

# Inactivación de *Escherichia coli* en soluciones modelo mediante UV-C y UV-LEDs

Pihen, C.<sup>1\*</sup> • Franco Vega, A.<sup>2</sup> • Mani-López, E.<sup>1</sup> • López-Malo, A.<sup>1</sup> • Ramírez Corona, N.<sup>1</sup>

*Palabras clave:* luz ultravioleta, diodos emisores de luz ultravioleta, *Escherichia coli*

*Key words:* ultraviolet light, ultraviolet light-emitting diodes, *Escherichia coli*

## Introducción

Los tratamientos térmicos son generalmente utilizados en el procesamiento de alimentos y bebidas, para prolongar la vida de anaquel de los productos de manera eficiente y garantizar la inactivación de microorganismos patógenos, mediante una relación tiempo-temperatura de pasteurización. Entre los microorganismos de interés, *Escherichia coli*, es considerada una bacteria patógena para el control de la inocuidad dentro de la industria alimentaria, debido a su adaptación a un amplio rango de temperatura, a actividades de agua ( $a_w$  mínima de 0.95) y su capacidad de proliferar en alimentos ácidos [1]. A pesar de la efectividad de este tipo de procesamiento, se ha evaluado

que estos procesos generalmente presentan un alto consumo de energía, además de formar subproductos tóxicos por la presencia de altas concentraciones de proteínas/azúcares o compuestos termosensibles, como el pardeamiento enzimático o la oxidación de compuestos bioactivos, que deterioran las propiedades nutrimentales y sensoriales en los alimentos [2-3].

En la actualidad, las tecnologías no térmicas que emplean radiación de luz ultravioleta, como el uso de luz ultravioleta de onda corta (UV-C) o los diodos emisores de luz ultravioleta (UV-LEDs) han ganado especial atención en la industria de alimentos líquidos

1 Departamento de Ingeniería Química, Alimentos, Ambiental y Energía. Universidad de las Américas Puebla. Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México. Tel: +52(222)2292000.

2 Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Dr. Manuel Nava 6, Zona Universitaria Poniente, 78210 San Luis Potosí. México.

\* christelle.pihenmz@udlap.mx



debido al bajo consumo de energía requerido durante el tratamiento, así como a una notoria reducción en la pérdida de propiedades nutrimentales y sensoriales en los alimentos tratados. Sin embargo, la presencia de compuestos de color, solutos orgánicos y materia en suspensión reducen la eficiencia de la luz ultravioleta en la inactivación de microorganismos patógenos, en los alimentos líquidos [4]. Si bien a la fecha no existe una norma específica sobre la dosis de UV máxima o mínima por reglamento, la FDA establece que debe alcanzarse una reducción mínima de 5 log en microorganismos patógenos en jugos de frutas y sus derivados [5]. Por ello, el objetivo del presente estudio es evaluar la eficiencia de tratamientos con UV-C y UV-LEDs utilizando soluciones modelo formuladas con diferentes características de color, viscosidad y concentración de sólidos solubles. Se determinó el tiempo requerido para la inactivación de 5 ciclos logarítmicos de *E. coli* inoculada en dichas soluciones, y se evaluó el efecto del tratamiento en las propiedades de color de las soluciones.

## Metodología

### *Desarrollo y caracterización de las soluciones modelo.*

Las soluciones modelo se prepararon con diferentes concentraciones de sacarosa, goma xantana y tartrazina. Tomando como referencia los valores de densidad, viscosidad y color de alimentos líquidos comerciales, tales como jugos, néctares, compotas y alimentos semisólidos para bebés. Para las soluciones modelo y la caracterización de los alimentos, el color se determinó con el colorímetro CM-2300d® (Konica Minolta, Países Bajos), mediante los parámetros *L*, *a* y *b* de la escala de Hunter. El pH se midió con el potenciómetro Orion Star® A211 (Thermo Scientific, Tokio, Japón), los sólidos solubles totales (°Brix) se determinaron con un refractómetro ATC-1E® (Atago, Tokio, Japón) y los valores de viscosidad se determinaron con un viscosímetro DV-II +® (Brookfield, Totonto, Canadá). Todas las mediciones se realizaron por triplicado antes y después de cada tratamiento.

### *Preparación del inóculo.*

*Escherichia coli* ATCC 25922 se cultivó en 50 mL de

caldo soya tripticaseína estéril (BD Bioxon®, Estado de México, México) a 37 °C durante 18 h para cada prueba. Posteriormente, se inoculó una concentración aproximada de 107 UFC/mL en 25 mL de cada solución modelo pasteurizada.

### *Tratamiento mediante luz ultravioleta de onda corta (UV-C).*

El módulo de UV-C está formado por una lámpara germicida de amalgama de mercurio de baja presión de 450 mm de longitud y 26 mm de diámetro (FL 15 GER, Lumiaction®), rodeada de un manguito de cuarzo y con un pico máximo de radiación de 254 nm, 0.360 A y 15 W, de acuerdo con la ficha técnica del fabricante. La lámpara de cuarzo se colocó en una caja de madera (54 X 29 X 28 cm) con recubrimiento de aluminio y las muestras (10 mL con 5 mm de profundidad) se colocaron en cajas Petri de 60 mm de diámetro a 50 mm por debajo de la lámpara de mercurio. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente y el cambio de temperatura se midió con un termopar digital (SDL200 Extech Instruments®, Massachusetts, Estados Unidos).

### *Tratamiento mediante diodos emisores de luz ultravioleta (UV-LEDs).*

El equipo de UV-LEDs (PearlBeam®: PB-S-255-L, AquiSense Technologies, North Carolina, USA) cuenta con seis electrodos con un flujo radiante de 5.2 mW y se utilizaron las longitudes de onda de 255, 265 y 280 nm. Los LEDs se fijaron a 50 mm por encima de la superficie de cada muestra (10 mL) contenida en una caja Petri estéril (60 mm de diámetro interno). El tiempo de irradiación, al igual que para el tratamiento de UV-C, se controló de 0 hasta 60 min con una dosis de UV correspondiente a 2 mJ/cm<sup>2</sup>/min. De igual manera, todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente y se midió el cambio de temperatura.

### *Degradación del color.*

La degradación del color por efecto de la luz UV se evaluó mediante un colorante indicador, de grado alimentario. La tartrazina (E-102) es un colorante azoico con un peso molecular de 534,36 g/mol, utilizado como dosímetro de baja dosis para procesos en los que la radiación induce el blanqueo del color. La cur-

va estándar se generó con diferentes concentraciones de una solución de colorante con agua destilada midiendo la absorbancia a 425 nm de la muestra con un espectrofotómetro UV-1900® (Shimadzu, Japón). La absorbancia se correlacionó linealmente con la concentración de colorante en el rango estudiado y se utilizó la ecuación 1 (Figura 1) para determinar la concentración de colorante en los análisis donde C es la concentración del colorante (g/L), b es la intercepción y m la pendiente.

Los análisis estadísticos de los parámetros evaluado se realizaron con Minitab® (State College, PA) versión 18.

### Resultados y discusión

En este estudio, se determinó el tiempo efectivo para la inactivación de *E. coli* en las cinco soluciones modelo: agua (A), agua (A)+ tartrazina (T), agua (A) + só-

lidos solubles (SS), agua (A)+goma xantana (GX) y la mezcla de los tres componentes (T+SS+GX) en agua (A), tratadas mediante UV-C y UV-LEDs. La Figura 1 muestra el tiempo de procesamiento requerido para inactivar 5 ciclos logarítmicos en las diferentes soluciones. Se observó que para las soluciones con mayor viscosidad ambas tecnologías mostraron una menor eficiencia en la inactivación de *E. coli*. El tratamiento mediante UV-LEDs requirió mayor tiempo para inactivar la carga microbiana en las cinco soluciones evaluadas, con un tiempo máximo de 60 min para la mezcla T+SS+GX, en comparación con 30 min que requirió el tratamiento mediante UV-C para la misma solución (Figura 2).

Tomando como sistema de referencia al agua destilada (A), se puede observar que ambas tecnologías presentan una alta eficiencia en la inactivación.

$$[C] = \frac{ABS - b}{m}$$

Figura 1. Ecuación 1

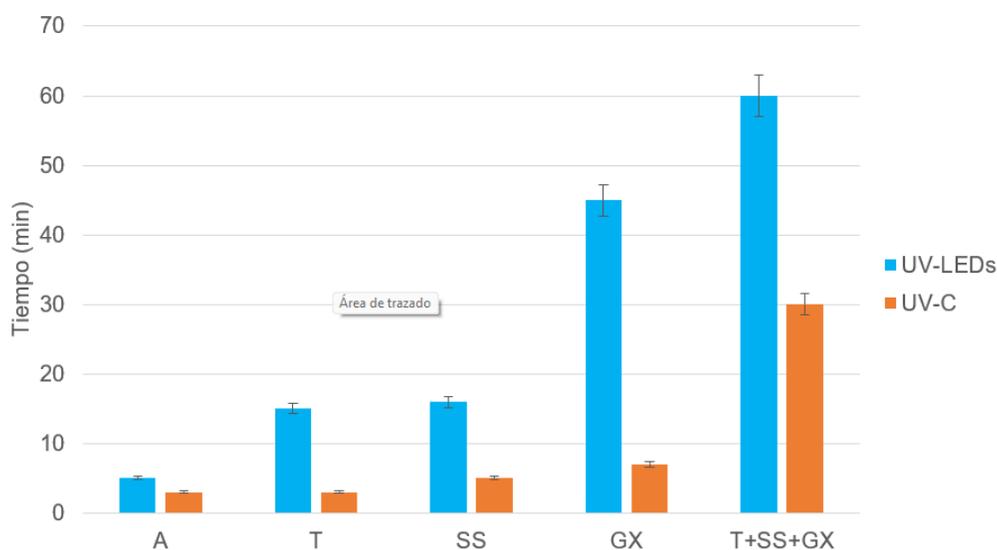


Figura 2. Tiempo requerido para la inactivación de 5 log (UFC/mL) en soluciones modelo mediante UV-C y UV-LEDs

Sin embargo, a medida que se añaden compuesto de color, así como sólidos suspendidos y sólidos solubles, el rendimiento en la inactivación disminuye de manera importante, principalmente en el tratamiento mediante UV-LEDs. Este efecto también fue observado por Akgün y Ünlütürk [6], donde la inactivación de *E. coli* mediante un equipo de UV-LEDs logró un mayor rendimiento en jugo de manzana clarificado que sin clarificar; 1.64 log UFC/mL y 2 log UFC/mL en el jugo de manzana sin clarificar y 3.92 log UFC/mL y 4.40 log UFC/mL en jugo clarificado a longitudes de onda de 254 nm y 280 respectivamente. Baykuş, Akgün y Unluturk [7] lograron una máxima inactivación de *E. coli* (>4 log) en el procesamiento de una mezcla de jugos sin clarificar de frutas y verduras durante 40 min, combinando diferentes longitudes de onda, similar a lo reportado en nuestro estudio. Del mismo modo, [8] observaron una inactivación similar, de >5 log de *E. coli* mediante UV-C en fluidos modelos altamente opacos, tratados en capas finas y tomando como referencia diferentes bebidas comerciales.

Finalmente, respecto a las propiedades fisicoquímicas evaluadas durante ambos tratamientos, como se muestra en la Tabla 1, no se observó ninguna diferencia significativa ( $p>0.05$ ) en el pH, los sólidos solubles, ni la viscosidad entre los dos tratamientos. Sin embargo, el tratamiento mediante UV-C presentó un aumento significativo ( $p<0.05$ ) en la temperatura

de las muestras tratadas y una degradación del  $65\% \pm 0.01$  de tartrazina en las muestras con colorante a un tiempo máximo de 30 min. Comparado con el proceso mediante UV-LEDs donde la tartrazina se degradó un máximo de  $5\% \pm 0.002$  después de 60 min y no hubo un cambio de temperatura significativo ( $p>0.05$ ).

## Conclusión

Este trabajo mostró la eficiencia en la inactivación de *Escherichia coli* mediante dos tecnologías emergentes que emplean luz ultravioleta (luz ultravioleta de onda corta con lámpara de baja presión y diodos emisores de luz ultravioleta) en soluciones con componentes de color, sólidos suspendidos y sólidos solubles, obteniendo resultados favorables en todos los ensayos. La tasa de inactivación global siguió la tendencia  $A > T > SS > GX > T+SS+GX$ . Además, se identificó que si bien el tratamiento mediante UV-LEDs requirió mayores tiempos de tratamiento para alcanzar la inactivación establecida por la FDA, la temperatura y el colorante en las muestras no presentaron cambios significativos en comparación al tratamiento con UV-C. Los resultados obtenidos sugieren que el uso de UV-LEDs es una tecnología emergente viable para su uso en el procesamiento de alimentos con diferentes viscosidades, y sería interesante evaluar su implementación a mayor escala, o bien en operación de flujo continuo.

**Tabla 1.** Propiedades fisicoquímicas de las soluciones modelo no tratadas, tratadas mediante UV-C y UV-LEDs

	Sin tratamiento	UV-C	UV-LEDs
pH	$6.78 \pm 0.01^a$	$6.81 \pm 0.02^a$	$6.80 \pm 0.01^a$
Brix	$22 \pm 0.01^a$	$22 \pm 0.70^a$	$22 \pm 0.01^a$
Degradación de tartrazina (%)	$0^a$	$65 \pm 0.01^b$	$5 \pm 0.002^a$
Temperatura (°C)	$25.5 \pm 2.05^a$	$34.4 \pm 1.84^b$	$24.3 \pm 1.77^a$

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencia significativa en los valores entre tratamientos

---

## Referencias

1. Luna-Guevara JJ, Arenas-Hernandez MM, Martínez de la Peña C, Silva JL, Luna-Guevara ML. The role of pathogenic *E. coli* in fresh vegetables: Behavior, contamination factors, and preventive measures. *International journal of microbiology*. 2019. doi: 10.1155/2019/2894328
2. Lee HS, Coates GA. Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. *LWT-Food Science and Technology*. 2003. doi:10.1016/S0023-6438(02)00087-7
3. Putnik P., Kresoja Ž., Bosiljkov T., Jambrak A. R., Barba F. J., Lorenzo J. M., Kovačević D. B. Comparing the effects of thermal and non-thermal technologies on pomegranate juice quality: A review. *Food Chemistry*. 2019. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.11.131
4. Koutchma T, Popović V. UV light-emitting diodes (LEDs) and food safety. *Ultraviolet LED technology for food applications*. 2019. doi: 10.1016/B978-0-12-817794-5.00005-4
5. U.S. Food and Drug Administration. 21 CFR Part 179. Irradiation in the production, processing, and handling of food. *Fed. Regist.* 65: 71056-71058. 2001
6. Akgün PM, Ünlütürk S. Effects of ultraviolet light emitting diodes (LEDs) on microbial and enzyme inactivation of apple juice. *International Journal of Food Microbiology*. 2017. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.08.007
7. Baykuş G, Akgün MP & Unluturk S. Effects of ultraviolet-light emitting diodes (UV-LEDs) on microbial inactivation and quality attributes of mixed beverage made from blend of carrot, carob, ginger, grape and lemon juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2021. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.08.007
8. Pendyala B, Patras A, Gopisetty VVS, Sages M. UV-C inactivation of microorganisms in a highly opaque model fluid using a pilot scale ultra-thin film annular reactor: Validation of delivered dose. *Journal of Food Engineering*. 2021. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2020.110403