

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Aplicación de la radiación UV-C en el proceso no automatizado
de empacado de uvilla de exportación**

Antonella Hinojosa Viteri

Alejandro Arturo Guerra Guachamín

Julián Matías Valencia Quintana

Ingeniería en Alimentos

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniero/a en Alimentos

Quito, 6 de diciembre de 2023

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Aplicación de la radiación UV-C en el proceso no automatizado de
empacado de uvilla de exportación**

Antonella Hinojosa Viteri

Alejandro Arturo Guerra Guachamín

Julián Valencia Quintana

Nombre del profesor, Título académico María José Andrade Cuvi, Ph.D

Quito, 6 de diciembre de 2023

© DERECHOS DE AUTOR

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

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

Nombres y apellidos: Antonella Hinojosa Viteri

Código: 00211130

Cédula de identidad: 1720720984

Lugar y fecha: Quito, 6 de diciembre de 2023

Nombres y apellidos: Alejandro Arturo Guerra Guachamín

Código: 00209225

Cédula de identidad: 1750249904

Lugar y fecha: Quito, 6 de diciembre de 2023

Nombres y apellidos: Julián Matías Valencia Quintana

Código: 00212982

Cédula de identidad: 1725542128

Lugar y fecha: Quito, 6 de diciembre de 2023

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

El presente estudio fue dividido en tres fases. En la primera, se determinó la población de *E. coli* y *S. aureus* en manipuladores (empacadores de uvilla) y en la fruta pelada. En la segunda, se evaluó la influencia de la altura (30 y 10 cm) entre la fruta y la fuente de luz UV-C (12,5 KJ/m²) para controlar el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* (10^2 y 10^6 UFC/g) y evaluar la calidad fisicoquímica de la fruta durante el almacenamiento refrigerado. Y en la tercera etapa se compararon predicciones de crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* bajo diferentes condiciones de almacenamiento de uvilla usando el software Combase. Se aplicó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial con dos repeticiones. En las manos de los empacadores se detectó *E. coli* y *S. aureus*. Este último fue detectado también en la uvilla. El tratamiento UV-C no produjo cambios significativos en el pH, acidez, °Brix, Aw, y color durante 4 semanas de almacenamiento refrigerado. La predicción del crecimiento microbiano permitió analizar cómo influye sobre la calidad e inocuidad de la uvilla. Una baja población podrá ser eliminada completamente por la dosis UV-C aplicada mientras que una alta población haría que las bacterias alcancen la dosis mínima infectiva en pocos días. El tratamiento con luz UV-C reduce el crecimiento microbiano indistintamente de la distancia entre la muestra y la fuente de luz. Si bien se ha comprobado el efecto antimicrobiano de la luz UVC- son necesarios más estudios para diseñar un equipo que pueda adaptarse al proceso de empacado no automatizado que pueda ser utilizado en empresas exportadoras de uvilla.

Palabras claves: *Physalis peruviana*, tratamiento poscosecha, luz ultravioleta, *E. coli*, *S. aureus*, predicción de crecimiento microbiano.

ABSTRACT

This study was divided into three phases. In the first phase, the population of *E. coli* and *S. aureus* was determined in handlers (physalis packers) and in peeled fruit. In the second phase, the influence of height (30 and 10 cm) between the fruit and the UV-C light source (12.5 KJ/m²) was evaluated to control the growth of *E. coli* and *S. aureus* (10² and 10⁶ CFU/g) and assess the physicochemical quality of the fruit during refrigerated storage. In the third stage, predictions of *E. coli* and *S. aureus* growth under different physalis storage conditions were compared using Combase software. A completely randomized factorial design with two repetitions was applied. *E. coli* and *S. aureus* were detected on the hands of the packers, and the latter was also detected on the physalis. UV-C treatment did not produce significant changes in pH, acidity, °Brix, Aw, and color during 4 weeks of refrigerated storage. Microbial growth predictions allowed the analysis of its influence on the quality and safety of physalis. A low population could be eliminated by the applied UV-C dose, while a high population would lead to bacteria reaching the minimum infective dose in a few days. UV-C light treatment reduces microbial growth regardless of the distance between the sample and the light source. Although the antimicrobial effect of UVC light has been proven, further studies are needed to design equipment that can adapt to the non-automated packing process and be used in physalis exporting companies.

Key words: *Physalis peruviana*, postharvest treatment, ultraviolet light, *E. coli*, *S. aureus*, microbial prediction.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	11
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
2.1 Material Vegetal.....	16
2.2 Cultivos bacterianos.....	16
2.3 Medios de cultivo.....	16
2.4 Toma de muestras.....	17
2.5 Diagnóstico microbiológico.....	17
2.6 Preparación del inóculo e inoculación artificial de la uvilla.....	18
2.7 Tratamiento con radiación UV-C.....	18
2.8 Diseño experimental y análisis estadístico.....	19
2.9 Determinaciones analíticas	20
2.10 Predicción del crecimiento microbiano en uvilla.....	21
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
3.1 Diagnóstico microbiológico operadores.....	22
3.2 Diagnóstico microbiológico en uvillas.....	23
3.3 Efecto de la radiación UV-C sobre <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> inoculación artificialmente en uvillas.....	25
3.4 Diseño experimental y análisis estadístico.....	29
3.5 Efecto de radiación UV-C sobre las características fisicoquímicas de la uvilla.....	30
3.6 Efecto de la radiación UV-C en el control de mohos.....	34
3.7 Predicción del crecimiento microbiano en uvilla.....	35
4. CONCLUSIONES	40
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

6. ANEXO A: POBLACIÓN FINAL DE LOS MICROORGANISMOS (UFC/g) DE LOS TRATAMIENTOS.....	49
7. ANEXO B: CÁLCULO DE REDUCCIÓN DECIMAL.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Matriz de diseño (arreglo factorial) del experimento.....	19
Tabla 2. Recuento de <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> en manipuladores.....	22
Tabla 3. Recuento de <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> en uvillas.....	24
Tabla 4. Recuento de mohos y levaduras.....	25
Tabla 5. Efecto de la radiación UV-C sobre una población de 10^2 UFC/g de <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> en uvilla	26
Tabla 6. Efecto de la radiación UV-C sobre una población de 10^6 UFC/g de <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> en uvilla.....	28
Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) de la población final de microorganismos (UFC/g) de los tratamientos.....	29
Tabla 8. Parámetros utilizados en el software Combase para la predicción del crecimiento microbiano	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Placas Petrifilm correspondientes a los análisis microbiológicos de manipuladores: a) <i>E. coli</i> y coliformes y b) <i>S. aureus</i>	22
Figura 2. Población final de microorganismos en uvilla expuestas a 12,5 kJ/m ² de luz UV-C.....	30
Figura 3. pH de uvilla en la semana 1 y semana 4 para control y tratamiento de UV-C a 10 y 30 cm	31
Figura 4. Acidez de uvilla en la semana 1 y semana 4 para control y tratamiento de UV-C a 10 y 30 cm	32
Figura 5. °Brix de uvilla en la semana 1 y semana 4 para control y tratamiento de UV-C a 10 y 30 cm.....	32
Figura 6. Aw de uvilla en la semana 1 y semana 4 para control y tratamiento de UV-C a 10 y 30 cm.....	33
Figura 7. Color de uvilla en muestras control y tratadas con UV-C (12,5 kJ/m ²) a 10 y 30 cm de distancia entre la fruta y la fuente de luz	33
Figura 8. Apariencia de las uvillas conservadas en refrigeración durante cuatro semanas.....	34
Figura 9. Predicción de crecimiento de <i>S. aureus</i> en uvilla.....	36
Figura 10. Predicción de crecimiento de <i>E. coli</i> en uvilla.....	37
Figura 11. Predicción de crecimiento de <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> en uvilla tratada con UV-C (12,5 kJ/m ²).....	39

INTRODUCCIÓN

La uvilla (*Physalis peruviana*) es un fruto climatérico andino nativo del noroccidente de América del Sur. Los principales países productores son Ecuador, Colombia y Perú (Andrimba, 2022). El fruto es ovoide, de 2 a 2,5 cm, con tonalidades entre amarillo y naranja cuando está maduro, es una baya carnosa con pequeñas semillas en su interior y con un cáliz persistente que recubre al fruto garantizando una protección adicional (Cuaical et al., 2019). Inicialmente, la producción de uvilla fue artesanal debido a que el fruto crecía espontáneamente como baya silvestre. Sin embargo, en los últimos años el rendimiento nacional de uvilla ha aumentado paulatinamente hasta tener una producción anual de 4.725,0 toneladas. El consumo de uvilla ha ganado popularidad por su perfil nutricional y su potencial para exportación; actualmente se destina un área aproximada de 700 hectáreas de cultivo principalmente en las provincias de Imbabura, Pichincha y Tungurahua (Moreno-Miranda et al., 2019; Espinoza, 2019).

De acuerdo con El-Beltagi et al. (2019) y Etzbach (2019), la uvilla presenta altos contenidos de vitaminas como provitamina A (0,328mg/100g), vitamina B3 (3,84mg/100g), vitamina B6 (4,59mg) y vitamina C (42,52mg/100g), además de fibra (16,74g/100g), potasio (560mg/100g) y fósforo (130mg/100g) (Mokhtar et al., 2018). Este fruto es considerado un producto funcional debido a su composición química y a sus propiedades antioxidantes, su capacidad para elevar las defensas del organismo, prevenir enfermedades cardiovasculares, disminuir la probabilidad de cáncer de colon y su actividad antiinflamatoria (Andrimba, 2022). Según el Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca (2019), Ecuador exporta anualmente un total de USD 160 mil, lo que implica que la producción de esta fruta genera un impacto positivo y de gran importancia en la economía del país.

La comercialización de la uvilla en mercados internacionales debe cumplir con exigentes estándares de calidad lo que supone un gran desafío para los exportadores ya que se trata de un producto perecible y susceptible a sufrir enfermedades producidas por microorganismos e insectos, por lo que es necesario un manejo y control de plagas eficiente para mantener o incrementar la calidad y duración final de la fruta (Cuaical et al., 2019).

Los mohos (hongos filamentosos), son los principales agentes microbianos que atacan a la uvilla e inciden también en la planta. Estos favorecen la fermentación y daño del fruto que adquiere diferentes tonalidades y manchas a medida que avanza la reproducción de estos microorganismos. Los principales géneros de mohos que afectan a la uvilla son: *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, entre otros (Moreno-Velandia et al., 2021). Estos microorganismos presentan crecimiento evidente en el periodo poscosecha reduciendo la calidad y la vida útil del fruto. Por otro lado, es importante considerar que los microorganismos que afectan a la inocuidad de la uvilla también atentan a la salud de los consumidores, por lo que es crucial mantener un sistema adecuado de control de plagas y microorganismos en la cadena productiva de la fruta. En el periodo de la poscosecha, es importante el análisis y detección de bacterias contaminantes, ya que normalmente el pelado de la fruta se hace manualmente (no automatizada) con operadores que pueden generar contaminación cruzada.

Las uvillas se pueden contaminar con una gran variedad de bacterias, entre estas, las que se relacionan con los manipuladores son: *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Estas se asocian a deficiencias en la manipulación de los alimentos. *S. aureus* es un microorganismo anaerobio facultativo que se encuentra en la piel y cavidades bucales de algunas personas. Se considera un patógeno debido a la producción de enterotoxinas, las cuales pueden causar complicaciones en la salud, como náuseas, problemas gastrointestinales, diarrea, afecciones cutáneas e incluso la muerte (Cheung et al., 2021). Por otro lado, *E. coli*, es una bacteria anaerobia facultativa que está presente en la microbiota intestinal de los animales y el hombre;

dependiendo de la cepa puede generar patologías gastrointestinales, infecciones del tracto uterino, meningitis, enfermedades de la piel y en casos severos puede llevar a la muerte (Denamur et al., 2021).

Por otro lado, en la etapa poscosecha de la uvilla se han implementado ciertas estrategias para combatir mohos y tener un producto de calidad. Se ha probado el uso de 1-metil ciclopropeno (1-MCP) a concentración de 1 $\mu\text{L/L}$ por 12 horas en cámaras herméticas que alargan la vida útil del producto hasta 14 días. Sin embargo, estas metodologías pueden resultar costosas o difíciles de implementar (Cuaical et al., 2019) e implican cambios en los procesos de producción industrial.

Existen otras tecnologías con menor complejidad de aplicación, como la luz ultravioleta tipo C (UV-C). La UV-C es una forma de radiación electromagnética que pertenece al extremo ultravioleta del espectro con una longitud de onda en el rango de 200 a 280 nanómetros (Singh, 2021). Su capacidad para dañar el ADN y el ARN de microorganismos es relevante cuando se trata de preservar la seguridad y calidad de los alimentos. Al incidir sobre un microorganismo la radiación UV-C provoca modificaciones en su estructura molecular como la formación de enlaces químicos inestables y dímeros de timina que impiden su replicación y transcripción genética (Aheika et al., 2021). Esto asegura que los microorganismos pierdan su capacidad de reproducirse y causar infecciones, lo cual es crucial para mantener la frescura y calidad de los alimentos.

En el proceso de poscosecha la radiación UV-C ha demostrado ser una herramienta altamente efectiva para la desinfección y esterilización superficial, lo que la convierte en un instrumento valioso durante esta etapa (Esua, 2020). Aunque no puede penetrar en superficies opacas o sólidas, su aplicación adecuada y control riguroso de la dosis de radiación y la duración de la exposición son fundamentales para asegurar la conservación de los alimentos y prolongar su

vida útil (Darré, 2022). Durante el periodo poscosecha de la uvilla, esta tecnología se plantea como una alternativa viable para mantener la calidad e inocuidad del producto, al reducir la carga microbiana y evitar la proliferación de microorganismos patógenos.

Uno de los factores a tomar en cuenta en el tratamiento de un producto con la radiación UV-C es la distancia entre el alimento y la fuente de luz UV-C (lámpara emisora). De esto depende la eficacia en la desinfección y la formación de dímeros de timina (Aheika et al., 2021).

El uso de radiación UV-C sola o combinada con otras tecnologías ha sido probado como tratamiento poscosecha en productos frutihortícolas enteros o mínimamente procesados como papas (Leng et al. 2022), kiwi (Cheng et al., 2023), coliflor fresca cortada (Tawema et al., 2016), frutillas (Kim et al., 2010), entre otros.

Por otro lado, estimar el crecimiento microbiano en un alimento es una herramienta útil de investigación para evaluar las poblaciones microbianas frente a factores ambientales que influyen en su crecimiento y supervivencia, y permite explorar alternativas de control para asegurar la inocuidad del producto. A través de modelos matemáticos y el uso de softwares se puede predecir el crecimiento y supervivencia de microorganismos en función de la temperatura de almacenamiento, el pH y A_w de un alimento. La microbiología predictiva es una herramienta que permite fortalecer los sistemas de inocuidad alimentaria siendo complementaria a programas como el HACCP, tecnologías de barrera y evaluación de riesgos microbianos (Cubero-González et al., 2019; Pérez & Valero, 2013; Ross et al., 2014). Resulta interesante evaluar la microbiología predictiva en un proceso industrial con el fin de aportar información que permita una estimación del crecimiento potencial de *E. coli* y *S. aureus* durante un periodo de interés (Sumer y Krist, 2002).

Numerosos trabajos de investigación demuestran la utilidad de la radiación UV-C para reducir poblaciones de bacterias, mohos y levaduras a través de ensayos experimentales en alimentos,

sin embargo, no se encuentran trabajos publicados sobre el efecto de la radiación UV-C sobre bacterias como *S. aureus* o *E. coli* inoculadas directamente en un alimento, y tampoco se encuentran publicaciones que estudien la radiación UV-C como aplicación industrial.

Las empresas productoras y exportadoras de uvilla enfrentan problemas de crecimiento de mohos durante la etapa poscosecha de la fruta. Por ello surge el interés de evaluar el uso de la radiación UV-C como tratamiento poscosecha de la uvilla con el fin de reducir la carga microbiana y extender la vida útil del fruto fresco; sin embargo, es necesario conocer las condiciones microbiológicas en las que se encuentra el producto. El presente trabajo constituye una línea base que permitirá el desarrollo de futuros trabajos de investigación.

Con estos antecedentes, el objetivo del presente estudio fue evaluar el uso de la radiación UV-C en el proceso no automatizado de empacado de uvilla de exportación. Los objetivos específicos fueron: 1) determinar la población de *E. coli* y *S. aureus* en manipuladores y en uvilla en la etapa de empacado; 2) definir la altura de exposición de la uvilla a la radiación UV-C para disminuir la población de *E. coli* y *S. aureus*; y, 3) comparar predicciones de crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* bajo diferentes condiciones de almacenamiento de uvilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material Vegetal

Se utilizaron uvillas de exportación variedad Extra Sweet sin capuchón cultivadas y cosechadas en el cantón Mejía, provincia de Pichincha. Una vez cosechadas se pelaron y empacaron bajo las condiciones normales de procesamiento y se trasladaron a los laboratorios de la USFQ para su análisis.

2.2 Cultivos bacterianos

Se utilizaron cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923 provistas por el Instituto de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ).

2.3 Medios de cultivo

Se utilizaron placas 3M™ Petrifilm™ para el recuento de *E. coli* y *S. aureus*. Las placas para recuento rápido de *E. coli* contienen nutrientes de Bilis Rojo-Violeta, indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. Las colonias de *E. coli* se presentan de color azul con gas y las colonias de coliformes son colonias rojas luego del periodo de incubación. Las placas para recuento de *S. aureus* contienen el medio modificado cromogénico Baird-Parker. Se utilizó también el disco Staph Express Petrifilm™ de 3M™ para diferenciar *S. aureus* del resto de colonias sospechosas (3M, 2007). Las colonias de *S. aureus* son rojo-violetas y con el disco se inserta en la placa se produce una zona rosada en la colonia. El recuento de mohos se realizó en el medio DRBC (Agar Dicloran Rosa de Bengala Clortetraciclina).

Finalmente, se usaron hisopos de uso rápido para recolección de muestras

2.4 Toma de muestras

Se tomaron muestras de dos manipuladores (empacadores de uvilla) mediante hisopado en las palmas de las manos. Se utilizaron hisopos estériles (3M™ Quick Swab Hisopos Caldo Lethen). Los hisopos se conservaron en refrigeración (4°C) hasta su análisis.

La uvilla se recolectó luego de la cosecha y retirado del capuchón. Se tomaron muestras de dos lotes. Las uvillas se empacaron en bolsas estériles de polietileno de alta densidad, se sellaron y almacenaron a 4°C.

Las muestras se trasladaron inmediatamente al Laboratorio de Microbiología de la USFQ para su análisis. Se procuró que el tiempo de traslado de las muestras desde la planta de procesamiento hasta el laboratorio sea menor a 2 horas.

2.5 Diagnóstico microbiológico

Para el análisis microbiológico de los manipuladores, se tomó el volumen de caldo Lethen (Quick Swab) y se inoculó en placas Petrifilm para el recuento e identificación de *E. coli* y *S. aureus* (Vico, 2020).

Para el análisis de las muestras de uvilla se pesaron 25 gramos y se colocaron en 225 ml de agua peptonada estéril (dilución 10^{-1}) a partir de esta se realizaron diluciones sucesivas hasta 10^{-3} . Se tomó 1 ml de las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} y se inocularon por vertido en placas Petri con agar DRBC para el conteo de mohos. Para el análisis de *E. coli* y *S. aureus* en la uvilla, se tomó 1 ml de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} se inocularon en las placas Petrifilm respectivas.

Las placas Petrifilm de *S. aureus* y *E. coli* se incubaron a 37°C durante 24 horas y 72 horas, respectivamente; las placas con medio DRBC se incubaron a 30°C durante 3 días. Transcurrido

este tiempo se contaron las colonias típicas de *E. coli*, *S. aureus* y mohos. Los resultados se expresaron como UFC/g.

2.6. Preparación del inóculo e inoculación artificial de la uvilla

Las cepas de *E. coli* y *S. aureus* se mantienen en congelación. Para revitalizarlas se utilizó Skim Milk con una temperatura de incubación de 37 °C por 24 horas. Posteriormente, se inocularon por estriado en agar nutritivo y se incubaron a 37 °C por 24 horas.

La población de *S. aureus* y *E. coli* se determinó según la escala McFarland consiguiendo una turbidez semejante al estándar N°2, correspondiente a 6×10^8 UFC/g. A partir de esta se prepararon inóculos de concentración 10^6 y 10^2 UFC/g. Para poder determinar la cantidad adecuada que se inoculó se utilizó una cámara de recuento Petroff-Hauser.

Posteriormente, para cada bacteria se colocaron 25 de uvillas en bolsas estériles y se añadieron 1 ml de los inóculos de 10^6 y 10^2 UFC/g, se cerró la bolsa herméticamente y se homogeneizó.

2.7. Tratamiento con radiación UV-C

Para el tratamiento se utilizó una cámara de radiación UV-C de acero 316 (grado alimenticio) equipada con 6 lámparas de luz UV-C de 30 kJ/m^2 cada una. La cámara tiene una bandeja de malla de altura regulable.

Las uvillas previamente inoculadas se colocaron en la bandeja de malla a una distancia de 10 y 30 cm de las lámparas UV-C. Se aplicó una potencia de $12,5 \text{ kJ/m}^2$ establecida por Andrade-Cuvi et al. (2017). Inmediatamente después del tratamiento las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología para realizar el recuento de *S. aureus* y *E. coli*.

2.8 Diseño experimental y análisis estadístico

Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2^3 con dos repeticiones. El factor A corresponde a los dos microorganismos (*E. coli* y *S. aureus*), el factor B corresponde a las 2 alturas de exposición a la radiación UV-C (30 y 10 cm) y el factor C a las dos poblaciones de cada microorganismo (10^6 y 10^2 UFC/g). Se obtuvieron 8 tratamientos con 2 repeticiones, con un total de 16 unidades experimentales. La codificación de los tratamientos se muestra en la Tabla 1, cada tratamiento se codificó con la inicial de la bacteria, la altura de las lámparas UV-C y la población de la bacteria.

Tabla 1. Matriz de diseño (arreglo factorial) del experimento.

Tratamiento	Bacteria	Altura (cm)	Población microbiana (UFC/g)	Codificación
1	<i>E. coli</i>	30	10^6	E30- 10^6
2		30	10^2	E30- 10^2
3		10	10^6	E10- 10^6
4		10	10^2	E10- 10^2
5	<i>S. aureus</i>	30	10^6	S30- 10^6
6		30	10^2	S30- 10^2
7		10	10^6	S10- 10^6
8		10	10^2	S10- 10^2

Las variables independientes corresponden a la altura de las lámparas de radiación UV-C, los microorganismos y la carga inoculada de *E. coli* y *S. aureus*. Las variables dependientes corresponden a la población de microorganismos posterior al tratamiento con radiación UV-C.

Por otro lado, para evaluar el efecto de la radiación UV-C sobre características fisicoquímicas de la uvilla (pH, acidez, brix y Aw) se aplicó un diseño factorial $2^2 + 1$ con cuatro repeticiones, teniendo un total de 20 unidades experimentales. Las variables independientes corresponden las alturas (10 y 30 cm) y las mediciones en la semana 1 y semana 4, y las variables dependientes corresponden las características fisicoquímicas correspondientes.

Los resultados se analizaron mediante un ANOVA y las medias se compararon mediante una prueba Tukey con una significancia de 0,05 a través del software Infostat.

2.9 Determinaciones analíticas

De acuerdo con los métodos oficiales de la AOAC 981.12 (1990), la medición del pH se efectuó con un potenciómetro (Mettler Toledo). Se tomaron 20 gramos de uvilla, se trituraron durante 30 segundos hasta obtener un puré en el que se introdujo el electrodo y se obtuvo la medida.

Para la medición de los sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) en la uvilla, se utilizó la norma INEN 0273 (2008), que especifica el uso de un refractómetro (Milwaukee). El puré de uvilla se colocó sobre el lente del refractómetro para determinar el contenido de azúcar.

La actividad de agua (Aw) en la uvilla se determinó con un medidor especializado de Aw (Rotronic). Se colocó una muestra del puré de uvilla en el medidor, donde se crea un ambiente de humedad controlado (Johnston, 2017). Los análisis se realizaron por cuadruplicado. Se tomaron las medidas en la semana 1 y la semana 4, y mediante un ANOVA se determinó diferencia significativa entre los parámetros fisicoquímicos.

2.10 Predicción del crecimiento microbiano en uvilla

Se empleó el software ComBase para predecir el crecimiento de *S. aureus* y *E. coli* en función de las características de la uvilla. Los modelos predictivos del paquete informático ComBase están contruidos en función de la temperatura, pH, actividad de agua o porcentaje de cloruros de sodio de la muestra. En el programa se introdujeron los datos experimentales de la población de *E. coli* y *S. aureus*, de temperatura de la zona de empacado (8°C) tomado en la empresa, el pH y Aw determinados en la uvilla. Para realizar la predicción del crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* bajo diferentes condiciones a las reales, se introdujeron valores superiores e inferiores de temperatura y poblaciones microbianas con el fin de analizar la inocuidad y la vida útil del producto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Diagnóstico microbiológico en operadores

Como se puede observar en la Tabla 2, en el Operador 1 mostró crecimiento de *S. aureus*, y no se detectó *E. coli*, a diferencia del operador 2 en el que se encontraron las dos bacterias analizadas.

Tabla 2. Recuento de *E. coli* y *S. aureus* en manipuladores

Microorganismos (UFC)	Operador 1	Operador 2
<i>E. coli</i>	ausencia	1
<i>S. aureus</i>	22	1

Las placas Petrifilm con crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* se muestran en la Figura 1.

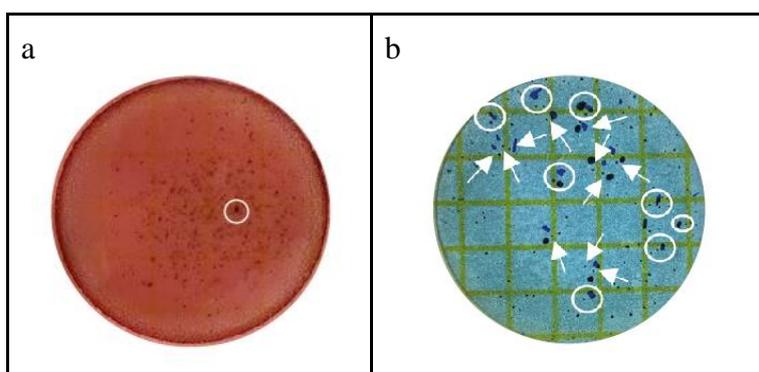


Figura 1: Placas Petrifilm correspondientes a los análisis microbiológicos de manipuladores:

a) *E. coli* y coliformes y b) *S. aureus*

E. coli y *S. aureus* pueden causar ciertas afecciones a la salud de los consumidores y los manipuladores son la principal fuente de contaminación en los alimentos (Torres & Pacheco, 2021). La presencia de *S. aureus* en el manipulador sugiere que es portador de este microorganismo y se debe hacer uso adecuado de guantes y de mascarilla, ya que la bacteria se encuentra en la piel, llagas, garganta y mucosas (Pasachova et al., 2019). Por otro lado, *E.*

coli se relaciona con contaminación fecal, esta bacteria es un indicador de malas prácticas de higiene (Bayas-Morejón et al., 2020). La presencia de estas bacterias indica que las empresas empacadoras de uvilla deben mantener un protocolo de limpieza de manos antes de ingresar a la zona de trabajo y al salir de la misma. De igual manera se deberían realizar controles regulares en el área de pelado manual y empaado de la uvilla para que no se produzca contaminación cruzada en la cadena productiva que potencialmente podría producir un brote de una enfermedad transmitida por la uvilla. Se debe tomar en cuenta que la uvilla puede, por falta de hábitos de higiene alimentaria (Pazmiño-Gómez et al., 2018), consumirse sin lavar convirtiéndose en un riesgo para el consumidor.

Es importante señalar la importancia de la implementación de sistemas de calidad en las empresas procesadoras de alimentos con el objetivo de garantizar la inocuidad y calidad de sus productos. Estos sistemas de calidad incluyen los procedimientos operativos estandarizados de sanitización (POES), buenas prácticas de manufactura (BPM's) y el análisis de peligros y puntos críticos (HACCP), Global G.AP., BRC Global Standards, entre otros. Si bien algunas empresas exportadoras de uvilla mantienen implementados sistemas como GlobalG.AP., y BRC Global Standards, los resultados obtenidos en el análisis de manipuladores indican una probable falta de capacitación o cumplimiento de la normativa de higiene de manipuladores siendo necesario hacer énfasis en la capacitación y concienciación del personal manipulador de alimentos.

3.2 Diagnóstico microbiológico en uvillas

Se analizaron dos lotes de uvilla (Tabla 3), no se determinó la presencia de *E. coli* en ninguno de los dos, mientras que se determinó una población de 10^2 y $2,5 \times 10^2$ UFC/g de *S. aureus*, en ambos lotes.

Tabla 3. Recuento de *E. coli* y *S. aureus* en uvilla

Microorganismos (UFC/g)	Lote 1	Lote 2
<i>E. coli</i>	Ausencia*	Ausencia*
<i>S. aureus</i>	1×10^2	$2,5 \times 10^2$

*Menor a 10 UFC/g es indicativo de ausencia

El recuento de *E. coli* y *S. aureus* en la uvilla permitió identificar una fuente de contaminación cruzada que se estaría produciendo en la etapa de empacado (entre operador y uvilla). Si bien *E. coli* no se detectó en las uvillas, el resultado obtenido aplica a los dos lotes analizados por lo que sería interesante realizar pruebas periódicamente para descartar fuentes de contaminación.

Por otro lado, la contaminación con *S. aureus* de la uvilla es superior con una unidad logarítmica a la encontrada en las manos de los operadores. Esto demuestra que existe deficiencia en la higiene de los manipuladores de la fruta. Se requiere la aplicación de medidas correctivas como el uso de mascarilla y de ser posible el uso de guantes para disminuir la contaminación a las frutas, y preventivas como la capacitación al personal.

La relación encontrada entre la población microbiana de los manipuladores y las uvillas permite advertir cuáles son las problemáticas de las empresas y como se mencionó anteriormente, cuáles serían los temas prioritarios de capacitación para sus operarios.

Por otro lado, en la uvilla se realizó un recuento de mohos y levaduras (Tabla 4). Se encontraron únicamente levaduras en la superficie de las uvillas. No se detectó la presencia de mohos en esta etapa de la cadena de valor. Estos resultados permiten suponer que, si existen pérdidas poscosecha por presencia de mohos en la uvilla, la contaminación se produciría en etapas posteriores al empacado.

Tabla 4. Recuento de mohos y levaduras

Microorganismos (UFC/g)	Lote 1	Lote 2	Placa (DRBC)
Mohos	Ausencia	Ausencia	
Levaduras	$9 * 10^1$	$5 * 10^1$	

La flecha señala colonias de levaduras luego de 3 días de incubación a 30°C en agar DRBC

La ausencia de mohos en el recuento es un indicador positivo, sin embargo, no puede considerarse como una garantía absoluta de que la uvilla no está contaminada. Es importante tomar en cuenta varios aspectos, como la heterogeneidad de la muestra y los niveles de detección. Probablemente la muestra no representa completamente la condición del lote de producción o los niveles de contaminación están por debajo del límite de detección del método de muestreo utilizado.

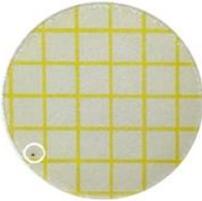
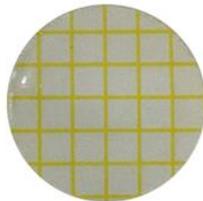
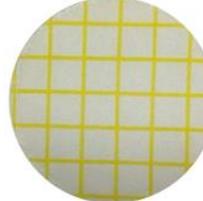
3.3 Efecto de la radiación UV-C sobre *S. aureus* y *E. coli* inoculadas artificialmente en uvillas

Se inocularon en la uvilla poblaciones de 10^2 y 10^6 UFC/g de *E. coli* y *S. aureus* con el fin de evaluar el efecto de la distancia de las lámparas de radiación UV-C en la reducción de la población microbiana en las.

Luego de realizar la inoculación de la uvilla con *S. aureus* y *E. coli* en una población de 6×10^2 UFC/g el recuento fue de 5 y 20 UFC/g en las placas control (sin tratamiento), respectivamente; este valor indica la población real que se adhirió a la superficie de la fruta y que fue expuesta

al tratamiento con luz UV-C. Las uvillas que fueron tratadas con $12,5 \text{ kJ/m}^2$ a una distancia de 10 y 30 cm de las lámparas UV-C no mostraron crecimiento de ninguna de las dos bacterias (Tabla 5). Se encontró una reducción de unidades logarítmicas $\log_{10}= 0,70$ para *S. aureus* y *E. coli* $\log_{10}=1,30$ con dos alturas ensayadas (Anexo B).

Tabla 5. Efecto de la radiación UV-C sobre una población de 10^2 UFC/g de *S. aureus* y *E. coli* en uvilla

Microorganismo	Control (UFC/g)	Distancia de exposición a la luz UV-C ($12,5 \text{ kJ/m}^2$)	
		10 cm	30 cm
<i>S. aureus</i>	5	Ausencia	Ausencia
			
<i>E. coli</i>	20	Ausencia	Ausencia
			

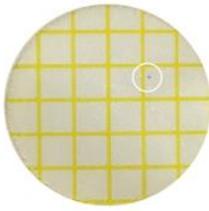
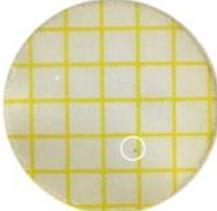
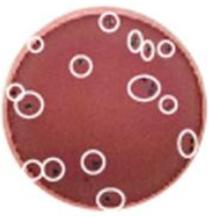
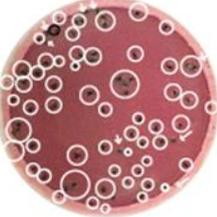
Una reducción similar en el crecimiento microbiano posterior al tratamiento de frutillas con $7,2 \text{ kJ/m}^2$ fue reportado por Adhikari (2015). Estos resultados son alentadores ya que tomando en cuenta que previamente se detectó *E. coli* en los operadores y a pesar de no detectarse en la uvilla, la potencial presencia de esta bacteria patógena (en poblaciones cercanas a 10^1 UFC/g) en la fruta podría ser reducida o eliminada con el tratamiento con luz UV-C indistintamente de la distancia de exposición (10 y 30 cm) a las lámparas.

Cuando se realizó la inoculación de las uvillas con *S. aureus* y *E. coli* con una concentración de UFC/g, el crecimiento en las uvillas sin tratamiento fue de $1,6 \times 10^5$ y 3×10^5 UFC/g, respectivamente. Como se puede observar en la Tabla 6, al aplicar la radiación UV-C se registró una reducción \log_{10} de 4,51 para ambas alturas de la carga microbiana inicial de *S. aureus* tanto para 10 cm como para 30 cm de distancia de las lámparas de UV-C. En tanto que el crecimiento de *E. coli* posterior al tratamiento con luz generó una disminución de hasta 10^4 UFC/g ($\log_{10} 3,10$) para las frutas expuestas a 10 cm, mientras que en las uvillas expuestas a 30 cm se redujo a 10^3 UFC/g ($\log_{10} 2,48$), como se puede observar en el anexo B. Las características de la matriz son determinantes para la supervivencia de los microorganismos. Osorio & Arellano (2019) reportaron que tras la inoculación de UFC/g de *S. aureus* en cubiertos de acero inoxidable tratados con $17,22 \text{ kJ/m}^2$ no hubo crecimiento de la bacteria.

Al comparar la distancia de exposición de las uvillas a las lámparas UV-C se observa que con 10 cm se produce una disminución de 10 veces la carga de *E. coli* sobreviviente. Según Osorio & Arellano (2019) la intensidad de las lámparas disminuye 17 veces cuando se aleja de 10 cm a 30 cm.

Adicionalmente, la exposición a radiación UV-C es más efectiva para *S. aureus* que para *E. coli*, lo cual se debe principalmente a las características morfológicas de estos microorganismos. *S. aureus* (Gram positiva) cuenta con una pared celular constituida por peptidoglicano, mientras que *E. coli* (Gram negativa) posee una pared celular externa de fosfolípidos lipopolisacáridos y una pared interna de peptidoglicano (Quezada, 2023). Esta diferencia estructural influye en la susceptibilidad del microorganismo; *E. coli* puede generar cierta resistencia a los agentes externos como tratamientos térmicos, desinfectantes y luz UV-C, mediante mecanismos de reparación por escisión (Lorenzo-Leal et al., 2023).

Tabla 6. Efecto de la radiación UV-C sobre una población de 10^6 UFC/g de *S. aureus* y *E. coli* en uvilla

Microorganismo	Control (UFC/g)	Distancia de exposición a la luz UV-C ($12,5 \text{ kJ/m}^2$)	
		10 cm	30 cm
<i>S. aureus</i> (UFC/g)	$1,6 * 10^5$	5	5
			
<i>E. coli</i> (UFC/g)	$3 * 10^5$	$2,4 * 10^2$	$1 * 10^3$
			

El efecto antimicrobiano de la radiación de luz UV-C se debe a que penetra la pared celular de los microorganismos y los inactiva por la inducción de formación de dímeros de pirimidina alterando el ADN y bloqueando la replicación (Correa et al., 2020). Los resultados obtenidos permiten confirmar la efectividad de la luz UV-C como antimicrobiano siendo una alternativa para prevenir brotes de ETAS relacionadas con estos microorganismos patógenos en la uvilla, bajo las condiciones ensayadas. La implementación de un equipo de radiación UV-C en la etapa de empaqueo de la uvilla podría resultar útil considerando la carga inicial microbiana que esté presente en el alimento, indistintamente de que se pueda exponer la uvilla a una distancia de 10 o 30 cm de las lámparas UV-C.

3.4 Diseño experimental y análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados obtenidos (Tabla 7) indica que según el valor F existe diferencia significativa entre los tratamientos para las 3 variables independientes.

Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) de la población final de microorganismos (UFC/g) de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F
Modelo	7	1810144	258592	38,92*
Lineal	3	954219	318073	47,88*
Bacteria	1	393756	393756	59,27*
Concentración inicial	1	406406	406406	61,17*
Altura	1	154056	154056	23,19*
Bacteria*Concentración inicial	1	393756	393756	59,27*
Bacteria*Altura	1	154056	154056	23,19*
Concentración inicial*Altura	1	154056	154056	23,19*
Bacteria*Concentración inicial*Altura	1	154056	154056	23,19*
Error	8	53150	6644	
Total	15	1863294		

* Significativo al 5% de probabilidad por la prueba F

La Figura 2 como el Anexo A muestran que todos los tratamientos con excepción de *E. coli*, con población de 10^6 UFC/g y a 30 centímetros de las lámparas UV-C demostraron ser estadísticamente iguales y presentaron el mejor resultado para disminuir la carga microbiana adherida a la superficie de la fruta.

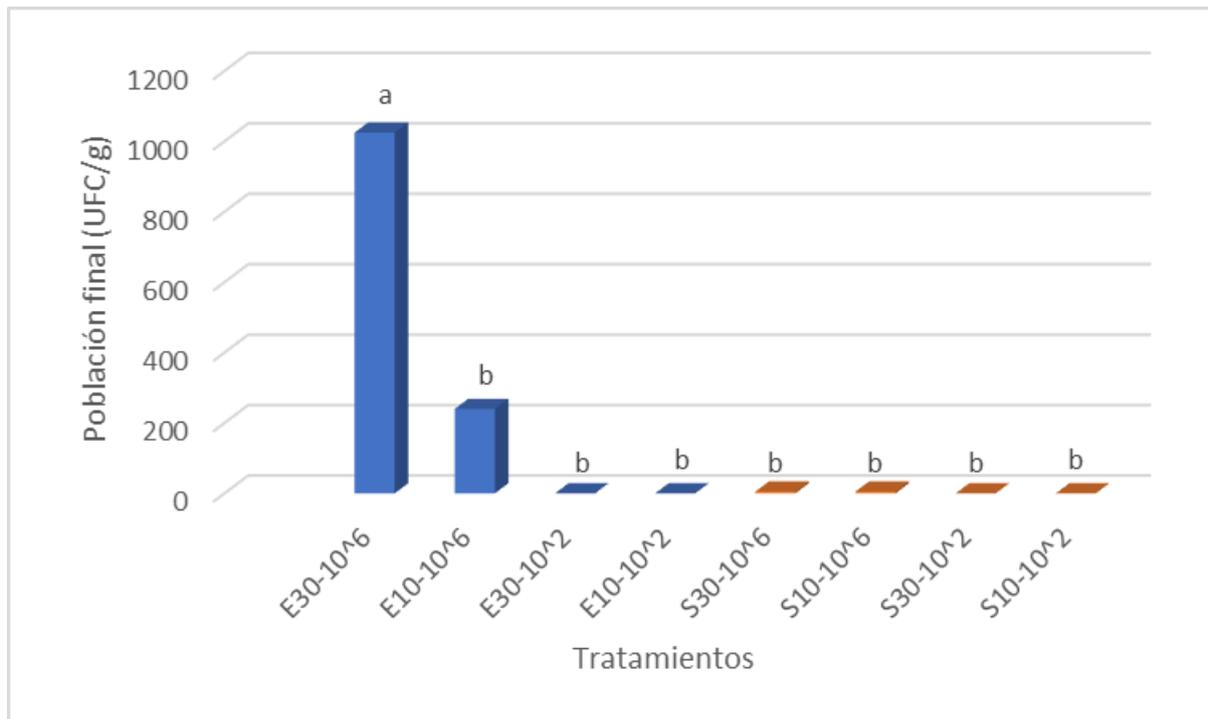


Figura 2. Población final de microorganismos en uvilla expuestas a 12,5 kJ/m² de luz UV-C
Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos

Pataro et al. (2015) sugieren que son necesarios más trabajos de investigación para comprobar si el uso de mayor intensidad de luz UV-C y distancias más cortas entre las frutas y la fuente de luz UV-C, pueden permitir acortar el tiempo de exposición. Estos aspectos son importantes para evitar el deterioro del fruto por exceso de radiación y para el diseño de un equipo que pueda ser aplicado en una línea de producción.

3.5 Efecto de radiación UV-C sobre las características fisicoquímicas de la uvilla

Inmediatamente luego del tratamiento con luz UV-C y luego de 4 semanas de almacenamiento refrigerado se analizó el efecto de la radiación UV-C sobre el pH, acidez, °Brix, Aw y color de la uvilla (Figura 3, 4, 5, 6 y 7, respectivamente).

Al inicio del experimento (semana 1) no se encontró diferencia significativa entre las muestras control y tratadas ($p > 0,05$). Los valores de los parámetros analizados son similares a los reportados por Nawirska et al. (2017) y Thuy et al. (2020). Es importante señalar que la acidez de la fruta puede variar según la ubicación geográfica y la variedad.

Al final del almacenamiento (semana 4), el único parámetro que varió significativamente fue la Aw. Esta variación podría estar relacionada con el temprano desarrollo de mohos (día 14) dado que no recibió radiación UVC.

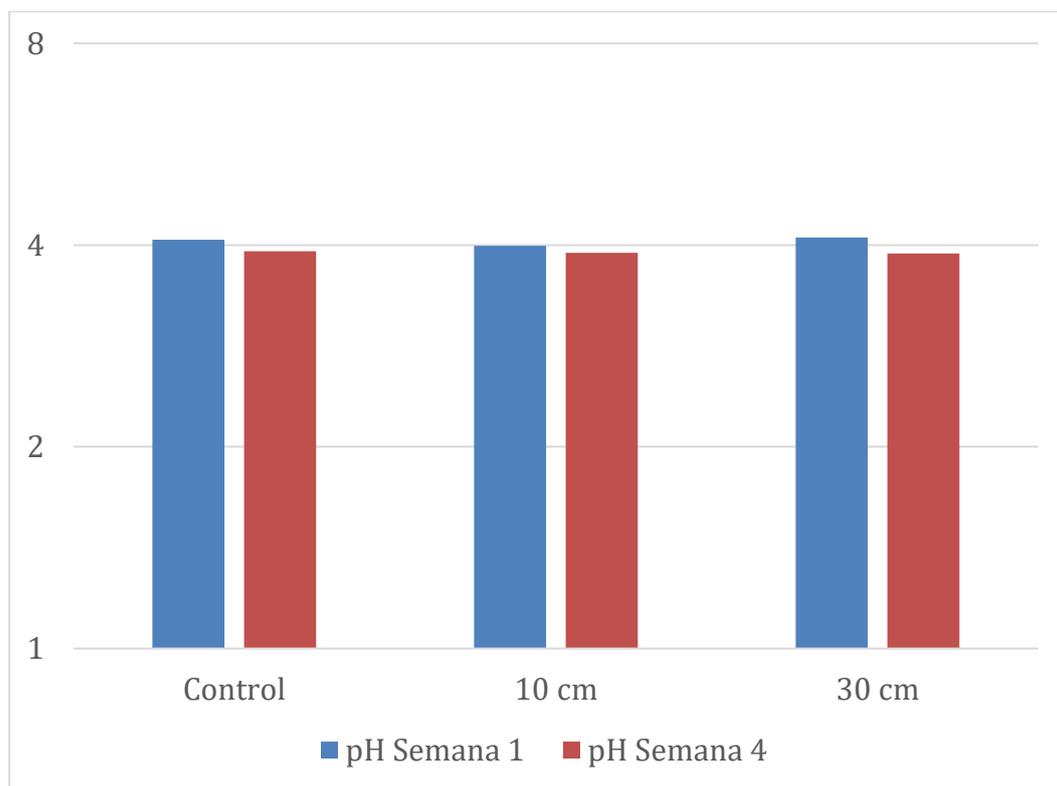


Figura 3. pH de uvilla en la semana 1 y semana 4 para control y tratamiento de UV-C a 10 y 30 cm

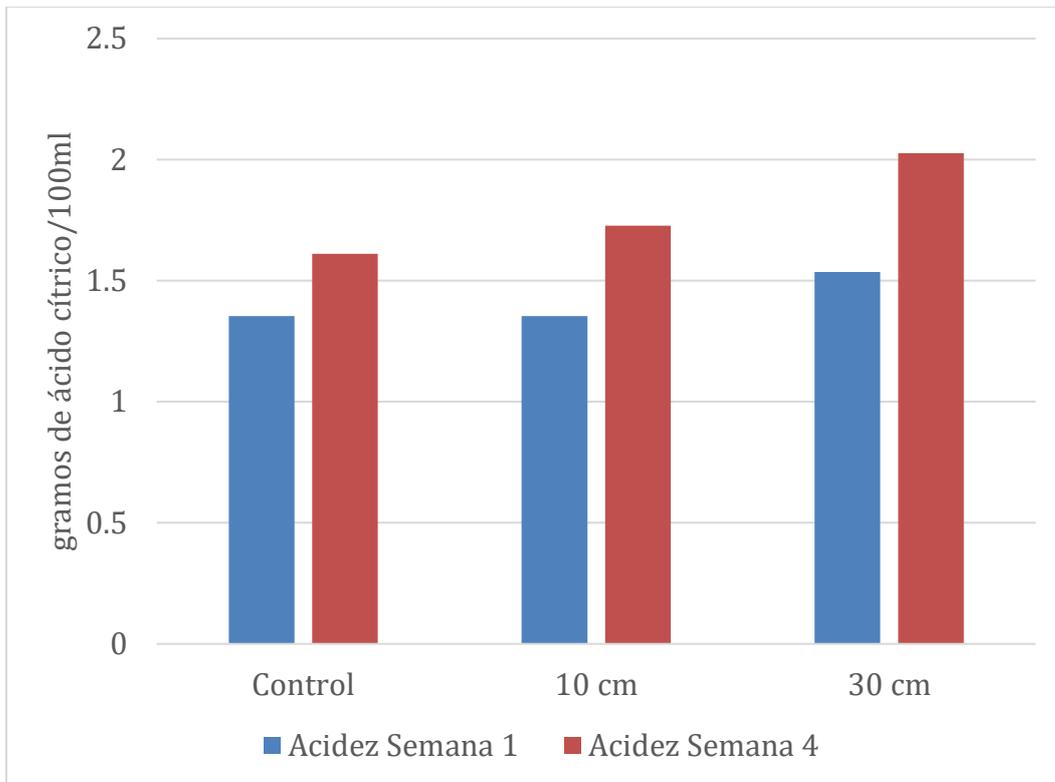


Figura 4. Acidez de uvilla en la semana 1 y semana 4 para control y tratamiento de UV-C a 10 y 30 cm

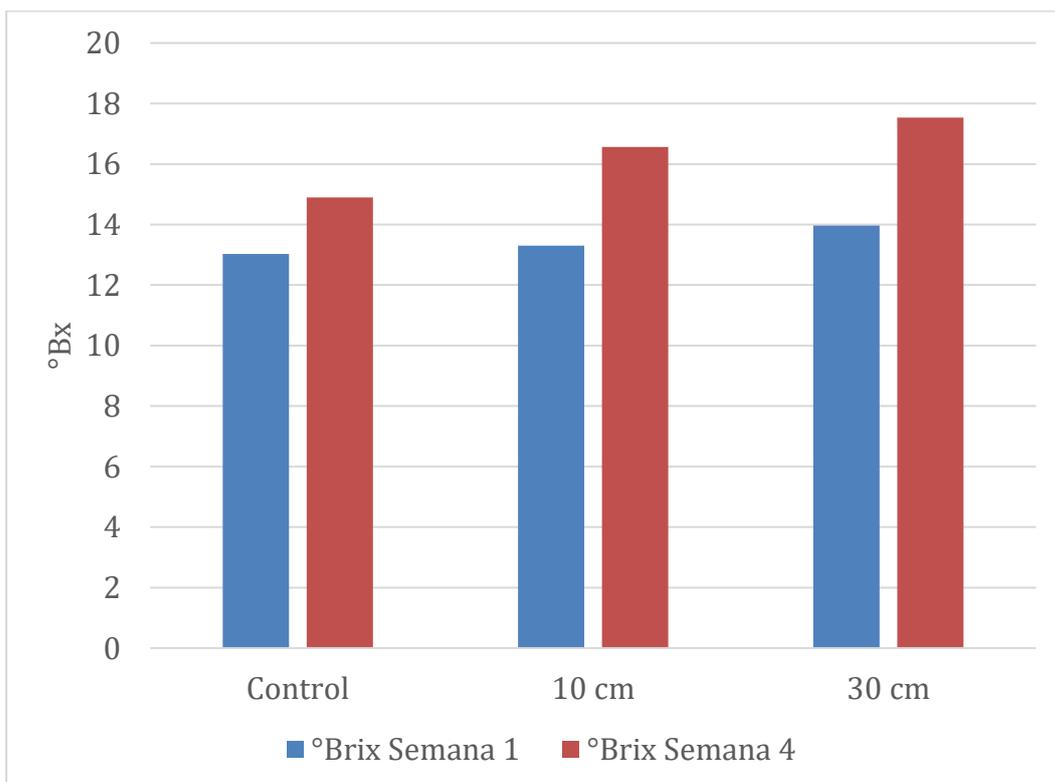


Figura 5. °Brix de uvilla en la semana 1 y semana 4 para control y tratamiento de UV-C a 10 y 30 cm

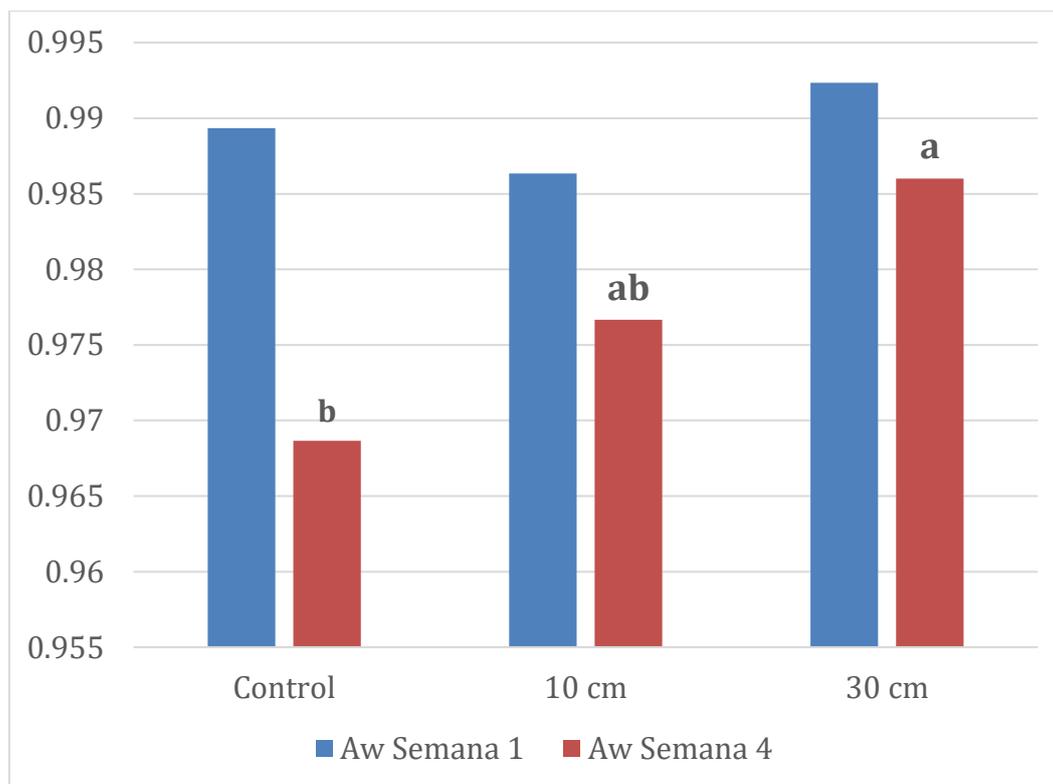


Figura 6. Aw de uvilla en la semana 1 y semana 4 para control y tratamiento de UV-C a 10 y 30 cm

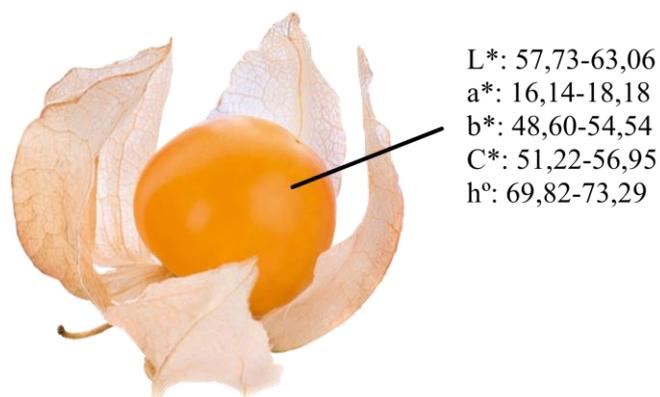


Figura 7. Color de uvilla en muestras control y tratadas con UV-C (12,5 kJ/m²) a 10 y 30 cm de distancia entre la fruta y la fuente de luz

En general el tratamiento con luz UV-C en uvilla no produce cambios significativos en parámetros como pH, acidez, °Brix y el color, tal como lo reportado por Andrade-Cuvi et al., (2017) y Guerrero et al. (2012).

3.6 Efecto de la radiación UV-C en el control de mohos

En el control de la apariencia de la uvilla (Figura 8), se determinó que a partir de la semana 3 de almacenamiento refrigerado existió crecimiento evidente de mohos en la fruta, sin embargo, se puede apreciar un menor crecimiento en la fruta irradiada a una distancia de 10 cm de las lámparas en comparación con los frutos control y tratadas con UV-C a 30 cm. Si bien en el diagnóstico microbiológico inicial de mohos en la uvilla determinó ausencia de estos microorganismos, se debe tomar en cuenta que las condiciones de almacenamiento fueron diferentes a las condiciones en las que se mantienen las uvillas en la empresa.

Semana	Control	UV-C a 12,5 kJ/m^2	
		(10cm)	(30cm)
1			
2			
3			
4			

Figura 8. Apariencia de las uvillas conservadas en refrigeración durante cuatro semanas

La aplicación de luz UV-C permite alargar la vida útil de las frutas al ser letal para la mayoría de los microorganismos. Este tratamiento inhibe el crecimiento de mohos lo que permite que la fruta pueda extender su vida en percha 5 días (Idzwana et al., 2020). El efecto de la luz UV-C en los vegetales estaría produciendo el denominado “efecto hormético”, esta respuesta varía según la especie, genotipo, estado de madurez y estado fisiológico (Charles et al., 2016).

Por otro lado, el término “hormesis” se explica cómo el fenómeno biológico como un efecto beneficioso adaptativo ante la exposición de algún agente que en altas dosis puede ser dañino, en este caso ante la exposición de UV-C (Duarte-Sierra et al., 2020). En diversos estudios se ha determinado que la exposición a luz UV-C aumenta las propiedades nutraceuticas de las frutas, el incremento de antioxidantes y además pueden inducir el retraso de los procesos de maduración y senescencia. Lo que permite alargar la vida útil de las frutas. Cabe destacar que este proceso no es efectivo si la fruta ya viene previamente con enfermedades como mohos y levaduras, dado que estos poseen de diez a cincuenta veces más resistencia que bacterias (Duarte- Sierra et al., 2020; Millán et al, 2015). Si se desea eliminar los mohos y levaduras presentes en las uvillas las empresas deberían evaluar la aplicación de una alta dosis de exposición de UV-C.

3.7 Predicción del crecimiento microbiano en uvilla

Para la predicción de crecimiento microbiano se utilizó el software ComBase que permite asegurar la calidad e inocuidad alimentaria en base a la microbiología predictiva. Para poder determinar adecuadamente el crecimiento microbiano en la fruta, se utilizaron los valores de pH, temperatura y actividad de agua (Tabla 8) establecidos por ESR (2018 y 2001) como parámetros que se ingresarán en el software para predecir el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*.

Tabla 8. Parámetros utilizados en el software Combase para la predicción del crecimiento microbiano

Parámetro	<i>E. coli</i>			<i>S. aureus</i>		
	Mínimo	Óptimo	Máximo	Mínimo	Óptimo	Máximo
pH	4,4	6-7	10	4,2	7-7,5	9,3
Temperatura (°C)	7-8	35-40	46	6	37	48
Aw	0,95	0,995	--	0,85	0,99	--

Se obtuvieron las siguientes curvas de crecimientos para los microorganismos analizados, tomando en cuenta las condiciones en la empresa, la variación de carga inicial y variación en la temperatura de almacenamiento para 21 días que corresponde a los días que normalmente una empresa exportadora de uvilla requiere que la fruta se mantenga con buena calidad en el mercado. Los resultados de la predicción del crecimiento de *S. aureus* y *E. coli* en uvilla se muestran en las figuras 9 y 10, respectivamente.

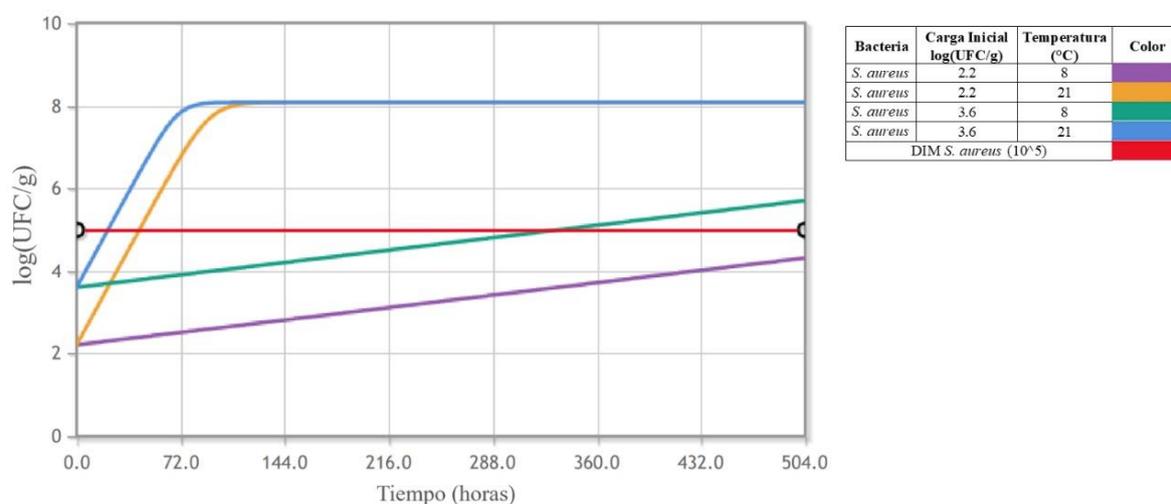


Figura 9. Predicción de crecimiento de *S. aureus* en uvilla.

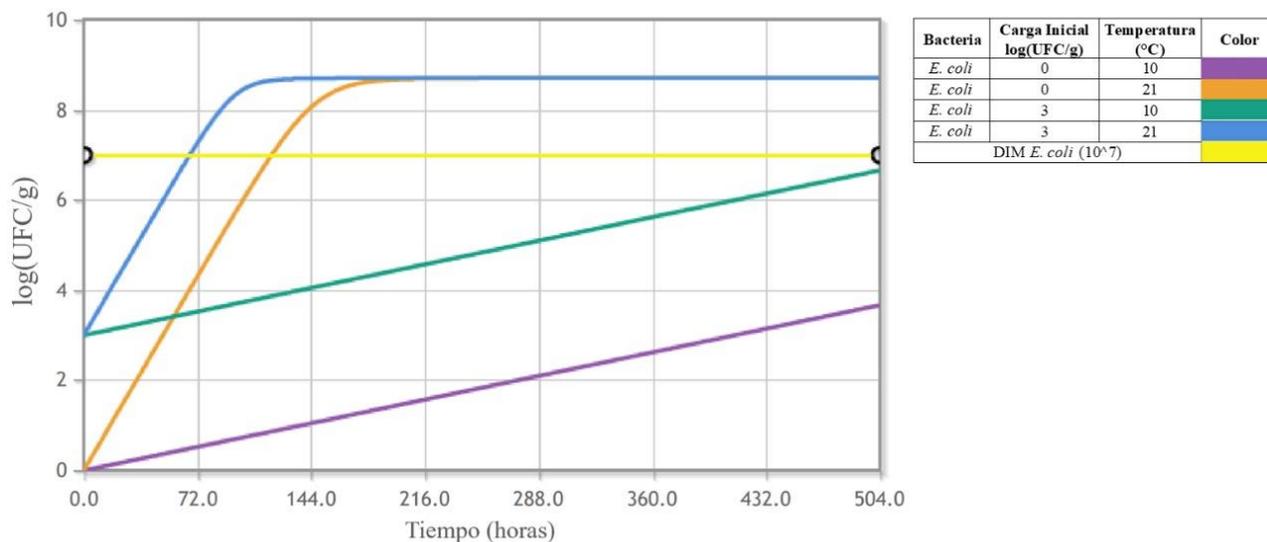


Figura 10. Predicción de crecimiento de *E. coli* en uvilla.

Combase permite analizar en las fases de las curvas de crecimiento microbiano. La fase de latencia corresponde al tiempo en el que el microorganismo se está adaptando al nuevo entorno, seguida de la fase exponencial (de máxima velocidad de crecimiento) y la fase estacionaria donde ya no hay crecimiento (Girbal et al., 2021).

En la figura 9 se puede observar que al mantener la temperatura de almacenamiento a 8 °C, la bacteria no llega a la dosis mínima infecciosa (DMI) que corresponde 10^5 (célula/g) (Park et al, 2014) considerando la carga determinada en el diagnóstico de uvilla. Sin embargo, en la simulación del crecimiento de *S. aureus* a una temperatura de 21°C se observa que en 1,8 días ya alcanza la DMI lo que implicaría una potencial intoxicación alimentaria en los consumidores de uvilla. De igual manera como se aprecia en la Figura 10 al mantener la temperatura de 10°C con la carga inicial determinada en el diagnóstico de uvilla, el crecimiento de *E. coli* es bajo y se mantiene por debajo de la DIM (10^7 células/g) para ETEC (Park et al, 2014). Sin embargo, cuando hay un aumento de la temperatura a 21 °C la DMI se alcanza en 4,95 días.

Las fluctuaciones de temperatura utilizadas en la predicción podrían ocurrir cuando la uvilla pasa por la cadena de exportación desde el transporte desde la empresa hasta el embarque del

producto, el transporte aéreo y cuando llega al destino en el supermercado. Este proceso toma aproximadamente 5 días, y dependerá de la ubicación geográfica de las empresas exportadoras. Es importante que durante este proceso no se rompa la cadena de frío dado que afecta a la calidad y a la vida útil de la fruta, y también está asociada la salud del consumidor ya que un buen control de temperatura evita el crecimiento microbiano (Goedhals-Gerber & Khumalo, 2020). Se considera como cambio o ruptura de la temperatura, cuando existe un aumento mayor de 2 °C, lo cual sucede especialmente durante el embarque dado que la fruta suele mantenerse a temperatura ambiente (Goedhals-Gerber & Khumalo, 2020; Martner, 2006).

Manejando el supuesto de que la carga inicial bacteriana en la uvilla es alta, siendo un indicativo de una mala manipulación por parte de los operarios; como se observa para *S. aureus* (Figura 4), se tardaría 13,9 días en llegar a la DMI. Por otro lado, si se tiene una carga inicial alta de 3981,07 UFC/ g y con temperatura de 21°C el tiempo en el que alcanza la DMI es de 21,7 horas.

A diferencia de *E. coli* con una población inicial de 1000 UFC/g y temperatura de 8°C se mantiene por debajo del DMI; no obstante, al tener una carga elevada y una temperatura de 21°C en la uvilla alcanza la DMI en 2,8 días. Por lo que es importante controlar la carga inicial de microorganismos, y mantener las condiciones de refrigeración adecuadas a lo largo de la cadena de valor de la uvilla.

El análisis se realizó en base a los resultados obtenidos después del tratamiento con UV-C a 10 cm para las dos bacterias, que fueron inoculados previamente con una carga alta de 10^6 . En el software se realizó una modificación de la temperatura para determinar el crecimiento bacteriano en la uvilla.

La aplicación de UV-C en la etapa de empaçado permite controlar la carga inicial por lo que las curvas de crecimiento muestran una menor fase exponencial, como se puede observar en la figura 11 con relación a las curvas de la figura 9 y 10.

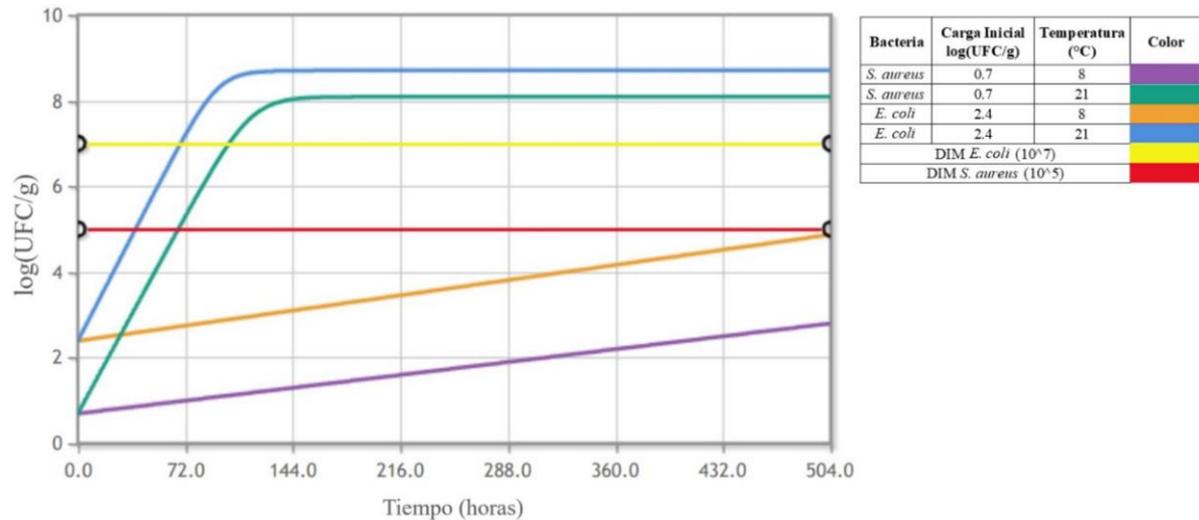


Figura 11. Predicción de crecimiento de *S. aureus* y *E. coli* en uvilla tratada con UV-C (12,5 kJ/m²).

Al existir fluctuaciones de temperatura se generan cambios exponenciales de crecimiento de *S. aureus* y *E. coli*. Para *S. aureus* a 8 °C se mantiene debajo de la dosis mínima infectiva y para 21 °C llega al DMI a los 2,8 días. *E. coli* presenta un comportamiento similar, a 8 °C se mantiene por debajo del DMI hasta 21 días mientras que para una temperatura de 21°C a los 2,87 días alcanzaría la DMI. Esto determina que la temperatura es el factor con mayor influencia en la vida útil de la uvilla a pesar de que se tenga una carga inicial baja y que las empresas tengan implementado como tratamiento previo al empaçado la radiación UV-C como parte de su proceso.

CONCLUSIONES

El diagnóstico microbiológico inicial revela que las empresas empacadoras de uvilla requieren implementar un estricto control de higiene para los manipuladores. Esto es crucial para reducir la carga inicial de microorganismos. La presencia de *S. aureus* y *E. coli* en las manos de manipuladores podría producir contaminación cruzada durante el proceso de pelado manual de las uvillas.

El tratamiento de UV-C a una dosis de $12,5 \text{ kJ/m}^2$ permitió reducir la carga microbiana presente en la superficie de esta fruta, indistintamente de la distancia entre la fruta y la fuente de luz. El tratamiento fue más efectivo para *Staphylococcus aureus* que para *Escherichia coli*, lo que estaría relacionado con la capacidad de generar resistencia a la radiación por las diferencias estructurales de la pared celular de estas bacterias.

Las uvillas tratadas con UV-C ($12,5 \text{ kJ/m}^2$) a una distancia de 10 cm permitió mantener la calidad de la fruta 5 días más comparados con los frutos control. Mientras que a una distancia de 30 cm si bien existió retraso en la aparición de mohos no fue tan efectivo como el tratamiento a 10 cm. La determinación de las condiciones de tratamiento permitirá el diseño de un equipo que pueda ser utilizado en el área de empaque de empresas empacadoras y exportadoras de uvilla.

En cuanto a la predicción microbiana a través de ComBase se determinó que, con un incremento en la temperatura durante la cadena de valor de la uvilla, los microorganismos de *S. aureus* y *E. coli* alcanzan la DMI en pocos días con relación a si se mantienen a 8°C , condición con la que las frutas podrían estar en percha por al menos 21 días manteniendo buena calidad.

Se sugiere que las empresas empacadoras de uvilla consideren la implementación de un protocolo de higiene personal efectivo para su personal, con el fin de garantizar la inocuidad

alimentaria. Esto contribuirá significativamente a reducir la propagación de bacterias durante el periodo de exportación. En caso de contemplar la aplicación de radiación UV-C a nivel industrial, se recomienda llevar a cabo análisis adicionales para determinar su alcance.

Finalmente se sugiere considerar la evaluación del uso de otros tratamientos solos o combinados con la radiación UV-C que contribuyan al incremento de la vida útil de uvilla.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adhikari, A., Syamaladevi, R. M., Killinger, K., & Sablani, S. S. (2015). Ultraviolet-C light inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* on organic fruit surfaces. *International journal of food microbiology*, 210, 136-142.
- Aheika, S. A., Stsiapura, V. I., Smirnov, V. Y., & Stepuro, I. I. (2021). Effect of ultraviolet on thiamine and thiamine disulfides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Chemical Series*, 57(1), 70-86.
- Andrade, M. J., Moreno, C., Zaro, M. J., Vicente, A. R., & Concellón, A. (2017). Improvement of the antioxidant properties and postharvest life of three exotic Andean fruits by UV-C treatment. *Journal of Food Quality*, 2017.
- Andrimba Alba, L. G. (2022). Evaluación del comportamiento de las características fisicoquímicas y funcionales de la uvilla *physalis* peruviiana l. en almíbar enlatada (Bachelor's thesis).
- Association of Official Analytical Chemists, & Association of Official Agricultural Chemists (US). (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (Vol. 2). Association of Official Analytical Chemists.
- Bayas-Morejón, F., Tigre-León, A., Tapia-Verdezoto, M., & Flores-Ribadeneira, F. (2020). Antibacterial activity of golden berry (*Physalis peruviana*) extract against *Escherichia coli* Spp. isolates from meats in Ecuador. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 12(2), 115-118.
- Charles, M. T., Arul, J., Charlebois, D., Yaganza, E. S., Rolland, D., Roussel, D., & Merisier, M. J. (2016). Postharvest UV-C treatment of tomato fruits: Changes in simple sugars and organic acids contents during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 557-564.
- Cheng, L., Zhou, L., Li, D., Gao, Z., Teng, J., Nie, X., & Li, X. (2023). Combining the biocontrol agent *Meyerozyma guilliermondii* with UV-C treatment to manage postharvest gray mold on kiwifruit. *Biological Control*, 180, 105198.
- Cheung, G. Y., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547-569.
- Correa, M., Mera, S., Guacho, F., Villarreal, E., & Valencia, S. (2020). Desinfección mediante el uso de luz UV-C germicida en diferentes medios como estrategia

- preventiva ante la COVID-19. *Revista Minerva: Multidisciplinaria de Investigación Científica*, 1(2), 46-53.
- Cuaical, S. C., Guerrero, C. M., Andrade-Cuvi, M. J., León, C. D. A., & Guerrero, M. J. (2019). Efecto de la aplicación de 1-metilciclopropeno (1-MCP) sobre la calidad poscosecha de uvilla orgánica (*Physalis peruviana*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 20(1).
- Cubero González, S., Possas, A., Carrasco, E., Valero, A., Bolívar, A., Posada-Izquierdo, G. D., & Pérez-Rodríguez, F. (2019). 'MicroHibro': a software tool for Predictive Microbiology and Microbial Risk Assessment in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 226-236.
- Darré, M., Vicente, A. R., Cisneros-Zevallos, L., & Artés-Hernández, F. (2022). Postharvest ultraviolet radiation in fruit and vegetables: Applications and factors modulating its efficacy on bioactive compounds and microbial growth. *Foods*, 11(5), 653.
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., & Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 19(1), 37-54.
- Duarte-Sierra, A., Tiznado-Hernández, M. E., Jha, D. K., Janmeja, N., & Arul, J. (2020). Abiotic stress hormesis: An approach to maintain quality, extend storability, and enhance phytochemicals on fresh produce during postharvest. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.
- El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., Safwat, G., Gamal, M., & Megahed, B. M. (2019). Chemical composition and biological activity of *Physalis peruviana* L. *Gesunde Pflanzen*, 71(2), 113-122.
- ESR. (2001). *Staphylococcus Aureus-Microbial Pathogen Sheet*.
www.mpi.govt.nz/dmsdocument/11051-Staphylococcus-aureus-Microbial-pathogen-data-sheet
- ESR. (2018). *Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli (STEC)*. Obtenido el 25 de noviembre de 2023 de <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/26030-Shiga-toxin-producing-Escherichia-coli-STEC>
- Espinoza Cano, D. M. (2019). *Producción y comercialización de la uvilla (physalis peruviana l) en la provincia de Imbabura (Bachelor's thesis)*.
<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/9889/3/03%20AGN%20065%20TBAJO%20GRADO.pdf>

- Esua, O. J., Chin, N. L., Yusof, Y. A., & Sukor, R. (2020). A review on individual and combination technologies of UV-C radiation and ultrasound in postharvest handling of fruits and vegetables. *Processes*, 8(11), 1433.
- Etzbach, L., Pfeiffer, A., Schieber, A., & Weber, F. (2019). Effects of thermal pasteurization and ultrasound treatment on the peroxidase activity, carotenoid composition, and physicochemical properties of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) puree. *Lwt*, 100, 69-74.
- Girbal, M., Strawn, L. K., Murphy, C. M., Bardsley, C. A., & Schaffner, D. W. (2021). ComBase models are valid for predicting fate of *Listeria monocytogenes* on 10 whole intact raw fruits and vegetables. *Journal of Food Protection*, 84(4), 597-610.
- Goedhals-Gerber, L. L., & Khumalo, G. (2020). Identifying temperature breaks in the export cold chain of navel oranges: A Western Cape case. *Food Control*, 110, 107013.
- Guevara, R. O., Flores, C. C., & Mier, M. A. Y. (2019). Aislamiento de bacilos Gram negativos y Estafilococos, posterior a dos técnicas de lavado de manos, en estudiantes de Enfermería que realizan prácticas hospitalarias. *Revista Científica de Ciencias de la Salud*, 12(2).
- Idzwana, M. I. N., Chou, K. S., Shah, R. M., & Soh, N. C. (2020). The Effect of Ultraviolet Light Treatment In Extend Shelf Life And Preserve The Quality of Strawberry (*Fragaria x ananassa*) cv. Festival. *International Journal on Food, Agriculture and Natural Resources*, 1(1), 15-18.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (2006). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. REP. (NTE INEN 1529)
<https://ia802906.us.archive.org/16/items/ec.nte.1529.5.2006/ec.nte.1529.5.2006.pdf>
- INEN, N. T. E. (1990). Determinación de la densidad de grados Brix. NTE INEN, 0273.
- Osorio, S., & Arellano, I. D. (2019). Design and construction of an ultraviolet germicidal irradiation device for the inactivation of *Staphylococcus aureus* in kitchen utensils. *Scientia et Technica*, 24(4), 550-554.
- Johnston, M. R., & Lin, R. C. (2017). FDA views on the importance of aw in good manufacturing practice. In *Water Activity* (pp. 287-294). Routledge.
- Kim, J. Y., Kim, H. J., Lim, G. O., Jang, S. A., & Song, K. B. (2010). The effects of aqueous chlorine dioxide or fumaric acid treatment combined with UV-C on postharvest quality of 'Maehyang' strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 56(3), 254-256. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.01.013>

- Leng, J., Dai, Y., Qiu, D., Zou, Y., & Wu, X. (2022). Utilization of the antagonistic yeast, *Wickerhamomyces anomalus*, combined with UV-C to manage postharvest rot of potato tubers caused by *Alternaria tenuissima*. *International Journal of Food Microbiology*, 377, 109782. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109782>
- Llerena, W., Samaniego, I., Ramos, M., & Brito Grandes, B. (2014). Caracterización físico-química y funcional de seis frutas tropicales y andinas ecuatorianas. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/3279>
- Lorenzo-Leal, A. C., Tam, W., Kheyrandish, A., Mohseni, M., & Bach, H. (2023). Antimicrobial Activity of Filtered Far-UVC Light (222 nm) against Different Pathogens. *BioMed Research International*, 2023. www.hindawi.com/journals/bmri/2023/2085140/#results-and-discussion
- 3M. (2015). Placas Petrifilm™ para Recuento de *E. coli*/Coliformes. <https://multimedia.3m.com/mws/media/1624098O/3m-petrifilm-placas-e-coli-ec-guia-de-interpretacion.pdf>
- 3M. (2007). Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de *Staphylococcus aureus*. <https://multimedia.3m.com/mws/media/467012O/3m-petrifilm-staph-express-interpretation-guide-spanish.pdf>
- Martner Peyrelongue, C. (2006). Cadenas logísticas de exportación de frutas y desarrollo local en el sureste de México. *EURE (Santiago)*, 32(97), 63-80. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-71612006000300005
- Millán Villarroel, D., Romero González, L., Brito, M., & Ramos-Villarroel, A. Y. (2015). Luz ultravioleta: inactivación microbiana en frutas. *Saber*, 27(3), 454-469. www.redalyc.org/pdf/4277/427743080011.pdf
- Ministerio Producción Comercio Exterior Inversiones y Pesca. (2019). Ecuador inicia exportaciones de uvilla hacia Estados Unidos. Obtenido el 20 de septiembre de 2023 de <https://www.produccion.gob.ec/ecuador-inicia-exportaciones-de-uvilla-hacia-estados-unidos/#:~:text=El%20pr%C3%B3ximo%20jueves%2012%20de,apertura%20de%20este%20importante%20mercado.>
- Mokhtar, S. M., Swailam, H. M., & Embaby, H. E. S. (2018). Physicochemical properties, nutritional value and techno-functional properties of goldenberry (*Physalis peruviana*) waste powder concise title: Composition of goldenberry juice waste. *Food Chemistry*, 248, 1-7. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29329831/>

- Moreno-Miranda, C., Moreno-Miranda, R., Pilamala-Rosales, A. A., Molina-Sánchez, J. I., & Cerda-Mejía, L. (2019). El sector hortofrutícola de Ecuador: Principales características socio-productivas de la red agroalimentaria de la uvilla (*Physalis peruviana*). *Ciencia y Agricultura*, 16(1), 31-51.
https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencia_agricultura/article/view/8809/7295
- Moreno-Velandia, C. A., Ongena, M., & Cotes, A. M. (2021). Effects of fengycins and iturins on *Fusarium oxysporum* f. sp. *physali* and root colonization by *Bacillus velezensis* Bs006 protect golden berry against vascular wilt. *Phytopathology*, 111(12), 2227-2237. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO-01-21-0001-R>
- Nawirska-Olszańska, A., Stępień, B., Biesiada, A., Kolniak-Ostek, J., & Oziembłowski, M. (2017). Rheological, chemical and physical characteristics of golden berry (*Physalis peruviana* L.) after convective and microwave drying. *Foods*, 6(8), 60.
- Park, M. S., Cho, J. I., Lee, S. H., & Bahk, G. J. (2014). The analysis for minimum infective dose of foodborne disease pathogens by meta-analysis. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 29(4), 305-311. <https://koreascience.kr/article/JAKO201401657869518.pdf>
- Pasachova Garzón, J., Ramírez Martínez, S., & Muñoz Molina, L. (2019). *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova*, 17(32), 25-38. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-25.pdf>
- Pataro, G., Sinik, M., Capitoli, M. M., Donsì, G., & Ferrari, G. (2015). The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 30, 103-111. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856415001125>
- Pazmiño-Gómez, B. J., Ayol-Pérez, L., López-Orozco, L., Vinueza-Freire, W., Cadena-Alvarado, J., Rodas-Pazmiño, J., & Rodas-Neira, E. (2018). Parasitosis intestinal y estado nutricional en niños de 1-3 años de un centro infantil del Cantón Milagro//Intestinal parasitosis and nutritional status in children from 1-3 years of a child center in the Milagro Canton. *Ciencia Unemi*, 11(26), 143-149.
<https://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/679>
- Pérez-Rodríguez, F., & Valero, A. (2013). *Predictive microbiology in foods* (pp. 1-10). Springer New York. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-5520-2_1
- Possas, A., Valero, A., & Pérez-Rodríguez, F. (2022). New software solutions for microbiological food safety assessment and management. *Current Opinion in Food Science*, 44, 100814.

- Quezada Díaz, B. A. (2023). Evaluación de la eficiencia de la radiación UV-C en la eliminación de *Escherichia coli* y bacterias aéreas mesófilas en masas de agua, empleadas en enlatados de pescado (Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2023.). <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/9671/4/UPSE-TBI-2023-0021.pdf>
- Ross, T., McMeekin, T. A., & Baranyi, J. (2014). Predictive Microbiology and Food Safety. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 59–68. doi:10.1016/b978-0-12-384730-0.00256-1. doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00256-1
- Scharlau. (2023). Scharlau Microbiología - Ficha Técnica. DRBC Agar.
- Singh, H., Bhardwaj, S. K., Khatri, M., Kim, K. H., & Bhardwaj, N. (2021). UVC radiation for food safety: An emerging technology for the microbial disinfection of food products. *Chemical Engineering Journal*, 417, 128084. doi.org/10.1016/j.cej.2020.128084
- Sumner, J., & Krist, K. (2002). The use of predictive microbiology by the Australian meat industry. *International Journal of Food Microbiology*, 73(2-3), 363-366. doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00672-9
- Szeto, W., Yam, W. C., Huang, H., & Leung, D. Y. (2020). The efficacy of vacuum-ultraviolet light disinfection of some common environmental pathogens. *BMC infectious diseases*, 20(1), 1-9. <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-020-4847-9>
- Tawema, P., Han, J., Vu, K. D., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2016). Antimicrobial effects of combined UV-C or gamma radiation with natural antimicrobial formulations against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, and total yeasts/molds in fresh cut cauliflower. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 451-456. doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.016
- Thuy, N. M., Phuong, N. P., Suong, C. T. D., & Tai, N. V. (2020). Physical and chemical characteristics of goldenberry (*Physalis peruviana*) grown in Lam Dong province, Vietnam. *Food Res*, 4, 1217. www.myfoodresearch.com/uploads/8/4/8/5/84855864/_35__fr-2020-085_thuy_1.pdf
- Torres Segarra, S. M., & Pacheco Cárdenas, K. E. (2021). *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en alimentos. *Vive Revista de Salud*, 4(12), 23-35. www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2664-32432021000300023&script=sci_arttext
- Vico Sevilla, J. A. (2020). Análisis microbiológico de alimentos lácteos. Obtenido el 12 de Octubre de 2023 de

<https://crea.ujaen.es/bitstream/10953.1/12312/1/TFG%20Vico%20Sevilla%20Jose%20Alberto.pdf>

Zacamo-Velázquez, N. Y., Ireta-Moreno, J., Salinas-Moreno, Y., Gómez-Rodríguez, V. M., Ramírez-Vega, H., & Martínez-Loperena, R. (2023). Variabilidad morfológica/patogénica de *Fusarium verticillioides* en la Ciénega/Chapala, México y evaluación de técnicas de inoculación. *Agronomía Mesoamericana*, ículo-49679. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v34n1/1659-1321-am-34-01-00004.pdf>

ANEXO A: POBLACIÓN FINAL DE LOS MICROORGANISMOS (UFC/g) DE LOS TRATAMIENTOS

Tratamientos	Población final de microorganismos (UFC/g)*
E30-10 ⁶	1025 ± 155 a
E10-10 ⁶	240 ± 50 b
S30-10 ⁶	5 ± 5 b
S10-10 ⁶	5 ± 5 b
E30-10 ²	0 ± 0 b
E10-10 ²	0 ± 0 b
S30-10 ²	0 ± 0 b
S10-10 ²	0 ± 0 b

*Medias ± SD

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) por la prueba de Tukey

ANEXO B: CÁLCULO DE REDUCCIÓN DECIMAL

$$\log_{10}Reducción = \log \left(\frac{UFC\ control}{UFC\ tratamiento} \right)$$

Bacteria/Altura/Carga microbiana	$\log_{10}Reducción$
E30-10 ⁶	2,48
E30-10 ²	1,30
E10-10 ⁶	3,10
E10-10 ²	1,30
S30-10 ⁶	4,50
S30-10 ²	0,7
S10-10 ⁶	4,50
S10-10 ²	0,7

