos microorganismos en otras condiciones similares (Ross, 2000) En la microbiología predictiva se utilizan y crean modelos matemáticos para determinar la cinética del crecimiento microbiano y en función de esto estimar su comportamiento (Lopes, 2018) y los efectos probables de factores intrínsecos como pH, actividad de agua (A_w) y temperatura en el crecimiento de todos los microorganismos patógenos de los alimentos (McClure et al., 1994).

Los primeros registros que se tienen de la utilización modelos predictivos fueron por Esty y Meyer en 1922, sus estudios se utilizaron para describir el tratamiento térmico necesario para destruir esporas del microorganismo *Clostridium botulinum*, aunque en su momento no fue reconocido como modelo matemático (Whiting & Buchanan, 1997).

Estos modelos que se realizan de manera empírica abren las puertas a una evaluación de riesgos cuantitativa en el campo de la microbiología alimentaria (Whiting & Buchanan, 1997). Esta técnica ha sido bastante aceptada a nivel mundial porque es una herramienta útil para garantizar la rigurosidad de los procesos preventivos de inocuidad alimentaria y de esta manera asegurar que los alimentos

que llegan a los consumidores están totalmente libres de microorganismos (ICMSF, 1997). Sin embargo, a medida que han mejorado las técnicas para cuantificar los efectos de los parámetros que son importantes en el crecimiento microbiano se han puesto en tela de juicio los procesamientos térmicos tradicionales (Peleg & Cole, 1998). Por ello está el interés en utilizar la microbiología predictiva en el análisis de técnicas de conservación más recientes, como el de la luz UV-C.

Un modelo es una expresión matemática que describe comportamientos determinados. El término “modelo matemático” se refiere a un grupo de hipótesis básicas sobre procesos estudiados, algunos expresados con ecuaciones diferenciales o por medio de funciones, las cuales son una abstracción matemática de un sistema físico real para facilitar la descripción de un modelo en particular (Baranyi & Roberts, 1995).

El objetivo del modelo es obtener un esquema teórico que permita comprender, interpretar y predecir el comportamiento del sistema cuando sobre él se generen determinadas condiciones iniciales (Llavador, 2017).

Para realizar la evaluación de riesgo microbiológico de un microorganismo es necesario describir el proceso de inactivación durante el tratamiento de esterilización aplicado. Los modelos matemáticos ayudan a describir el comportamiento del microorganismo bajo las condiciones ambientales otorgadas (Garre Pérez et al., 2016).

Un buen modelo se elabora partiendo de una buena identificación del sistema que se está estudiando para finalmente dar una interpretación científica de los datos experimentales que se obtuvieron. En el proceso de elaboración del modelo matemático de un sistema, se pueden establecer las siguientes fases.

1. Recopilación de información y conocimientos previos sobre el sistema que será estudiado.
2. Inspeccionar cuales son las características del entorno que afectan al sistema.

3. Planteamiento del objetivo y alcance que tendrá el modelo
4. Identificar y reconocer las razones que causan las diferentes variables en el sistema.
5. Descripción matemática de la estructura del modelo.
6. Iniciación del modelo.
7. Finalmente se realiza una comprobación o validación del modelo a partir de nuevas observaciones del sistema y una estimación de la incertidumbre de las predicciones (Llavador, 2017).

Con esto podemos agrupar los elementos que posee un modelo matemático en las cinco categorías siguientes:

1. Variables externas: Estas actúan para establecer el control del ambiente externo sobre el sistema, por lo que también se denominan variables de control.
2. Variables internas: Que se dividen en dos categorías;
 - a) Variables de estado: Estas representan el estado interno del sistema.
 - b) Sumideros: Representan los puntos de retorno desde el interior del sistema al ambiente externo.
3. Ecuaciones matemáticas: Reproducen las relaciones entre los componentes del sistema.
4. Parámetros: Son términos numéricos de las ecuaciones matemáticas cuyo valor permanece constante en un determinado ámbito de aplicación del modelo, pueden tomar valores distintos en otros ámbitos.
5. Constantes: Términos numéricos de las ecuaciones matemáticas cuyo valor es invariable dentro de un amplio marco espacial y temporal de aplicación del modelo (Llavador, 2017).

2.2.1 Modelos lineales

La variable de funciones que se pueden utilizar para representar una variable Y en términos de otra variable X es enorme, pero en las ciencias experimentales lo que

se busca es una función (modelo) que sea lo más sencilla posible, siempre que exprese razonablemente bien el fenómeno experimental que se quiere estudiar. Se considera una variable “respuesta” a Y , que va cambiando a lo largo del tiempo según un modelo de progresión aritmética. Las dos condiciones que regulan una evolución aritmética son las siguientes:

- 1) En el instante inicial ($t=0$), la variable respuesta tomo un valor Y_0 .
- 2) Cada unidad de tiempo que pasa, la variable respuesta, es decir Y , varía una cantidad fija m (donde m puede ser positiva o negativa).

Es muy fácil determinar el valor de la variable respuesta, Y , cuando han transcurrido una, dos o tres unidades de tiempo.

Cuando se colocan los datos en una gráfica se obtiene una recta de pendiente m , es de ahí de donde viene el nombre de modelo lineal (Horra, 2019).

2.2.2 Modelos matemáticos no lineales

Un proceso físico efectivo es necesario para el correcto control en la eliminación de patógenos y la consecución de alimentos seguros. Por ese motivo se han utilizado modelos matemáticos ya que son una herramienta útil para estimar qué tan efectivos son algunos métodos de conservación para los alimentos. Recientemente se han utilizado modelos matemáticos para evaluar la inactivación por tratamiento con luz UV-C en productos alimenticios líquidos. Estos modelos comúnmente son aplicados en el procesamiento de los alimentos para evaluar el efecto que tienen diferentes variables intrínsecas o extrínsecas sobre los microorganismos que están presentes en los productos alimenticios, sobre todo para métodos térmicos. Hoy en día se utilizan también para evaluar el efecto de nuevas tecnologías sobre la carga microbiana en los alimentos (Ochoa, 2020).

La mayoría de los modelos matemáticos que son usados convencionalmente en estudios teóricos y prácticos son lineales porque son mucho más manejables que

los no lineales y pueden representar en forma precisa el comportamiento de sistemas reales. Sin embargo, los avances tecnológicos actuales han generado una enorme variedad de nuevos problemas y aplicaciones que no son lineales en esencia. Por ejemplo, algunos fenómenos no lineales tales como equilibrios múltiples, bifurcaciones y caos, se observan comúnmente en aplicaciones modernas importantes. Estos fenómenos no lineales no se pueden describir mediante dinámica de modelos lineales, por esa razón es necesario el uso de modelos no lineales (Hassan, 2002).

En general, en la inactivación de microorganismos se pueden observar cuatro tipos de curvas de supervivencia; curvas lineales, curvas con hombro, curvas con cola y curvas sigmoideas (Xiong et al., 1999). Para representar la inactivación microbiana a través de modelos matemáticos se han propuesto, además del modelo lineal, alternativas como el modelo de primer orden, el modelo de Weibull, Gompertz, Baranyi, Logístico entre otros (Guerrero & Ochoa, 2021).

Los modelos matemáticos de primer orden, como el modelo de Weibull, consideran que cada microorganismo presente en una población se inactiva en un momento específico; por lo tanto, hay un espectro de resistencia a la muerte en la población y la forma de la curva de supervivencia estará determinada por la distribución, de forma que tienen diferentes parámetros de distribución (García et al., 2018). El modelo de Weibull es un modelo de dos parámetros: el parámetro b (corresponde a la velocidad o a la tasa de crecimiento o muerte) y el parámetro n (este corresponde a la forma que tiene la curva de supervivencia semilogarítmica), si n es mayor a 1 la curva de supervivencia semilogarítmica presenta una concavidad bastante pronunciada hacia abajo y la distribución tiene un sesgo a la izquierda, por el contrario, si n es menor a 1 y la distribución tiene un sesgo a la derecha, la curva de supervivencia semilogarítmica es convexa porque tiene una concavidad muy notable hacia arriba, esto dependerá del valor de b (Peleg et al., 1997). Ese valor nos dice cómo se comporta el microorganismo en su crecimiento o en su muerte. Por su parte el modelo de Gompertz modificado se ajusta bien a la cinética sigmoidea, es decir, aquella que se presenta un comportamiento inicial hacia arriba

(de hombro), seguido de un comportamiento exponencial para finalmente exhibir un comportamiento de cola, hacia abajo (Linton et al., 1995). El modelo de Gompertz se puede definir como un modelo cinético y primario, un modelo cinético se basa en la respuesta del agente de estudio, así como en su crecimiento o supervivencia bajo determinadas condiciones (McMeekin, 1993), por su parte, un modelo primario describe el número de microorganismos en función del tiempo cuantificándolo en Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml), en formación de toxinas o metabolitos (Coll et al., 2017). El modelo de Gompertz modificado se conforma por tres parámetros el a , b y c . El parámetro a es el crecimiento máximo o la muerte máxima que se alcanza en un proceso. El parámetro b es asociado con el parámetro λ junto con el parámetro c . El parámetro λ nos indica la fase de latencia, esta fase se refiere al tiempo durante el cual el microorganismo resiste y se mantiene ante el tratamiento antes de que este empiece a matarlo o por el contrario, empiece a reproducirse más. El parámetro μ es la velocidad de muerte o la velocidad de crecimiento

El modelo Baranyi y otros, han sido utilizados en tratamientos térmicos y no térmicos para identificar los efectos que ocasionan diferentes factores como la temperatura, la presión, la dosis de irradiación, el pH y la actividad de agua sobre la inactivación de microorganismos nativos, microorganismos de descomposición y microorganismos patógenos (Ochoa et al., 2020).

Algunos artículos indican que el modelo logarítmico lineal es el más sencillo y por lo tanto el más utilizado para realizar evaluaciones del efecto que tiene la luz UV-C sobre la inactivación de microorganismos que están presentes en líquidos, su simplicidad radica en que se observa y analiza la proporcionalidad que existe entre la concentración microbiana y la tasa de inactivación.

Pese a esto, en algunas investigaciones las curvas que presentan los microorganismos en cuanto a su supervivencia no siguen el orden Log-Lineal, esto provoca que se pueda subestimar o bien sobreestimar la letalidad que tuvo el proceso de esterilización aplicado, dependiendo de si la curva de supervivencia

semilogarítmica exhibe un comportamiento descendente (cola) o ascendente (hombro) (Peleg, 1998). Y en consecuencia no se le da una valoración correcta al tratamiento empleado. Es en estos casos en los que los modelos no lineales cumplen una tarea muy importante.

Cuando se utilizan modelos matemáticos se deben tomar en cuenta varias etapas (García, 2003): En la etapa del diseño del modelo se debe definir el objetivo experimental, conocer las variables y su relevancia, determinar el rango de fluctuación de las variables, seleccionar el medio, conocer las características del microorganismo y si compete con otros microorganismos (Cedron, 2016). La segunda etapa es la acumulación de datos que se obtienen de la parte experimental, estimando de manera directa o indirecta los valores del parámetro que estamos estudiando, se pueden utilizar la técnica de recuento en placa. Posterior a esto se hace el ajuste de la curva, una vez que tenemos los datos, se modela la curva de crecimiento del microorganismo (García, 2003), pudiéndose derivar así los parámetros que se tuvieron en cuenta y que afectan a la curva obtenida (Whiting, 1993). Finalmente se logra la obtención del modelo, se realiza una validación y la predicción.

3. JUSTIFICACIÓN

Durante las últimas décadas la radiación con luz UV-C ha sido una tecnología altamente eficaz para eliminar microorganismos patógenos en distintos sectores. En la industria alimentaria, se ha utilizado ampliamente para la desinfección de superficie, agua y algunos alimentos líquidos. Sin embargo, al ser una tecnología emergente, existen diferentes factores por investigarse y estudiarse. En este sentido, la utilización de soluciones modelo pueden ayudar a la valoración general del efecto de algunos factores presentes en un alimento y con ayuda de los modelos matemáticos poder conocer el efecto de estos factores sobre la inactivación microbiana y, en consecuencia, la seguridad alimentaria. Dado lo anterior, este estudio busca evaluar el efecto del tratamiento con luz UV-C sobre soluciones modelo inoculadas con *Lactobacillus rhamnosus*, a dos diferentes velocidades de flujo. Posteriormente se usarán modelos lineales y no lineales para conocer el efecto de los factores estudiados sobre la inactivación del microorganismo y saber con mayor certeza el efecto de estos en la inactivación microbiana por luz UV-C.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Aplicar modelos matemáticos lineales y no lineales para evaluar el efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre *L. rhamnosus* inoculado en soluciones modelo.

4.2 Objetivos específicos

- Obtener las cinéticas de inactivación por luz UV-C de *L. rhamnosus* inoculado en soluciones modelo.
- Evaluar el efecto de tratamiento con luz ultravioleta de onda corta sobre la inactivación de *L. rhamnosus* mediante modelos lineales y no lineales.

5. DIAGRAMA DE TRABAJO

En la Figura 1 se presenta el diagrama de trabajo llevado a cabo durante esta investigación.

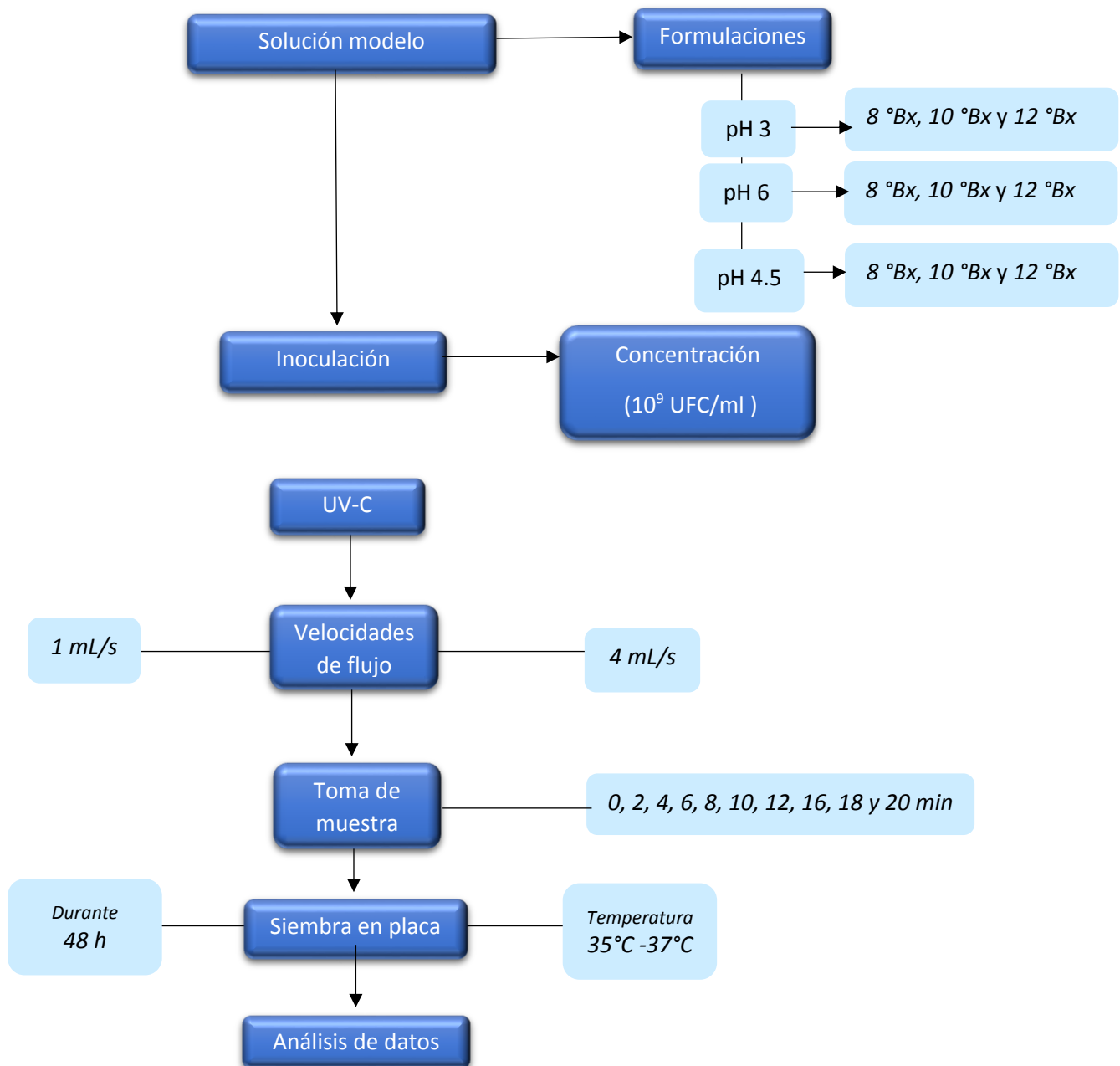


Figura 2. Diagrama de trabajo para aplicación de modelos matemáticos lineales y no lineales para evaluar el efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre *Lactobacillus rhamnosus* inoculado en soluciones modelo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

- Material de vidrio el necesario para cada determinación.
- Material biológico: *L. rhamnosus*.
- Reactivos los necesarios para cada determinación, grado analítico o alimenticio.

En las Tablas 2 y 3 se muestran los métodos y equipos que se emplearan en este trabajo.

Tabla 2. Métodos y referencias utilizadas.

Determinación	Técnica	Referencia
Análisis microbiológico	Método de vaciado en placa en agar MRS	NORMA Oficial Mexicana NOM-131-SSA1-2012

Tabla 3. Equipos utilizados en este estudio.

Equipo	Marca	Modelo
Balanza analítica	Pioneer™ OHAUS	PA224C
Parrilla de calentamiento y agitación	Cimarec	Thermolyne
Autoclave	CISA	A6-25
Lámpara de luz UV-C	Stenner pump Company	170MD5
Micropipeta (10-100 µL)	Brand	TP200H
Micropipeta (100-1000 µL)	Brand	TP342H
Potenciómetro	Conductronic®	pH10
Refractómetro	Atago	

7. METODOLOGÍA

7.1 Preparación de soluciones modelo

Estas se prepararán con agua destilada, sacarosa y ácido cítrico. Se formularán 9 soluciones modelo siguiendo las concentraciones presentadas en la Tabla 4. Las soluciones modelo se esterilizarán para garantizar la inocuidad de estas.

Tabla 4. Soluciones modelo utilizadas en este estudio.

Solución modelo	Concentración de Sólidos Solubles Totales (SST) (°Bx)	pH
1	8	3
2		4.5
3		6
4	10	3
5		4.5
6		6
7	12	3
8		4.5
9		6

- ♦ Inoculación de soluciones modelo con el microorganismo *Lactobacillus rhamnosus*. El microorganismo *L. rhamnosus* se obtuvo del cepario de la Facultad de Ciencias Químicas. El microorganismo se descongeló para su posterior inoculación en caldo MRS para reactivarlo. Una vez reactivado el microorganismo se transfirió la solución modelo hasta alcanzar una concentración de 1×10^8 o 1×10^9 UFC/mL Unidades Formadoras de Colonias por mililitro.
- ♦ Tratamiento con luz UV-C

Las soluciones modelo se procesaron con el equipo de luz UV-C construido y ensamblado en la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP. Aproximadamente 2 L de solución fueron procesados a una velocidad de 1 y 4 mL/s, para poder tomar muestras a los tiempos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18 y 20 min de proceso. Estas

muestras fueron sembradas en placas de agar MRS se incubaron a una temperatura de 35°C A 37°C y se realizó la lectura de las placas a las 48 horas posteriores a su siembra.

- ♦ Los modelos matemáticos que se estudiaron son:

Modelo lineal

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = -kt$$

Donde N_0 y N es la carga microbiana inicial y a un tiempo dado de proceso, respectivamente, k es la constante del modelo y t es el tiempo de proceso.

Modelo de Weibull

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = -bt^n$$

Donde N_0 y N es la carga microbiana inicial y a un tiempo dado de proceso, respectivamente, b es la escala de inactivación y n es la forma de la curva de inactivación y t es el tiempo de proceso.

Modelo de Gompertz modificado

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = Ce^{-e(A+Bt)} - Ce^{-e(A)}$$

Donde N_0 y N es la carga microbiana inicial y a un tiempo dado de proceso, respectivamente, A es la forma de la curva de inactivación (s), B es la velocidad de inactivación (1/s), C es la inactivación total y t es el tiempo de proceso.

8. RESULTADOS

8.1 Reducción microbiana mediante aplicación de luz UV-C

En la Figura 3 se presentan los resultados obtenidos de la inactivación de *Lactobacillus rhamnosus* inoculado en soluciones modelo tratadas con luz UV-C a diferentes velocidades de flujo.

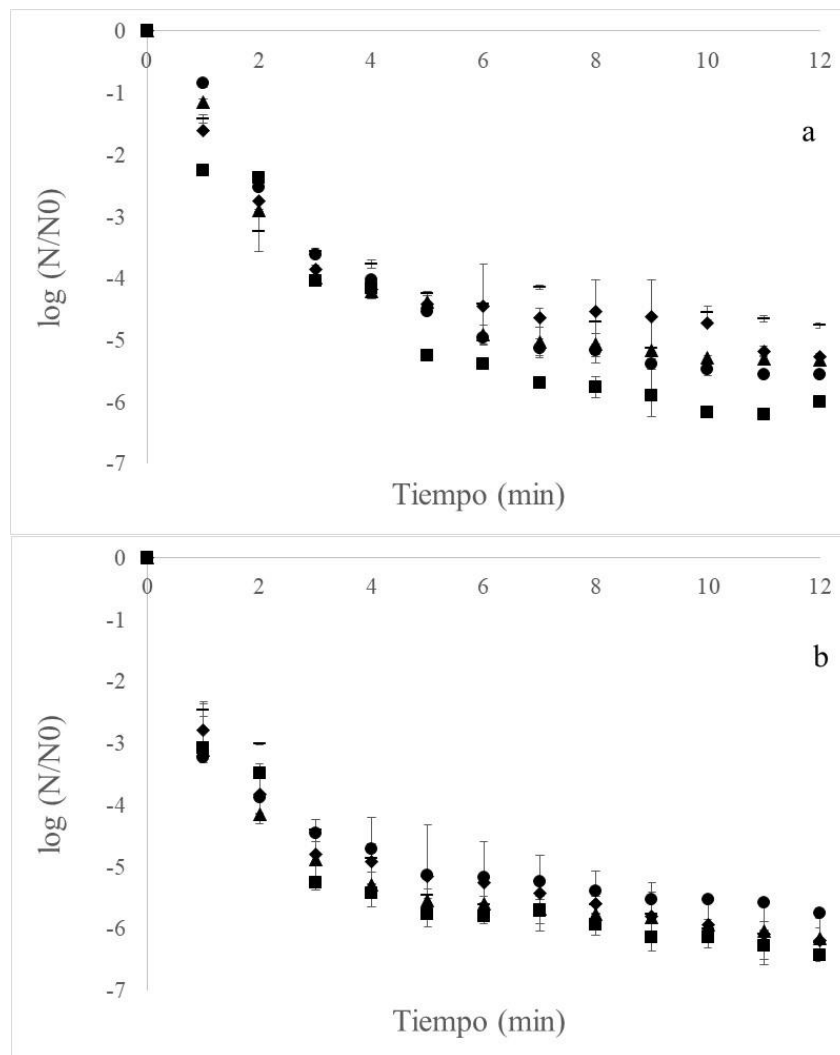


Figura 3. Cinética de inactivación de *L. rhamnosus* en soluciones modelo tratadas con luz UV-C. a) 13.4 mL/s, b) 82.5 mL/s. ■= °Bx=8, pH=3; ◆= °Bx=8, pH=6; ▲= °Bx=10, pH=4.5; ●=12 °Bx, pH=3; □= °Bx=12, pH=6.

Se puede observar en la figura a (13.4 mL/s) que existe una menor inactivación comparada con la figura b (82.5 mL/s), en donde se puede apreciar que la inactivación microbiana es mayor y más homogénea, reduciendo de -4.8 a -6.0 ciclos logarítmicos con una velocidad de flujo baja y de -5.8 a -6.4 ciclos logarítmicos a una velocidad de 82.5 mL/s. Resultados similares fueron encontrados por Wright et al. (2000) en un estudio realizado con sidra de manzana inoculada con *E.coli*; ellos determinaron que se redujeron 3.81 ciclos logaritmos al variar la velocidad de flujo en un rango de 999.9 a 6,480 mL/min, de igual manera en un estudio realizado por Ochoa Velasco et al. (2014) establecieron que los cambios en la velocidad de flujo influyeron de manera positiva en la inactivación de *E. coli* y *Salmonella typhimurium* en leche de coco que fue tratada con luz UV-C, aumentando la reducción logarítmica de ambos microorganismos, en el caso de *S. typhimurium* la reducción fue de -3.5 ± 0.1 a -4.1 ± 0.1 ciclos logarítmicos y para *E. coli* fue de -2.3 ± 0.1 a 4.1 ± 0.1 . Pese a esto, en ninguno de los estudios fue suficiente el tratamiento con luz UV-C para alcanzar las reducciones logarítmicas que son recomendadas por la FDA (2001) para alimentos líquidos, que es de 5 ciclos logarítmicos.

Por otra parte, se aprecia que, durante los primeros minutos, la inactivación microbiana pareciera tener una tendencia lineal, pero posteriormente se observa un fenómeno conocido como cola, lo cual se ha observado en otras cinéticas de inactivación. Por ejemplo, en un estudio realizado por Baysal et al. (2013) en el cual se investigó el efecto de la luz UV-C sobre la inactivación de las esporas de *Alicyclobacillus acidoterrestris* en jugos comerciales pasteurizados de manzana y uva blanca. Las reducciones de esporas no se ajustaron a los modelos de primer orden debido a que presentaban un efecto de cola, por lo que optaron por utilizar el modelo de Weibull y el modelo Log linear plus tail para ajustar sus datos experimentales. En otra investigación llevada a cabo por Char et al. (2010) en el que fueron utilizadas dos técnicas no térmicas: ultrasonido y luz UV-C. Se evaluaron la supervivencia de *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae* y levaduras en jugo de naranja, jugo de manzana y agua de peptona; los resultados mostraron curvas

curvas con una concavidad hacia arriba y un pronunciado efecto de cola, sobre todo en el agua de peptona y en el jugo de manzana.

La cola en las curvas de inactivación con luz UV-C se puede atribuir a varios factores entre ellos la agregación de microorganismos y la presencia de subpoblaciones bacterianas resistentes. Si al final de la curva de supervivencia hay presencia de una fase de cola en la que la tasa de inactivación disminuye, también se puede relacionar con sólidos en suspensión que no permiten a la luz UV-C pasar a través del sistema o a un tratamiento no homogéneo (Hijnen et al., 2006; Koutchma 2009; Kuo et al., 2003).

8.2 Modelo de primer orden

Dado los resultados anteriores se decidió evaluar la cinética de inactivación de *L. rhamnosus* mediante la cinética de primer orden durante los primeros 5 minutos y la cinética completa utilizando el modelo de Weibull y Gompertz modificado (Figura 2). La Tabla 5 presenta los valores del tiempo de reducción decimal (D) de *L. rhamnosus* inoculado en soluciones modelo e irradiado con luz UV-C. El valor de D es indicativo de la resistencia que presenta el microorganismo al tratamiento, a menor valor de D mayor es la resistencia de este. En la Figura 4 se presenta las cinéticas de inactivación de primer orden de *L. rhamnosus* tratado con luz- UV-C. Se observa que el comportamiento lineal sólo se da en los primeros minutos de tratamiento, por lo que se procedió a trabajar con una cinética de primer orden solo durante estos minutos. Al comparar las velocidades de flujo, se puede observar que todos los tratamientos con una mayor velocidad logran superar los 5-log demandados por la FDA después de 5 minutos de tratamiento, mientras que a menor velocidad (Figura 4a) se aprecia que sólo unas cuantas condiciones de proceso logran alcanzar las reducciones logarítmicas, después del mismo tiempo de tratamiento. Lo anterior se basa en que, al incrementar la velocidad de flujo, se genera turbulencia en el líquido, lo que provoca que exista una mayor superficie de intercambio entre la lámpara UV-C y el líquido que contiene al microorganismo. Lo anterior fue demostrado en un estudio realizado por Koutchma et al. (2004) en

donde se observó el efecto de la turbulencia en la inactivación de *E. coli* en sidra de manzana. En el tratamiento con luz UV-C los resultados arrojaron que a una velocidad de 166 mL/s y durante los primeros 5 minutos de tratamiento, la inactivación tuvo un comportamiento lineal y alcanzó hasta -2 log, mientras que a una velocidad de flujo de 57 mL/s sólo se alcanzan -1.3 log en 15 minutos de tratamiento. Con estos resultados se puede deducir que, al aumentar la velocidad de flujo también aumenta la cantidad de turbulencia y el tratamiento es más eficiente en los alimentos que por sus características pudieran presentar más dificultades por su color, los sólidos solubles e insolubles que contienen y que interfieren en la eficacia del tratamiento con luz UV-C (Matak et al., 2005).

Normalmente, las cinéticas obtenidas en la inactivación microbiana siguen un modelo de inactivación de primer orden. Este fenómeno se atribuye a que la población bacteriana no se destruye al instante de ser expuesto al agente letal, la muerte es lineal y a medida que la población va muriendo lo hace a intervalos constantes en iguales proporciones. De este suceso surge la linealidad durante los primeros minutos del tratamiento de pasteurización (Rodríguez Vargas, 2016). No obstante, es común observar una disminución en la tasa de inactivación con tiempos de proceso prolongados después de haberse inactivado la mayor parte de la población microbiana existente en un inicio (Vitzilaiou, 2022).

Tabla 5. Valor de D (5 min de tratamiento) de la inactivación de *L. rhamnosus* en soluciones modelo tratadas con luz UV-C.^a

Velocidad de flujo (mL/s)	SST (%)	pH	D (min)	R ²
13.4	8	3	0.89 ± 0.00b	0.972
	12	3	0.99 ± 0.00a	0.984
	10	4.5	0.95 ± 0.00a	0.966
	8	6	0.96 ± 0.01a	0.968
	12	6	1.00 ± 0.01a	0.953
	8	3	0.86 ± 0.00b	0.957
82.5	12	3	0.80 ± 0.00c	0.918
	10	4.5	0.73 ± 0.01d	0.933
	8	6	0.85 ± 0.00b	0.909
	12	6	0.80 ± 0.02c	0.967

^aPromedio ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa (p < 0.05).

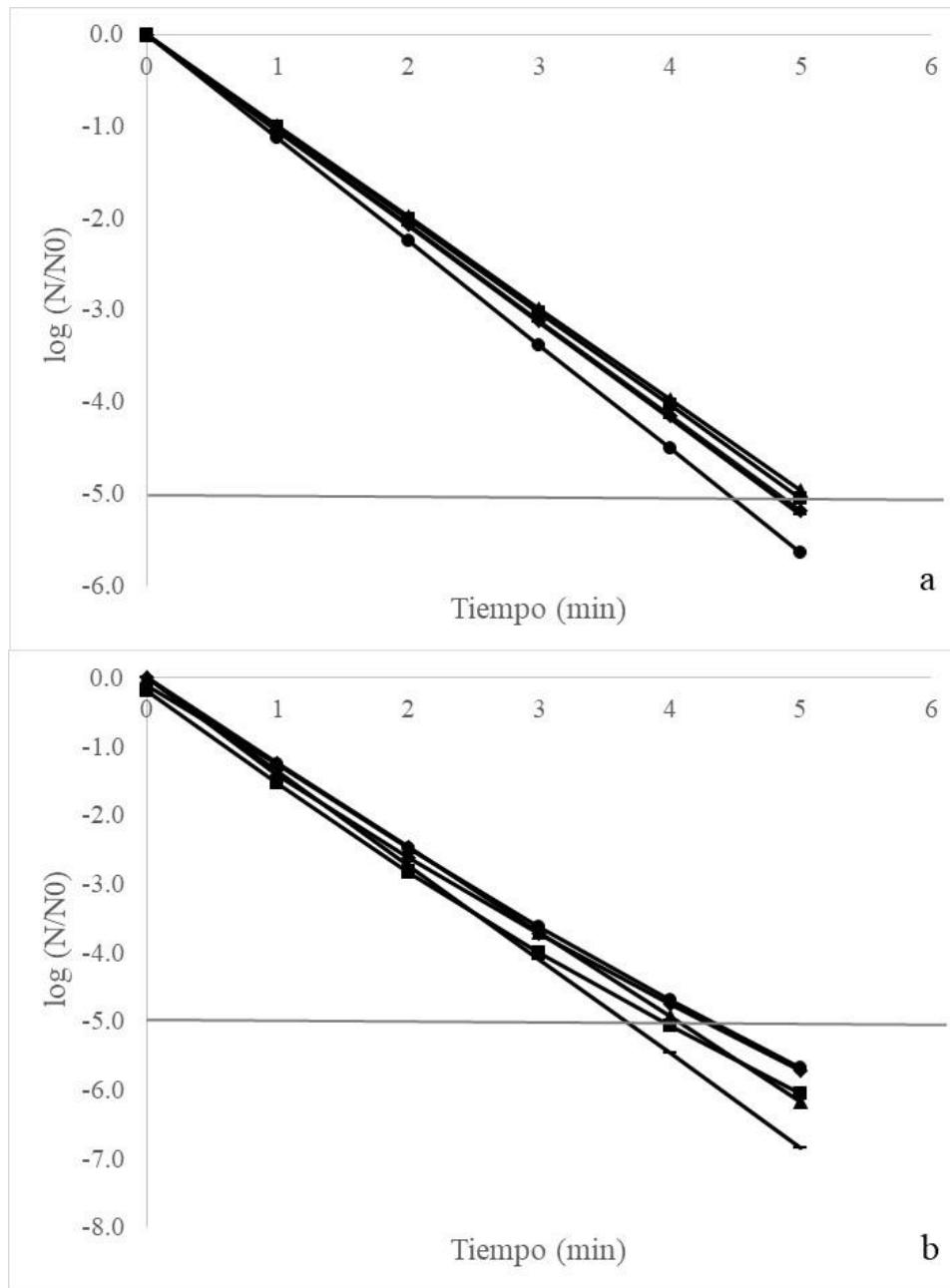


Figura 4. Cinética de primer orden de inactivación de *L. rhamnosus* en soluciones modelo tratadas con luz UV-C. a) 13.4 mL/s, b) 82.5 mL/s. ■= °Bx=8, pH=3; ◆= °Bx=8, pH=6; ▲= °Bx=10, pH=4.5; ●=12 °Bx, pH=3; □= °Bx=12, pH=6.

Lo anterior se puede corroborar en la Figura 5, en la que se presenta la cinética de inactivación *L. rhamnosus* en solución modelo con pH=3 y SST= 12%, como

ejemplo del efecto de la velocidad de flujo. En donde la línea azul representa la velocidad de flujo de 13.4 mL/s y cuya reducción microbiana es de 4 ciclos logarítmicos. Por su parte, la línea de color gris muestra el comportamiento del microorganismo cuando el tratamiento se lleva a cabo a una velocidad de flujo de 82.5 mL/s y la reducción logarítmica se ve aumentada hasta 5 ciclos logarítmicos. Esto es comparable con los resultados reportados por Ochoa Velasco y Guerrero Beltrán (2013), en donde presentaron el modelo cinético de primer orden para microorganismos mesófilos y *Zygosaccharomyces bailii*, en jugo de pitaya tratado con luz UV-C a diferentes caudales y tiempos de tratamiento. Los resultados arrojaron que cuanto mayor son las velocidades de flujo y los tiempos de tratamiento, mayor es la inactivación del mesófilo aeróbico y de la levadura, obteniendo una reducción de casi 2.0 ciclos logarítmicos con una velocidad de flujo de 30.33 mL/s, mientras que a una velocidad de flujo menor de 16.49 mL/s sólo se redujeron 1.2 ciclos logarítmicos.

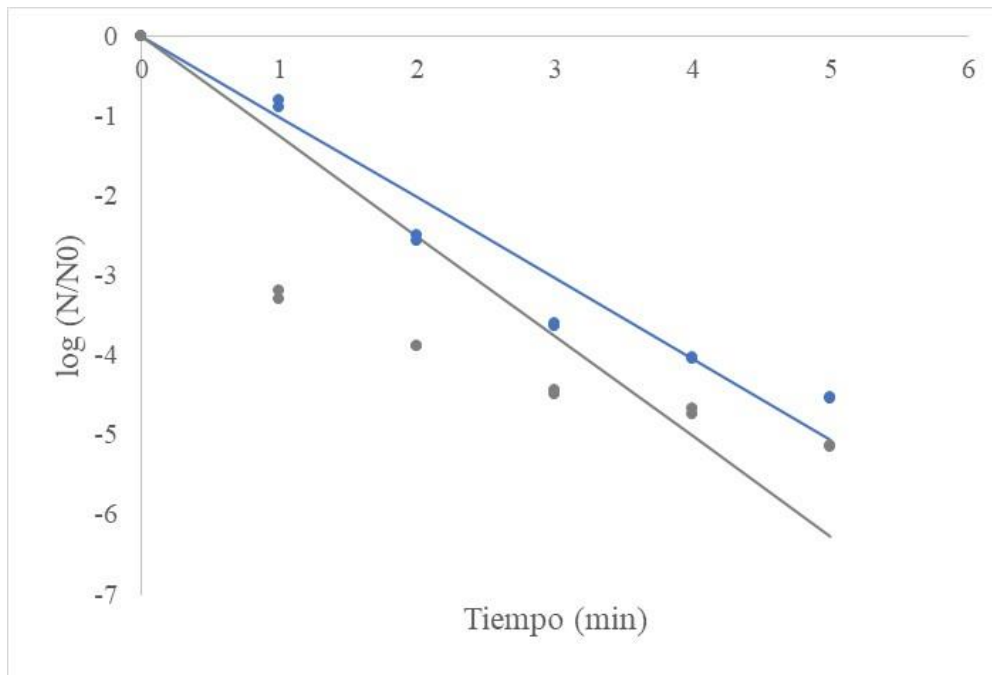


Figura 5. Efecto de la velocidad de flujo sobre la inactivación de *L. rhamnosus* inoculado en solución modelo (pH= 3, SST= 12) utilizando la cinética de primer orden. Línea azul= 13.4 mL/s, línea gris= 82.5 mL/s.

8.3 Modelo de Weibull

La Tabla 6 presenta los parámetros de Weibull de la inactivación de *L. rhamnosus* inoculado en soluciones modelo después de ser tratadas con luz UV-C. Los parámetros de Weibull b y n , nos indican el tiempo y la resistencia del microorganismo al tratamiento con luz UV-C, respectivamente (Ochoa Velasco et al., 2020). En general, todos los parámetros del modelo de Weibull mostraron un buen ajuste ($R^2 > 0.900$). Así mismo, podemos notar que una velocidad de flujo más alta aumenta el parámetro de b lo que significa que la tasa de inactivación o de muerte del microorganismo aumenta (Fig. 6). En este sentido, a una velocidad de 13.4 mL/s el resultado de b es de 2.41 ± 0.02 y al aumentar la velocidad a 82.5 mL/s en la misma solución, esta arroja una b igual a 3.67 ± 0.09 . En cuanto al parámetro n , todas las soluciones muestran un valor menor a 1, lo cual sugiere que los microorganismos restantes al tratamiento se han vuelto más resistentes, generando una capacidad de adaptación a la luz UV-C, este fenómeno es el que origina un efecto de cola en la gráfica (Ochoa Velasco, C.E., et al., 2020).

Tabla 6. Parámetros de Weibull de la inactivación de *L. rhamnosus* en soluciones modelo tratadas con luz UV-C.^a

Velocidad de flujo (mL/s)	SST (%)	pH	<i>b</i>	<i>n</i>	R ²
13.4	8	3	2.61 ± 0.00d	0.35 ± 0.00ab	0.942
	12	3	2.15 ± 0.02f	0.40 ± 0.00a	0.926
	10	4.5	2.41 ± 0.02e	0.34 ± 0.00ac	0.926
	8	6	2.37 ± 0.04def	0.32 ± 0.01bc	0.951
	12	6	2.37 ± 0.09def	0.31 ± 0.05bc	0.906
	8	3	2.53 ± 0.02de	0.36 ± 0.00abc	0.946
82.5	12	3	3.37 ± 0.05b	0.23 ± 0.01d	0.823
	10	4.5	3.67 ± 0.09a	0.22 ± 0.01de	0.902
	8	6	2.99 ± 0.00c	0.28 ± 0.00eg	0.980
	12	6	3.00 ± 0.11c	0.30 ± 0.01bcg	0.958

Promedio ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

La cinética de inactivación utilizando el modelo de Weibull se presenta en la Fig. 6. En esta podemos apreciar el comportamiento del microorganismo cuando el tratamiento es llevado a cabo a una velocidad de flujo de 13.4 mL/s, durante 12 minutos (Fig. 6a). A esta velocidad sólo una de las soluciones alcanza -6.0 ciclos logarítmicos, en cambio cuando aumenta la velocidad de flujo a 82.5 mL/s todas las soluciones sobrepasan los -6 ciclos logarítmicos (Fig. 6b), y el tratamiento resulta ser más eficiente. Los resultados obtenidos son comparables con lo realizado por Ochoa Velasco et al. (2014), en donde se inoculó leche de coco con *E. coli* y *S. typhimurium* y fue sometida a tratamiento con luz UV-C. Al someter la leche de coco a tratamiento, con una velocidad de flujo de 0.46 mL/s, *E. coli* presentó un valor de *b* igual a 0.058; mientras que, al aumentar el flujo hasta 30.33 mL/s el parámetro de

b aumentó a 0.433, el mismo fenómeno ocurrió para *Salmonella typhimurium*, a las mismas velocidades de flujo, b aumentó de 0.076 a 0.758.

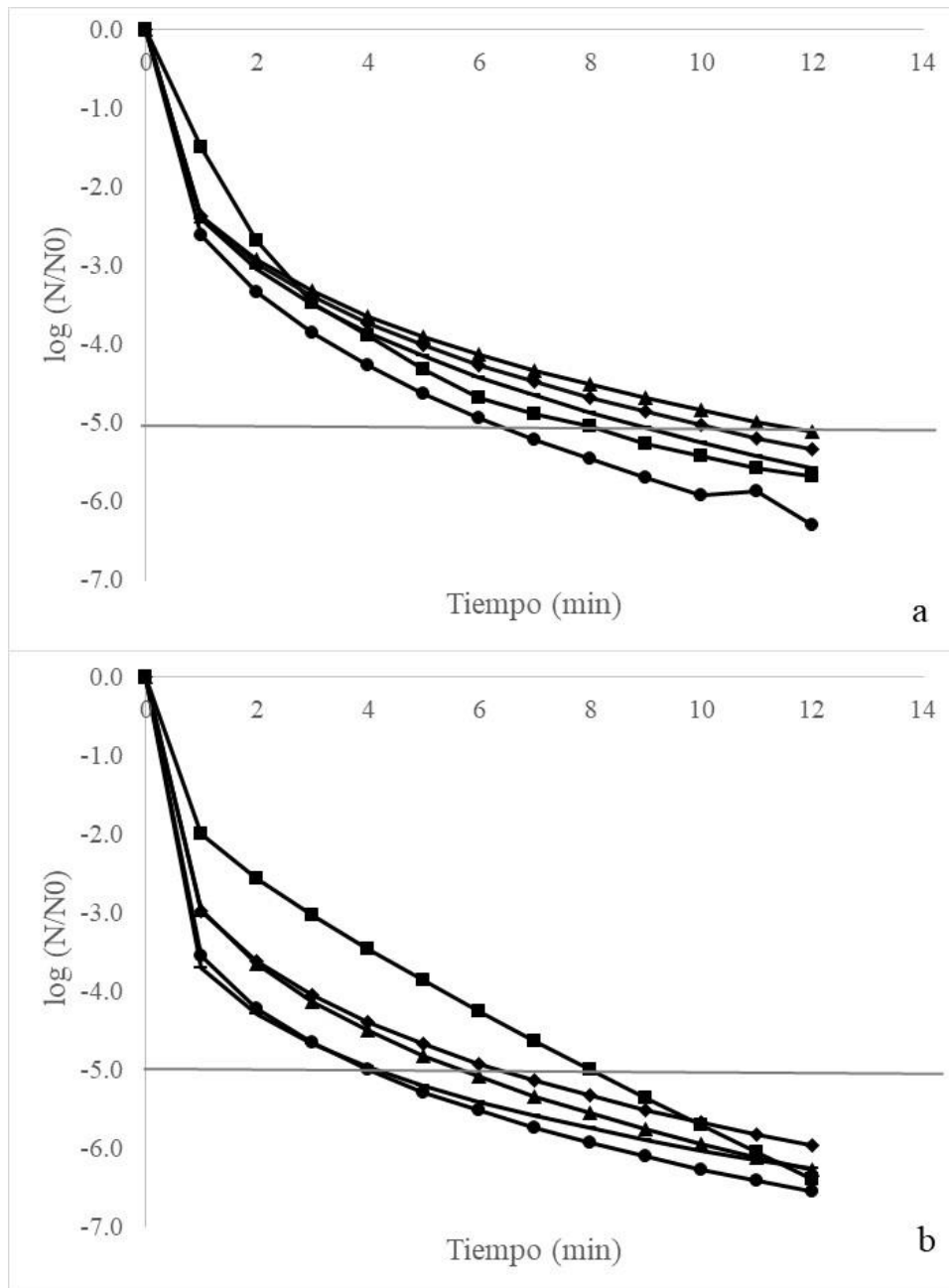


Figura 6. Simulación de la inactivación de *L. rhamnosus* en soluciones modelo tratadas con luz UV-C utilizando el modelo de Weibull. a) 13.4 mL/s, b) 82.5 mL/s. ■ = °Bx=8, pH=3; ◆ = °Bx=8, pH=6; ▲ = °Bx=10, pH=4.5; ● = 12 °Bx, pH=3; □ = °Bx=12, pH=6.

8.4 Modelo de Gompertz Modificado

En la Tabla 7 se presenta los datos obtenidos de la reducción microbiana en las soluciones modelo, ajustándolos al modelo de Gompertz. Se observa que a una velocidad más alta la solución con un pH de 6 y una concentración de SST de 12% tiene un aumento en A , parámetro que indica la muerte máxima que se alcanza durante el proceso. Es decir, se corrobora que a una velocidad de flujo de 82.5 mL/s hay mayor tasa de muerte del microorganismo. Tal como este resultado otros han sido obtenidos en diferentes investigaciones. Por ejemplo, en la realizada por Fenoglio et al. (2020), en donde el objetivo fue analizar la inactivación de un amplio espectro de microorganismos en jugos claros y turbios procesados por luz UV-C, entre los microorganismos evaluados se mencionan *S. cerevisiae*, *E. coli*, *C. parapsilosis* y *P. fluorescens*. Los datos obtenidos fueron ajustados con tres modelos diferentes, incluyendo el modelo de Gompertz y resultó que el parámetro C , relacionado con la población que permanece viable al final del tratamiento, superó las reducciones de ciclo logarítmico de 5.0 exigidas por la FDA. El modelo de Gompertz ha resultado ser estadísticamente válido para ajustar los valores experimentales de crecimiento bacteriano, porque presenta buen ajuste y ha mostrado un alto porcentaje de correlación entre las observaciones y predicciones (Cayre et al. 2001).

Tabla 7. Parámetros de Gompertz modificado de la inactivación de *L. rhamnosus* en soluciones modelo tratadas con luz UV-C.^a

Velocidad de flujo (mL/s)	SST (%)	pH	A	μ	λ	R ²
13.4	8	3	-6.09 ± 0.04d	3.11 ± 0.01a	-0.35 ± 0.03bc	0.972
	12	3	-5.48 ± 0.06bc	3.34 ± 0.06a	0.18 ± 0.05a	0.990
	10	4.5	-5.23 ± 0.10b	3.77 ± 0.12ab	0.10 ± 0.06ab	0.983
	8	6	-4.79 ± 0.02ab	3.83 ± 0.23a	-0.01 ± 0.05abc	0.974
	12	6	-4.59 ± 0.41a	4.18 ± 1.12a	0.03 ± 0.18abc	0.943
	8	3	-5.79 ± 0.047bcd	3.71 ± 0.13a	-0.15 ± 0.04bcd	0.928
82.5	12	3	-5.56 ± 0.27bcd	4.62 ± 0.01a	-0.41 ± 0.02d	0.917
	10	4.5	-5.91 ± 0.03cd	5.51 ± 0.54b	-0.23 ± 0.08cd	0.958
	8	6	-5.58 ± 0.01bcd	3.84 ± 0.04a	-0.50 ± 0.02d	0.897
	12	6	-6.01 ± 0.11cd	3.76 ± 0.13a	-0.33 ± 0.19 cd	0.971

^aPromedio ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

La Fig. 7 muestra el ajuste de los datos utilizando el modelo de Gompertz. Es evidente el efecto de la velocidad de flujo sobre la inactivación de *L. rhamnosus* inoculado en la solución modelo (pH= 6, SST= 12). La línea azul representa los resultados obtenidos a una velocidad de flujo de 13.4 mL/s y la línea gris una velocidad de flujo de 82.5 mL/s. Para ambos flujos hay un aumento en la inactivación microbiana, sin embargo, a un flujo mayor se alcanzan hasta -6 ciclos logarítmicos. Resultados similares fueron obtenidos por Ochoa Velasco et al. (2018), para la inactivación de *S. typhimurium* *L.rhamnosus* con luz UV-C, alcanzando 6 ciclos logarítmicos de reducción a una velocidad de flujo de 8 mL/s, mientras que con una velocidad de flujo de 0.5 mL/s y 4 mL/s se alcanzan resultados muy cercanos, pero menores a la velocidad anterior (Guerrero Beltrán y Barbosa Cánovas, 2005).

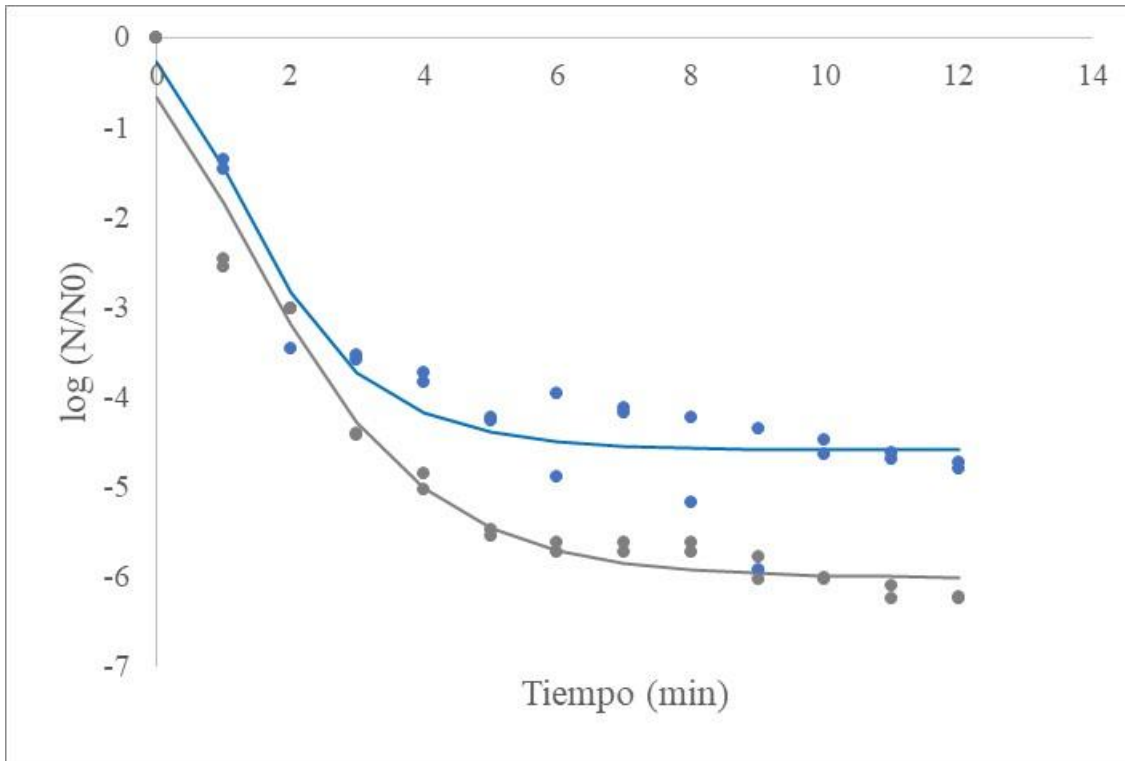


Figura 7. Simulación de la inactivación de *L. rhamnosus* en soluciones modelo tratadas con luz UV-C utilizando el modelo de Gompertz modificado. a) 13.4 mL/s, b) 82.5 mL/s.

9. CONCLUSIONES

- ♦ Se observó que a una velocidad de flujo alta, se presenta un mayor efecto sobre la inactivación de *L. rhamnosus*, probablemente esto se deba a la turbulencia generada durante el proceso.
- ♦ El pH resultó ser determinante en la reducción microbiana, a mayor pH mayor es el efecto de muerte en los microorganismos.
- ♦ La concentración de sólidos solubles totales presentes en las soluciones modelo interfirieron de manera negativa en la reducción de microorganismos, a mayor concentración menor muerte, debido a que las partículas impiden la penetración de luz UV-C.
- ♦ El modelo de primer orden sólo se pudo utilizar durante los primeros cinco minutos de tratamiento, pasado este tiempo el ajuste de datos no es adecuado debido a una curvatura en la linealidad.
- ♦ El modelo de Weibull presentó un mejor ajuste de datos que el modelo de Gompertz modificado.
- ♦ La luz UV-C resultó ser efectiva en la inactivación de *L. rhamnosus* en condiciones de pH ácido, menor cantidad de sólidos solubles totales y a una velocidad de flujo mayor; pH= 3, SST= 8 y 82.5 mL/s.
- ♦ Se corroboró la utilidad de los modelos matemáticos lineales y no lineales para predecir el comportamiento de microorganismos durante un proceso de inactivación con luz UV-C.

10. RECOMENDACIONES Y/O PERSPECTIVAS

- ♦ Utilizar otros modelos matemáticos para tener un panorama más extenso y conocer otros parámetros de relevancia asociados a estos modelos.
- ♦ Utilizar un microorganismo que sea Gram negativo y cuya proliferación pudiera tener mayor impacto en alimentos líquidos.
- ♦ Realizar cambios más drásticos en cuanto a la velocidad de flujo en el tratamiento con luz UV-C.
- ♦ Evaluar una mayor cantidad y variedad de soluciones modelo, modificando pH y concentración de sólidos solubles, en mayores concentraciones.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmad, S. I., Christensen, L., & Baron, E. (2017). History of UV Lamps, Types, and Their Applications. En *Advances in Experimental Medicine and Biología*, Vol. 996, 3-11.
2. Arsuaga, J.L. (2013). *Los aborígenes. La alimentación en la evolución humana*. Barcelona: RBA Libros.
3. Aymerich, M.T., Hugas M. & Monfort J.M. (1998) Review: bacteriocinogenic lactic acid bacteria associated with meat products. *Food Science and Technology International*. 4,141-158
4. Bachmann, L. (2020). IV Simposio de Fotobiofísica - UV e Virus: Dosimetria Ótica de Radiações. Universidad de São Paulo. Disponible en: <https://youtu.be/gszFygaDbal> (Acceso septiembre 2022)
5. Baranyi, J. & Roberts T.A. (1995). *International Journal of Food Microbiology*. 12, 421-424.
6. Baysal, A. H., Molva, C., & Unluturk, S. (2013). UV-C light inactivation and modeling kinetics of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in white grape and apple juices. *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), 494–498.
7. Buonanno, M., Randers Pehrson, G., Bigelow, A. W., Trivedi, S., Lowy, F. D., Spotnitz, H. M., Hammer, S. M., & Brenner, D. J. (2013). 207-nm UV Light - A Promising Tool for Safe Low-Cost Reduction of Surgical Site Infections. I: In Vitro Studies. *PLoS ONE*, 8(10), e76968.
8. Butz, P. & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International* 35, 279–284.
9. Cabral, A. (2017). Efecto de la luz ultravioleta sobre la calidad de hortalizas deshidratadas. Tesis de grado licenciatura en bromatología. Universidad Nacional de Cuyo.
10. Cadet, J., & Douki, T. (2018). Formation of UV-induced DNA damage contributing to skin cancer development. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 17(12), 1816-1841.
11. Casp Vanaclocha, A. & Abril-Requena, J. (2003). *Procesos de conservación de alimentos* (2ª ed.). Madrid, España: Mundi-Prensa.

12. Castro Ríos, K. (2011). Tecnología de alimentos. Ediciones de la U.
13. Cayre, M., Vignolo, G., & Garro, O. (2001). Validación y comparación de modelos de crecimiento microbiano. Universidad Nacional Del Nordeste, Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Argentina.
14. Cedrón Castro, J. (2016). El modelo de Gompertz y su aplicación en seguridad alimentaria. Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid.
15. Char, C. D., Mitilinaki, E., Guerrero, S. N., & Alzamora, S. M. (2010). Use of High-Intensity Ultrasound and UV-C Light to Inactivate Some Microorganisms in Fruit Juices. *Food and Bioprocess Technology*, 3(6), 797–803.
16. Chevrefils, G., Caron, É., Wright, H., & Sakamoto, G. (2006). UV dose required to achieve incremental log inactivation of bacteria, protozoa and viruses. *IUVA News*, 8(1), 38-45.
17. Coll Cardenas, F. J., Giannuzzi, L., Noia, M. A., & Zaritzky, N. E. (2017). El modelado matemático: una herramienta útil para la industria alimenticia. *Ciencia Veterinaria*, 3(1), 22-28.
18. Díaz Torres, R. (2009). Conservación de los alimentos. Editorial Félix Varela. Disponible en: <https://docplayer.es/58246269-Editorial-felix-varela.html> (Acceso junio 2022)
19. FDA. (2001). Hazard Analysis and Critical Point (HACCP). Procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice. Final rule. *Federal Register*, 66, 6137–6202.
20. Fenoglio, D., Ferrario, M., García Carrillo, M., Schenk, M., & Guerrero, S. (2020). Characterization of microbial inactivation in clear and turbid juices processed by short-wave ultraviolet light. *Journal of Food Processing and Preservation*, e14452.
21. Fernández Oliveras, A., Rubino, M., & Perez, M. M. (2013). Scattering and absorption properties of biomaterials for dental restorative applications. *Journal of the European Optical Society: Rapid Publications*, 8, 13056.
22. Gálvez A., Lopez R.L., Abriouel H. (2008). Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology* 28,125-152.

23. García, C.M., Ferrari, M. & Guerrero, S. (2018). Effectiveness of UV-C light assisted by mild heat on *Saccharomyces cerevisiae* KE 162 inactivation in carrot-orange juice blend studied by flow cytometry and transmission electron microscopy. *Food Microbiology* 73, 1– 10.
24. García, R.M. (2003). *Microbiología Predictiva*. Grupo de investigación HIBRO, AGR0170. Dpto de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Córdoba.
25. Garre Pérez, A., Egea Larrosa, J.A. & Fernández Escámez, P.S. (2016). Modelos matemáticos para la descripción del crecimiento de microorganismos patógenos en alimentos. *Anuario de jóvenes investigadores*, Vol. 9.
26. Guerrero Beltrán, J.Á. & Barbosa Cánovas, G.V. (2004). Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light. *Food Science Technology International*; 10(3), 137–147.
27. Guerrero Beltrán, J.Á. & Ochoa Velasco, C.E. (2021). Ultraviolet-C light Technology and Systems for Preservation of Fruit Juices and Beverages. In: K. Muthukumarappan, K. (Eds.), *Innovative Foods Processing Technologie: A comprehensive Review*, vol.2. Elsevier, pp. 210-226.
28. Guerrero Beltrán, J.A., Barbosa Cánovas, G.V. (2005). Reduction of *Saccharomyces cerevis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in apple juice by ultraviolet light. *J.Food Process Eng.* 8, 427-452.
29. Hassan, K. (2002). *Nonlinear Systems*. Ed 3. Prentice Hall. Disponible en: https://www.academia.edu/43090027/Nonlinear_Systems_Third_Edition_Hassan_Khalil (Acceso Junio 2022)
30. Hijnen, W.A., Beerendonk, E.F., Medema, G.J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan oocytes in water: a review. *Water Research*. 40, 3–22.
31. Hockberger, E. (2000). The discovery of the demaging effect of sunlight on bacteria. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 58. 185–191.

32. Horra Navarro, J.D. (2019). Modelos matemáticos para ciencias experimentales. Ediciones Díaz de Santos. Disponible en: <https://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788490522097.pdf> (Acceso junio 2022)
33. Horton, L., Torres, A. E., Narla, S., Lyons, A. B., Kohli, I., Gelfand, J. M., Ozog, D. M., Hamzavi, I. H., & Lim, H. W. (2020). Spectrum of virucidal activity from ultraviolet to infrared radiation. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 19(10), 1262-1270.
34. ICMSF. (1997). Principles for the establishment of control measures to meet food safety objectives. Draft document presented at the 30th Annual meeting of the ICMSF, France.
35. Kim, S.J., Kim, D.K., & Kang, D.H. (2016). Using UVC Light-Emitting Diodes at Wavelengths of 266 to 279 Nanometers To Inactivate Foodborne Pathogens and Pasteurize Sliced Cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(1), 11-17.
36. Klotz, B. (2011). La Microbiología Predictiva. *Alimentos Hoy*, 11(11), 306-307.
37. Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 138–155.
38. Koutchma, T., Keller, S., Chirtel, S., & Parisi, B. (2004). Ultraviolet disinfection of juice products in laminar and turbulent flow reactors. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(2), 179–189.
39. Kuo, J., Chen, C., Nellor, M. (2003). Standardized collimated beam testing protocol for water/wastewater ultraviolet disinfection. *Journal of Environmental Engineering*. ASCE 129, 774–779
40. Linton R.H., Carter W.H., Pierson M.D. & Hackney C.R. (1995). Use of a modified Gompertz equation to model nonlinear survival curves for *Listeria monocytogenes* Scott A. *J Food Prot* 58, 946–95.
41. Llavador Colomer, F. (2017). Modelos matemáticos, reacciones químicas y no linealidad. Publicacions Universitat D'Alacant. Disponible en:

<https://elibro.bibliotecabuap.elogim.com/es/ereader/bibliotecasbuap/60608>
(Acceso Junio 2022).

42. Lopes Correira, H. G. (2018). Microbiología predictiva en industrias lácteas. Universidad de la Laguna. Disponible en: <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/10868/Microbiologia%20Predictiva%20en%20Industrias%20Lacteas.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Acceso Junio 2022).
43. Mackenzie, D. (2020). Ultraviolet Light Fights New Virus. *Engineering*, 6(8), 851-853.
44. Matak, K.E., Churey, J.J., Worobo, R.W., Sumner, S.S., Hovingh, E., Hackney, C.R. & Persona, M.D. (2005). Efficacy of UV light for the reduction of *Listeria monocytogenes* in goat's milk. *Food Prot.* 68, 2212-2216.
45. Matthes, R. (2004). Guidelines on limits of exposure to ultraviolet radiation of wavelengths between 180 nm and 400 nm (incoherent optical radiation). *Health Physics*, 87(2), 171-186.
46. McClure, P. J., Blackburn, C.de W., Cole, M. B., Curtis, P. S., Jones, J. E., Legan, J. D., Ogden, I. D., Peck, M. W., Roberts, T. A., Sutherland, J. P., & Walker, S. J. (1994). Modeling the growth, survival and death of microorganisms in foods: the U.K. food micromodel approach. *International Journal of Food Microbiology*, 23, 265.
47. McMeekin, T.A. (1993). Predictive microbiology theory and application: Is it all about rates? *Food Control* 29, 290-299.
48. Mishra, B. (2020). Is 'FAR UVC' the Nearest Solution for Pandemic Containment? *Journal of Advanced Research in Medical Science & Technology*, 7(03), 27-31.
49. Naunovic, Z., Lim, S., & Blatchley, E. R. (2008). Investigation of microbial inactivation efficiency of a UV disinfection system employing an excimer lamp. *Water Research*, 42(19), 4838-4846.
50. NORMA Oficial Mexicana NOM-131-SSA1-2012, Productos y servicios. Fórmulas para lactantes, de continuación y para necesidades especiales de nutrición. Alimentos y bebidas no alcohólicas para lactantes y niños de corta

edad. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Etiquetado y métodos de prueba.

51. Ochoa Velasco, C. E., & Guerrero Beltrán, J. Á. (2013). Short-wave ultraviolet-C light effect on pitaya (*Stenocereus griseus*) juice inoculated with *Zygosaccharomyces bailii*. *Journal of Food Engineering*, 117(1), 34–41.
52. Ochoa Velasco, C. E., Ávila Sosa, R., Hernández Carranza, P., Ruíz-Espinosa, H., Ruiz-López, I. I., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2020). Mathematical Modeling Used to Evaluate the Effect of UV-C Light Treatment on Microorganisms in Liquid Foods. *Food Engineering Reviews*.
53. Ochoa Velasco, C. E., Cruz González, M., & Guerrero Beltrán, J. Á. (2014). Ultraviolet-C light inactivation of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in coconut (*Cocos nucifera* L.) milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26, 199–204.
54. Ochoa Velasco, C., Ávila Sosa, R., Hernández Carranza, P., Ruíz Espinosa, H., Ruiz López, I., & Guerrero Beltrán. (2020). Mathematical Modeling Used to Evaluate the Effect of UV-C Light Treatment on Microorganisms in Liquid Foods. Springer Science.
55. Ochoa Velasco, C.E., Díaz Lima, M.C., Ávila Sosa, R., Ruiz López, I.I., Corona Jiménez, E., Hernández Carranza, P., López Malo, A. & Guerrero Beltrán, J.A. (2018). Effect of UV-C light on *Lactobacillus rhamnosus*, *Salmonella Typhimurium*, and *Saccharomyces cerevisiae* kinetics in inoculated coconut water: Survival and residual effect, *Journal of Food Engineering*, Volume 223, 255-261,
56. Peleg, M. & Cole, M.B. (1998). Reinterpretation of microbial survival curves. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 38, 353–38.
57. Peleg, M., Normand, M. D., & Damrau, E. (1997). Mathematical interpretation of dose- response curves. *Bulletin of Mathematical Biology*, 59, 747.
58. Ramírez, J. (2006). Liofilización de Alimentos. Cali, Colombia: Revista ReCiTeIA, Universidad del Valle. 236 p.
59. Rodiles López, J.O., & Zamora Vega, R. (2021). Tecnologías emergentes en la conservación de alimentos. *TecnoAgro*. 146. <https://tecnoagro.com.mx/>

60. Rodríguez Sucedá, R., Rojo Martínez, G.E., Martínez Ruiz, R., Piña Ruiz, H.H., Ramírez Valverde, B., Vaquera Huerta, H., & Cong Hermida, M. (2014). Envases inteligentes para la conservación de alimentos. *Ra Ximhai*, Vol. 10, Número 6. 25, 4.
61. Rodríguez Vargas. (2016). Variabilidad de la inactivación microbiana y de la fase de latencia de los microorganismos supervivientes a un proceso de acidificación. Tesis presentada para obtener el grado de doctor por la Universidad Complutense de Madrid (España). Facultad de veterinaria. Departamento de nutrición, bromatología y tecnología de alimentos.
62. Ross, T., McMeekin, T.A., & Baranyi, J. (2000). Predictive microbiology and food safety. En: *Encyclopedia of Food Microbiology*. R.K. Robinson, C.A. Batt and P.D. Patel (eds), Academic Press, San Diego, 1699-1710.
63. Sánchez Vega, M.V. (2008). La capa de ozono. *Revista Biocenosis*. Vol. 21 (1-2). Costa Rica.
64. Sastry, S.K., Datta, A.K., & Worobo, R.W. (2000). Ultraviolet light. *Journal Food Science*, Supplement 65(12), 90–92.
65. Schalk, S., Adam, V., Arnold, E., & Brieden, K. (2006). UV-lamps for disinfection and advanced oxidation—Lamp types, technologies and applications. *IUVA news*, 8(1), 32-37.
66. Sharma, G. (1999). Ultraviolet light. *Encyclopedia of Food Microbiology*. London, U.K.: Academic Press. vol. 3, 2208-2214.
67. Silveira, A.C., Baeza, A., & Escalona, V.H. (2015). Effect of ultraviolet-C radiation combined with unconventional atmosphere packaging on the quality of fresh-cut arugula (*Eruca sativa* Mill.). *Journal of Food Safety*, 35(5), 523-532.
68. Suárez, R. (2001). Conservación de alimentos por irradiación. *Rev. Invenio*. 4(6), 85-124.
69. Toledo Del Árbol, M.J. (2016). Conservación de alimentos mediante tratamientos por alta presión hidrostática. Facultad de Ciencias experimentales, Universidad de Jaén. 163, 14-19.

70. Tortora, G. J., Funke B. R., & Case, Ch. L. (2007). *Introducción a la Microbiología* 9na Edición. Editorial Médica Panamericana.
71. Vitzilaiou, E. (2022). The impact of Bacterial Cell aggregation on UV inactivation kinetics. Postdoctoral researcher, University of Copenhagen, Department of Food Science, Section of Microbiology and Fermentation.
72. Wang, L. V., & Wu, H.I. (2007). *Biomedical Optics Principles and Imaging*. En *Biomedical Optics: Principles and Imaging*. John Wiley & Sons, Inc. Disponible en: https://www.academia.edu/36084676/Wang_2007_Biomedical_Optics_Principles_and_Imaging (Acceso Junio 2022).
73. Whiting, R. C., & Buchanan, R. L. (1997). Development of quantitative model for *Salmonella enteritidis* in pasteurized liquid egg. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 111.
74. Whiting, R.C. (1993). *Microbial Modelling in Foods*. Eastern Regional Research Center, Agricultural Research Service, USDA – 006219
75. Wilches Visbal, J. H., Bandera Barros, J.J. & Méndez Hernández, J.C. (2021). Luz ultravioleta C: Una alternativa eficiente contra la pandemia. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*. Vol. LXI (1), 3-13.
76. Wolfe, R. (1990). Ultraviolet disinfection of potable water. *Environmental Science & Technology*. 24, 6, 768-773.
77. Wright, H. B. & Cairns, W. L. (1998). Desinfección de agua por medio de luz ultravioleta. Simposio sobre calidad del agua: desinfección efectiva, Lima, Perú.
78. Wright, J. R., Sumner, S. S., Hackney, C. R., Pierson, M. D., & Zoeklein, B. W. (2000). Efficacy of Ultraviolet Light for Reducing *Escherichia coli* O157:H7 in Unpasteurized Apple Cider. *Journal of Food Protection*, 63(5), 563–567.
- Xiong, R., Xie, G., Edmondson, A.E., & Sheard, M.A. (1999). A mathematical model for bacterias inactivation. *Int. J. Food Microbiol.* 46, 45-55