

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Ciencias e Ingenierías

Efecto de la radiación ultravioleta de onda corta (UV-C) en la calidad fitosanitaria de la vainilla (*Vainilla tahitensis*)

Juan Esteban Espinosa

Mario Caviedes, MSc., Dr., Director de Tesis

Tesis de grado presentada como requisito
para la obtención del título de Ingeniero en Agroempresas

Quito, Enero 2014

Universidad San Francisco de Quito

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

**Efecto de la radiación ultravioleta de onda corta (UV-C) en la calidad
fitosanitaria de la vainilla (*Vainilla tahitensis*)**

Juan Esteban Espinosa Albornoz

Mario Caviedes, MSc., Dr.

Director de Tesis

.....

Eduardo Uzcátegui, PhD.

Co-Director de Tesis

.....

Antonio León, PhD.

Miembro del Comité de Tesis

.....

Raúl de la Torre, PhD.

Miembro del Comité de Tesis

.....

Ximena Córdova, PhD

Decana del Colegio de Ingenierías

.....

Quito, Enero 2014

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

Nombre: Juan Esteban Espinosa Albornoz

C. I.: 1714327259

Fecha: Quito, Enero de 2014

Resumen

La vainilla es una planta originaria de Centro América y de las regiones tropicales de México, perteneciente a la familia de las Orchidaceae siendo la única de esta familia que produce frutos comestibles; es apetecida por su gran sabor aromático, utilizada como saborizantes de bebidas y para la cocina gourmet. La calidad de la vainilla se ve en función de la sanidad, tamaño y características organolépticas de las vainas, por lo que se requiere de un tratamiento postcosecha que además de desinfectar el producto, permita mantener las cualidades organolépticas del mismo. La luz ultravioleta de onda corta (UV-C) es un medio de desinfección mundialmente utilizado; algunos de los efectos benéficos de la luz UV-C son: inactivación de los microorganismos, síntesis de compuestos relacionados con mecanismos de defensa natural (fitoalexinas) y aumento de las propiedades nutraceuticas de los alimentos. La presente investigación permitió evaluar el efecto de la luz UV-C para mantener la calidad fitosanitaria de la vainilla, cuantificando su efecto en los microorganismos presentes en las vainas. Para esto las vainillas fueron irradiadas con 9 tratamientos distintos de luz UV-C, donde se alternaron diferentes distancias y tiempos de exposición a la fuente de luz UV-C, para luego de 14 días realizar un análisis microbiológico y compararlo con un testigo a temperatura ambiente. Los resultados permitieron determinar el efecto de la luz UV-C en la calidad fitosanitaria de las vainillas, donde el tiempo de exposición y la distancia a la fuente de luz UV-C jugaron un papel importante. Las variables cuantificadas, fueron: aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes totales y *Escherichia coli*. El mejor tratamiento fue la combinación que corresponde a una distancia de 30 cm y un tiempo de 30 minutos.,

en este tratamiento las vainillas presentaron un contenido microbiano de 1.87 UFC/g para aerobios mesófilos, 1.22 UPML/g para mohos y levaduras, y valoraciones menores a 10 UFC/g para coliformes totales y *E. coli*.

Abstract

Vanilla is native to Central America and to the tropical regions of Mexico, the family to which this species belongs is Orchidaceae being the only one of this family that produces edible fruits; coveted for its great aromatic taste, used as flavoring beverage and gourmet cuisine. Vanilla quality depends on the health, size and organoleptic characteristics of the pods, is why it requires a postharvest treatment able to disinfect and maintain the organoleptic qualities of the product. Ultraviolet light-C (UV-C) is a world wide use method of disinfection; some of the beneficial effects attributed to UV-C light are: inactivation of microorganisms, synthesis of compounds related to natural defense mechanisms (phitoalexins), and improve nutraceutical properties. This research allowed us to evaluate the effect of UV-C light to keep the phytosanitary quality of vanilla, quantifying its effect on the microorganisms present in the pods. Pods were irradiated with 9 different treatments of UV-C light, alternating different distances and exposure times, after 14 days that treatment ended a microbiological analysis was carried, which was compared with a room temperature control. The results allowed determining the effect of UV-C light on the quality of the vanilla plant, where the exposure time and the distance to the source of UV-C light played an important role. The variables quantified were: mesophilic aerobes, molds and yeasts, total coliforms and *Escherichia coli*. The best treatment was the combination that corresponds to a distance of 30 cm and a time of 30 minutes. In this treatment the vanillas had a microbial content of 1.87 CFU / g for mesophilic aerobic, 1.22 UPML / g for molds and yeasts, and rating less than 10 CFU / g for total coliforms and E. coli.

Índice

I.	Introducción	11
1.1	Antecedentes	11
1.2	Justificación.....	13
II.	Revisión de Literatura	17
2.1	La vainilla	17
2.1.1	Manejo del cultivo de vainilla	17
2.1.2	El mercado de vainilla.....	21
2.2	La luz ultravioleta y su efecto en la inactivación de microorganismos.....	24
2.3	La luz UV-C en frutas y hortalizas	27
2.3.1	Importancia de la luz UV-C como tratamiento de postcosecha	27
2.3.2	Efecto desinfectante de la luz UV-C en frutas y hortalizas	29
2.3.3	Efecto indirecto de la luz UV-C en frutas y hortalizas	33
III.	Objetivos.....	44
3.1	Objetivo General:	44
3.2	Objetivos específicos:	44
IV.	Hipótesis.....	45
V.	Materiales y Métodos.....	46
5.1	Materiales.....	46
5.1.1	Equipos.....	46
5.2	Métodos	47
5.2.1	Métodos de laboratorio	48
5.2.2	Método experimental	48
VI.	Resultados.....	50
6.1	Recuento aerobios mesófilos.....	50

6.2	Recuentos mohos y levaduras.....	53
6.3	Recuento coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	57
VII.	Discusión.....	58
7.1	Aerobios mesófilos.....	58
7.2	Mohos y levaduras.....	61
7.3	Coliformes y <i>Escherichia coli</i>	65
VIII.	Conclusiones.....	66
IX.	Recomendaciones.....	68
X.	Referencias.....	70
XI.	Anexos.....	76
11.1	Norma NTE INEN 2532 (2010) Especies y condimentos. Requisitos.	76
11.2	Recuento aerobios mesófilos (UFC/g).....	77
11.3	Transformación de datos aerobios mesófilos.....	78
11.4	Recuento mohos y levaduras (UPML).....	80
11.5	Transformación de datos mohos y levaduras.....	81
11.6	Recuento coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	83
11.7	Cálculos para el ANOVA aerobios mesófilos.	84
11.8	Cálculos para el ANOVA de mohos y levaduras.....	85
11.9	Cálculos para prueba de DUNCAN aerobios mesófilos.....	86
11.10	Cálculos para prueba de DUNCAN mohos y levaduras.....	89

Índice de figuras

Figura 1. Vainas clasificadas por tamaño.....	20
Figura 2. Vainas secándose al sol.....	20
Figura 3. Activación de la síntesis de fenilpropanoides por efecto de la luz UV-C....	36
Figura 4 Cámara de luz UV-C	47
Figura 5. Recuento aerobios mesófilos (UFC/g).	51
Figura 6. Relación distancia-tiempo, variable aerobios mesófilos.	52
Figura 7. Recuento mohos y levaduras (UPML/g).....	54
Figura 8. Relación distancia-tiempo, mohos y levaduras	55
Figura 9. Aerobios mesófilos vs mohos y levaduras de los tratamientos con UV-C..	56

Índice de tablas

Tabla 1 Producción de vainilla en 2011.....	23
Tabla 2 Importaciones de vainilla en 2011.	23
Tabla 3. Efectos de la luz UV-C en frutas.....	30
Tabla 4 Efecto indirecto de la luz UV-C en hortalizas	38
Tabla 5. Efecto indirecto de la luz UV-C en frutos de clima templado.....	39
Tabla 6. Efecto indirecto de la luz UV-C en frutos tropicales y subtropicales.....	40
Tabla 7. Tratamientos.....	49
Tabla 8. Resultados del ANOVA para la variable aerobios mesófilos.	50
Tabla 9. Valores de DUNCAN	51

Tabla 10. Rangos de los tratamientos	51
Tabla 11. Resultados del ANOVA recuento mohos y levaduras	53
Tabla 12. Valores de DUNCAN	54
Tabla 13. Rangos de los tratamientos	54

I. Introducción

1.1 Antecedentes

La vainilla es una planta originaria de Centro América de las regiones tropicales de México, que durante la época de la Conquista fue trasladada a Europa y posteriormente a África y Asia. Esta planta pertenece a la familia de las Orchidaceae, y es la única de esta familia que produce frutos comestibles. Sus frutos se caracterizan por su gran sabor aromático, siendo el principal aromatizante dentro de la industria alimentaria. La vainilla es ampliamente utilizada en la industria licorera, farmacéutica, refresquera, tabacalera, artesanal y cosmética (Rosado, 2007) (Augstburger, 2002).

La vainilla es una planta enredadera con flores de color blanco amarillento que contienen un solo estambre, posee hojas carnosas y raíces aspiradoras. Debido a que las semillas son pequeñas y su germinación se encuentra impedida por las sustancias que contiene la cápsula, la vainilla se reproduce vegetativamente mediante plantones. Dentro de las variedades que son comestibles, la vaina puede alcanzar un largo de 15 a 20 cm. Hay alrededor de 100 variedades de vainilla, dentro de las que se destacan las siguientes especies: la *Vainilla tahitensis*, también llamada la vainilla de Tahití; la *Vainilla planifolia*, conocida como vainilla mejicana o genuina; y la *Vainilla pompona*, llamada comúnmente la vainilla de las Indias Occidentales (Augstburger, 2002).

Inicialmente la vainilla natural fue un producto con gran mercado, sin embargo, a finales de los años cincuentas la vainilla natural fue sustituida por la vainilla sintética, considerablemente más barata. Con la aparición de la vainilla sintética, elaborada a partir de lignina de algunas coníferas, el mercado de la vainilla natural cayó drásticamente dejando al cultivo de vainilla casi abandonado. La demanda de vainilla natural no cambió sino a inicios de los años ochentas, cuando restaurantes de comida gourmet empezaron a elegir la vainilla natural por su calidad aromática (Soto, 2006).

Referente al cultivo de la vainilla, son sus vainas las que se cosechan y se comercializan, estas consisten en frutos inmaduros pero que se encuentran completamente desarrollados, y curados a través de un proceso postcosecha también llamado el beneficio de la vainilla, que se hace con el fin de favorecer las reacciones enzimáticas, químicas y bioquímicas que forman los compuestos aromáticos característicos de la vainilla. Si no se realiza el curado, las vainas no adquieren sus propiedades organolépticas, no tendrá su flexibilidad y color café característico. Por lo que gran parte de la calidad de la vainilla se encuentra dado por el trato postcosecha (Rosado, 2007).

Es importante que en la postcosecha se realice un buen control fitosanitario que permita conservar las vainas libres de microorganismos. Prácticas que además de desinfectar el producto, logren mantener las características organolépticas de las vainas, evitando tener residuos químicos que puedan afectar la salud de las personas y la calidad final de la vainilla.

La irradiación con rayos ultravioleta, es un ejemplo de las nuevas tecnologías postcosecha. Esta es una radiación no ionizante que tiene una longitud de onda de 100 a 400 nm; la cual se clasifica en tres tipos: luz ultravioleta de onda corta (UV-C) (200-280 nm), luz ultravioleta de onda media (UV-B) (280-315 nm) y luz ultravioleta de onda larga (UV-A) (315-400 nm). Se ha visto que la irradiación con UV-C a una emisión de 254 nm presenta la mayor acción germicida, siendo ampliamente utilizado para el tratamiento postcosecha de frutas y hortalizas. La inactivación microbiana se debe a un efecto directo, que es cuando la irradiación UV-C actúa sobre el DNA y genera mutaciones que impiden la replicación celular y causan la muerte.

1.2 Justificación

Debido a que el cultivo de vainilla se utiliza como componente en la producción de helados, chocolates, dulces y otros productos alimenticios de alta calidad, el cultivo de vainilla ha tomado importancia en el mercado mundial (Chavés, 2008). Los principales importadores de vainilla son: Estados Unidos, Francia y Alemania, donde según datos de la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) sus importaciones en el 2011 superan los 72 millones de dólares.

Gran parte de la vainilla importada por estos países, es procesada para obtener concentrados de vainilla ya sea de forma líquida, semilíquida o polvo. Se ha encontrado que aquellos países que reexportan la vainilla procesada, como es el

caso de Estados Unidos, Francia, Alemania y Canadá son aquellos que mayor beneficio han obtenido del mercado de la vainilla (León, 2005).

Por otro lado la producción de vainilla al igual que la demanda ha aumentado. Según la FAO, del 2010 al 2011 la producción mundial de vainilla aumentó en 565 toneladas métricas. En el 2011 los principales productores fueron Indonesia, Madagascar y China, que conjuntamente representan cerca del 85% de la producción mundial de vainilla.

En el periodo 2006 a 2009 la exportación de vainilla incrementó en más de 2,000 toneladas métricas, representando más de 18 millones de dólares. Los mayores exportadores de vainilla en el mundo son Madagascar, Francia y Alemania, cuyas exportaciones conjuntas superan los 46 millones de dólares. Tanto Francia como Alemania son países que importan y exportan vainilla, ambos exportan a un precio mucho mayor (FAOSTAT, 2013).

Para tener éxito en el mercado de la vainilla, además de implementar buenas prácticas agrícolas en el cultivo que permitan tener una buena calidad y productividad de la vainilla, se debe tener una buena postcosecha de las vainas que permita mantener la calidad por el mayor tiempo posible, ya que el precio de la vainilla dependerá de la calidad del producto final. El precio de la vainilla se verá en función de la sanidad de las vainas, del tamaño de las vainas y de las características organolépticas que presenten las mismas. Debido a que la vainilla natural, es un producto en el que se busca buenas cualidades organolépticas, se debe tomar medidas que permitan garantizar estas cualidades, especialmente de sabor y aroma,

pues es aquí donde la vainilla natural supera en calidad a la vainilla sintética (Rosado, 2007).

En la actualidad se ha visto que muchos de los tratamientos postcosecha que usan químicos bactericidas y fungicidas causan problemas ecológicos y son perjudiciales para la salud, por lo que es necesario aplicar métodos de control alternativos que sean seguros. En los últimos años, se han estudiado tecnologías postcosecha como la aplicación de radiación ultravioleta, ozono, atmosferas modificadas, radiación gama, y otros métodos alternativos con el fin de alcanzar productos más sanos con mayor tiempo de vida útil. Además, debido al riesgo que tiene usar sustancias químicas, muchos países están restringiendo cada vez más su uso y limitan las importaciones y exportaciones de aquellos productos que han sido tratado con sustancias químicas fuertes (Andrade et al., 2010)(Rivera, 2007). Las nuevas tecnologías de postcosecha acompañadas de buenas prácticas en campo, permiten reducir pérdidas por alteraciones fisiológicas, fitopatógenos y daños mecánicos (Andrade et al., 2010).

El uso de rayos UV-C como tratamiento postcosecha no tiene efectos sobre el ambiente o sobre la salud del ser humano, siempre que sea empleado adecuadamente. Se ha comprobado la efectividad de la radiación UV-C en una gran variedad de productos, desde frutos tropicales a frutos de clima templado y hortalizas, demostrando ser una alternativa tecnológica para la postcosecha de muchos frutos enteros y mínimamente procesados. El tratamiento con radiación UV-C, a diferencia de los tratamientos que aplican fungicidas para el control de

microrganismos, no deja residuos que puedan afectar la salud del consumidor. Incluso a diferencia de otras tecnologías, la radiación con UV-C en bajas dosis no provoca cambios en la calidad visual y sensorial del producto, como pérdidas de firmeza, olor y sabor. Otra de las razones que justifica utilizar la radiación UV-C es su capacidad para activar mecanismos de defensa en los vegetales. La exposición de los tejidos vegetales a dosis bajas de UV-C puede inducir la producción de agentes fungicidas como fitoalexinas y de antioxidantes como las poliaminas, que retrasan la maduración y senescencia de los frutos, alargando así su vida en percha (Rivera, 2007) (Andrade et al., 2010).

II. Revisión de Literatura

2.1 La vainilla

2.1.1 Manejo del cultivo de vainilla

Curti (1995) sostiene que la vainilla es una planta que requiere de varios factores para su óptimo desarrollo, como por ejemplo: un clima subtropical, cálido y húmedo; una temperatura media anual que oscile entre 21 y 27 grados centígrados; precipitaciones de 1,130 a 2,500 mm anuales; un rango altitudinal que va del nivel del mar hasta los 500 msnm; un suelo ideal con 45% de materia mineral, 5% de materia orgánica y un pH entre 6 y 7 a nivel de raíz (Curti, 1995) (León, 1987).

Según León (2005), en el cultivo comercial de vainilla el principal método de propagación es la propagación asexual por medio de esquejes, los cuales luego de haber pasado 4 meses en el vivero y de haber alcanzado 15 cm de longitud, se trasplantan en el campo. Para un mejor manejo del cultivo, generalmente se utiliza árboles de sombra, capaces de brindar protección del sol y viento principalmente. Los árboles más usados para cultivar vainilla son: el Amatillo (*Tubernaemontana citrifolia*), Piñón (*Jatropha curcas*), Pito (*Erythrina baerteroana*), Marañón (*Anacardium occidentale*), Pandamus (*Pandamus horno*) y Guabo (*Inga sp.*), dependiendo del país donde se cultiva. Sin embargo, algunas plantaciones de vainilla se llevan a cabo bajo invernaderos junto con la ayuda de un sistema de tutoraje, lo que permite una mayor protección del cultivo junto con una mayor facilidad de

manejo, reduciendo la dificultad al momento de realizar las labores de polinización y cosecha.

La polinización de las flores es quizá el principal proceso que se realiza en este cultivo. La producción de vainilla depende principalmente del porcentaje de fecundación de las flores y debido a que la polinización natural es mínima, hoy en día ha llegado a ser completamente artificial. Para esta labor se realiza una polinización manual junto con la ayuda de una aguja o palillo largo de madera, un proceso que requiere de cuidado y de cierta habilidad de parte de los polinizadores, por lo que se recomienda la debida capacitación de los trabajadores. Esta actividad se realiza preferentemente en la mañana, consiste en levantar el rostelo (masa de tejido correspondiente al estigma) de las flores de la parte inferior del racimo, obligando así al polen de la antera a adherirse al estigma de la misma flor (Velázquez, 2004).

Una vez obtenido los frutos, se debe esperar a que estos alcancen el estado ideal de maduración para cosecharlos, que se identifica por un cambio de color de verde brillante a un verde amarillento opaco (Velázquez, 2004). Luego que se cosecha, se lleva a cabo la postcosecha de las vainas que incluye: selección, desinfección, secado y sudado, acondicionamiento, empaquetado y almacenamiento de las vainas.

La selección consiste en separar principalmente aquellas vainas de calidad superior con aquellas de calidad inferior, aquellas con una medida superior de 12 cm, con buena calidad fitosanitaria, sin daños fisiológicos o mecánicos y con buen aspecto, son los frutos de primera calidad. Mientras que los imperfectos, que presentan

deformidades, enfermedades o daños mecánicos son las vainas de calidad inferior (Figura 1).

Después de seleccionar y clasificar las vainas, estas son sometidas a un tratamiento de desinfección que permita mantener la calidad y alargar la vida en percha de los frutos, que generalmente se la realiza con una solución de hipoclorito de sodio al 1% y alcohol o sumergiendo las vainas en agua caliente (no mayor a 70 °C). Una vez concluida la desinfección se procede al secado y sudado de las vainas, para esto se procede a secarlas al sol de 12 pm a 3pm, para luego colocarlas en los cajones de sudado (cajones de madera recubiertos con franela) (Figura 2). Luego de 15 días de secado y sudado las vainas deben haber alcanzado el 50% de su peso original, haber tomado un color café, arrugas características. Finalizado este proceso se realiza el secado lento, que consiste en colocar las vainas en repisas de forma que se encuentre bien aireado con una temperatura de 35 °C y una humedad de 70%. Este proceso toma aproximadamente 30 días y las vainas llegan a tener una humedad de 30% y se vuelven flexibles y se produzca el sabor y aroma característico de la vainilla (Panda, 2003) (De la Cruz et al., 2009). (De la Cruz, Rodríguez, & García, 2009)

En cuanto a las plagas y enfermedades del cultivo de vainilla. Existen varios factores bióticos que se ven favorecidos principalmente por las condiciones de exceso de humedad y de sombra, propias del cultivo de vainilla. Generalmente el manejo de enfermedades consiste en prácticas culturales donde se busca manejar

apropiadamente la humedad y la sombra, de forma que los huertos no retengan demasiada humedad en los suelos.

Figura 1 Vainas clasificadas por tamaño



Tomado de "Granja María Elena".

Figura 2 Vainas secándose al sol.



Tomado de "Granja María Elena".

El cultivo de vainilla se ve afectado por varios agentes patógenos como son: la pudrición de raíz (*Fusarium oxisporum*), antracnosis (*Colospora vanillae*), mancha de la vainilla (*Collecotrichum vanillae*), chinche roja (*Tentecoris confusus*), gusano peludo (*Plusia aurífera*), virus del mosaico del tabaco (*Erwinia cypripedii*) y

gasterópodos (caracoles y babosa). Sin embargo, para mantener las plagas y enfermedades bajo el umbral de daño económico, generalmente se combina las buenas prácticas agrícolas junto con la ayuda de productos químicos, como por ejemplo: el uso de Benomyl 50 (para controlar la podredumbre de la raíz y antracnosis), aplicaciones de Truban polvo mojable al 30% (para reducir la podredumbre negra de la hoja *Phytophthora cactorum*), el caldo bordelés, Promyl, Malathión, etc. (Curti, 1995) (Castro, 2008).

2.1.2 El mercado de vainilla

La vainilla es una de las especias más caras y la fuente más importante de vainillina (1.3-3.8% de la vaina), la cual se utiliza ampliamente en bebidas, helados, pasteles y en otras confiterías. La vainillina es conocida como el compuesto más aromático y a diferencia de la vainillina sintética que se obtiene de la lignina extraída de varias fuentes como la guadua *Angustifolia kunt*, el eugenol o la cáscara de almendra, la vainillina natural se obtiene del curado de las vainas de vainilla. Hoy en día ha crecido el interés en el consumo de alimentos naturales, pues existe una mayor conciencia de la salud, dejando de lado los alimentos artificiales; además, hay una creciente demanda de alimentos procesados en los que se usa nuevos sabores y especias para alcanzar productos gourmet, que incluyen nuevos helados, pasteles y otros postres que tienden a usar exclusivamente sabores naturales (Martínez, 2011) (Durán, 2007).

En cuanto a la oferta mundial, como se mencionó los mayores productores de vainilla son Indonesia, Madagascar y China que abastecen el 83% del mercado mundial

(FAOSTAT, 2013). En 2011 Indonesia tuvo una producción de 3,500 toneladas métricas, mientras que Madagascar y China obtuvieron producciones de 3,000 y 1,385 toneladas métricas (Tabla 1).

Indonesia es el principal productor de *Vainilla planifolia* junto con China y México; mientras que la Isla Madagascar es el principal productor de la vainilla bourbon (León, 2005). Por otro lado según reportes de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2013), China es el país con mayor productividad de vainilla en el mundo (en 2011 alcanzó un rendimiento por hectárea de 1,071 kg/ha).

En lo que concierne al comercio mundial de vainilla, los mayores importadores son Estados Unidos, Francia y Alemania que han llegado a tener hasta el 80% de las importaciones mundiales (Tabla 2). Estados Unidos conjuntamente con Francia y Alemania destinan más de 70 millones de dólares a la importación de vainilla, de los cuales el 48% pertenece a Estados Unidos (FAOSTAT 2010). Entre 1980 y 1989, la demanda de vainilla se expandió rápidamente, especialmente en los Estados Unidos, donde creció el volumen de demanda en 7 por ciento anual, debido al crecimiento del mercado de helados, yogures y postres. Estados Unidos es el segundo país con mayor consumo per cápita de 3.85 gramos de vainilla, donde Dinamarca ocupa el primer lugar con 4.57 gramos de vainilla, y Francia y Canadá el tercer y cuarto puesto. Estados Unidos, Francia y Alemania forman también parte de los países con mayor re-exportaciones de vainas de vainilla y de productos procesados de vainilla. Por ejemplo Alemania en 1990 consumió cerca del 30% de sus importaciones de

vainilla, re-exportando el 70% alcanzando cifras de más de 200 toneladas métricas (Castro, 2008).

Tabla 1 Producción de vainilla en 2011.

Posición	Área	Producción (\$1000)	Producción (tm)
1	Indonesia	58104	3500
2	Madagascar	49804	3000
3	China	22992	1385
4	México	6009	362
5	Turquía	4764	287
6	Tonga	3353	202
7	Polinesia Francesa	863	52
8	Comoras	697	42
9	Uganda	398	24
10	Malawi	332	20

Tomado de FAOSTAT (2013).

Tabla 2 Importaciones de vainilla en 2011.

Posición	Área	Cantidad (toneladas)	Valor (\$1000)	Valor unitario (\$/tonelada)
1	Estados Unidos	1552	34098	21970
2	Francia	1057	25486	24112
3	Alemania	493	13333	27045
4	Reino Unido	652	6015	9225
5	Dinamarca	112	5132	45821
6	Japón	104	4730	45481
7	Canadá	319	4021	12605
8	Holanda	178	3278	18416
9	Bélgica	222	2915	13131
10	Suiza	60	2655	44250

Tomado de FAOSTAT (2013).

Según el SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) (2010) el precio ofertado de la vainilla depende de las características de las vainas, algunas de las características más importantes en las que se basan para fijar el precio son: largo de la vaina, aroma, color, contenido de humedad, consistencia y sanidad de las vainas. Siendo las más cotizadas y por lo tanto las que presentan un mayor precio, aquellas que tienen; buen largo de vaina, gran aroma,

humedad baja, color café uniforme y que no presentan daños fitosanitarios o mecánicos. Sin embargo, se ha encontrado que aquellos países que re-exportan la vainilla procesada, como es el caso de Estados Unidos, Francia y Alemania son aquellos que mayor beneficio han obtenido del mercado de vainilla.

Por otro lado en el mercado local de vainilla natural, Ecuador tiene un consumo mínimo o inexistente ya que la mayor parte consume vainilla sintética. Esto se debe a la falta de conocimiento de la vainilla natural, al déficit de producción local y a que no hay importaciones sustanciales. Sin embargo, a pesar de que no existe una costumbre de consumo de vainilla natural, a partir del consumo de vainilla sintética que existe en el Ecuador, se puede predecir una aceptación hacia el consumo de vainilla natural. En Ecuador se utiliza la vainilla principalmente para los postres y pastelería, seguida como saborizante de bebidas y helados, por lo que se podría ingresar a este mercado realzando la superioridad de la vainilla natural frente a la sintética en lo que refiere al sabor y aroma (León, 2005).

2.2 La luz ultravioleta y su efecto en la inactivación de microorganismos

La luz ultravioleta (UV) es un medio de desinfección mundialmente utilizado, que se ha desarrollado notablemente en los últimos años. El tratamiento con UV presenta algunas ventajas frente a los métodos convencionales más utilizados, como la desinfección con cloro y derivados (Pietrobon, 2010). La luz UV es una alternativa para la desinfección de bebidas, alimentos frescos, frutas procesadas, y utilizada en

hospitales, farmacéuticas y para tratamientos de aguas en las ciudades (Wright & Carins, 2008).

La desinfección con luz UV puede incrementar significativamente la vida útil de los alimentos frescos y el almacenamiento de muchos productos manufacturados, ayudando a reducir el uso de químicos perseverantes. Una de las ventajas del tratamiento con luz UV, es que reduce los costos de operación si comparamos con tratamientos convencionales que incluyen aditivos químicos y otros agentes de limpieza. Este es un sistema totalmente libre de cualquier regulación, que no presenta ninguna preocupación al consumidor o al medio ambiente (Brant, 2003).

La radiación UV es una energía no ionizante que tiene tres regiones en el espectro electromagnético. Estos son la luz UV-A (315-400nm), UV-B (280-315nm), y UV-C (200-280 nm) (Aguayo, 2007). Estudios han demostrado que la propiedad germicida se encuentra en la región UV-C. Se ha visto que existe una curva en la inactivación de microorganismos en esta región, donde la máxima inactivación se da en un rango aproximado de 254 a 264 nm. Choudhary (2012) sostiene que la inactivación de microorganismos se debe a la penetración de la luz UV-C que ocurre en las células, que provocan daños en el DNA y eventualmente la muerte celular, no se requieren de dosis muy altas de luz UV-C para generar mutaciones en el DNA de los microorganismos y evitar la replicación celular. Además altas dosis de UV-C pueden afectar las proteínas de las células. Una alta absorción de radiación en las proteínas de un microorganismo puede provocar la muerte celular debido a la ruptura de la membrana (Guimaraes, 2005).

El daño provocado en los ácidos nucleicos del DNA de las células de los microorganismos, se debe a la frecuencia o longitud de onda asociada a la luz UV (Osorio, 2010). Formándose enlaces entre bases de pirimidinas, como: timina-timina, citosina-citosina y citosina-timina, lo que impide que el microorganismo sea capaz de replicar su DNA y RNA, inhibiendo su reproducción y eventualmente ocasionando la muerte celular (Tortora, 2007) (Wright & Carins, 2008).

Las dosis necesarias para la desinfección difieren de un microorganismo a otro. Por ejemplo para alcanzar la inactivación de *Escherichia coli* se necesita 660 j/m^2 , mientras que para inactivar *Rhizopus nigricans* “moho del pan” se requiere de $2,200 \text{ j/m}^2$. La dosis de luz UV-C, se obtiene mediante el cálculo de la intensidad y el tiempo de exposición de la muestra a la fuente de luz UV. Se ha encontrado que aplicando dosis efectivas, el tratamiento con luz UV es uno de los métodos más eficientes para la desinfección de microorganismos, debido a su alta capacidad de inactivar virus, bacterias, esporas y quistes de protozoos (Osorio, 2010). Es por esto que es utilizado en muchos campos como: el agua potable, las aguas residuales y en las áreas comerciales (hidrocultivos, laboratorios, acuarios, restaurantes, etc.) (Wright & Carins, 2008).

2.3 La luz UV-C en frutas y hortalizas

2.3.1 Importancia de la luz UV-C como tratamiento de postcosecha

A pesar de la eficiencia de la luz UV como tratamiento de desinfección, la mayor parte de la información proviene de estudios obtenidos en medios acuosos y aéreos. Sin embargo, en los últimos 10 años se han realizado diversos estudios en busca de aplicaciones de esta tecnología en la industria de alimentos procesados. Donde se ha tomado en cuenta las complejas interacciones que ocurren entre los microorganismos y la superficie de los materiales, buscando los efectos de la luz UV en los tejidos y en la dependencia de los rayos UV a la estructura de la superficie o topografía en la que se aplica el tratamiento (Koutchma, 2008).

González (2005) sostiene que las pérdidas postcosecha de frutas y hortalizas pueden alcanzar de 25 a 50% de los productos procesados, asegura que se debe principalmente al mal manejo, deterioro por microorganismos, mal almacenamiento y acondicionamiento inadecuado. Para solucionar este problema de postcosecha no basta con el uso único de fungicidas químicos, que además de dejar residuos que pueden afectar la salud de los consumidores no han demostrado ser suficientes para controlar el deterioro postcosecha de las frutas.

En los últimos años han emergido diferentes tecnologías postcosecha, que de la mano de buenas prácticas de manejo del producto, han permitido reducir las pérdidas postcosecha. Disminuyendo la incidencia de enfermedades, el ataque de

fitopatógenos y las alteraciones fisiológicas (Rivera et al., 2007). Estas nuevas tecnologías utilizan sustancias anti-fúngicas de origen natural junto con tratamientos suaves que activen los mecanismos de defensa propios del producto, para obtener así un efecto benéfico en la calidad del mismo (Shama, 2005).

Una de estas nuevas tecnologías postcosecha, que sirven para desinfectar tanto bebidas como alimentos sólidos es el sistema de luz UV-C, que en un principio solo se utilizó para el tratamiento de aguas. Estudios demuestran que la luz UV-C prolonga la vida postcosecha de varias frutas y vegetales, ya que reduce la carga microbiana y la incidencia de patógenos. A diferencia de otros desinfectantes como el cloro, que es uno de los más empleados para productos procesados en fresco, el UV-C no deja residuos ni produce productos secundarios como trihalometanos y cloraminas, que pueden perjudicar la salud humana. (Silveira, 2005).

El tratamiento con luz UV-C no se ve limitado por el tiempo requerido para el tratamiento y por los daños que puede provocar en la calidad organoléptica del producto. Por lo que es una alternativa a los tratamientos postcosecha que requieren de largos tiempos de aplicación como es el caso de: las atmósferas modificadas, temperaturas de acondicionamiento, atmósferas controladas y choques térmicos. A diferencia de estos métodos, el UV-C permite mantener la calidad de los frutos en estado fresco sin ocasionar posibles cambios en la firmeza y en la calidad visual y sensorial del producto (Shama, 2007).

La FDA (Food and Drug Administration) y la USDA (U. S. Department of Agriculture), llegaron a la conclusión de que el uso de luz UV es seguro. La FDA aprobó el uso de

luz UV como una alternativa para la pasteurización térmica en productos, demostrando ser un tratamiento prometedor que puede ser utilizado para propósito de pasterización de alimentos (FDA, 2013) (Rivera et al., 2007). Hoy en día la irradiación UV-C se está utilizando como un tratamiento postcosecha en zumos de vegetales y frutas. En los Estados Unidos se están comercializando productos procesados como jugos de frutas orgánicas y otras bebidas como el té, que son de gran popularidad en los Estados Unidos (Fonseca & Rushing, 2006).

2.3.2 Efecto desinfectante de la luz UV-C en frutas y hortalizas

Debido a ser letal para la mayoría de microorganismos, la luz UV-C ha demostrado ser un sistema efectivo para alargar la vida útil de frutas y hortalizas. Algunos ejemplos en los que se ha estudiado la luz UV-C como un sistema de desinfección alternativo es en frutas como: fresa (*Fragaria vesca*), melón (*Cucumis melo*), calabaza, sandía (*Citrulus lanatus*), carambola (*Averrhoa carambola L.*), tomate de árbol (*Solanum betaceum*) manzana (*Pyrus malus*), tomate (*Lycopersicum esculentum*) (Tabla 3) ; y en hortalizas como lechuga (*Latuca sativa*), zanahoria (*Daucus carota*) y cebolla (*Allium cepa*) (Rivera et al., 2007) (González et al., 2007).

En frutilla (*Fragaria vesca*) según Baka et al. (1999) radiaciones de UV-C son efectivas para controlar la pudrición provocada por el hongo *Botrytis cinérea* y aumentar la vida en percha del fruto en 5 días. Marquenie et al. (2002) encontraron un resultado similar al usar dosis de luz UV-C de 5 j/m^2 , retrasando el crecimiento fúngico de *Botrytis cinerea* y *Monilinia fructigena*. En un estudio más reciente de frutilla, no solo disminuyeron la cantidad microbiana, sino que mantuvieron las

características sensoriales de la frutilla por más tiempo, alcanzando frutos con características microbiológicas, físico-químicas y sensoriales mejores a la de los frutos sin tratamiento de luz UV-C, con una dosis de 22.5 j/m^2 alargaron la vida útil de las frutas de 8 a 10 días (Beltrán et al., 2010).

Tabla 3. Efectos de la luz UV-C en frutas

Especie (variedad)	Dosis (10^3 j/m^2)	Efecto
Durazno (Elberta)	7.5	Protección contra <i>Monilinia fructicola</i>
Uva (Italia)	0.125-4	Disminuye incidencia de deterioro de <i>B. cinerea</i>
Mandarina (Dancy)	1.3	Inactivación de <i>P. digitatum</i>
Tomate (Tuskegee 80-130, Floradade)	3.6	Inactivación de <i>Rhizopus stolonifer</i>
Cereza (varios cultivares)	0.5-15	No presenta efecto sobre desarrollo de <i>Botrytis cinerea</i> y <i>Monilia fructigena</i>
Tomate (Tuskegee 80-130, Floradade)	1.3-4.0	Protección contra <i>Alternaria alternata</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> .

Adaptado de Rivera et al. (2007)

En melón (*Cucumis melo*) investigadores aplicaron una dosis de luz UV-C de 5.76 j/m^2 para ver su efecto en la calidad microbiana de los frutos. Estos se sorprendieron al hallar que dicha aplicación fue suficiente para reducir las poblaciones de levaduras, hongos, *Pseudomona spp.*, mesófilos aerobios y bacterias lácticas (Lamikanra et al., 2005). Silveira et al. (2007) se interesaron por ver la respuesta del melón cuando se aplicaban dosis mucho más fuertes de luz UV-C y ver si estas son una mejor alternativa a la desinfección con cloro, para esto evaluaron el efecto de

cuatro dosis de radiación UV-C (1,200 j/m^2 , 2,400 j/m^2 , 3,600 j/m^2 y 4,800 j/m^2) en el crecimiento microbiano del fruto. Al final del estudio al comparar los tratamientos con el testigo (en el que se aplicó agua clorada), se obtuvo que la dosis más baja de 1,200 j/m^2 y la más alta de 4,800 j/m^2 fueron las más efectivas para disminuir el número de bacterias. Sin embargo, el crecimiento de hongos se vio principalmente reducido por la dosis más elevada. Con estos resultados los investigadores consideran al tratamiento UV-C como una alternativa eficaz para la desinfección de melón "Galia".

La aplicación de luz UV-C también es una alternativa para la desinfección de calabaza (*Cucurbita pepo*). Erkan et al. (2001) al evaluar el efecto de la radiación UV-C con dosis de 4,930 y 9,860 j/m^2 en calabaza, confirmaron la hipótesis que por periodos cortos de luz UV-C es posible retardar la senescencia y la deterioración de los frutos, gracias a la disminución de la población microbiana que mejorar la calidad de almacenamiento.

Con una dosis de 13,000 j/m^2 Andrade et al. (2010) y Gonzáles (2012) alcanzaron un efecto positivo en la calidad microbiana de las frutas. Andrade et al. (2010) al aplicar el tratamiento de luz UV-C en frutos de carambola (*Averrhoa carambola L.*) alargaron la vida útil de la fruta en 7 días, los frutos mostraron recién a los 21 días de almacenamiento desarrollo fúngico. Gonzáles (2012) realizó un estudio para analizar el uso de radiación UV-C para incrementar la vida útil del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) con el fin de exportación a la Unión Europea. Con la luz UV-C se mantuvo

la calidad de tomate de árbol por 48 días. El tratamiento redujo la población de microorganismos y mohos, mientras que las levaduras se mantuvieron estables.

Stevens et al. (2004) en un estudio realizado en tomates “Better boy” y “Floradade”, con dosis de $3,600 \text{ j/m}^2$ disminuyeron la infección de *Rhizopus stolonifer* en un 53% al disminuir el diámetro de lesión de los frutos de 13.4 mm a 5.3 mm. Por otro lado Liu et al. (1993) aplicando una dosis más alta de $7,500 \text{ j/m}^2$, redujo el deterioro de los tomates por la bacteria *Erwinia spp.*

Al ver los efectos de las dosis de irradiación UV-C en muestras de manzana “Red Delicious” y lechuga de hoja verde, con el fin de inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella spp.* Yaun et al. (2004) hallaron en manzana que con una dosis de $8,640 \text{ j/m}^2$ se redujo el crecimiento de *E. coli* O157:H7 en 3.3 unidades de logaritmo, mientras que en lechuga inoculada con *E. coli* O157:H7 y *Salmonella spp.* obtuvieron una reducción de 2.79 unidades de logaritmo. De igual forma Allende y Artés (2003) con dosis de similares lograron disminuir la cuenta de bacterias psicotróficas, levaduras y coliformes en lechuga (*Latuca sativa*).

El tratamiento de luz UV-C también se utiliza como una alternativa para la desinfección de sandía, Fonseca y Rushing reportaron que al evaluar dosis de luz UVC de $4,200 \text{ j/m}^2$ en sandía (*Citrulus lanatus*), se reduce el conteo bacteriano en un 95%. Sin embargo, se ha visto que la reducción del crecimiento bacteriano mediante la radiación con luz UV-C es efectiva únicamente cuando se lleva a cabo un estricto control de las prácticas de higiene y seguridad (Fonseca y Rushing, 2006) (Rivera et al., 2007).

Por otro lado López et al. (2005) no hallaron una respuesta clara al evaluar diferentes dosis de luz UV-C de 560 a 13,620 j/m^2 sobre el crecimiento de enterobacterias, levaduras, bacterias ácido-lácticas y microorganismos mesófilos en granada (*Punica granatum*). Según los investigadores, la luz UV-C no tuvo un efecto significativo en la calidad microbiana, los conteos microbianos no se redujeron sistemáticamente durante la vida útil de las frutas. Piga et al. (1997) y Marquenie et al. (2002) tampoco encontraron efecto de la luz UV-C. Piga y colaboradores no obtuvieron efecto en el deterioro de la pera “Galia”, por lo contrario aplicando dosis de 750 j/m^2 observaron un daño en la dermis del fruto. Marquenie y colaboradores con una dosis de 500 a 15,000 j/m^2 no observaron un efecto en el desarrollo de *B. cinerea* y *Monilinia fructigena*.

La mayor parte de estudios sugieren que la composición química y ordenamiento estructural propia del alimento, juega un papel importante en el efecto de la luz UV-C en el DNA de los microorganismos, debido a que con dosis similares de radiación UV-C se han encontrado efectos diferentes en el crecimiento de una misma especie de microorganismo. Por lo que es de importancia evaluar esta tecnología en cada producto en particular y así poder establecer las condiciones óptimas de aplicación y los posibles cambios en la calidad (Rivera et al., 2007) (Shama et al., 2005).

2.3.3 Efecto indirecto de la luz UV-C en frutas y hortalizas

Aparte del efecto desinfectante de luz UV-C, este tratamiento tienen un efecto indirecto sobre las frutas y hortalizas que permite mantener la calidad postcosecha. La radiación UV-C induce cambios deseables en la salud de frutos y hortalizas que

retrasan la maduración y senescencia, incrementando la vida útil de los productos frescos (Wang et al., 2004) (Rivera et al., 2007)

Existe evidencia de que el tratamiento de UV-C aumenta las propiedades nutraceuticas de los alimentos, así como la síntesis de compuestos que se relacionan con mecanismos de defensa natural de los vegetales expuestos al estrés (Cisneros, 2003). En estudios se ha encontrado que este efecto indirecto de la luz UV-C sobre las frutas y hortalizas se relaciona a un incremento de producción de polifenoles, así como a un aumento de fenoles (Winkel-Shirley, 2002).

Las poliaminas

La maduración de los frutos se encuentran bajo el control de reguladores de crecimiento como el etileno y las poliaminas, los cuales tienen un papel esencial en la maduración de los frutos. Estos dos compuestos tienen un precursor en común para su síntesis, y éste se puede estimular por algún tipo de estrés ambiental como la radiación UV-C (Kaur et al., 2003) (Galston & Kaur, 1990).

Estos compuestos llamados poliaminas tienen una actividad antisenescente debido a su capacidad de secuestrar radicales libres. Estudios demuestran que la actividad antisenescente de las poliaminas podría estar relacionada con la reducción de los procesos de oxidación de la membrana, posiblemente por interacción con los componentes aniónicos de la membrana y a su capacidad de estabilizar la bicapa lipídica (Roberts, et al., 1986). Es por esto que estos compuestos retardan el deterioro de la membrana y no permiten que se degrade la pared celular de los

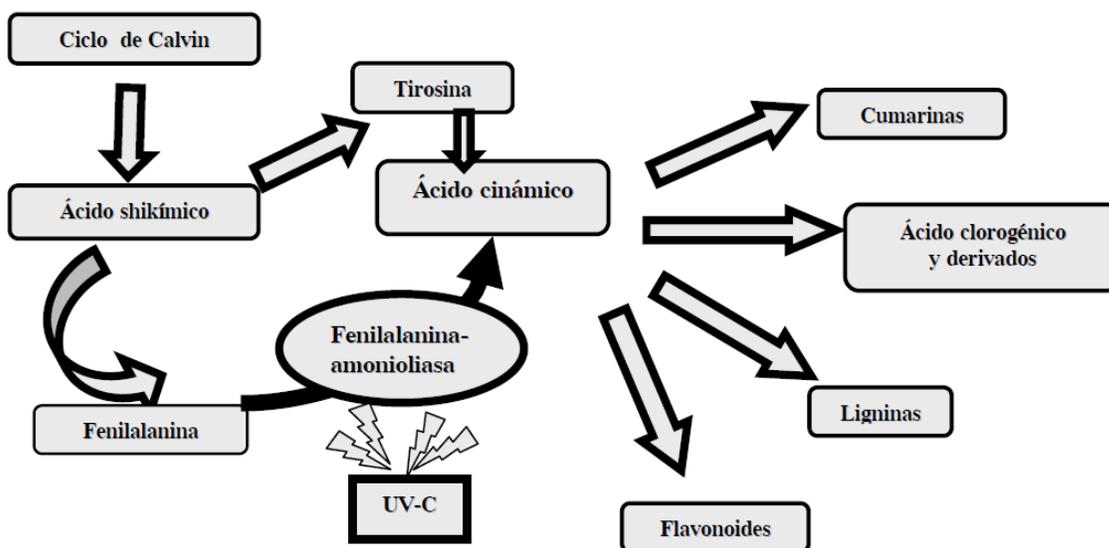
frutos, e incluso se relacionan sus altos niveles con la reducción de la susceptibilidad al frío de diferentes frutas y hortalizas (González, et al., 2005). Las principales poliaminas afectadas por la luz UV-C son putrescina, espermidina y espermina (Mendoza & Rocha, 2002).

Fenoles

Además de estimular la producción de poliaminas, la luz UV-C incrementa los niveles de compuestos fungicidas naturales de la planta, como es la producción de fenoles. Se ha descrito en diferentes estudios que la radiación UV-C puede producir una respuesta de estrés ligero en las frutas cuando se usa por tiempos determinados, lo cual puede inducir un aumento en la tolerancia contra diferentes patógenos.

La luz UV-C estimula la síntesis de la enzima fenilalanina amino-liasa, dando lugar a la producción de fenoles (Figura 3) (Rivera et al., 2007). Estos compuestos contienen por lo menos un grupo fenol y un anillo aromático con un grupo hidroxilo (Briñez, 2010). Los fenoles son uno de los principales metabolitos secundarios de las plantas, que son secretados por la planta para defenderse del ataque de hongos y bacterias, ya que son sustancias tóxicas para los patógenos (Toapanta, 2005). Dentro de los compuestos fenólicos naturales se destacan los flavonoides y las fitoalexinas.

Figura 3. Activación de la síntesis de fenilpropanoides por efecto de la luz UV-C



Rivera et al. 2007

Dentro de los fenoles se encuentra la familia de los flavonoides. Los flavonoides están distribuidos entre los vegetales y se encuentran generalmente en las hojas, flores y frutos. Estas son moléculas que tienen dos anillos aromáticos unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono. Los flavonoides se clasifican en varios grupos como: flavonas, flavonoles, flavanonas, antocianidinas, flavanones, etc. (Torres & Georgina , 2002)

Por otro lado las fitoalexinas “son metabolitos secundarios de naturaleza química diversa, principalmente flavonoides, de bajo peso molecular, que se sintetizan en los vegetales después de una infección microbiana”. La síntesis de estos compuestos se puede dar por la acción de factores elicitors o inductores, tanto exógenos como endógenos (García & Pérez, 2003).

Varios estudios respaldan el efecto indirecto de la luz UV-C sobre las frutas y hortalizas. Los investigadores han demostrado gran interés en evaluar el efecto sobre los fenoles y poliaminas, para así encontrar aplicaciones para reducir la incidencia de enfermedades en frutas y vegetales (Tabla 4) (Tabla 5) (Tabla 6).

Según González *et al.* (2005) después de un tratamiento con UV-C en mangos frescos cortados, observaron un incremento en los niveles de fenoles totales y flavonoides en el tejido, que los investigadores asociaron con la disminución del ataque de *Penicillium spp.*

De igual manera en un estudio realizado en carambola (*Averrhoa carambola L.*), Andrade *et al.* (2010) reportaron que el tratamiento de UV-C contribuyó a la acumulación de fenoles en un 28% y un 15% en flavonoides. Al final del almacenamiento de carambola tratada con UV-C, los investigadores hallaron una mayor actividad del sistema enzimático antioxidante. Con lo que se alcanzó prolongar la vida útil en 7 días.

En cuanto a las poliaminas, varios estudios han reportado el efecto positivo de la luz UV-C. La mayoría de los investigadores asocian el incremento de las poliaminas con una mayor firmeza y una mayor resistencia al daño por frío de los fruto, lo que permite alargar la vida útil de los mismos.

Tabla 4 Efecto indirecto de la luz UV-C en hortalizas

Especie (variedad)	Dosis (10^3 j/m^2)	Efecto	Mecanismo de acción
Brócoli (Cicco)	10	Retrasa degradación de clorofila y aumenta capacidad antioxidante.	Disminuye la actividad de enzimas peroxidadas, aumenta actividad de clorofilasa en almacenamiento. No hay un efecto directo de UV-C en las moléculas de clorofila y la acumulación de feofitinas, posiblemente a través de un mecanismo bioquímico que depende de muchos factores.
Champiñón (A. bisporus y A. bitorquis)	0.29-1.47 ($\times 10^{-3}$)	Aumenta la síntesis de vitamina D2.	Se activa un mecanismo antioxidante en respuesta a UV-C, que induce la síntesis de ergosterol.
Chile (Bell Boy, Delphin)	0.22-2.20	Resistencia infecciones naturales y <i>B. cinerea</i> .	Todas las dosis protegen contra infecciones naturales, mientras que para <i>B. cinerea</i> sólo hay protección si se inocula artificialmente después de la irradiación, no antes.
Tomate (Capello)	3.7-24.4	Retraso de senescencia.	Posible relación entre el incremento de niveles de putrescina y el retraso de maduración. A la menor dosis se logra retraso en senescencia por 7 días.

Tomado de Rivera et al., (2007)

Tabla 5. Efecto indirecto de la luz UV-C en frutos de clima templado

Especie (variedad)	Dosis (10^3j/m^2)	Efecto	Mecanismo de acción
Fresa (Kent)	0.25-1.0	Resistencia a <i>B. cinerea</i>	Los frutos que fueron tratados con dosis más baja mostraron menor tasa de senescencia y extendieron la vida útil en 4-5 días
Pera (Gialla)	0.75	No tiene efecto contra el deterioro. Causa daño a la dermis del fruto	
Durazno (Elberta)	7.5	Protección contra <i>M. frutícola</i> . Retrasa maduración	Suprime síntesis de etileno, aumenta actividad de enzima fenilalanina amonioliasa e incrementa el número de levaduras antagonistas <i>Debaromyces hansenii</i>
Fresa (Kent)	0.25-1	Resistencia a <i>B. cinerea</i> y <i>M. fructigena</i>	Los frutos tratados con la dosis más baja mostraron menor tasa de senescencia, y extendieron la vida útil en 4-5 días
Manzana (Red Delicious)	7.5	Defensa contra deterioro por <i>P. expansum</i>	La aplicación temprana enciende mecanismos de defensa y prepara al fruto para contrarrestar la infección

Adaptado de Rivera et al. (2007)

Tabla 6. Efecto indirecto de la luz UV-C en frutos tropicales y subtropicales.

Limón (Eureka)	0-15	Reduce deterioro por <i>P. digitatum</i> . Incremento de la fitoalexina escoporona	La reducción de deterioro sólo se presenta si la inoculación del patógeno es aplicada al menos 24 h antes de la luz UV-C
Mango (Haden)	2.46-4.93	Aumenta el contenido de fenoles y flavonoides totales y aumenta actividad enzimática de LOX.	Respuesta de defensa contra estrés oxidativo y activación de enzima PAL.
Naranja (varios cultivares)	0.5-3.0	Reduce deterioro.	Incremento de escoporona y escopoletina, proporcional a la dosis suministrada.
Naranja (Shamouti, Valencia)	0.2-15	Resistencia a <i>P. digitatum</i> .	Incremento en niveles de escoporona después de la irradiación UV, en todas las dosis probadas.
Toronja (Star Ruby)	0.5-3.0	Retraso de deterioro y aumento en síntesis de escoparona y escopoletina.	Dosis mayores de 1.5 (10^3 J/m ²) causan pardeamiento y necrosis del tejido irradiado.
Limón (Eureka)	0-15	Reduce el efecto por <i>P. digitatum</i> . Incrementa niveles de la fitoalexina escoporona.	La reducción de deterioro sólo se presenta si la inoculación del patógeno es aplicada al menos 2 h antes de la UV-C
Mango (Tommy Atkins)	4.9-9.9	Incrementa resistencia a deterioro. Mejor apariencia y textura comparada con testigos no tratados.	Inducción de esprimidina y putrescina.

Adaptado de Rivera et al., (2007)

González y colaboradores (2005) llevaron a cabo un estudio con el fin de investigar el efecto de la aplicación de irradiación UV-C sobre los cambios ocasionados en

frutos sensibles al daño por frío, como duraznos, mangos y nectarinas, así como el efecto en la calidad postcosecha de las frutas. En mango encontraron con un tratamiento de UV-C de 10 min un incremento de los niveles de poliaminas, especialmente de espermidina. Por otro lado en los frutos de durazno y nectarina, obtuvieron resultados muy parecidos, con tiempos de exposición de 3 y 5 minutos alcanzaron un mayor nivel de la poliamina putriscina, espirmidina y espermina en ambos frutos. Los investigadores sugieren que el mayor grado de firmeza del fruto al igual que el menor daño por frío que encontraron con los tratamientos de UV-C, está relacionado al incremento de estas poliaminas.

Lamikanra *et al.* (2005) después de procesar melones bajo irradiación UV-C, se obtuvo una mayor firmeza del fruto al comparar con los frutos testigos, sostienen que las poliaminas suprimen la degradación de la pared celular al inactivar las enzimas de degradación de pared celular.

Robles y colaboradores (2007), realizaron una investigación para estudiar el efecto de la radiación UV-C sobre el color y firmeza del tomate "Pitenza" conservado a 12 °C durante 21 días seguidos por un periodo complementario en aire de 7 días a 18°C para todas las muestras, para así simular el periodo de comercialización. Luego de una dosis de 4,540 J/m² concluyeron que el tratamiento UV-C retrasó la maduración de los frutos, expresada por la evolución del color y de la firmeza. La firmeza se mantuvo tras un periodo complementario de comercialización de 7 días a 18°C.

Stevens *et al.* (2002) en un estudio realizado en los tomates "Better boy" y "Floradade", determinaron que con dosis de 3,600 j/m² se aumenta significativamente

la firmeza del fruto. Los investigadores relacionaron esta mejora de la firmeza del fruto con la disminución de la actividad de la enzima polygalacturonasa que se encontró en los tratamientos con UV-C. Gonzáles (2012) afirmó que una dosis de $13,000 \text{ j/m}^2$ influye en la pérdida de peso y en la dureza de frutos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), alcanzando una menor pérdida de peso y una mayor dureza de los frutos tratados.

Bal (2012) determinaron los efectos del tratamiento UV-C en la calidad postcosecha de higos frescos, encontraron que con una aplicación de 20 min con lámparas de 30 W mejora notablemente la calidad postcosecha de los frutos. Los frutos que fueron sometidos al tratamiento UV-C, tanto el porcentaje de pérdida de peso como el grado de rajado de los frutos fueron menores a los obtenidos en el control, con lo que se obtuvo un 10 % de descomposición de los frutos luego de 24 días frente al control que tuvo una descomposición de 25%.

Pombo et al. (2008) analizaron el efecto del tratamiento UV-C en el ablandamiento de la frutilla. Al final del estudio observaron un retraso en el ablandamiento de los frutos tratados con una dosis de $4,100 \text{ j/m}^2$, los investigadores atribuyen este efecto a la probable disminución de la expresión de una serie de genes que están involucrados en la degradación de la pared celular.

Por otro lado Silveira y colaboradores (2007) no encontraron mejoras significativas en la firmeza del fruto, al evaluar distintas dosis UV-C en melón "Galia". No obstante, notaron que tratamientos de $3,600 \text{ j/m}^2$ y $4,800 \text{ j/m}^2$ proporcionaron una pulpa más firme. Marquenie et al. (2002) también observaron una firmeza del fruto similar en

fresas tratadas y no tratadas con luz UV-C. Mientras que Vicente et al. (2004) lograron mantener la firmeza inicial de frutas haciendo uso de luz UV-C combinada con tratamientos térmicos(Vicente et al., 2004).

III. Objetivos

3.1 Objetivo General:

Evaluar el efecto de la radiación ultra violeta de onda corta (UV-C) para mantener la calidad sanitaria de la vainilla (*Vainilla tahitensis*).

3.2 Objetivos específicos:

- Cuantificar el efecto de los distintos tratamientos de luz UV-C en aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes y *Escherichia coli*.
- Determinar el tiempo y distancia de exposición a la luz UV-C más adecuados para desinfectar la vainilla.
- Alcanzar los requisitos microbiológicos establecidos por el INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización) para especias y condimentos.

IV. Hipótesis

La aplicación de luz ultravioleta de onda corta (UV-C) durante el tratamiento de postcosecha permitirá mantener la calidad fitosanitaria y conservar las cualidades organolépticas características de la vainilla (*Vainilla tahitensis*).

V. Materiales y Métodos

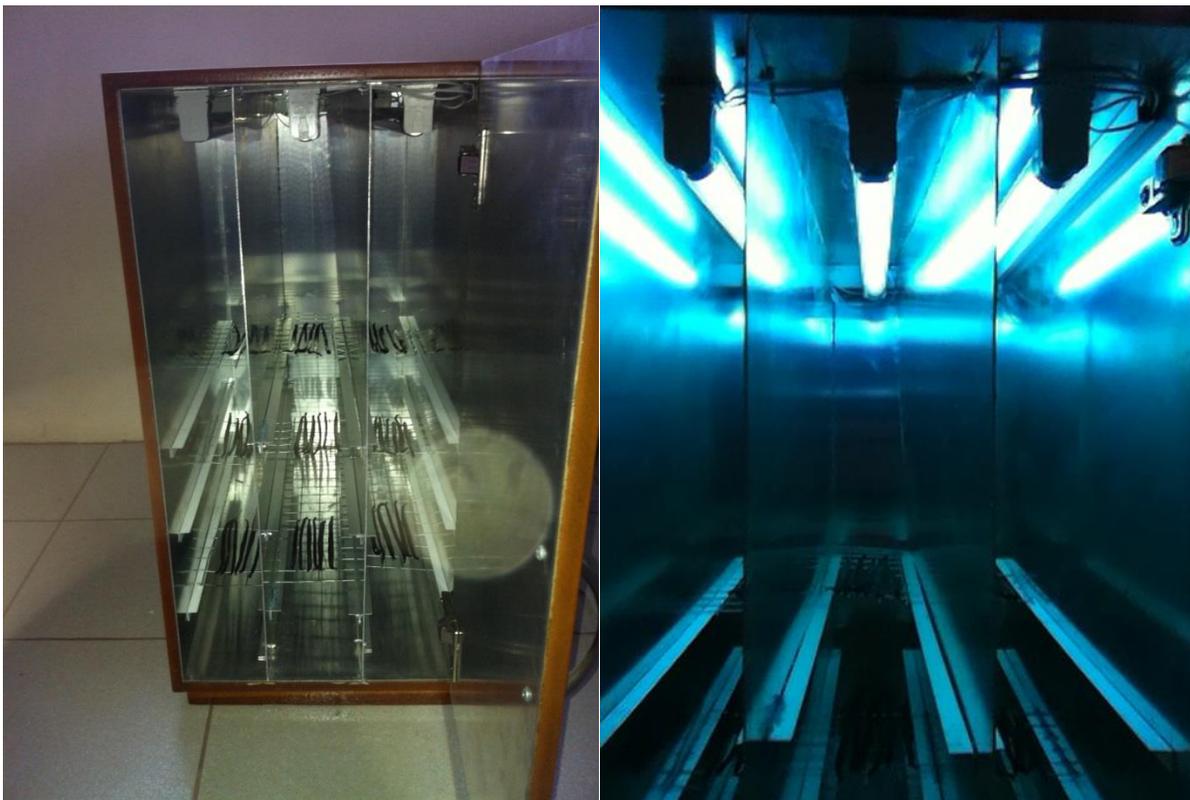
5.1 Materiales

Para el estudio se utilizó un total aproximado de 300 g de vainilla (*Vainilla tahitensis*) procedente de la “Granja María Elena 1”, que se encuentra ubicada en la provincia Santo Domingo de los Tsáchilas, en las estribaciones de la Cordillera Occidental a 133 kilómetros de Quito (latitud -0.2333// longitud -79.2167). Los materiales que se utilizaron para llevar a cabo la desinfección con luz UV fueron: planchas de aluminio, rejillas metálicas, madera triplex, lámparas de luz UV-C de 254 nm de 15 W de potencia, empacadora al vacío, cronometro y desinfectante de manos.

5.1.1 Equipos

Se construyó una cámara de luz UV-C en base a un modelo realizado por investigadores de la Universidad Técnica de Ambato para un estudio de la vida útil de fresas mediante tratamiento con radiación ultravioleta (Beltrán et al., 2010). El modelo consiste en una cámara elaborada de madera de 60 * 60 * 30 cm, que se encuentra recubierta por paredes de aluminio. Dentro de la cámara se encuentran 3 compartimientos, donde cada compartimiento contiene una lámpara de luz UV-C; en el interior de los compartimientos se encuentran tres rejillas metálicas colocadas a diferentes distancias de 30, 40 y 50 cm de las lámparas de cada compartimiento (figura 4).

Figura 4 Cámara de luz UV-C



Elaborado por Espinosa (2013)

5.2 Métodos

El experimento se llevó a cabo en la provincia de Pichincha en la “Granja María Elena 2” ubicada en la localidad de Churroloma-Tumbaco (Sur $-0^{\circ} 11' 53.07''$ // Oeste $-78^{\circ} 23' 53.72''$), mientras que los análisis de las muestras junto con la obtención de resultados se realizaron en los laboratorios de microbiología de la Universidad San Francisco de Quito.

5.2.1 Métodos de laboratorio

Una vez que fueron aplicados los distintos tratamientos de luz UV-C, las vainillas se almacenaron por 14 días a temperatura ambiente, para luego realizar el análisis microbiológico. Aquí se evaluó la carga microbiana de las muestras, al medir: aerobios mesófilos, mohos y levaduras, *Escherichia coli* y coliformes. Los métodos de laboratorio que se realizaron para cuantificar las variables fueron en base a lo que indica la norma INEN 2532 (2010), por lo que para el conteo de las variables aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes y *Escherichia coli* se utilizaron los métodos de laboratorio NTE INEN 1529-5, NTE INEN 1529-10, NTE INEN 1529-7 e ISO 16649-2 respectivamente.

5.2.2 Método experimental

Para el estudio se utilizó un DCA (Diseño Completamente al Azar) con arreglo factorial aumentado 3x3+1, con 3 repeticiones. Además se usó la prueba de significación de rango múltiple de DUNCAN, para establecer –mediante comparaciones- las diferencias entre las medias de tratamientos.

Los factores a estudiar fueron distancia y tiempo de exposición de la luz UV-C a las vainas, con tres niveles de cada factor más un testigo a temperatura ambiente. Los niveles se eligieron en base a estudios que se han realizados en frutas y a pruebas preliminares, obteniendo así un total de 10 tratamientos incluyendo el testigo (tabla 7). Las dosis de UV-C de los tratamientos fueron desde 4,930 j/m² a 14, 790 j/m².

Factor	Niveles	Factor	Niveles
A (Distancia)	A0 (30 cm)	B (Tiempo)	B0 (10 min)
	A1 (40 cm)		B1 (20 min)
	A2 (50 cm)		B2 (30 min)

Tabla 7. Tratamientos

Tratamiento	Factor distancia	Factor tiempo
A0B0	30 cm	10 min
A1B0	40 cm	10 min
A2B0	50 cm	10 min
A0B1	30 cm	20 min
A1B1	40 cm	20 min
A2B1	50 cm	20 min
A0B2	30 cm	30 min
A1B2	40 cm	30 min
A2B2	50 cm	30 min
Control	*	*

*: Ausencia de luz UV-C

Debido a que las variables de respuesta que se midieron fueron en base a UFC (Unidades formadoras de colonias) y UPML (Unidades propagadoras de mohos y levaduras), se realizó una transformación logarítmica de los datos con el fin de que se cumplan los requisitos para el análisis de la variancia como son: homogeneidad, normalidad, independencia y aditividad. Esta transformación de datos comprime valores bien altos y riega los valores bajos, resultando ser muy útil cuando hay una gran variación en los valores (Sánchez, 2012).

VI. Resultados

6.1 Recuento aerobios mesófilos.

En general el recuento de aerobios mesófilos en vainilla fueron bajos, incluso en el testigo a temperatura ambiente (Anexos 11.2), todos los 10 tratamientos tuvieron recuentos dentro de los límites aceptables establecidos por el INEN (Anexo 11.1). Los componentes principales (distancia y tiempo) al igual que las interacciones demostraron diferencias significativas. De igual manera, al comparar al testigo versus el resto de tratamientos, se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) (Tabla 8), lo mismo ocurrió en los tratamientos. Por otro lado el coeficiente de variación (C.V.) es aceptable, considerando que es un estudio microbiológico.

Tabla 8. Resultados del ANOVA para la variable aerobios mesófilos

FUENTES	GL	SC	CM	FC	FE	
Total	29	5,86			0,05	0,01
Tratamientos	9	4,63	0,51	8,41**	2,40	3,45
A	2	3,16	1,58	25,78**	3,49	5,85
B	2	0,50	0,25	4,07*	3,49	5,85
A*B	4	0,70	0,18	2,88*	2,87	4,43
Testigo vs Resto	1	0,28	0,28	4,51*	4,35	8,1
Error Exp.	20	1,22	0,06			

* $p \leq 0.05$ (diferencia significativa) ** $p \leq 0.01$ (diferencia altamente significativa)

C.V.: 10,41

Sy: 0,14

Sd: 0,20

Se puede observar en la tabla 10 que el tratamiento A2B0 (50 cm y 10 min) fue estadísticamente diferente a los demás tratamientos, con mayor recuento de aerobios mesófilos. En este caso interesan aquellos tratamientos con menor recuento de aerobios mesófilos, es decir el rango “d”, que se encuentra conformado

por los tratamientos: A0B2, A0B1, A0B0, A1B1 y A1B0. Desde otra comparación, el tratamiento Testigo no muestra diferencias con los tratamientos: A1B0, A1B2, A2B2 y A2B1.

Tabla 9. Valores de DUNCAN

	2	3	4	5	6	7	8	9	10
RMD	2,95	3,1	3,19	3,25	3,3	3,34	3,37	3,39	3,41
RMS	0,42	0,44	0,46	0,46	0,47	0,48	0,48	0,48	0,49

RMD= Rango múltiple de Duncan

RMS= Rango mínimo significativo

Tabla 10. Rangos de los tratamientos

Tratamiento	A0B2	A0B1	A0B0	A1B1	A1B0	A1B2	A2B2	A2B1	TESTIGO	A2B0
Media	1,87	1,96	2,00	2,26	2,32	2,35	2,52	2,52	2,66	3,29
Rangos	d	d/c	d/c	d/c	d/c/b	c/b	b	b	b	a

*Medias obtenidas luego de la transformación de datos

En la figura 5 se puede apreciar claramente como el tratamiento A0B2 (30 cm y 30 min) es aquel que presenta el menor recuento de aerobios mesófilos, aunque sin diferencias significativas para A0B1, A0B0, A1B1, A1B0. El tratamiento A2B0 (50 cm y 10 min) junto con el testigo son los que presentan mayor recuento de aerobios mesófilos.

Aquellos tratamientos con menores distancias de exposición UV-C fueron aquellos que obtuvieron menores recuentos de UFC por gramo. Mientras que los tratamientos con mayores distancias de exposición UV-C presentaron los recuentos más altos (Figura 6).

Figura 5. Recuento aerobios mesófilos (UFC/g) luego de la transformación de datos (Anexos 11.3).

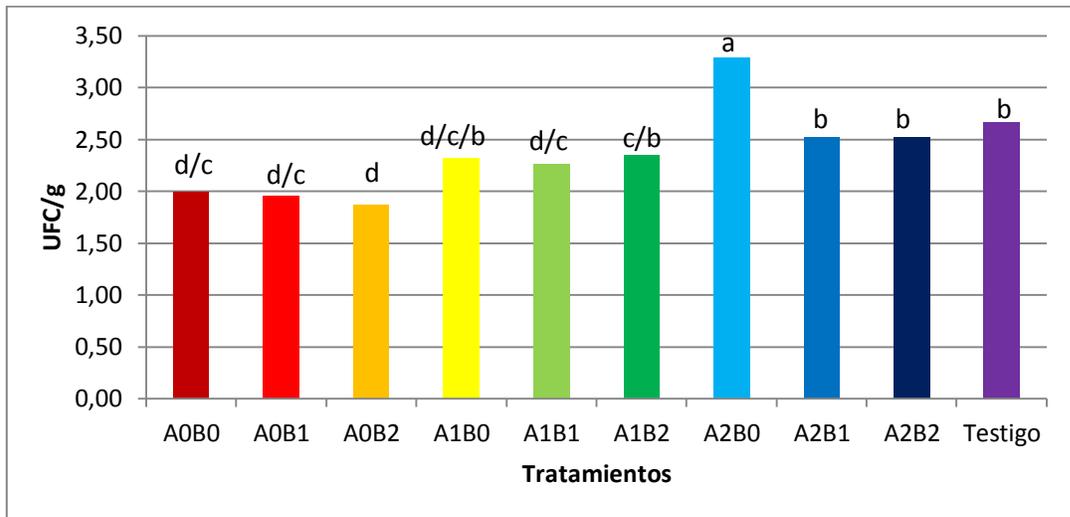
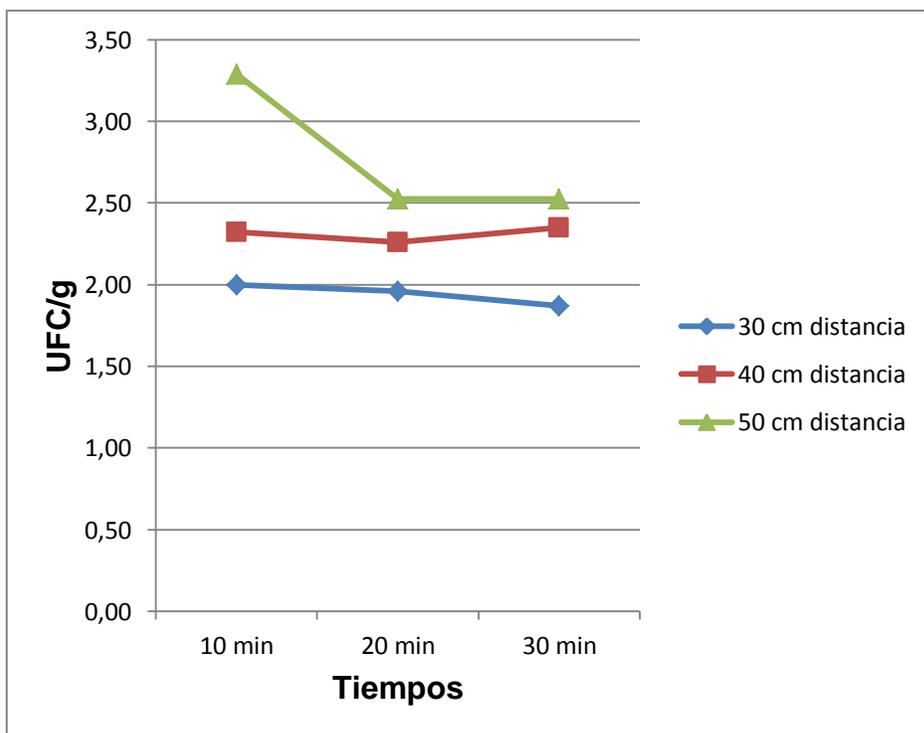


Figura 6. Relación distancia-tiempo, variable aerobios mesófilos luego de la transformación de datos.



6.2 Recuentos mohos y levaduras.

En lo que refiere a mohos y levaduras, todos los tratamientos incluyendo el testigo obtuvieron conteos por debajo del límite aceptación unitaria propuesta por el INEN (Anexo 11.4) (Anexo 11.1). Se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos al igual que para el factor A (distancia), de igual manera al comparar el testigo versus el resto de tratamientos se tiene diferencia significativa, mientras que el factor B (tiempo) como la interacción entre factores (tiempo y distancia) no presenta diferencia significativa (Tabla 11).

Tabla 11. Resultados del ANOVA recuento mohos y levaduras

FUENTES	GL	SC	CM	FC	FE	0,01
Total	29	6,26			0,05	0,01
Tratamientos	9	3,94	0,44	3,78**	2,40	3,45
A	2	2,73	1,37	11,79**	3,49	5,85
B	2	0,41	0,21	1,78	3,49	5,85
A*B	4	0,18	0,04	0,38	2,87	4,43
Testigo vs Resto	1	0,62	0,62	5,38*	4,35	8,1
Error Exp.	20	2,32	0,12			

* $p \leq 0.05$ (diferencia significativa) ** $p \leq 0.01$ (diferencia altamente significativa)

C.V.: 18,40

Sy: 0,20

Sd: 0,28

En la tabla 13 se observa al igual que en la variable aerobios mesófilos que el tratamiento A2B0 (50 cm y 10 min) es el que tiene mayor recuento de UPML y forma un mismo rango con los tratamientos Testigo, A2B1 y A2B2. El rango con menor recuento de mohos y levaduras son los tratamientos pertenecientes al rango “d” que incluyen: A0B2, A0B1, A0B0, A1B2, A1B1 y A1B0.

Tabla 12. Valores de DUNCAN

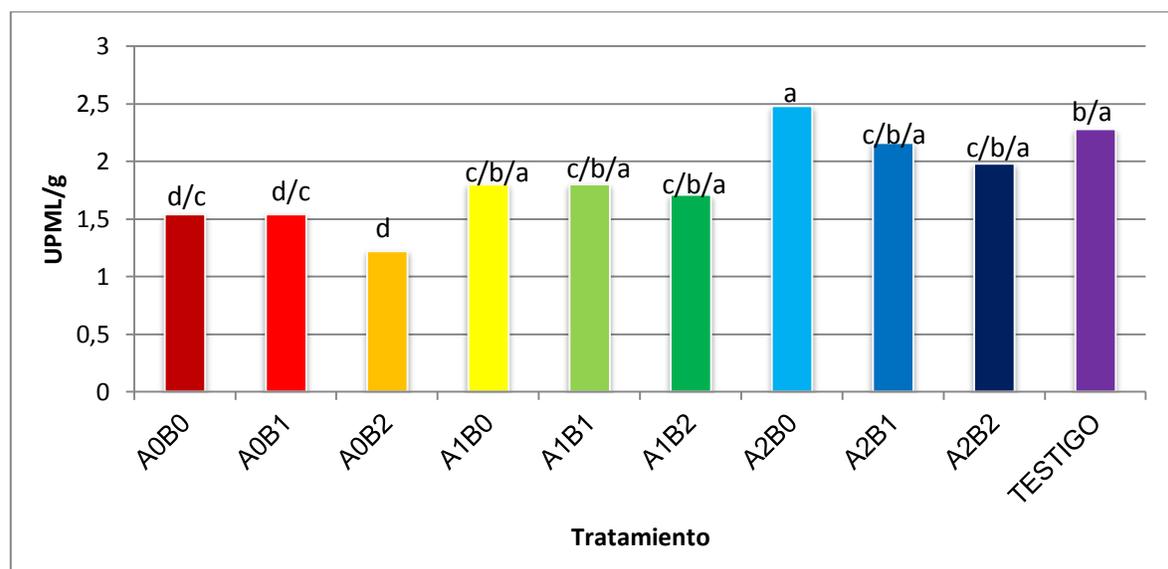
	2	3	4	5	6	7	8	9	10
RMD	2,95	3,1	3,19	3,25	3,3	3,34	3,37	3,39	3,41
RMS	0,42	0,44	0,46	0,46	0,47	0,48	0,48	0,48	0,49

Tabla 13. Rangos de los tratamientos

Tratamiento	A0B2	A0B1	A0B0	A1B2	A1B1	A1B0	A2B2	A2B1	TESTIGO	A2B0
Media	1,22	1,54	1,54	1,71	1,80	1,80	1,98	2,16	2,28	2,48
Rangos	d	d/c	d/c	c/b/a	c/b/a	c/b/a	c/b/a	c/b/a	b/a	a

*Medias obtenidas luego de la transformación de datos (Anexo 11.5)

En la figura 7 se puede apreciar claramente como al igual que en la variable aerobios mesófilos, el tratamiento A0B2 (30 cm y 30 min) es aquel que presenta el menor recuento de aerobios mesófilos, y que el tratamiento A2B0 (50 cm y 10 min) junto con el testigo son los que presentan mayor recuento de aerobios mesófilos (figura 8).

Figura 7. Recuento mohos y levaduras (UPML/g) luego de la transformación de datos (Anexo 11.5).

De la misma manera, los tratamientos con menores distancias a la fuente de luz UV-C fueron aquellos que obtuvieron menores recuentos de UFC por gramo. Mientras

que los tratamientos con mayores distancias de exposición UV-C presentaron los recuentos más altos (Figura 8). En la figura 9 se puede ver como el tratamiento A0B2 (30 cm y 30 min) fue aquel que presentó el menor conteo tanto para aerobios mesófilos así como para mohos y levaduras.

Figura 8. Relación distancia-tiempo, mohos y levaduras luego de la transformación de datos.

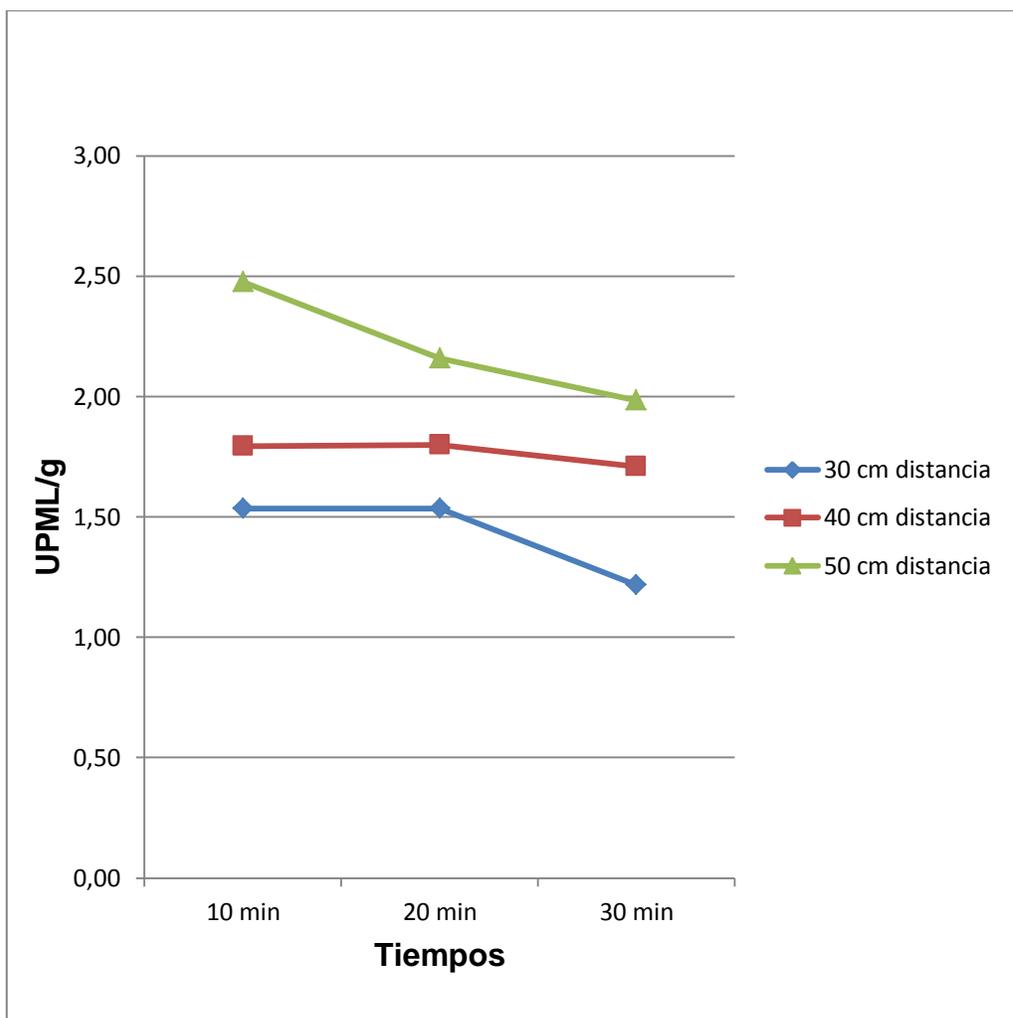
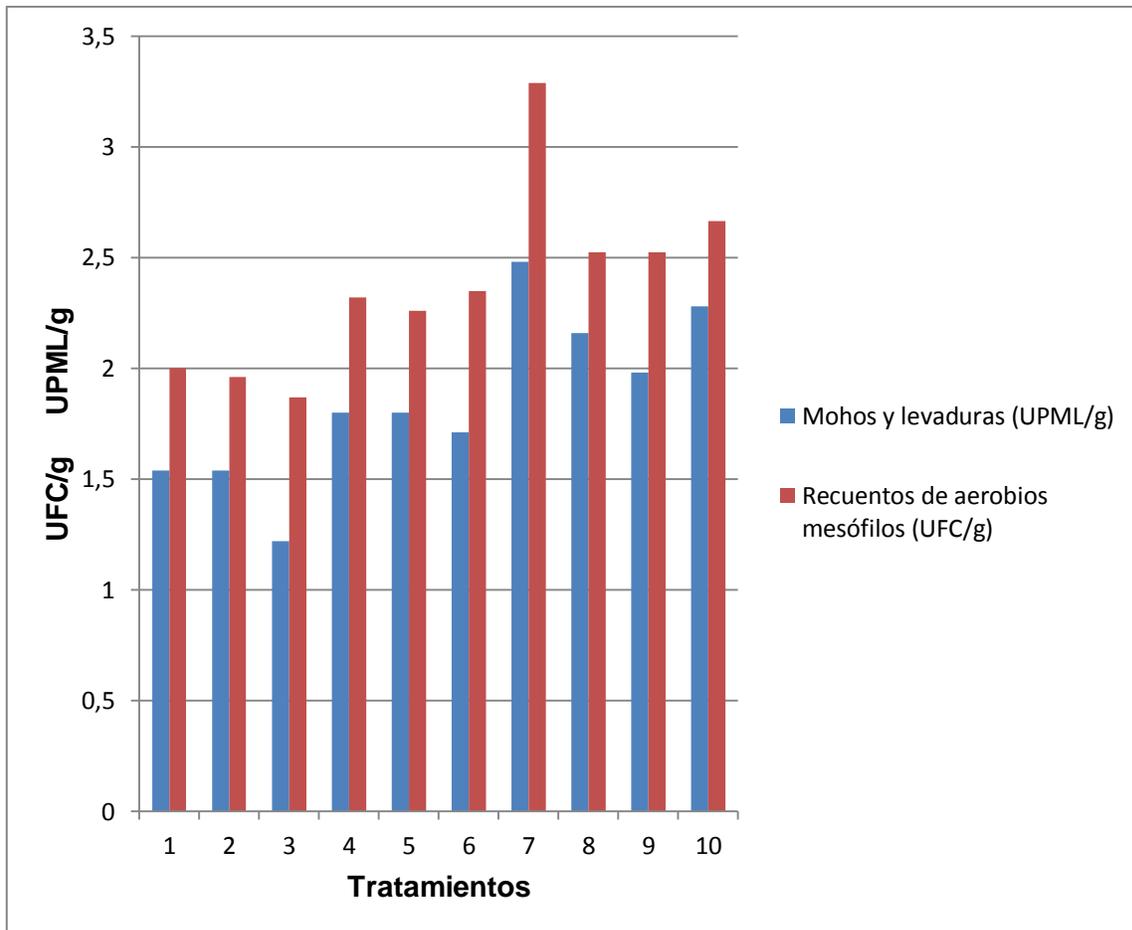


Figura 9. Aerobios mesófilos vs mohos y levaduras de los tratamientos con UV-C luego de la transformación de datos.



6.3 Recuento coliformes totales y *Escherichia coli*

En ambas variables tanto para coliformes como para *Escherichia coli* todos los tratamientos incluyendo el testigo, obtuvieron conteos muy por debajo del límite de aceptación unitaria propuesta por los requisitos microbiológicos de la Norma NTE 2 532:2010 (Anexo 11.1) Por lo que no se realizó ningún tipo de análisis estadístico (Instituto de Microbiología Universidad San Francisco, 2013).

VII. Discusión

7.1 Aerobios mesófilos

Los aerobios mesófilos en postcosecha pueden provocar un rápido deterioro y una disminución en la calidad final de las vainillas. En el presente estudio, los aerobios mesófilos de las vainas se vieron afectados por los tratamientos con luz UV-C, ya que al comparar el contenido de aerobios mesófilos del testigo con el resto de tratamientos UV-C encontramos una diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$).

El tratamiento más efectivo para eliminar aerobios mesófilos fue el A0B2 (30cm y 30 min). La efectividad de este tratamiento puede atribuirse a una alta dosis de luz UV-C (14,790 j/m^2 aproximadamente) y principalmente a la corta distancia de exposición a la luz UV-C que presenta. Al comparar el tratamiento A0B2 (30 cm y 30 min) con el testigo, se puede ver una disminución del 30% en el contenido de aerobios mesófilos. Esto se debe al efecto directo de la luz UV-C sobre el DNA de los microorganismos (Guimaraes, 2005). Similares resultados se obtuvieron en otros estudios de luz UV-C en frutas (Beltrán et al., 2010) (Lamikanra et al., 2005) (Allende y Artés, 2003).

Los tratamientos donde se observó mayor actividad germicida fueron en aquellos tratamientos con una distancia de exposición UV-C de 30 cm, seguidos por los tratamientos con una distancia de 40 y 50 cm. Siendo los menos efectivos aquellos tratamientos con distancia de exposición de 50 cm.

Por otro lado, en lo que refiere al tiempo de exposición UV-C, generalmente los mayores tiempos de exposición UV-C tuvieron mayor éxito para controlar los microorganismos. Se observaron resultados similares a los encontrados por Erkan y colaboradores (2000) donde al evaluar tiempos de 1, 10 y 20 minutos a 15 cm de distancia, el tratamiento de 20 minutos fue el de mayor efectividad germicida.

Generalmente se observó que aquellos tratamientos con menores distancias y mayores tiempos de exposición UV-C fueron aquellos que obtuvieron menores recuentos de UFC por gramo, mientras que los tratamientos con mayores distancias y menores tiempos de exposición UV-C presentaron generalmente contenidos más altos de aerobios mesófilos. Sin embargo, Silveira y colaboradores (2005) al evaluar dosis de 1,200 j/m^2 a 4,000 j/m^2 en melón, obtuvieron mejores resultados con la dosis más baja (1,200 j/m^2), similares resultados a este obtuvieron Lamikanra et al. (2005) al encontrar efectiva una dosis de apenas 0,024 j/m^2 . Esto se puede atribuir a las diferencias que existe entre el melón y la vainilla, varios reportes sugieren que la matriz (composición química y ordenamiento estructural) propia del fruto, juega un papel importante en el daño causado por la irradiación UV-C en el DNA de los microorganismos (Rivera et al., 2007).

Los resultados del recuento total de aerobios mesófilos de este estudio determina que existe una diferencia altamente significativa ($p \leq 0,01$) para los componentes distancia y tiempo, al igual que para las interacciones. En un estudio similar realizado en frutilla, en el que se analizaron las mismas distancias encontraron igualmente diferencia significativa para el efecto de la distancia. Sin embargo al analizar la

interacción entre los factores tiempo y distancia de exposición UV-C, los investigadores no encontraron diferencias significativas. Esto se podría explicar a que en el estudio realizado en frutilla se utilizaron tiempos menores de: 5, 7.5 y 10 min (Beltrán et al., 2010).

A pesar del efecto de la luz UV-C sobre las UFC de aerobios mesófilos, al igual que en otros estudios no todas las dosis de UV-C tuvieron un efecto benéfico en este estudio. González et al. (2005), demostraron que cuando se aplica tiempos de exposición menores a 10 min no se tiene un efecto marcado en frutos de mango maduros. Al igual que González et al. (2005) no se encontraron en el estudio diferencias estadísticas entre el testigo a temperatura ambiente y los tratamientos. Estos tratamientos fueron los siguientes: A1B0 (40cm y 10 min), A1B2 (40 cm y 30 min), A2B2 (50 cm y 30 min) y A2B1 (50 cm y 20 min).

La razón por la cual ciertos tratamientos de UV-C no tuvieron éxito, se puede asumir a que la dosis de UV-C de estos tratamientos no fue lo suficientemente fuerte para las distancias a las cuales se encontraban las vainillas de la fuente de luz UV-C, seguramente para distancias mayores como las de estos tratamientos se requiere de un mayor tiempo de exposición para subir la dosis de luz UV-C.

Se puede concluir que a una distancia de exposición de luz UV-C de 30 cm por tiempos de 10 y 30 minutos, la actividad germicida de la lámpara UV-C es efectiva para desinfectar vainillas de aerobios mesófilos.

7.2 Mohos y levaduras

Una de las más grandes preocupaciones que se tiene en postcosecha es el control de microorganismos, especialmente en reducir el deterioro de los alimentos provocada por los distintos hongos que reducen considerablemente la calidad de los alimentos y que ocasionan elevadas pérdidas económicas. Los resultados obtenidos en este trabajo de luz UV-C en vainilla (*Vainilla planifolia tahitense*), coinciden con estudios que han reportado efecto significativo de la luz UV-C en la cantidad de hongos presentes en los alimentos.

A pesar de que la mayoría de estudios han demostrado la eficacia de usar luz UV-C para reducir microorganismos y extender la vida en percha de alimentos, la mayoría de estos se han realizado en frutas y vegetales. Sin embargo, los resultados de este estudio realizado en vainas de vainilla coinciden con varios trabajos realizados en frutas como: higo (Erkan et al., 2000), frutilla (Beltrán et al., 2010), durazno, mango y nectariana (González et al., 2005). Donde exposiciones de UV-C a cortas distancias, han sido efectivas para reducir la cantidad de microorganismos presente en los productos. En vainilla se observó una diferencia altamente significativa para el componente distancia, siendo más efectivos aquellos tratamientos con distancias de exposición de 30 cm como son los tratamientos: A0B2 (30 cm y 30 min), A0B1 (30 cm y 20 min) y A0B0 (30 cm y 10 min).

Al igual que en la vainilla, se ha reportado la efectividad del uso de luz UV-C para reducir mohos como: el moho verde (*Penicillium digitatum*) común en cítricos como la naranja, mandarina y limón (Rivera et al., 2007); el moho azul (*P. expansum*) común

en manzanas (De Capdeville et al., 2002); y hongos ascomicetos como *Alternaria citri* en cítricos y *Alternaria alternata* en tomate (Liu et al., 1993).

La luz UV-C en frutas y hortalizas ha resultado ser un tratamiento efectivo para alargar la vida útil de estos productos por ser letal para la mayoría de microorganismos. Varios autores han obtenido buenos resultados al aplicar UV-C para controlar hongos como: *Botrytis cinerea* en fresa “Kent”, uva “Italia”; chile “Better Boy”, tomate “Floradade” y cereza (varios cultivares); *Monilinia fructicola* en durazno “Loring” y “Elberta”, y cereza (varios cultivares); y *Rhizopus stolonifer* en tomate “Tuskegee” y “Capello” (Rivera et al., 2007) (Baka et al., 1999) (Marquenie et al., 2002) (Liu et al., 1993).

En la mayoría de estos trabajos usaron bajas dosis de UV-C (entre 200 y 15,000 j/m^2) que fueron suficientes para reducir la infección de hongos. En el caso de la vainilla, las dosis de los tratamientos variaron entre 4,930 y 14, 790 j/m^2 , las cuales dieron resultados significativos para la distancia de 30 cm, mientras que las mismas dosis a distancias de 40 y 50 cm, no mostraron diferencias frente al testigo a temperatura ambiente.

La razón por la cual las dosis de luz UV-C no tuvieron éxito para las distancias de 40 y 50 cm, se atribuye a que las dosis de UV-C no fueron lo suficientemente fuertes para cubrir la distancia a las que fueron expuestas las vainas de vainilla. Se puede decir que para distancias mayores a 30 cm se requiere de dosis de UV-C superiores a 14, 790 j/m^2 . Varios estudios en los que se obtuvo éxito utilizan distancias de exposición menores a los 40 cm (Robles et al., 2007) (Erkan et al., 2001)(González,

2012), sin embargo, se debe tomar en cuenta que distancias muy cortas con dosis elevadas pueden provocar daños en la superficie del tejido, como manchado de la piel y deshidratación (González et al., 2005).

En cuanto a levaduras, Lamikanra et al. (2005) con una dosis de UV-C de apenas 0,024 J/m^2 por 4 min aplicada en melón (*Cucumis melo* L) mínimamente procesado antes y durante su corte, fue suficiente para reducir las poblaciones de levaduras y hongos, durante un almacenamiento de 10 °C. Allende y Artés (2003) también obtuvieron resultados similares al aplicar dosis de 0.4, 0.81, 2.44, 4.07 y 8.14 $\times 10^3$ J/m^2 en lechuga (*Lactuca sativa* L.) A pesar de que estos trabajos reportan buenos resultados con bajas dosis de UV-C, en vainilla se ve un caso diferente donde el tratamiento más exitoso fue A0B2 (30cm y 30 min). Al ser el tratamiento de 30 min y 30cm de exposición de luz UV-C, este tiene la dosis más alta de 14, 790 J/m^2 de los demás tratamientos. Esta diferencia entre la vainilla, el melón y la lechuga puede ser por las diferencias de composición química y ordenamiento estructural que posee cada una de estas especies.

Debido a que la luz UV-C se conoce que ocasiona daños en el DNA incluyendo la formación de dímeros de primidina (Wright & Carins, 2008), roturas en la cadena de DNA y la inducción de aberraciones en los cromosomas, no es de sorprenderse que haya incrementado la mortalidad de los microorganismos en los tratamientos a cortas distancias con altas dosis de UV-C. Además, este decremento en la población microbiana se puede deber a la acumulación de compuestos fungicidas (Erkan et al., 2000).

Varios autores sustentan este efecto benéfico sobre frutos, que aumenta los niveles de compuestos fungicidas. González et al.(2005), en un estudio de luz UV-C realizado en mango, durazno y nectarina, el tratamiento de UV-C provocó el incremento de los niveles de poliaminas para mango y durazno, especialmente de putrescina y espermidina. González-Aguilar et al. (2001) también encontraron una mayor resistencia al deterioro en mango gracias a una inducción de espermidina y putrescina. Otros frutos en los que se ha encontrado efectos positivos en los niveles de fitoalexinas, fenoles y flavonoides son en limón, naranja y toronja (Rivera et al., 2007).

En base a los resultados de este estudio se puede concluir que al usar tratamientos de luz UV-C a 30 cm de distancia por tiempos de 10, 20 y 30 min, son eficientes para desinfectar las vainas de vainilla.

7.3 Coliformes y *Escherichia coli*

En las vainas de vainilla ninguno los tratamientos incluyendo el testigo a temperatura ambiente presentó coliformes o *E. coli*, por lo que se considera que en un inicio las vainas no estaban contaminadas con estos microorganismos, sin embargo, existe evidencia que los tratamientos con UV-C con altas dosis detienen el crecimiento de estos microorganismos. En lo que refiere a coliformes y *E. coli*, se ha visto una capacidad germicida en los tratamientos de luz UV-C. En el estudio realizado por Allende y Artés (2003) al evaluar los efectos de la luz UV-C sobre lechuga (*Latuca sativa* L.) mínimamente procesada, encontraron que con dosis de 0.4, 0.81, 2.44, 4.07 y 8.14 $\times 10^3$ j/m^2 se reduce la cuenta de coliformes, bacterias y levaduras. Por otro lado, Yaun et al. (2004) al ver el efecto de dosis de luz UV-C en *E. coli* en muestras de manzana "Red Delicious", lechuga y tomate, con un rango de 0.55-8.64 $\times 10^3$ j/m^2 , hallaron que la dosis máxima de 8.64 $\times 10^3$ j/m^2 aplicada en manzana disminuyó el crecimiento de *E. coli* en 3.3 unidades de logaritmo, mientras que las mismas dosis en tomate y lechuga inoculada con *E. coli* solo dieron una disminución de 2.65 y 2.79 unidades de logaritmo, respectivamente.

VIII. Conclusiones

De acuerdo a los resultados encontrados en el presente estudio, se concluye en primer lugar que el uso de luz UV-C en postcosecha tiene un efecto positivo en la calidad fitosanitaria de las vainas de vainilla. Los tratamientos con luz UV-C influyen directamente sobre los parámetros de higiene de las vainas, permitiendo disminuir la carga microbiana para alcanzar los requisitos microbiológicos establecidos por el Instituto Ecuatoriano de Normalización para especias y condimentos.

El uso de luz UV-C como medio de desinfección para vainas de vainilla se ve influenciado por el tiempo de exposición y especialmente por la distancia de la fuente de luz UV-C a las vainas. En base a los resultados, al usar una lámpara de UV-C de 15 W a una distancia de exposición de 30 cm de las vainas por tiempos de 10, 20 y 30 min se contribuye a la reducción de la carga microbiana, dando como resultado diferencias significativas con el testigo a temperatura ambiente y alcanzando características microbiológicas aceptables, con recuentos de aerobios mesófilos, mohos y levaduras dentro de los rangos aceptables por la norma NTE INEN 2532:2010 de especias y condimentos.

Por otro lado, al aplicar tratamientos de luz UV-C en vainas de vainilla con distancias de exposición de 40 y 50 cm los tiempos de 10, 20 y 30 min, estos no fueron suficientes para alcanzar diferencias significativas con el testigo a temperatura ambiente, en lo que refiere a la reducción de la carga microbiana de aerobios mesófilos y mohos y levaduras. La efectividad de los tratamientos con luz UV-C

depende de muchos factores, como la distancia y tiempos de exposición, la fuente e intensidad de luz UV-C, la especie y el cultivar que se utilizan.

La irradiación ultravioleta tipo C es un tratamiento que no deja residuos y que además no genera cambios indeseables en las características nutritivas y sensoriales de las vainas de vainilla. La luz UV-C es un tratamiento que podría considerarse como una herramienta postcosecha para preservar la calidad organoléptica y nutritiva de las vainas, y aumentar la comercialización de aquellos alimentos como la vainilla ya que en el mercado se valora mucho su calidad.

La luz UV-C como tratamiento germicida para vainas de vainilla, es una tecnología que no requiere de una alta inversión, lo que resulta de mucho interés para los productores de vainilla, ya que con una baja inversión podrían comercializar vainas vainilla de excelente calidad, con parámetros microbiológicos inofensivos para el consumidor y atributos sensoriales aceptables.

En el presente estudio determinó que el tratamiento A0B2 (30cm y 30 min) fue el de mayor efectividad germicida, obteniendo los mejores resultados con menor recuento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, en relación con los otros tratamientos bajo evaluación.

IX. Recomendaciones

Para obtener resultados más precisos en lo que refiere a coliformes y *E. coli*, se podría realizar una inoculación de estos microorganismos en las vainas de vainilla previo a los tratamientos con luz UV-C, y de esta forma conocer a detalle el efecto de la irradiación ultravioleta tipo C.

Conociendo el efecto positivo de los tratamientos con luz UV-C en la postcosecha de las vainas de vainilla, sería de interés profundizar los conocimientos en la capacidad germicida de los tratamientos con luz UV-C en aerobios mesofilos, mohos y levaduras. Un análisis microbiológico antes de la aplicación de luz UV-C permitiría conocer la infección microbiológica inicial de las vainas, para de esta forma obtener mejores respuestas y conocer a fondo la capacidad germicida de los tratamientos con luz UV-C.

Sería de interés realizar en las vainillas un análisis de endófitos anaerobios luego de los tratamientos con luz UV-C, para conocer el efecto de la luz UV-C en los microorganismos que crecen en ausencia de oxígeno que podrían estar presentes en las vainillas.

Son escasos los estudios realizados sobre los efectos bioquímicos de la luz UV-C en especias y condimentos como la vainilla, por lo que se requiere de trabajos que analicen el efecto de la luz UV-C en compuestos bioactivos que incrementan el valor nutricional de los productos. Además, existe la necesidad de diseñar equipos adecuados para llevar a cabo la aplicación de esta tecnología a un nivel comercial

que incluya un sistema en la que la vainilla rote para que la luz UV-C alcance de manera uniforme toda la superficie de la vainilla.

X. Referencias

- Aguayo, E. (2007). Técnicas emergentes y sostenibles para la desinfección de frutas y hortalizas mínimamente procesadas . *Phytoma*, 17:138-142.
- Allende, A., & Artés, F. (2003). UV radiation as a novel technique to preserve quality of fresh processed "Lollo Rosso" lettuce. *Food Res. Internatl.* 36:739-746.
- Andrade, M. J., Moreno, C., Henríquez, A., Gómez, A., & Concellón, A. (2010). Influencia de la radiación UV como tratamiento postcosecha sobre carambola (Averrhoa carambola) mínimamente procesada y refrigerada. *Redalyc*, 11:18-27.
- Augstburger, F. (2002). *Agricultura orgánica en el trópico y subtropico*. Grafeling: Asociación Naturland.
- Baka, M., Corcuff, F., Cataigne, F., & Arul, J. (1999). Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. *J. Food Sci.*, 36:1068-1072.
- Bal, E. (2012). Effect of postharvest UV-C treatments on quality attributes of fresh fig. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 18: 191-196.
- Beltrán, A., Ramos, M., & Alvarez, M. (2010). Estudio de la vida útil de fresas (*Fragaria vesca*) mediante tratamiento con radiación ultravioleta de onda Corta (UV-C). *Revista Tecnológica ESPOL-RTE Vol. 23*: 18-24.
- Brant, D. (2003, Octubre 7). *Aquionics*. Extraído de <http://www.google.es/patents?hl=es&lr=&vid=USPAT6132784&id=T30FAAAA EBAJ&oi=fnd&dq=UV+light+disinfection+fruits&printsec=abstract#v=onepage&q=UV%20light%20disinfection%20fruits&f=false> el 12 de diciembre de 2013.
- Brinez, J. (2010, Junio 22). Compuestos fenólicos en la utilización industrial y su presencia como metabolismo secundarios de las plantas medicinales. (S. d. Fenólicos, Interviewer) Colombia.
- Castro, G. (2008). *Evaluación del cultivo y producción de vainilla en la zona de Papantla, Veracruz, México*. Veracruz: Instituto de Ecología, A.C.
- Chavés, E. (2008, Diciembre 3). *INISEFOR*. Extraído de Universidad Nacional "UNA": <http://www.una.ac.cr/inis/docs/proy/Vainilla.pdf> , el 3 de enero de 2014.
- Choudhary, R. (2012). Ultraviolet pasteurization for food Industry. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2:12-15.

- Cisneros, L. (2003). The use of controlled postharvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value of fresh fruits and vegetables. *J. of Food Sc.*, 36: 1560-1564.
- Curti, D. (1995). *Cultivo y beneficio de la vainilla*. Veracruz: Fondo Regional de Solidaridad del Totancapan.
- De Capdeville, G., Wilson, C., Beer, S., & Aist, J. (2002). Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvested Red Delicious apple fruit. *Phytopathology*, 15: 900-908.
- De la Cruz, J., Rodríguez, G., & García, H. (2009). *Vanilla post-harvest operations*. Veracruz: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Durán, M. J. (2007). *Extracción de lignina a partir de cáscaras de almendra*. Cádiz: Universidad de Cádiz.
- Erkan, M., Wang, C., & Krizek, D. (2001). UV-C radiation reduces microbial population and deterioration in Cucurbita pepo fruit tissue. *Env. Expo. Bot* 45: 1-9.
- European Commission. (2013, Agosto 05). *Agricultura Ecológica*. Extraído de http://ec.europa.eu/agriculture/organic/eu-policy/legislation_es, el 5 de noviembre de 2013.
- FAOSTAT. (2012, Febrero 10). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Extraído de <http://faostat.fao.org/#>, el 7 de enero de 2014.
- Farooqi, A. (2004). *Cultivation of Medicinal and Aromatic Crops*. Hyderabad: Universities Press (India).
- Fonseca, J. M., & Rushing, J. W. (2006). Effect of ultraviolet-C light on quality of fresh-cut watermelon. *Postharv. Biol. Technol.*, 25: 256-261.
- Galston, A., & Kaur, R. (1990). Polyamines in plant physiology. *Plant Physiol.*, 406-410.
- García, R., & Pérez, R. (2003). FITOALEXINAS: MECANISMO DE DEFENSA DE LAS PLANTAS. *Revista Chapingo*, 9: 5-10.
- González, G., Ayala, J., Rivera, J., Zavaleta, R., Villegas, M., & Tejedor, W. (2005). Reducción de deterioro en frutos de mango, durazno y nectarina utilizando irradiación ultravioleta (UV-C). *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, 49-56.

- González, C. (2012). *Estudio del uso combinado de radiación UV-C y distintos empaques para incrementar el tiempo de vida útil de tomate de árbol (Solanum betaceum) con fines de exportación a la Unión Europea*. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial.
- González, G. A., Villegas, M. A., Cuamea, F., & Ayala, J. F. (2006). Efecto de la irradiación UV-C sobre calidad de mango fresco cortado. *I Simposio Ibero-Americano de Vegetales Frescos Cortados*, 59-64.
- González, G., Villegas, M., Martínez, A., & Ayala, J. (2007). Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *J. Food Sci.* 72:5990-5996.
- Guimaraes, J. (2005, agosto 15). CNEA. Extraído de <http://www.cnea.gov.ar/xxi/ambiental/CYTED/22cap15.pdf> el 7 de diciembre de 2013.
- Kaur, R., Tiburcio, A., Altabella, T., & Galston, A. (2003). Polyamines in plants: A overview. *J. Cell Mol. Biol.*, 5: 1-12.
- Koutchma, T. (2008). *UV light for processing foods*. Illinois: National Center for Food Safety and Technology, Illinois Institute of Technology.
- Lamikanra, O., Kueneman, D., Ukuku, D., & Bett-Garber, K. (2005). Effect of processing under ultraviolet light on the shelf life of fresh-cut cataloupe melon. *J. Food Sci.* 70: 534-539.
- León, D. (2005). *Estudio de pre-factibilidad para la producción e industrialización de vainilla (Vainilla planifolia Andrews) en la zona de Plan Piloto (Santo Domingo de los Colorados) Pichincha con fines de exportación*. Quito: Tesis final, Universidad San Francisco de Quito.
- León, J. (1987). *Botánica de los Cultivos Tropicales*. Costa Rica: Instituto Iberoamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Liu, J., Khan, V., Lu, J., Wilson, C., & Adeyeye, O. (1993). Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Postharv. Biol. Technol.* 37:174-185.
- López, V., Conesa, A., Allende, A., & Artes, F. (2005). Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere package and treated with UV-C. *Postharv. Biol. Technol.*, 30: 174-185.
- Marquenie, D., Michiels, C., Geeraerd, A., Shenk, A., Soontjens, C., Van Impe, J., & Nikolai, B. (2002). Using survival analysis to investigate the effect of UV-C and

- heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry. *Internatl. J. Food Microbiol.* 73: 187-196.
- Martínez, P. (2011). Obtención de vainillina a partir de la lignina de la guadua . *Scientia et Technica Año XVI*, 305-309.
- Mendoza, C., & Rocha, P. (2002). Polyamines: growth regulators with multiples effects in plants. *Palmas vol.* 23:40-46.
- Osorio, F. (2010). *Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes*. Madrid: Edición Díaz de Santos.
- Panda, H. (2003). *Aromatic Plants, Cultivation, Processing and Uses*. Delhi: Asia Pacific Buisness Press.
- Pietrobon, E. (2010). *Agua Latinoamérica*. Extraído de <http://www.agualatinoamerica.com/docs/PDF/3-4-02inter.pdf> el 12 de diciembre de 2013.
- Piga, A., D'Hallewin, G., D'Aquino, S., & Aggabio, M. (1997). Influence of film wrapping and UV irradiation on cactus pear quality after storage. *Pachaging Technol. Sci.* 10: 59-68.
- Pombo, M., Dotto, M., Martínez, G., & Civello, P. (2008). UV-C irradiation delays strawberry fruit softening and modifies the expression of genes involved in cell wall degradation. *Postharvest Biology and Technology* 51: 141-148.
- Rivera, D., Gardea, A., Martínez, M., Rivera, M., & González, G. (2007). Efectos bioquímicos postcosecha de la irradiación UV-C en frutas y hortalizas. *Revista Filotécnica Mexicana*, 30:361-372.
- Roberts, D., Dumbroff, E., & Thompson, J. (1986). Exogenous polyamines alter membrane fluidity in bean leaves-a basis for potential misinterpretation of their true physiological role. *Planta*, 395-401.
- Robles, P., Campos, A., Artés, F., Gómez, P., Calderón, A., Ferrer, M., & Artes, F. (2007). Acción combinada de radiación UV-C y la atmosfera controlada para optimizar la calidad del tomate. *V CONGRESO IBEROAMERICANO DE TECNOLOGIAS POSTCOSECHA Y AGROEXPORTACIONES*, 5:159-165.
- Rosado, T. (2007). Efecto del tipo de marchitamiento en la evolución de los compuestos aromáticos en un beneficio controlado de vainilla. 5:1072-1080.

- SAGARPA. (2010). *Estudio de Oportunidades de mercado Internacional para la vainilla Mexicana*. Distrito Federal de México: FIRCO.
- Sánchez, J. (2012). *Introducción al Diseño Experimental*. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Shama, G. (2005). UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialization. *Trends Food Sci. Technol*, 31: 128-136.
- Shama, G. (2007). Proces challenges in applying low doses of ultraviolet light to fresh produce for eliciting beneficial hormetic responses. *Postharv. Biol. Technol*, 15: 1-8.
- Silveira, A. C. (2005). Radiación UV-C y envasado en sala blanca, alternativas a la desinfección con cloro de melón "Galia" mínimamente procesado en fresco. *Universidad Politécnica de Cartagena*, 181-185.
- Silveira, A., Aguayo, E., & Artés-Hernández, F. (2007). Radiación UV-C y envasado en sala blanca, alternativas a la desinfección con cloro de melón "Galia" mínimamente procesado en fresco. *Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Área Disciplinaria Poscosecha de frutas y hortalizas*, 181-185.
- Soto, A. (2006). La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. *CONABIO*, 1-9.
- Soto, A. (2006). Vainilla: los retos de un cultivo basado en una especie amenazada con una historia de vida compleja. *Herbario México D.F.*, 26-28.
- Stevens, C., Liu, J., Khan, V., Lu, J., Kabwe, M., Wilson, C., . . . Droby, S. (2004). The effects of low-dose ultraviolet light-C treatment on polygalacturonase activity, delay ripening and Rhizopus soft rot development of tomatoes. *Crop Protection* 23: 551-554.
- Toapanta, P. (2005). *Fenoles naturales*. Quito: Universidad Central del Ecuador.
- Torres, R., & Georgina, L. (2002). Compuestos fenólicos: origen, distribución y efectos en los ecosistemas marinos. *Contactos* 44: 31-43.
- Tortora, G. (2007). *Introducción a la Microbiología*. Madrid: Panamericana.
- US FDA. (2013, Agosto 7). *U. S. Food and Drug Administration*. Extraído de <http://www.fda.gov/> el 3 de diciembre de 2013.
- Velázquez, R. (2004). *La vainilla y su cultivo*. Veracruz: Dirección General de Agricultura y Fitosanitaria, Gobierno del Estado, Xalpa, Veracruz, Mex.

- Vicente, A., Repice, B., Chaves, G., Civello, M., & Sozzi, G. (2004). Maintenance of fresh boysenberry fruit quality with UV-C light and heat treatments combined with low storage temperature. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 79: 246-251.
- Wang, C., Chen, C., & Wang, S. (2009). Changes of flavonoid conten and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chemistry*, 4:37.
- Winkel-Shirley, b. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *MEDLINE*, 18-23.
- Wright, H. B., & Carins, W. L. (2008). *Trojan Thechnologies Inc.* Retrieved from <http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/e/fulltext/simposio/Ponen10.PDF>
- Yaun, B., Sumner, S., Eifert, J., & Macry, J. (2004). Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *Internatl. J. Food Microbiol.* 90: 1-8.

XI. Anexos

11.1 Norma NTE INEN 2532 (2010) Especies y condimentos.

Requisitos.

5.1.3 *Requisitos microbiológicos*

5.1.3.1 Las especias puras y los condimentos en polvo deben cumplir con los requisitos microbiológicos que se establecen en la tabla 2.

TABLA 2

Requisito	n	c	m	M	Método de ensayo
Aerobios Mesófilos REP UFC/g	5	3	10 ⁵	10 ⁵	NTE INEN 1529-5
Mohos y levaduras, UFC/g	5	3	10 ³	10 ⁴	NTE INEN 1529-10
Coliformes UFC/g	5	0	10 ²	10 ³	NTE INEN 1529-7
Escherichia coli NMP/g	5	0	< 3	--	NTE INEN 1529-8
Escherichia coli UFC/g	5	0	<10	--	ISO 16649-2
Salmonella en 25 g	10	0	0	---	NTE INEN 1529-15

11.2 Recuento aerobios mesófilos (UFC/g)

Tratamientos	Simbología	Repetición			Promedio
		1	2	3	
1	A0B0	10	5	20	11,67
2	A0B1	9	5	17	10,33
3	A0B2	9	9	5	7,67
4	A1B0	20	20	23	21,00
5	A1B1	15	20	20	18,33
6	A1B2	20	28	20	22,67
7	A2B0	50	255	570	291,67
8	A2B1	30	50	25	35,00
9	A2B2	25	60	25	36,67
10	TESTIGO	35	85	33	51,00
Valor de referencia	Norma NTE INEN 2532:2010	$m 10^{5**}$ $M 10^6$	$m 10^{5**}$ $M 10^6$	$m 10^{5**}$ $M 10^6$	$m 10^{5**}$ $M 10^6$

11.3 Transformación de datos aerobios mesófilos

Recuento Aerobios Mesófilos (Petrifilm) UFC/g*

Repeticiones

Tratamientos	Simbología	1	2	3
1	A0B0	10	5	20
2	A0B1	9	5	17
3	A0B2	9	9	5
4	A1B0	20	20	23
5	A1B1	15	20	20
6	A1B2	20	28	20
7	A2B0	50	255	570
8	A2B1	30	50	25
9	A2B2	25	60	25
10	TESTIGO	35	85	33

Transformacion logarítmica

1) Codificación de datos (multiplicar por 10 todos los datos)

Recuento Aerobios Mesófilos (Petrifilm) UFC/g*

Tratamientos	Simbología	1	2	3
1	A0B0	100	50	200
2	A0B1	90	50	170
3	A0B2	90	90	50
4	A1B0	200	200	230
5	A1B1	150	200	200
6	A1B2	200	280	200
7	A2B0	500	2550	5700
8	A2B1	300	500	250
9	A2B2	250	600	250
10	TESTIGO	350	850	330

2) Log de datos

Recuento Aerobios Mesófilos (Petrifilm) UFC/g***Repeticiones**

Tratamientos	Simbología	1	2	3
1	A0B0	2,00	1,70	2,30
2	A0B1	1,95	1,70	2,23
3	A0B2	1,95	1,95	1,70
4	A1B0	2,30	2,30	2,36
5	A1B1	2,18	2,30	2,30
6	A1B2	2,30	2,45	2,30
7	A2B0	2,70	3,41	3,76
8	A2B1	2,48	2,70	2,40
9	A2B2	2,40	2,78	2,40
10	TESTIGO	2,54	2,93	2,52

11.4 Recuento mohos y levaduras (UPML)

Tratamientos	Simbología	Repetición			Promedio
		1	2	3	
1	A0B0	9	0,9	5	4,97
2	A0B1	9	0,9	5	4,97
3	A0B2	1	0,9	5	2,30
4	A1B0	9	3	9	7,00
5	A1B1	10	5	5	6,67
6	A1B2	9	3	5	5,67
7	A2B0	40	67	10	39,00
8	A2B1	10	15	20	15,00
9	A2B2	10	10	9	9,67
10	TESTIGO	20	35	10	21,67
Valor de referencia	Norma NTE INEN 2532:2010	$m 10^{3^{***}}$ $M 10^6$	$m 10^{3^{***}}$ $M 10^6$	$m 10^{3^{***}}$ $M 10^6$	$m 10^{3^{***}}$ $M 10^6$

11.5 Transformación de datos mohos y levaduras

Recuento Mohos y Levaduras (Petrifilm) UPML/g

Tratamientos	Simbología	1	2	3
1	A0B0	9	0,9	5
2	A0B1	9	0,9	5
3	A0B2	1	0,9	5
4	A1B0	9	3	9
5	A1B1	10	5	5
6	A1B2	9	3	5
7	A2B0	40	67	10
8	A2B1	10	15	20
9	A2B2	10	10	9
10	TESTIGO	20	35	10

Transformacion logarítmica

1) Codificación de datos (multiplicar por 10 todos los datos)

Recuento Mohos y Levaduras (Petrifilm) UPML/g

Tratamientos	Simbología	1	2	3
1	A0B0	90	9	50
2	A0B1	90	9	50
3	A0B2	10	9	50
4	A1B0	90	30	90
5	A1B1	100	50	50
6	A1B2	90	30	50
7	A2B0	400	670	100
8	A2B1	100	150	200
9	A2B2	100	100	90
10	TESTIGO	200	350	100

2) Log de datos

Recuento Mohos y Levaduras (Petrifilm) UPML/g

Tratamientos	Simbología	1	2	3	Yi
1	A0B0	1,95	0,95	1,70	1,54
2	A0B1	1,95	0,95	1,70	1,54
3	A0B2	1,00	0,95	1,70	1,22
4	A1B0	1,95	1,48	1,95	1,80
5	A1B1	2,00	1,70	1,70	1,80
6	A1B2	1,95	1,48	1,70	1,71
7	A2B0	2,60	2,83	2,00	2,48
8	A2B1	2,00	2,18	2,30	2,16
9	A2B2	2,00	2,00	1,95	1,98
10	TESTIGO	2,30	2,54	2,00	2,28

11.6 Recuento coliformes totales y *Escherichia coli*

Coliformes totales

Tratamientos	Simbología	Repetición		
		1	2	3
1	A0B0	<10	<10	<10
2	A0B1	<10	<10	<10
3	A0B2	<10	<10	<10
4	A1B0	<10	<10	<10
5	A1B1	<10	<10	<10
6	A1B2	<10	<10	<10
7	A2B0	<10	<10	<10
8	A2B1	<10	<10	<10
9	A2B2	<10	<10	<10
10	TESTIGO	<10	<10	<10
Valor de referencia	Norma NTE INEN 2532:2010	m 10 ^{2**} M 10 ³	m 10 ^{2**} M 10 ³	m 10 ^{2**} M 10 ³

**m límite de aceptación unitaria

E. Coli

Tratamientos	Simbología	Repetición		
		1	2	3
1	A0B0	<10	<10	<10
2	A0B1	<10	<10	<10
3	A0B2	<10	<10	<10
4	A1B0	<10	<10	<10
5	A1B1	<10	<10	<10
6	A1B2	<10	<10	<10
7	A2B0	<10	<10	<10
8	A2B1	<10	<10	<10
9	A2B2	<10	<10	<10
10	TESTIGO	<10	<10	<10
Valor de referencia	Norma NTE INEN 2532:2010	<10	<10	<10

11.7 Cálculos para el ANOVA aerobios mesófilos.

Resultados

Tratamientos	Simbología	Repeticiones			Sum tot	Yi
		1	2	3		
1	A0B0	2,00	1,70	2,30	6,00	2,00
2	A0B1	1,95	1,70	2,23	5,88	1,96
3	A0B2	1,95	1,95	1,70	5,61	1,87
4	A1B0	2,30	2,30	2,36	6,96	2,32
5	A1B1	2,18	2,30	2,30	6,78	2,26
6	A1B2	2,30	2,45	2,30	7,05	2,35
7	A2B0	2,70	3,41	3,76	9,86	3,29
8	A2B1	2,48	2,70	2,40	7,57	2,52
9	A2B2	2,40	2,78	2,40	7,57	2,52
10	TESTIGO	2,54	2,93	2,52	7,99	2,66
	Sumatoria	22,80	24,21	24,26	71,28	2,38

Matriz Aux

		B			Sum A
		B0	B1	B2	
A	A0	6	5,88366144	5,60745502	17,4911165
	A1	6,96378783	6,77815125	7,04921802	20,7911571
	A2	9,86138504	7,57403127	7,57403127	25,0094476
Sum B		22,8251729	20,235844	20,2307043	63,2917211

11.8 Cálculos para el ANOVA de mohos y levaduras

Resultados

Tratamientos	Simbología	Repeticiones			Sum tot	Yi
		1	2	3		
1	A0B0	1,95	0,95	1,70	4,61	1,54
2	A0B1	1,95	0,95	1,70	4,61	1,54
3	A0B2	1,00	0,95	1,70	3,65	1,22
4	A1B0	1,95	1,48	1,95	5,39	1,80
5	A1B1	2,00	1,70	1,70	5,40	1,80
6	A1B2	1,95	1,48	1,70	5,13	1,71
7	A2B0	2,60	2,83	2,00	7,43	2,48
8	A2B1	2,00	2,18	2,30	6,48	2,16
9	A2B2	2,00	2,00	1,95	5,95	1,98
10	TESTIGO	2,30	2,54	2,00	6,85	2,28
	Sumatoria	19,72	17,06	18,70	55,49	1,85

Matriz Aux

		B			Sum A
		B0	B1	B2	
A	A0	4,60745502	4,60745502	3,65321251	12,8681226
	A1	5,38560627	5,39794001	5,13033377	15,9138801
	A2	7,42813479	6,47712125	5,95424251	19,8594986
Sum B		17,4211961	16,4825163	14,7377888	48,64195012

11.9 Cálculos para prueba de DUNCAN aerobios mesófilos

CMe Sy 0,1428328
 N 3

Valores de DUNCAN

Num. Trat. Involucrados									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Q	2,95	3,1	3,19	3,25	3,3	3,34	3,37	3,39	3,41
Sy	0,14283279	0,14283279	0,14283279	0,14283279	0,14283279	0,14283279	0,14283279	0,14283279	0,14283279
D=Q*Sy	0,42	0,44	0,46	0,46	0,47	0,48	0,48	0,48	0,49

Tratamientos	3	2	1	5	4	6	9	8	10	7
x	1,87	1,96	2,00	2,26	2,32	2,35	2,52	2,52	2,66	3,29

3,29	1,87	1,42	0,49 *
3,29	1,96	1,33	0,48 *
3,29	2,00	1,29	0,48 *
3,29	2,26	1,03	0,48 *
3,29	2,32	0,97	0,47 *
3,29	2,35	0,94	0,46 *
3,29	2,52	0,76	0,46 *
3,29	2,52	0,76	0,44 *
3,29	2,66	0,62	0,42 *

2,66	1,87	0,79	0,48 *
2,66	1,96	0,70	0,48 *
2,66	2,00	0,66	0,48 *
2,66	2,26	0,40	0,47 NS
2,66	2,32	0,34	0,46 NS
2,66	2,35	0,31	0,46 NS
2,66	2,52	0,14	0,44 NS
2,66	2,52	0,14	0,42 NS

2,52	1,87	0,66	0,48 *
2,52	1,96	0,56	0,48 *
2,52	2,00	0,52	0,47 *
2,52	2,26	0,27	0,46 NS
2,52	2,32	0,20	0,46 NS
2,52	2,35	0,17	0,44 NS
2,52	2,52	0,00	0,42 NS

2,52	1,87	0,66	0,48 *
2,52	1,96	0,56	0,47 *
2,52	2,00	0,52	0,46 *
2,52	2,26	0,27	0,46 NS
2,52	2,32	0,20	0,44 NS
2,52	2,35	0,17	0,42 NS

2,35	1,87	0,48	0,47 *
2,35	1,96	0,39	0,46 NS
2,35	2,00	0,35	0,46 NS
2,35	2,26	0,09	0,44 NS
2,35	2,32	0,03	0,42 NS

2,32	1,87	0,45	0,46 NS
2,32	1,96	0,36	0,46 NS
2,32	2,00	0,32	0,44 NS
2,32	2,26	0,06	0,42 NS

2,26	1,87	0,39	0,46 NS
2,26	1,96	0,30	0,44 NS
2,26	2,00	0,26	0,42 NS

2,00	1,87	0,13	0,44	NS
2,00	1,96	0,04	0,42	NS

1,96	1,87	0,09	0,42	NS
------	------	------	------	----

Mesófilos

Tratamiento	Rangos
7	a
10	b
8	b
9	b
6	b/c
4	b/c/d
5	b/d
1	c/d
2	c/d
3	d

11.10 Cálculos para prueba de DUNCAN mohos y levaduras.

CMe 0,12 Sy 0,1964345
 n 3

Valores de DUNCAN

Num. Trat. Involucrados									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Q	2,95	3,1	3,19	3,25	3,3	3,34	3,37	3,39	3,41
Sy	0,19643448	0,19643448	0,19643448	0,19643448	0,19643448	0,19643448	0,19643448	0,19643448	0,19643448
D=Q*Sy	0,58	0,61	0,63	0,64	0,65	0,66	0,66	0,67	0,67

Tratamientos	3	2	1	6	5	4	9	8	10	7
x	1,22	1,54	1,54	1,71	1,80	1,80	1,98	2,16	2,28	2,48

2,28	1,22	1,06	0,67 *
2,28	1,54	0,75	0,66 *
2,28	1,54	0,75	0,66 *
2,28	1,71	0,57	0,65 NS
2,28	1,80	0,49	0,64 NS
2,28	1,80	0,48	0,63 NS
2,28	1,98	0,30	0,61 NS
2,28	2,16	0,12	0,58 NS

2,16	1,22	0,94	0,66	*
2,16	1,54	0,62	0,66	NS
2,16	1,54	0,62	0,65	NS
2,16	1,71	0,45	0,64	NS
2,16	1,80	0,36	0,63	NS
2,16	1,80	0,36	0,61	NS
2,16	1,98	0,17	0,58	NS
1,98	1,22	0,77	0,66	*
1,98	1,54	0,45	0,65	NS
1,98	1,54	0,45	0,64	NS
1,98	1,71	0,27	0,63	NS
1,98	1,80	0,19	0,61	NS
1,98	1,80	0,19	0,58	NS
1,80	1,22	0,58	0,65	NS
1,80	1,54	0,26	0,64	NS
1,80	1,54	0,26	0,63	NS
1,80	1,71	0,09	0,61	NS
1,80	1,80	0,00	0,58	NS
1,80	1,22	0,58	0,64	NS
1,80	1,54	0,26	0,63	NS
1,80	1,54	0,26	0,61	NS
1,80	1,71	0,09	0,58	NS
1,71	1,22	0,49	0,63	NS
1,71	1,54	0,17	0,61	NS
1,71	1,54	0,17	0,58	NS
1,54	1,22	0,32	0,61	NS
1,54	1,54	0,00	0,58	NS
1,54	1,22	0,32	0,58	NS

Mohos y levaduras

Tratamiento	Rangos
7	a
10	a/b
8	a/b/c
9	a/b/c
4	b/c/d
5	b/c/d
6	b/c/d
1	c/d
2	c/d
3	d