



Departamento de posgrados
Maestría en Gestión de la Calidad y Seguridad
Alimentaria
Versión III

**“Conservación de frutillas (*Fragaria sp.*) mediante la
aplicación de un recubrimiento comestible de gel de
mucilaginoso de Penca Sábila (*Aloe barbadensis* Miller)”**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título de Magister en
Gestión de la Calidad y Seguridad Alimentaria**

Autor: Ing. Daniela Zúñiga García

Director: Mgst. María Fernanda Rosales Medina

Cuenca-Ecuador

2016

DEDICATORIA

A mi esposo Mauricio por su gran apoyo incondicional en este caminar y conseguir este nuevo logro juntos. A mi familia Zúñiga García y Cárdenas López y muy especial a mis padres quienes son un ejemplo a seguir. Para todos ustedes!!

AGRADECIMIENTO

Primero a mi Dios por permitirme estar aquí, a mis amigos por acompañarme en todo momento y de manera muy especial a mi directora Ma. Fernanda Rosales por dirigir acertadamente esta investigación.

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue aplicar un recubrimiento comestible a base de gel mucilaginoso de penca sábila (*Aloe barbadensis Miller*) para extender el tiempo de conservación de frutillas. Se realizó una prueba *in vitro* empleando dos clases de hongos: *Penicillium digitatum* y *Mucor*, cuyos resultados fueron positivos para mayores concentraciones de *Aloe vera*. Dicho recubrimiento cumplió con su objetivo en pocos días pero con el tiempo este efecto desapareció por la estructura misma de la fruta, no se detectaron diferencias significativas entre ambas muestras. Se analizó aerobios mesófilos, mohos y levaduras, tasa de respiración y evaluación sensorial.

PALABRAS CLAVES: frutilla, *Aloe vera*, recubrimiento comestible, vida útil.

ABSTRACT

The aim of this research was to apply an edible coating from Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Miller) mucilaginous gel to extend the shelf life of strawberries. An *in vitro* test was performed using two kinds of fungi: *Penicillium digitatum* and *Mucor*. The results were positive for higher concentrations of Aloe Vera. This coating fulfilled its objective in a few days, but overtime, this effect disappeared due to the structure of the fruit. There were no significant differences detected between the two samples. Aerobic mesophilic bacteria, molds and yeasts, as well as respiration rate and sensory evaluation were analyzed.

KEYWORDS: Strawberry, Aloe Vera, Edible Coating, Shelf Life.




Translated by,
Lic. Lourdes Crespo

INDICE DE CONTENIDOS	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT.....	V
INDICE DE CONTENIDOS	vi
INDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE TABLA	vii
1. INTRODUCCION.....	1
1.1 Recubrimiento comestible	2
1.2 Planta de <i>Aloe</i>	3
1.3 La Frutilla.....	8
1.4 Vida útil (VU) de un alimento.....	9
2. CAPÍTULO 1: MATERIALES Y MÉTODOS	11
2.1 Localización del estudio	11
2.2 Origen de las muestras	11
2.3 Preparación de las muestras.....	11
2.4 Preparación del recubrimiento a base de <i>Aloe vera</i>	12
2.5 Aplicación del recubrimiento comestible por inmersión.....	14
2.6 Efecto anti fúngico	14
2.7 Determinación microbiológica.....	15
2.8 Análisis sensorial	16
2.9 Tasa de respiración	16
2.10 Análisis estadístico	18
3. CAPÍTULO 2: RESULTADOS.....	19
4. CAPÍTULO 3: DISCUSION	28
5. CONCLUSION.....	30
6. Referencias Bibliográficas	31
7. ANEXOS	33

INDICE DE FIGURAS	Página
Figura 1. Diferentes especies de <i>Aloe</i>	4
Figura 2. Corte de la hoja de <i>A.excel</i> <i>sa</i>	5
Figura 3. Vista microscópica de la pulpa fresca de hojas de <i>A.vera</i> (10x)	5
Figura 4. Estructura interna de una hoja de <i>Aloe vera</i>	6
Figura 5. Gel extraído de las hojas de <i>Aloe vera</i>	8
Figura 6. Frutilla variedad Albión	8
Figura 7. Principales hongos que atacan a las frutillas	9
Figura 8. Invernadero en la finca “Fernandita”.....	11
Figura 9. Diagrama de flujo del proceso de elaboración del gel de <i>Aloe vera</i>	12
Figura 10. (a). Corte trasversal de una hoja de <i>Aloe vera</i> (b) Corte lateral y obtención del gel de <i>Aloe vera</i>	13
Figura 11. Inmersión de las frutillas en el gel de <i>Aloe vera</i>	14
Figura 12. Frutillas con presencia de (a) <i>Penicillium digitatum</i> (b) <i>Mucor</i> (c) Siembra en placa con la ayuda de un palillo.	15
Figura 13. Frutillas dentro de envases herméticamente cerrados para medir la tasa de respiración.....	17
Figura 14. Cromatógrafo de gases.	17
Figura 15. (a) Evolución de la superficie de micelio <i>P.digitatum</i> (b) Efecto inhibitorio del crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> , con distintas concentraciones de <i>Aloe vera</i>	19
Figura 16. (a) Evolución de la superficie de micelio <i>Mucor</i> (b) Efecto inhibitorio del crecimiento de <i>Mucor</i> , con distintas concentraciones de <i>Aloe vera</i>	20
Figura 17. Recuento de aerobios mesófilos en frutillas	21
Figura 18. Recuento de mohos y levaduras en frutillas.....	22
Figura 19. (a) Frutillas tratamiento con la presencia de hongos (b) Frutillas control.....	22
Figura 20. (a) Frutillas control (b) frutillas tratamiento, después de 2 días y almacenadas a 5°C ± 0,5°C y una humedad relativa del 80% ± 0,5%.	23
Figura 21. Evolución de los atributos sensoriales evaluados en frutillas con recubrimiento a base de <i>Aloe vera</i> y sin recubrir durante el almacenamiento pos-cosecha	25
Figura 22. (a) Evolución de la tasa de respiración (b) Evolución del O ₂	26

INDICE DE TABLA	Página
Tabla 1. Propiedades funcionales de películas y recubrimientos comestibles en alimentos ..	3
Tabla 2. Composición química del gel de <i>Aloe vera</i>	7
Tabla 3. Requisitos microbiológicos para los productos pasteurizados	16
Tabla 4. Resultados microbiológicos de la emulsión de <i>Aloe vera</i> obtenidos en el laboratorio de microbiológica UDALAB.....	23

Zúñiga García Daniela Estefanía

Trabajo de graduación

María Fernanda Rosales

Julio, 2016

“Conservación de frutillas (*Fragaria sp.*) mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucilaginoso de Penca Sábila (*Aloe barbadensis* Miller)”

1. INTRODUCCION

Las frutas frescas son muy conocidas por su importante valor nutricional y económico que junto con las hortalizas son los mejores vehículos de vitaminas, fibra, antioxidantes, minerales así como carbohidratos, calorías y proteínas. Entonces estos efectos nutricionales son benéficos para la salud pero con un problema muy significativo ya que son altamente perecederos a deterioros microbiológicos y fisiológicos (Dell, 2006) causados por daños mecánicos durante la cosecha, el envasado y el transporte en poscosecha así como por sus procesos metabólicos propios llevados a cabo en ellas mismas.

La frutilla es una de ellas, su color y sabor lo han hecho muy apetecidas, pero a la vez presentan un problema significativo, su tiempo de conservación. Es una fruta perecedera debido a la gran velocidad con la que transcurren sus procesos metabólicos, además que es muy delicada por su constitución fisiológica, susceptible a la pérdida de humedad y al ataque de microorganismos y hongos entre los que se destacan fundamentalmente el hongo *Botrytis cinérea*, *Aspergillus niger*, *Mucor*, *Rhizopus stolonifer* entre otros.

La producción de esta fruta ha recibido un importante proceso de innovación e investigación, y aunque no existe cifras oficiales de la producción en el país, su precio y su color atractivo le han convertido en una fruta deseada por los agricultores, quienes han convertido sus campos en cultivos de frutilla, debido a su aspecto así como a sus propiedades antioxidantes, contenido de vitamina C y E, sales como potasio, yodo, fósforo además de su contenido de B carotenos para atacar a los radicales libres así como a la presencia de ácido ascórbico, lecitina y pectina en sus frutos que ayudan a disminuir el nivel de colesterol de la sangre.

Debido a las exigencias de los consumidores, la industria alimentaria ha creado nuevas tecnologías que permiten alargar la vida de anaquel de las frutas disminuyendo la flora microbiana causantes de pérdidas pre y poscosecha, es así que con esta investigación se busca reducir la carga microbiana en fresas (*Fragaria sp.*) en refrigeración y consecuentemente aumentar el tiempo de conservación en poscosecha, mediante el análisis de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de un gel mucilaginoso de penca

sábila, y que se pueda convertir en una alternativa al empleo de productos químicos y métodos comunes ya usados estudiando su vida útil tanto en frutillas con y sin tratamiento.

1.1 Recubrimiento comestible

Hoy en día se emplean diferentes tecnologías de conservación de frutos ya sea con atmósferas modificadas, empaques biodegradables, irradiaciones así como con la aplicación de frío o congelación, sin embargo estos métodos implican altos costos de inversión, consumo energético o pueden causar daños en las propiedades sensoriales y nutricionales del producto, entonces se ha buscado diferentes alternativas que sean económicas, que no cambien sus propiedades nutricionales, de fácil uso y aplicación y sobre todo naturales.

Ávila y López (2008) definieron los recubrimientos como matrices continuas que pueden contener proteínas, polisacáridos y lípidos, las cuales pueden conferir un mejoramiento de la calidad de los alimentos mediante la limitación del paso de humedad, oxígeno, grasa y agregados responsables del sabor, color y aroma. El término "recubrimiento" se utiliza cuando una capa fina de un cierto material es aplicada en la superficie de una fruta o vegetal, independientemente del recubrimiento natural que las conserva. (Srinivasa y Tharanathan, 2007)

Existen alimentos en donde el crecimiento microbiano se desarrolla en su superficie y debido a que es la causa principal del deterioro, entonces la elaboración de películas comestibles se convierte en un área de investigación de mucho interés y es el motivo de este proyecto. (Cagri et al., 2004)

Un recubrimiento está formado por tres componentes importantes, polímero, solvente y plastificante; un recubrimiento comestible se prepara a partir de polímeros como hidrocoloides, aquí se utiliza una gama de proteínas y polisacáridos como el almidón, alginatos, quitosano, derivados de celulosa y de agar y también se emplean lípidos como ceras, ácidos grasos libres, acilgliceroles. (Tabla 1). Un solvente es un compuesto adecuado e inocuo para alimentos, generalmente se emplea agua variando los valores de pH para solubilizar al polímero (Banker, 1966; Guilbert, 1996) y un plastificante se encuentra en una proporción menor en la formulación de recubrimientos con un objetivo que es el de emulsificar fases que no se mezclan además de conferir características como flexibilidad y resistencia, suele emplearse compuestos con bajo peso molecular y alto punto de fusión como el sorbitol, manitol, sacarosa, glicerol y polietilenglicol de grado alimenticio, suele usarse agua como plastificante pero puede afectar el contenido de humedad del recubrimiento.

Tabla 1. Propiedades funcionales de películas y recubrimientos comestibles en alimentos

Retardan la migración de humedad
Retardan el transporte de gases (O ₂ y CO ₂)
Retardan la migración de grasas y aceites
Retardan el transporte de solutos
Mejoran las propiedades mecánicas de los alimentos
Imparten integridad adicional a la estructura de los alimentos
Retienen aditivos alimentarios

Fuente: Kester y Fennema, (1986)

Las características funcionales de un recubrimiento comestible en un alimento dependerán de la aplicación al producto determinado y como éste se deteriora, algunas características se presentan en la tabla 1.

En la actualidad las investigaciones continúan en el uso de recubrimientos comestibles a base de *Aloe vera* y se han hecho estudios en diferentes frutas como en cerezas y uvas (Martínez *et al.*, 2006), en fresas (Restrepo y Aristizábal, 2010), en moras de castilla (Ramírez, 2012), en nectarinas y uvas de mesa (Navarro, 2013), en babacos (Quisintuña y Pacheco, 2014) entre los trabajos de investigación más recientes.

1.2 Planta de Aloe

Pertenece al reino Plantae, la clase *Liliopsida* o *Monocotiledónea* (que poseen embriones con un solo cotiledón u hoja embrionaria) Orden *Liliales*, Familia *Liliaceae* (Ferraro, 2011), esta familia incluye cinco géneros y alrededor de 700 especies que son por lo general de interés ornamental. La especie más empleada a través de los años y hoy en día es *el Aloe barbadensis Miller* con nombre común: *Aloe vera* y existen otras variedades como *Aloe aristata Haw*, *Aloe claviflora Strydenburg*, *Aloe ferox Miller*, *Aloe mitriformis*, *Aloe arborences*.

La planta de aloe es originaria de Sudáfrica, actualmente se lo cultiva alrededor del mundo, a excepción de las regiones desérticas y selva tropical, se adapta a climas cálidos y subcálidos entre los 0 y 3000m de altitud, con temperaturas entre 16°C y 25°C, pero no tolera temperaturas por debajo de los 0°C; una humedad relativa superior a 60% y necesita mucha luminosidad, tarda alrededor de 4 años para llegar a su madurez y con una vida útil de 12 años.(Navarro, 2013)

Existen plantaciones en Australia, África, México, Rusia, España y sobre todo en las Islas Canarias con 150 hectáreas aproximadamente, en Ecuador la región donde se cultiva con mayor proporción es en Colonche y en Península de Santa Elena.

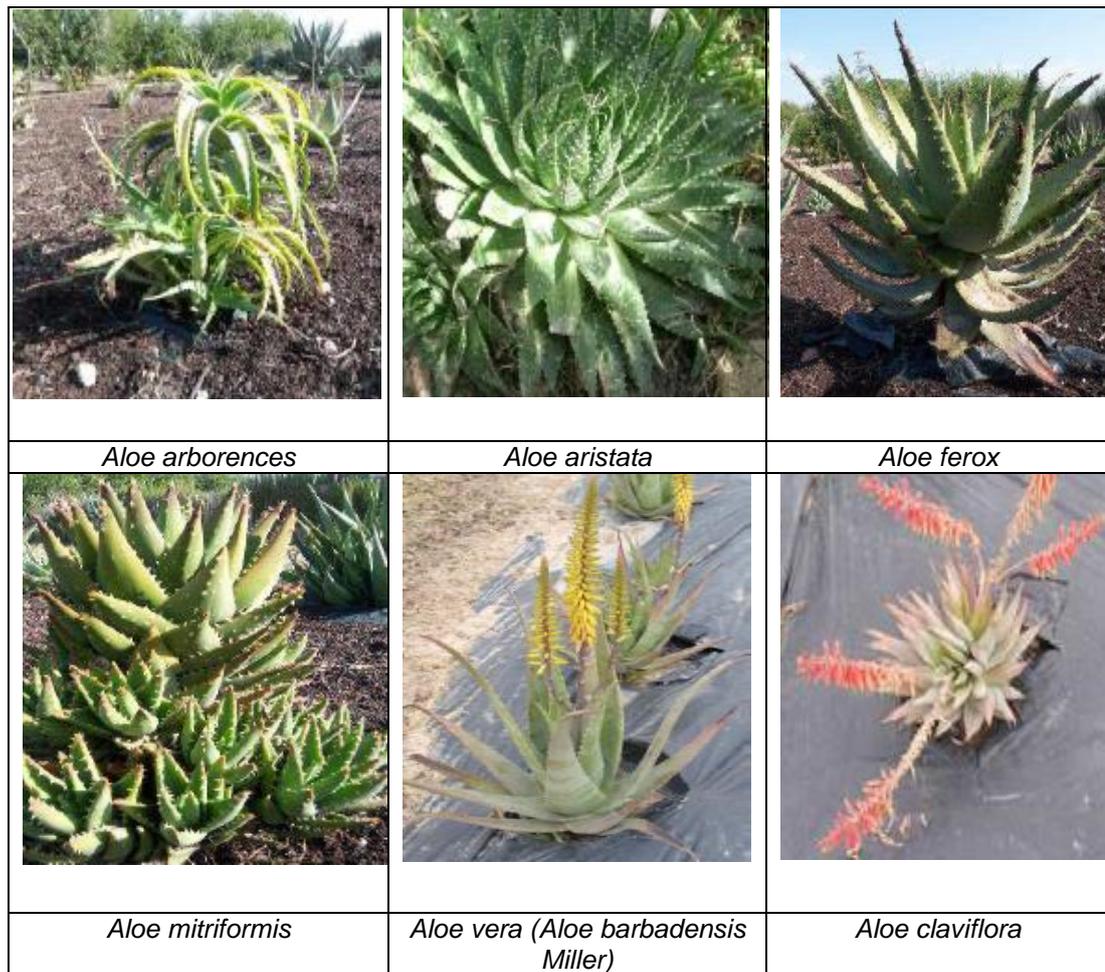


Figura 1. Diferentes especies de Aloe.
Fuente: Navarro Diana

1.1.1 Aloe *barbadensis* Miller

La planta de Aloe tiene su origen en África, península de Arabia y es conocida como Pencia sábila, perenne, tiene hojas dispuestas en rosetas, logrando los 40 y 50 cm de largo y de grosor de 6 a 10 cm (Schweizer, 1994). Sus hojas son lanceoladas y alargadas que brotan del suelo presentan el borde espinoso y dentado, las flores son pequeñas y tubulares que presentan un amarillo o rojo intenso, conocida como planta xerófila ya que se adapta en áreas con poca disponibilidad de agua.

Por lo general, las diferentes especies de *Aloe* presentan hojas carnosas que al conferirle un corte trasversal se pueden identificar dos zonas diferenciadas, una corteza de color verde y un cuerpo interno denominado gel, la capa más externa de la corteza es la epidermis que está formada por células resistentes como los estomas que admite un cambio gaseoso con el medio exterior, la capa que recubre la epidermis es una capa gruesa de cutícula y debajo

de la epidermis existen varias capas de células fotosintéticas poligonales. (Cooposamy y Naidoo, 2011).

Concretamente, del *Aloe vera*, su gel es el de importancia industrial gracias a su actividad biológica y se ha venido incluyendo como ingrediente en alimentos funcionales como bebidas frutales, yogures así como su aplicación en el campo de la cosmetología y medicina empleándose como desinfectante, fungicida entre otras funciones.

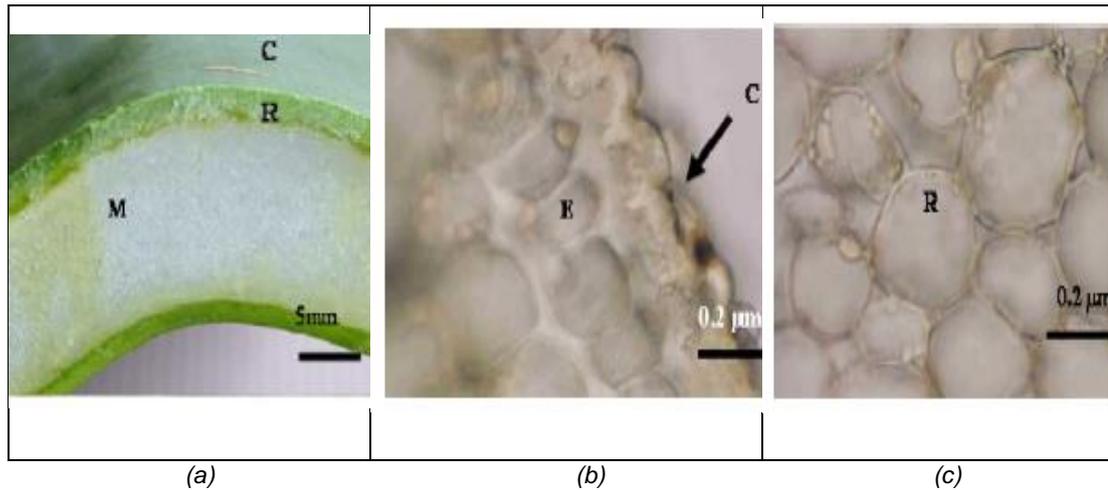


Figura 2. (a) Corte de la hoja de *A.excelsa*. R=corteza, M=mesófilo, C=cutícula. Las células entre la corteza y el mesófilo indican la presencia de exudados foliares, (b) Microscopía óptica de la sección transversal de una hoja de *A.excelsa*. E= epidermis, C=cutícula, (c) Microscopía de la sección transversal de una hoja de *A.excelsa*. Se observan varias capas de células fotosintéticas. Fuente: Cooposamy Naidoo, 2011.

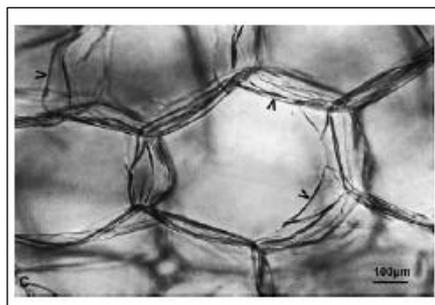


Figura 3. Vista microscópica de la pulpa fresca de hojas de *A.vera* bajo un aumento de 10x. Las flechas indican las paredes celulares de las células del mesófilo. Fuente: Ni et al., 2004.

En la figura 4, se identifica un primer tejido llamado epidermis recubierta por una cutícula que reduce la pérdida de agua, además se encuentran los estomas cuya función es permitir o no el ingreso de gases (O_2 , CO_2 , vapor de agua), están formadas por células oclusivas que dejan entre sí un orificio pequeño llamado ostiolo.

Por debajo de la epidermis se encuentra un tejido llamado mesófilo, aquí se pueden diferenciar dos tipos de células: en forma paralela denominada parénquima en-empalizada y el esponjoso, su función es la fotosíntesis pero ésta última está relacionada con el transporte de gases al interior y exterior de la hoja, además en el mesófilo se encuentran haces vasculares (xilema y floema) que permite el ingreso de sustancias orgánicas e inorgánicas a la planta, rodeando al floema se hallan varias capas de células que contienen un exudado amarillento o látex llamado acíbar.

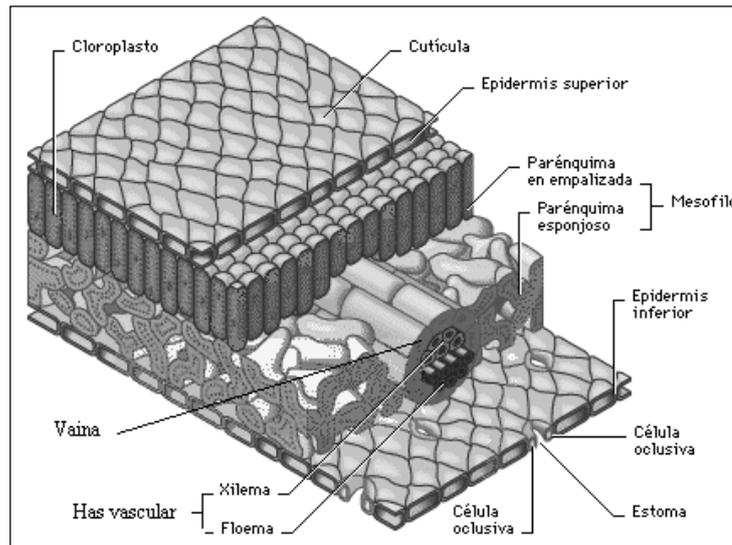


Figura 4. Estructura interna de una hoja de *Aloe vera*

Fuente: Recuperado de:

<http://www.botanica.cnba.uba.ar/Pakete/3er/LaPlantas/7777/LaHoja.html>, 15-03-2016

En cuanto al terreno, para sembrar una planta de *Aloe* debe de preferirse un terreno arenoso, sin embargo en tierras volcánicas también se obtienen buenos resultados como es el caso de las Islas Canarias, teniendo en cuenta que el terreno sea ligeramente ácido y con un buen drenaje. Para la siembra se recomienda dejar dos metros entre planta y planta para que sus raíces no se crucen, además que de la planta madre se obtendrán plantas hijos, es decir su reproducción es por hijuelos que nacen en su alrededor, que deben ser cortados de raíz cuando tengan una altura adecuada para ser replantados de forma individual.

1.1.1.1 Composición del gel de *Aloe vera*

Dependiendo de las especies de *Aloe* existen diferencias en la composición y concentración de los distintos compuestos activos del gel de *Aloe vera*, en su estado natural luego de realizar un corte a la hoja, el gel queda expuesto al aire y genera una oxidación y descomposición rápida de sus propiedades biológicas, para ello es importante estabilizarle adecuadamente pero el mejor resultado se conseguirá cuando las hojas sean procesadas rápidamente luego de ser cortadas así se reducirá las reacciones enzimáticas naturales y el crecimiento bacteriano. (Ramachandra y Srinivasa-Rao, 2008).

El gel mucilaginoso está compuesto por un 99,5% de agua y un 0,5% de materia sólida que presentan una gran variedad de compuestos como minerales, vitaminas, enzimas, polisacáridos, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos. (Boudreau y Beland, 2006). Ver tabla 2.

Tabla 2. Composición química del gel de *Aloe vera*

Antraquinonas/antronas	Aloe-emodina, ácido aloético, antranol, aloína A y B (conocidos conjuntamente como barbaloina), isobarbaloina, emodina y éster del ácido cinámico
Carbohidratos	Galactano, galactogalacturano, sustancias pépticas, xilano, celulosa, arabinogalactano
Enzimas	Fosfatasa alcalina, amilasa, carboxipeptidasa, catalasa, ciclo-oxidase, ciclo-oxigenasa, lipasa, oxidasa, fosfoenolpiruvato carboxilasa, superóxido dismutasa
Compuestos inorgánicos	Calcio, cloro, cromo, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio fosforo, sodio, zinc
Compuestos orgánicos y lípidos	Ácido archidonico, ácido γ -linolenico, esteroides, triglicéridos, triterpenos, ligninas, sorbato de potasio, ácido salicílico, ácido úrico
Aminoácidos esenciales y no esenciales	Alanina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, histidina, hidroxiprolina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, tirosina, valina
Proteínas	Lectinas y sustancias similares
Azúcares (polisacáridos)	Manosa, glucosa, aldopentosa, L-ramnosa
Vitaminas	B1, B2, B6, C, β -caroteno, colina, ácido fólico, α tocoferol
Hormonas	Auxinas, giberelinas

Fuente: Hamman (2008): Sharrif-Moghaddasi y Vema (2011)

Las propiedades medicinales del *Aloe* se encuentran en el gel sin olvidar que se han reconocido hace muchos años atrás su uso como cicatrizantes de heridas, sus efectos antidiabéticos, anticancerígeno, anti hepático, antimicrobiano (Alves *et al.*, 2004; Habeeb, *et al.*, 2007), hidratación de la piel, etc. El látex contiene una concentración elevada de antraquinonas que son los responsables del efecto laxante del aloe (Van Wyk *et al.*, 1995; Yagi *et al.*, 1998). Hoy en día ya se comercializa el gel de *Aloe vera* ya sea como pulpa, diluido, deshidratado, en polvo y otras formas del producto modificado (Reynolds y Dweck, 1999).



Figura 5. Gel extraído de las hojas de Aloe vera

Fuente: Recuperado de <http://www.medicina-naturista.net/gel-aloe-vera-en-tratamiento-ulceras-por-presion>, 13-03-2016

1.3 La Frutilla

Es un fruto que pertenece a un género de plantas rastreras (perenne) de la familia *Rosaceae* y género *Fragaria*, las variedades más cultivadas son *Fragaria vesca* (silvestre) y *ananassa* (hibrida), esta última ha reemplazado a la silvestre por el tamaño superior de sus frutos, es no climatérico y muy delicado. En el Ecuador las variedades más conocidas son Oso grande, Monterrey, Diamante y Albión, y sus cultivos en la región azuaya se localizan en la parroquia de el Valle, Nabón, San Joaquín, entre otras, donde se desarrollan cultivos por medio de invernaderos permitiendo la presencia de este fruto todo el año.

La frutilla exhibe hojas pecioladas de color verde en el haz y en el envés de color blanco, la flor tiene cinco pétalos blancos, cientos de estambres y el gineceo de color amarillo que es la parte femenina de la planta, por medio de la cual se obtiene su fruto, la cual presenta un color blanco en la parte superior y rojo en la inferior pudiendo llegar a medir hasta 6 cm de largo dependiendo de la variedad.



Figura 6. Frutilla variedad Albión

Fuente: propia

En este fruto alrededor del 89% de su peso corresponde a agua y el resto contiene carbohidratos, glucosa y fructosa; es rica en micro elementos como fósforo, hierro, yodo y macro elementos como magnesio y potasio; vitaminas como A, B, C, E; ácidos orgánicos

como el ácido cítrico, ácido málico y ayuda a prevenir enfermedades como colesterol alto, diabetes, entre otras. La frutilla es atacada por microorganismos como *Rhizopus Stolonifer* (no crece a temperaturas menores a 5°C), *Mucor* que puede crecer inclusive en refrigeración, *Penicillium*, *Aspergillus* y especialmente el hongo *Botrytis cinérea* responsable de grandes pérdidas durante su transporte y comercialización ya que disminuyen tanto el sabor como el aroma afectando directamente la calidad de la fruta.

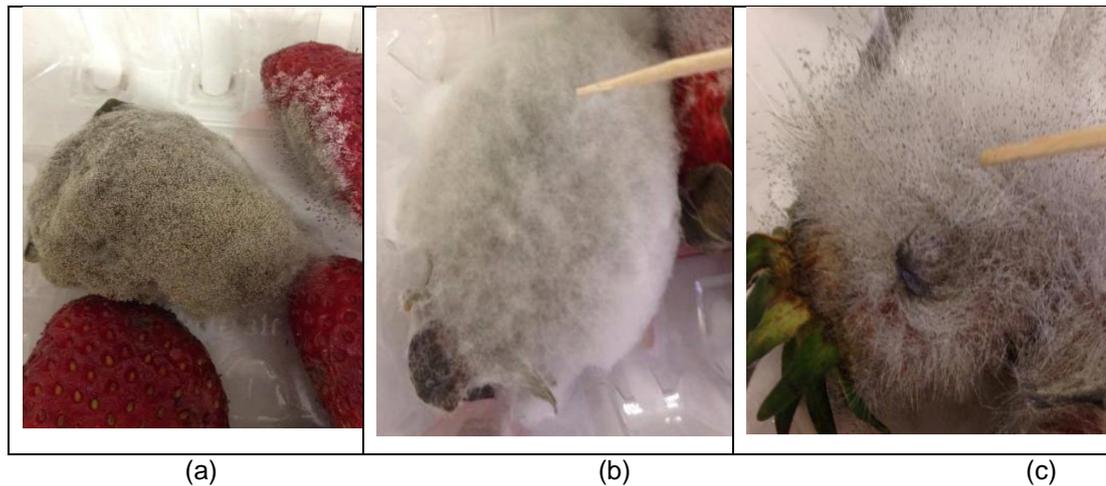


Figura 7. Principales hongos que atacan a las frutillas (a) *Botrytis cinérea* (b) *Penicillium digitatum* (c) *Mucor*. Fuente: propia

1.4 Vida útil (VU) de un alimento

La vida útil o caducidad de un alimento puede definirse como “el periodo de tiempo, después de la elaboración y/o envasado y bajo determinadas condiciones de almacenamiento, en el que el alimento sigue siendo seguro y apropiado para su consumo” (Dominic, 2004; Labuza, 1994); entendiéndose que se deben conservar tanto sus características microbiológicas, físico-químicas, sensoriales, nutricionales, así todos los alimentos tienen una caducidad microbiológica, físico-química y sensorial que dependerá del proceso productivo desde la formulación hasta el almacenamiento y manipulación.

El estudio de la vida útil es una tarea muy importante ya que los alimentos continuamente están sufriendo cambios diversos y complejos que desembocan en reacciones microbiológicas, físico-químicas y enzimáticas, es así que si se entendiera estas reacciones y sus mecanismos sería interesante la limitación de aquellos factores que influyen de manera positiva o negativa en las características de los alimentos, entonces su objetivo principal es de evaluar el comportamiento de productos tradicionales o en desarrollo a los que se les ha hecho algún cambio en el proceso o en su formulación, expuestos a un tiempo determinado y a diferentes temperaturas (Labuza, 1982).

OBJETIVO GENERAL:

- Aplicar un recubrimiento comestible a base de un gel mucilaginoso de penca sábila (*Aloe barbadensis* Miller) para aumentar el tiempo de conservación de las frutillas provenientes de una región específica del Azuay (*Fragaria sp.*) después de la cosecha.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Analizar el efecto *in-vitro* de diferentes concentraciones de gel de *Aloe vera* sobre la inhibición de micelios de algunos hongos muy conocidos en la podredumbre de las frutillas.
- Evaluar el comportamiento de las frutillas (*Fragaria sp.*) tratadas con y sin recubrimiento a base de *Aloe vera* a través de un análisis microbiológico.
- Investigar la tasa de respiración de las muestras aplicadas con recubrimiento y sin recubrimiento.
- Realizar un análisis sensorial de las frutillas aplicadas con el recubrimiento comestible para ver la aceptación del producto tratado.

2. CAPÍTULO 1: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Localización del estudio

Los análisis llevados a cabo en esta investigación se realizaron en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad del Azuay.

2.2 Origen de las muestras

Las frutillas empleadas fueron de la variedad Albión adquiridas en un invernadero ubicada en la parroquia de el Valle sector Gualacay en la finca “Fernandita” estas frutillas fueron conseguidas directamente del propietario quien pertenece a la Asociación de Productores Agroecológicos del Azuay (APA), una asociación de alrededor de 300 personas quienes se dedican a producir hortalizas, frutas, cárnicos, lácteos, entre otros, productos libres de pesticidas y ciertos químicos manteniendo un sistema de producción agroecológica, que generan un impacto mínimo en los campos que emplean.

Estas frutillas fueron cosechadas a tempranas horas del día por la propietaria luego de transcurrir 4 meses, posteriormente fueron transportadas al laboratorio para uso en la aplicación del recubrimiento y su aplicación para determinar la acción anti fúngica.



*Figura 8. Invernadero en la finca “Fernandita”
Fuente: propia*

2.3 Preparación de las muestras

Las frutillas en el laboratorio se clasificaron teniendo en cuenta la uniformidad en su grado de madurez, tamaño y forma, se lavaron con abundante agua potable y se desinfectaron durante 5 minutos con una solución cítrica: glucosa, fructosa, vitamina C, ácido cítrico, cloruro de benzalconio, glicerina y propilenglicol hasta su utilización.

Las hojas de *Aloe Vera* que se obtuvieron tenían 3 años de edad ya que se les considera adultas a esta edad y con la mayor concentración de principios activos (Navarro, 2013), las

hojas provenían de un huerto particular, aquí se seleccionaron aquellas que presentaban forma, tamaño, peso y color homogéneo. El corte se realizó en las hojas que se hallaban en la parte más baja de la planta y próximas a la tierra así se evitó no dañar mucho a la planta. Una vez recogidas se transportaron directamente al laboratorio para realizar las operaciones descritas en la figura 9.

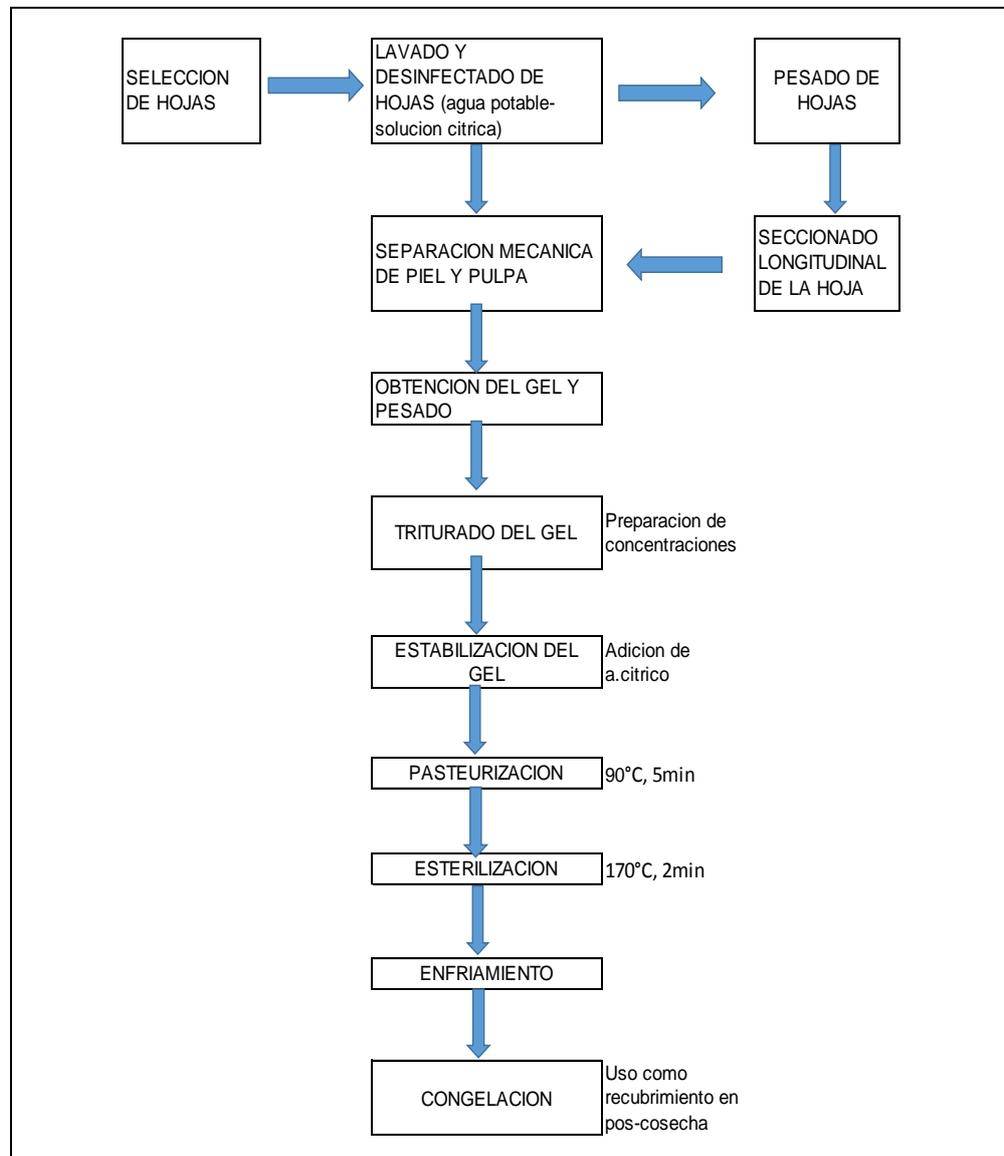
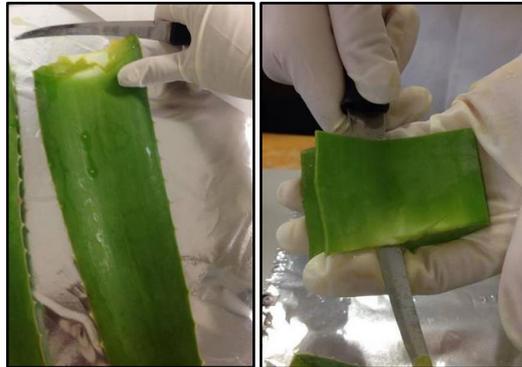


Figura 9. Diagrama de flujo del proceso de elaboración del gel de Aloe vera.
Fuente: propia

2.4 Preparación del recubrimiento a base de Aloe vera

Las hojas a emplearse estuvieron libres de abolladuras, se emplearon 15 hojas, y se pesaron para ello se utilizó una balanza de precisión marca Ohaus modelo SP401-220V con capacidad de 600g X 0.1g.

A continuación se lavaron con abundante agua potable y se desinfectaron con la misma solución cítrica antes mencionada por 5 minutos, se realizó la separación mecánica de la piel y el gel mucilaginoso, para ello se empleó un cuchillo afilado para cortar las hojas longitudinalmente y retirar la parte lateral que contenía las espinas como se indica en la figura 10.



(a)



(b)

Figura 10. (a). Corte transversal de una hoja de Aloe vera (b) Corte lateral y obtención del gel de Aloe vera. Fuente: propia

Posteriormente se volvió a pesar las hojas y el gel por separado para obtener rendimientos de piel y pulpa, se trituro el gel adicionando diferentes cantidades de agua para formular tres tratamientos (25%, 50% y 75% de *Aloe vera*), para probar su acción antifúngica, se adicionó pequeñas cantidades de ácido cítrico y ácido ascórbico para evitar que se oxide (5g. por cada kilogramo de gel), el recubrimiento tenía un pH de 5,8 medido en un potenciómetro marca JENWAY 3510. Luego se calentó hasta llegar a 85°C-90°C y se lo mantuvo cerca de 5 minutos, finalmente se esterilizo a 170°C por 2 minutos. Dependiendo de los resultados *in vitro* de estas concentraciones, se probará la concentración que mejor reacción tenga frente al crecimiento fúngico para el resto de análisis y su posterior análisis microbiológico de la emulsión formada.

2.5 Aplicación del recubrimiento comestible por inmersión

Las frutillas lavadas y desinfectadas fueron tratadas por inmersión en la solución con un contenido del 75% de *Aloe vera* durante 5 minutos, luego se secaron en una cámara climática marca BINDER seria KBF durante una hora a 20°C (frutillas tratamiento), como frutillas control se tuvieron lavadas, desinfectadas y luego secadas en las mismas condiciones. Después de esta etapa de recubrimiento, las fresas control y tratamiento se almacenaron en la misma cámara a 5°C \pm 0,5°C y una humedad relativa del 80% \pm 0,5% durante 10 días, para ser evaluadas diariamente microbiológicamente y sensorialmente. Se empleó un total de 150 frutillas, distribuidas por igual para control y tratamiento.



Figura 11. Inmersión de las frutillas en el gel de *Aloe vera*.
Fuente: propia.

2.6 Efecto anti fúngico

Para probar el efecto que tiene este recubrimiento en frutillas y su acción sobre los hongos que prevalecen en estas frutas, se aisló de la fruta misma, para ello se mantuvieron 40g a temperatura ambiente en el laboratorio por 10 días hasta observar la presencia de dichos hongos.

El recubrimiento preparado en sus tres presentaciones fue incorporado en el agar PDA uniformemente cuando su temperatura media fue inferior a 60°C. Se emplearon 6 placas petri, 3 placas para *Penicillium digitatum* y 3 placas para *Mucor*, con una repetición por cada una, más 2 placas control; en el centro de cada una se colocó un punto (hongo) con la ayuda de un palillo y se llevaron a incubar durante 10 días a 23°C, el monitoreo se realizó cada 48 horas.



Figura 12. Frutillas con presencia de (a) *Penicillium digitatum* (b) *Mucor* (c) Siembra en placa con la ayuda de un palillo. Fuente: propia

2.7 Determinación microbiológica

2.7.1 Determinación microbiológica en frutillas

La carga microbiana se determinó a través de un recuento microbiano de aerobios mesófilos y de mohos y levaduras, la preparación para estos dos análisis es similar y lo que difiere es el tipo de placa a emplear siendo Compact Dry YM para hongos y mohos y Compact Dry TC para recuento total de aerobios mesófilos, las pruebas se realizaron por duplicado.

La placa cromogénica Compact Dry TC, es un medio que contiene agar de cultivo estándar, sal de tetrazolio, un indicador redox y por lo tanto las colonias de bacterias presentan una coloración roja. En la placa Compact Dry YM se manifiestan diferentes reacciones cromáticas, el sustrato cromógeno X-Phos genera una coloración azul en casi todas las levaduras, mientras que por la cavidad de las placas los mohos desarrollan su forma tridimensional característica en distintos colores.

En primer lugar se preparó la dilución inicial, para ello se pesó 10 gramos de muestra en una balanza calibrada y se colocó en un frasco que contenía 90 ml de agua de peptona estéril (10^{-1}). Luego se prepararon las diluciones para este análisis hasta 10^{-3} (NTE INEN 1 529-2) empleando 9 ml de agua de peptona para cada tubo. Una vez que se realizaron todas las diluciones, se llevó a cabo la siembra, realizando un duplicado para cada una, se cerraron las placas y se colocaron con la tapa hacia abajo (invertido) para luego incubarlas para mesófilos a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 ± 3 horas y para mohos y levaduras entre 25 a 30°C por 3 a 7 días. Para realizar los cálculos pertinentes se han referido a las normas NTE INEN-ISO 4833 para Aerobios

mesófilos, NTE INEN 1529-10:2013 para Mohos y levaduras y NTE INEN-1529-8:1990-02 para Coliformes y E.Coli.

Estos análisis se llevaron a cabo diariamente por 10 días para aerobios mesófilos pero para mohos y levaduras las determinaciones se realizaron los días 1, 3, 5, 8, 10.

2.7.2 Determinación microbiológica de la emulsión de *Aloe vera*

De acuerdo a la NTE INEN 2337:2008 JUGOS, PULPAS, CONCENTRADOS, NECTARES, BEBIDAS DE FRUTAS Y VEGETALES. REQUISITOS, este recubrimiento debe ser obtenido bajo condiciones sanitarias apropiadas de frutas y vegetales maduros, lavados y sanitizados, aplicando los principios de Buenas Prácticas de Manufactura. Para su conservación se puede emplear procesos térmicos como la pasteurización, esterilización, refrigeración, congelación entre otros.

Según esta norma, el producto no debe contener bacterias patógenas, toxinas y cualquier otro microorganismo que cause la descomposición del producto, y pueda representar un riesgo para la salud. La tabla a continuación indica los requisitos microbiológicos para los productos pasteurizados.

Tabla 3. Requisitos microbiológicos para los productos pasteurizados

	n	m	M	c	Método de ensayo
Coliformes NMP/cm ³	3	<3	...	0	NTE INEN 1529-6
Coliformes fecales NMP/cm ³	3	<3	...	0	NTE INEN 1529-8
Recuento estándar en placa REP UFC/cm ³	3	<10	10	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de mohos y levaduras UP/cm ³	3	<10	10	1	NTE INEN 1529-10

Fuente: NTE INEN 2337:2008

2.8 Análisis sensorial

Para esta prueba sensorial se empleó un panel compuesto por 5 jueces, presentando dos muestras A (con tratamiento) y B (sin tratamiento), las mismas que se analizaron empleando una encuesta (Ver anexo 4) y se basó en una escala hedónica (0=inaceptable, 1=mala, 2=débil, 3=buena, 4=muy buena). Se evaluaron atributos de color, sabor, olor y textura; este análisis se llevó a cabo durante 10 días y se tomaron los valores medios para realizar el análisis comparativo.

2.9 Tasa de respiración

Para este análisis se empleó 180g de frutillas que se introdujeron durante 10 días en envases de plástico termoformado y hermético a temperatura ambiente, los mismos fueron sellados con silicona fría para evitar alguna fuga (Saltveit y Sharaf, 1992); acoplado a una llave que permita la salida del gas acumulado en su interior. Ver figura 13.



Figura 13. Frutillas dentro de envases herméticamente cerrados para medir la tasa de respiración. Fuente: propia.

En el proceso de respiración, el CO₂ que se genera se almacena en el tiempo y puede cuantificarse por medio de cromatografía de gases (Hewlett Packard 5820, EEUU).

El CO₂ que se produce por el proceso de respiración se acumula en el tiempo y puede cuantificarse mediante cromatografía de gases (Hewlett Packard 5820, EEUU). En esta investigación se empleó un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies 490 Micro GC (figura 10), con dos columnas, una de 10-meter CP-Molsieve column empleando Argón como gas portador y 10-meter CP-PoraPLOT U column usando Helio como gas portado, el equipo usa un detector de conductividad térmica, con dos canales, canal 1 y canal 2 cuyas temperaturas del inyector se encontraban a 110°C y de las columnas a 80°C. El pico de CO₂ se revelo por su tiempo de inyección de 40ms en ambos canales y de muestreo de 30s. La concentración de CO₂ se obtuvo a través del área de integración del pico de la muestra, tomando como patrón para el CO₂ una muestra conocida de 0,0505%±5% y para oxígeno un valor de 0,0491%±5%. En la figura 14 se puede observar el cromatógrafo conectado a un software que rastrea los cromatogramas y los integra.

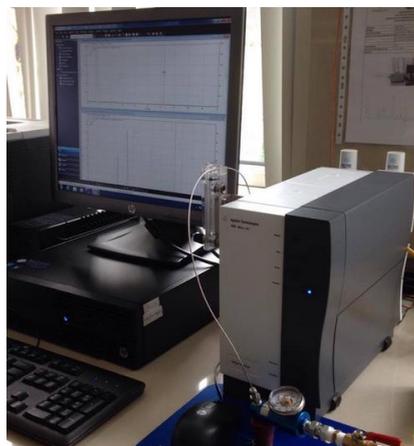


Figura 14. Cromatógrafo de gases. Fuente: propia.

La tasa de respiración se calculó conociendo el peso de las frutillas en cada recipiente y en el tiempo (diario), tomando la concentración de CO₂ en porcentaje, después de 24 horas. Los resultados fueron la media y se expresaron como % CO₂/día.

2.10 Análisis estadístico

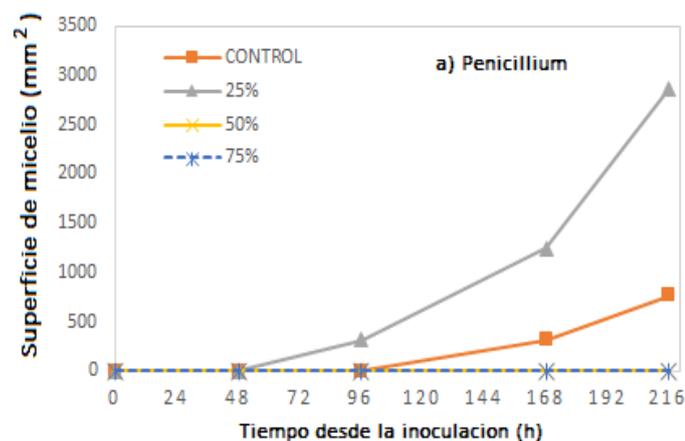
Los datos de esta investigación se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) empleando un Software SPSS versión 2.0 para Windows, siendo las variables el tiempo de almacenamiento, muestra control y muestra tratamiento, considerando la existencia de diferencias significativas para $P < 0,05$.

3. CAPÍTULO 2: RESULTADOS

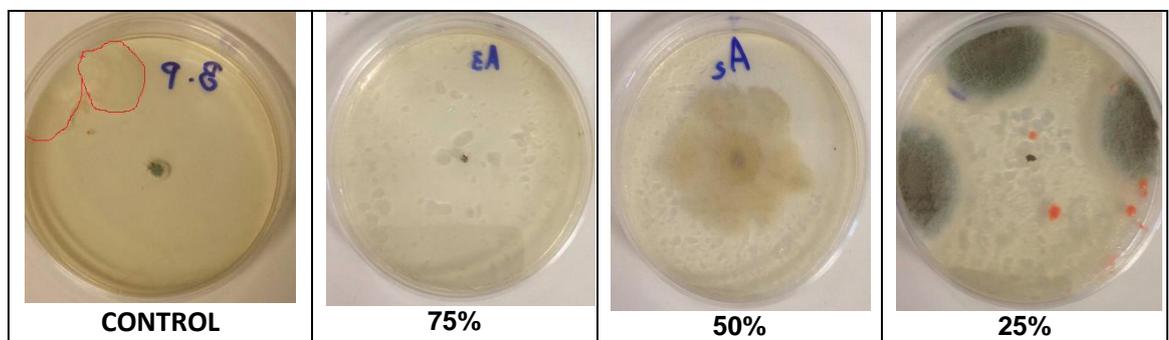
Luego de pesar las hojas y extraer el gel se obtuvo un rendimiento del 60%, gel que se empleó para preparar la emulsión de *Aloe vera*.

3.1 Efecto anti fúngico

En la figura 15 se muestra la inhibición del crecimiento de micelio de los dos hongos presentes en las frutillas, *Penicillium digitatum* y *Mucor*, en función de las diferentes concentraciones del gel de *Aloe vera* que se añadió al PDA. Se pudo observar que el crecimiento en placa luego de 10 días de análisis, el crecimiento en control fue mayor para *Mucor* que para *Penicillium digitatum*, llegando a alcanzar áreas de 6361 mm² frente a 766 mm² para este segundo. Se evidencia además que para el caso de *Penicillium digitatum*, la concentración del 75% y 50% de *Aloe vera* no presentaron ningún crecimiento fúngico pero si para la concentración del 25% en 2871mm² de micelio, sin embargo para *Mucor* las tres concentraciones no permitieron crecimiento de hongos (la de 25% presenta levaduras en crecimiento) excepto en el control, entonces esto indica que el efecto inhibitor del *Aloe* resultó más efectivo sobre el hongo *Mucor* que sobre *Penicillium digitatum*. Los resultados se muestran en la figura 15 y figura 16.

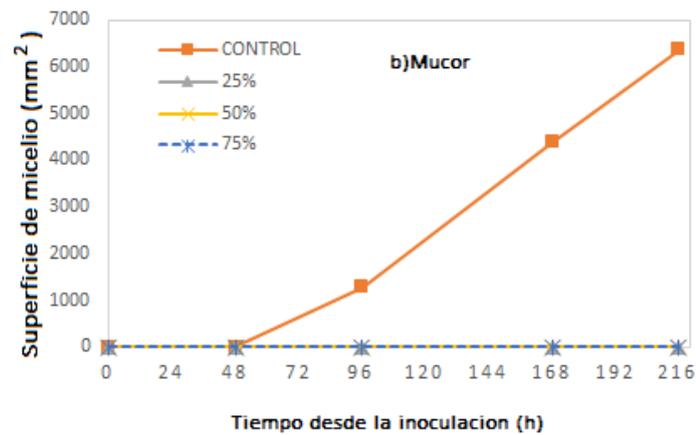


(a)

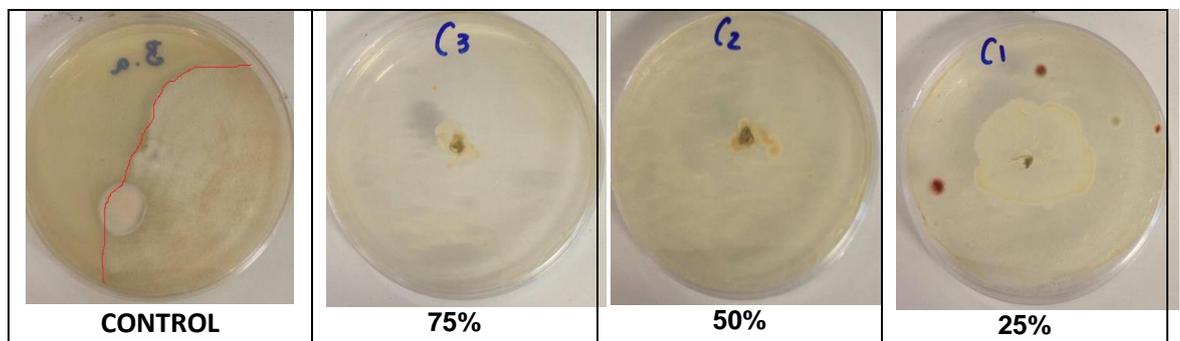


(b)

Figura 15. (a) Evolución de la superficie de micelio *P. digitatum* (b) Efecto inhibitorio del crecimiento de *Penicillium digitatum*, con distintas concentraciones de Aloe vera, 75%, 50% y 25% añadidas al PDA, después de 10 días de incubación a 23°C



(a)



(b)

Figura 16. (a) Evolución de la superficie de micelio *Mucor* (b) Efecto inhibitorio del crecimiento de *Mucor*, con distintas concentraciones de *Aloe vera*, 75%, 50% y 25% añadidas al PDA, después de 10 días de incubación a 23°C. Fuente: propia.

3.2 Determinación microbiológica

3.2.1 Determinación de aerobios mesófilos

En este análisis se trataron a las frutillas especie Albión con recubrimiento a base de *Aloe vera* y frutillas control las cuales no contenían ningún tratamiento, las mismas que fueron sometidas a pruebas microbiológicas diarias durante 10 días almacenadas a $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa del $80\% \pm 0,5\%$. (Ver anexo 2)

Las frutillas con el tratamiento a base de gel de *Aloe vera* resultaron eficaces hasta el segundo día de la aplicación, sin embargo a partir del tercer día el crecimiento resultó mayor en las frutillas con tratamiento que en las de control en cuanto a aerobios mesófilos se refiere. Entonces, en el día uno, arrancaron con valores 7×10^1 UFC/g en frutillas control y $5,5 \times 10^1$ UFC/g en frutillas tratamiento, valores muy

similares por iniciar el proceso tanto limpias y desinfectadas, en el segundo día las frutillas control llegaron a valores de $8,0 \times 10^1$ UFC/g mientras que en frutillas tratamiento a valores de $6,5 \times 10^1$ UFC/g, valores que reflejan que la acción protectora está presente. Pero a partir del tercer día los valores se incrementaron en frutillas tratamiento con valores de $4,85 \times 10^2$ UFC/g, mientras que en frutillas control el valor llegó a $2,70 \times 10^2$ UFC/g, es decir que en tratamiento el incremento fue del 44% comparada con las de control.

El incremento fue evolutivo tanto en frutillas control como en tratamiento, presentando valores superiores en ésta última en relación a las de control, luego de 10 días de análisis en aerobios mesófilos, los resultados para frutillas control fueron de $1,3 \times 10^4$ UFC/g y en frutillas tratamiento de $1,35 \times 10^4$ UFC/g.

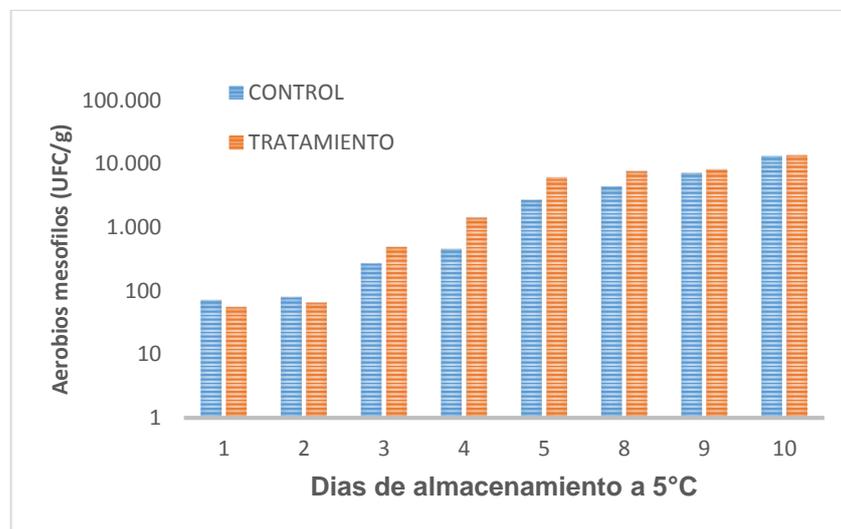


Figura 17. Recuento de aerobios mesófilos en frutillas "Albión" durante el almacenamiento post-cosecha a $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa del $80\% \pm 0,5\%$ tras haber sido tratadas con Aloe vera (tratamiento) y frutillas control que no fueron tratadas. Fuente: propia

3.2.2 Recuento de mohos y levaduras

En este análisis se trataron a las frutillas especie Albión con recubrimiento a base de Aloe vera y frutillas control las cuales no contenían ningún tratamiento, que fueron sometidas a pruebas microbiológicas durante 10 días almacenadas a $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa del $80\% \pm 0,5\%$, en los días 1,3,5,8,10 se realizaron las determinaciones.

Se pudo observar que en el día 1, no hubo presencia de mohos y levaduras tanto en frutillas control como en tratamiento, pero a partir del día 3, se evidenció en frutillas con tratamiento una carga de $3,0 \times 10^1$ UFC y en control una carga de 0 UFC, seguramente la emulsión al contener una porción de agua está aportando más

humedad a esta fruta que a la control que no lo recibió, así mismo en el día 5, los resultados fueron: para frutillas tratamiento $2,0 \times 10^3$ UFC mientras que en frutillas control la carga no se presencié. En el día 8, para frutillas tratamiento se obtuvo $5,0 \times 10^3$ UFC y en control $4,0 \times 10^2$ UFC y finalmente en el día 10, para frutillas tratamiento una carga de 9×10^3 UFC y para control $1,1 \times 10^3$ UFC, los resultados se muestran en la figura 18.

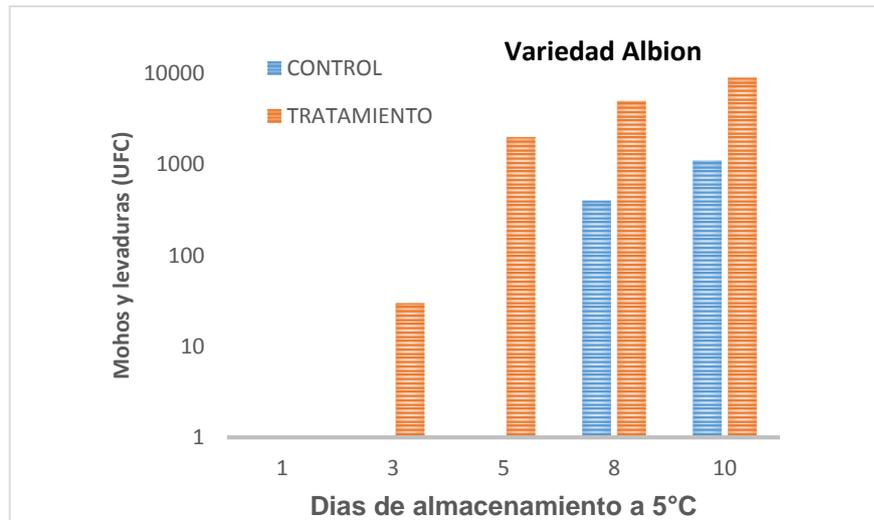


Figura 18. Recuento de mohos y levaduras en frutillas “Albión” durante el almacenamiento post-cosecha a $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa del $80\% \pm 0,5\%$ tras haber sido tratadas con Aloe vera (tratamiento) y frutillas control que no fueron tratadas durante los días 1,3,5,8,10. Fuente: propia



Figura 19. (a) Frutillas tratamiento con la presencia de hongos (b) Frutillas control después de 8 días de almacenamiento a $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa del $80\% \pm 0,5\%$. Fuente: propia

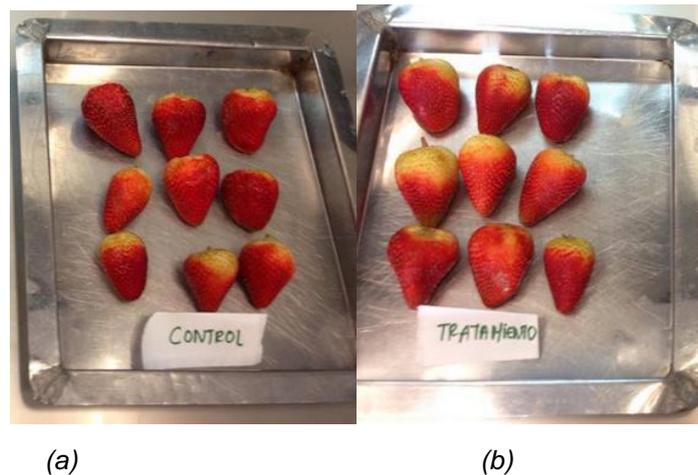


Figura 20. (a) Frutillas control (b) frutillas tratamiento, después de 2 días y almacenadas a $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa del $80\% \pm 0,5\%$. Fuente: propia

3.3 Determinación microbiológica de la emulsión de *Aloe vera*

De acuerdo a la tabla 3 obtenida de la norma INEN NTE INEN 2337:2008 JUGOS, PULPAS, CONCENTRADOS, NECTARES, BEBIDAS DE FRUTAS Y VEGETALES. REQUISITOS, los análisis que se realizaron fueron Coliformes UFC/g, recuento estándar en placa REP UFC/g y recuento de mohos y levaduras UP/g, los resultados se muestran en la tabla 4. (Ver anexo 3)

Tabla 4. Resultados microbiológicos de la emulsión de *Aloe vera* obtenidos en el laboratorio de microbiológica UDALAB

Coliformes UFC/g	<1
Recuento estándar en placa REP UFC/g	$1,0 \times 10^1$
Recuento de mohos y levaduras UP/g	<1

Fuente: UDALAB

Como se pudo evidenciar la emulsión no presentó Coliformes ni mohos y levaduras pero si se observó aerobios mesófilos con un valor de $1,0 \times 10^1$ UFC; a pesar que la emulsión fue preparada en condiciones asépticas, BPM y sometida a tratamiento térmico presentó carga microbiana, considerándose dentro de rango según la norma NTE 2337:2008.

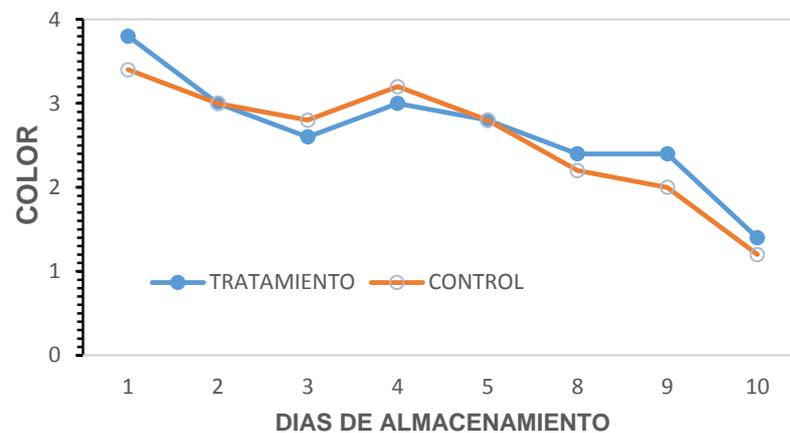
3.4 Análisis sensorial

Como se aprecia en la figura 21, en cuanto al atributo color mostraron valores decrecientes en el tiempo, así: en frutillas control con valores de 3,4 a 1,2; en frutillas tratamiento de 3,8 a 1,4 a lo largo de 10 días de análisis. Realizando un análisis comparativo entre las dos muestras no se apreció diferencia significativa ($P > 0,05$), es decir que no existe diferencia alguna entre las dos muestras como se puede ver en la figura 21 (a), posiblemente por las variaciones propias de la fruta.

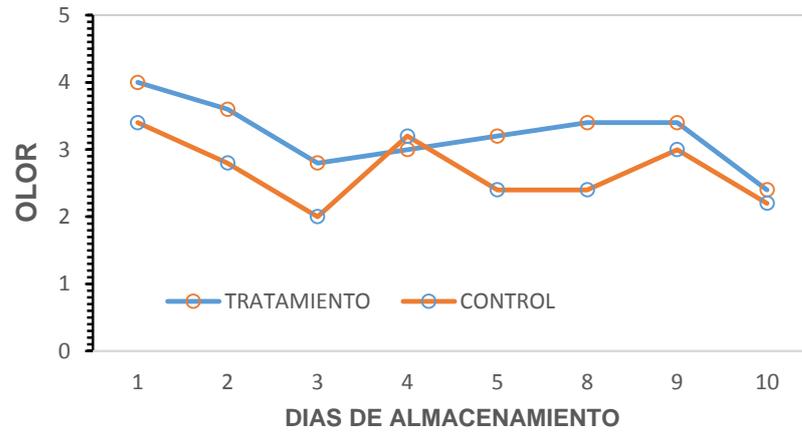
Si se refiere al atributo olor, no existieron diferencias significativas en el transcurso del análisis en los 10 días, con valores desde 3,4 hasta 2,2 para muestra control y para muestra tratamiento desde 4 hasta 2,4. Sin embargo en los días 1 y 5 si presentaron diferencia significativa ($P < 0,05$), en el día 1, para muestra control con 3,4 y para tratamiento 4 seguramente al iniciar el proceso el *Aloe vera* aplicado desprendía su aroma peculiar y fresco que apporto mejor percepción en esta muestra que en control. En el día 5, también hubo diferencias, en muestra control de 2,4 y en muestra tratamiento de 3,2.

En cuanto al sabor, el ANOVA no reflejó diferencias significativas ($P > 0,05$), en el tiempo entre las dos muestras, se observó una leve tendencia al aumento en el día 4 para las dos muestras, pero a partir del quinto día la tendencia es decreciente, debido a la pérdida de humedad creciente con el tiempo y a su actividad enzimática propia de la fruta. La muestra control fluctuó entre valores de 4 hasta 2,6 y para muestra tratamiento de 3,8 hasta 2,6 en el primer día de análisis y en el último respectivamente. Ver figura 21 (c)

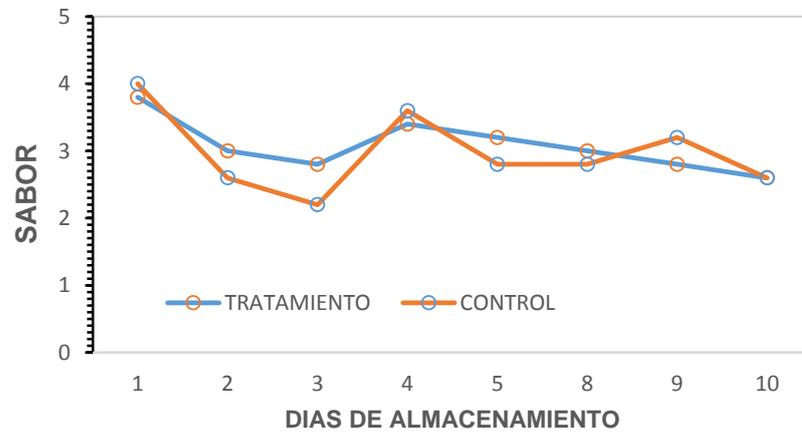
Finalmente, en cuanto al atributo textura, en la muestra control y tratamiento, el ANOVA no reveló diferencias significativas ($P > 0,05$) en el transcurso del tiempo como puede observarse en la figura 21 (d), se refleja una pérdida progresiva de textura, así para la muestra control disminuyó desde un valor 4 hasta 2,2 y para muestra tratamiento desde 4 hasta 2,4; debiéndose a la senescencia misma de la fruta.



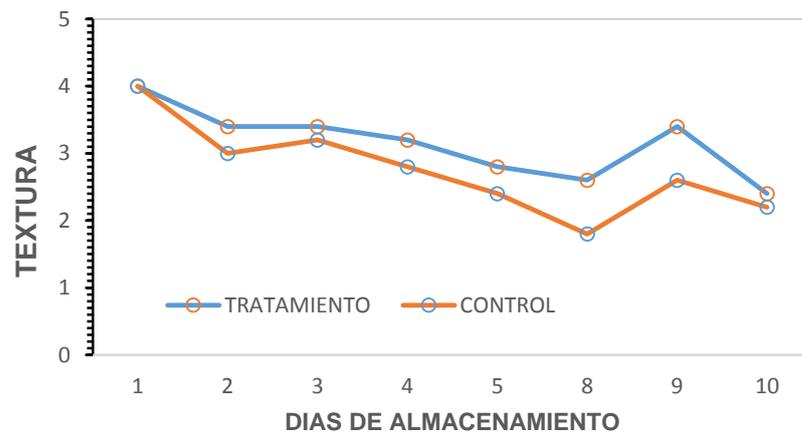
(a)



(b)



(c)

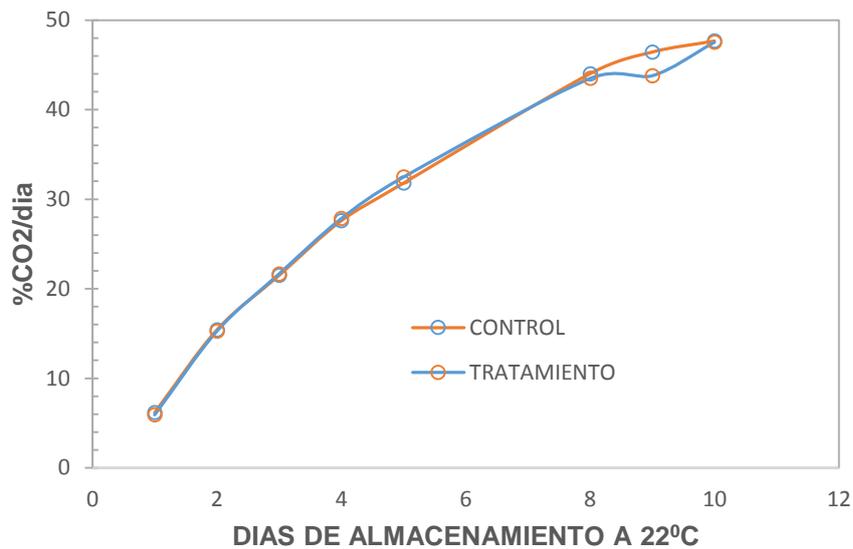


(d)

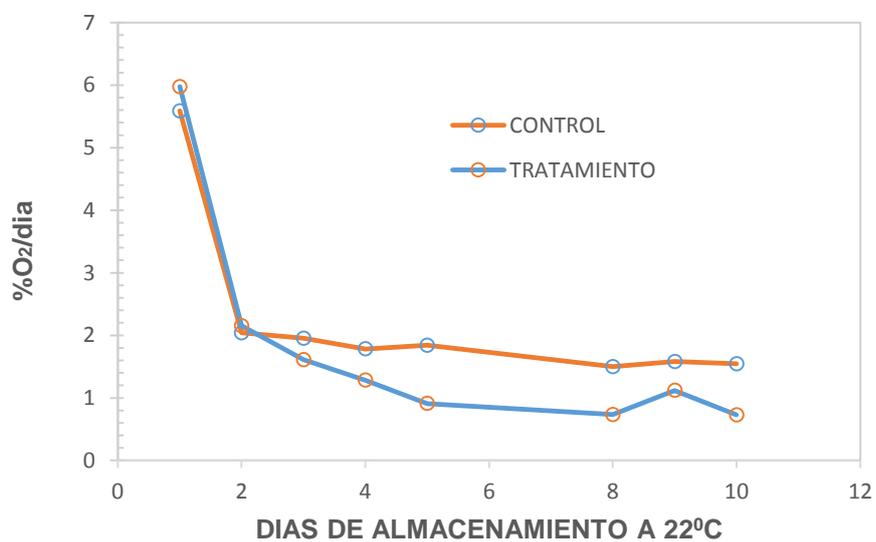
Figura 21. Evolución de los atributos sensoriales evaluados en frutillas con recubrimiento a base de Aloe vera y sin recubrir durante el almacenamiento post-cosecha, durante 10 días a $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Fuente: propia

3.5 Tasa de respiración

La figura 22(a) indica los valores medios del índice de respiración expresados como %CO₂/día, y 22(b) los valores medios del %O₂/día, cuantificados los días 1,2,3,4,5,8,9,10 a temperatura ambiente 22°C tanto en frutillas control como en frutillas tratamiento. Se pudo observar diferencias significativas en las dos muestras.



(a)



(b)

Figura 22. (a) Evolución de la tasa de respiración (b) Evolución del O₂ en frutillas tratamiento (con recubrimiento a base de Aloe vera) y en frutillas control (sin tratar) durante el almacenamiento pos-cosecha, durante 10 días a 22°C. Fuente: propia

En cuanto a los valores de CO₂ se pudo observar diferencias significativas ($P < 0,05$), en los dos primeros días, así, para frutillas control arrancaron con un valor de 6,17% y para frutillas tratamiento de 5,9%; en el segundo día de análisis los resultados fueron para frutillas control de 15,39% y para frutillas tratamiento de 15,24%; sin embargo en el tercer y cuarto día, el ANOVA no reflejo diferencias significativas entre las dos muestras, llegando a valores de 47,65% para frutillas control y de 47,54% para frutillas tratamiento en el día 10 (no mostró diferencias significativas), se observó una curva ascendente prácticamente en las dos muestras. (Ver anexo 5)

De acuerdo a los resultados del análisis de O₂, en los diez días de análisis las dos muestras reflejaron diferencias significativas, así, en el primer día para las frutillas control se obtuvieron valores de 5,58% de O₂ y para frutillas tratamiento de 5,97% de O₂, en el segundo día para frutillas control de 2,04% y 2,15% para frutillas tratamiento, es decir un mayor consumo de oxígeno por la muestra control. A partir del tercer día, el ANOVA expresó diferencias significativas pero ahora el mayor consumo de oxígeno se presencié en las muestras tratamiento, como era de esperarse debido a que la carga microbiológica aumentó en éstas a partir del tercer día de análisis. En el día 10, los resultados para muestra control fueron de 1,54% y para muestra tratamiento de 0,72% O₂/día.

4. CAPÍTULO 3: DISCUSION

Con relación al efecto anti fúngico se deduce que depende de la especie de hongo que se presente en el alimento, en esta investigación, luego de varios análisis se pudo evidenciar un mayor efecto inhibitorio contra la especie *Mucor* ya que en los tratamientos del 25%, 50% y 75% de *Aloe vera* no hubo crecimiento alguno mientras que en el de 25% de *Aloe vera* si hubo crecimiento del hongo *Penicillium digitatum*, estas dos variedades se probaron ya que fueron las que crecieron en las muestras de frutillas.

Sin embargo en otros trabajos se han encontrado que la aplicación de *Aloe* resultó más efectivo contra *Fusarium moniliforme* que contra *Aspergillus niger* o *Cladosporium herbarum* (Ali et al., 1999) y en otro un efecto inhibitorio similar para *Alternaria alternata*, *P. digitatum* y *B.cinerea* (Saks y Barkai-Golán, 1995). Entonces se puede pensar que estas diferencias se deben a las condiciones ambientales y agronómicas del crecimiento de la planta así como también se ven influenciados por el método de obtención de sus geles, ya que se pudo evidenciar que la emulsión a base de *Aloe vera* resultó muy vulnerable o sensible a ambientes no asépticos pudiéndose contaminar rápidamente.

En cuanto a la carga microbiana en la fruta, se puede pensar que el efecto protector que realiza la emulsión en otras frutas como cerezas y uvas (Martínez et al., 2006), en moras de castilla (Ramírez, 2012), en nectarinas y uvas de mesa (Navarro, 2013), en babacos (Quisintuña y Pacheco, 2014), resultó positiva ya que estas frutas tienen una peculiaridad y es que en su parte más externa es decir el exocarpo están protegidas por una piel, lo que no se presenta en las fresas, además se podría indicar que el efecto protector es a tiempo corto lo que se quiere decir es que observando los resultados hasta el segundo día, se puede ver que existe una carga menor en la frutilla tratamiento que en la de control, la acción está presente a los pocos días de ser aplicada la emulsión como se puede ver en la figura 20, su color y brillo se evidencia mejor en las frutillas tratamiento que en las de control pero a medida que transcurren los días se va perdiendo esta acción justamente porque la fruta está dejando pasar este líquido a su interior y por lo tanto ganando más humedad lo que no sucede con la de control que fue sometida solo a lavado y desinfectado mientras que las frutillas tratamiento recibieron un tratamiento adicional que contenía un 25% de agua. Entonces las frutillas tratamiento al contener más humedad aceleraron todo los procesos metabólicos vitales y por ende a la rápida senescencia de la fruta.

Lo mismo sucede con la presencia de mohos y levaduras, al tener la fruta más humedad tiende a perder sus características propias de peso, textura, apariencia en general y se vuelve más propensa al crecimiento fúngico como reflejaron los resultados.

En lo que se refiere al análisis sensorial, se buscaba analizar si el consumidor podía detectar la presencia de la emulsión de *Aloe vera* en las frutillas, pero los resultados muestran de manera general que no se evidencia diferencia significativa en los atributos estudiados en

ambas muestras y sobre todo en el atributo sabor, es decir estos resultados discrepan de los resultados propuestos por Restrepo y Aristizábal, 2010, debido a que la emulsión aplicada no cumplió con su objetivo final que era el de generar una barrera semipermeable frente a microorganismos y conservar de mejor manera su aspecto general, esto debiéndose principalmente al aporte adicional de humedad que se dio a la fruta (sin piel) con dicha emulsión.

Como límite de vida útil a nivel sensorial se ha establecido el valor de 2 o inferior para indicar que la fruta ha perdido sus características de calidad que se exigen, se puede reflejar estos datos a partir del quinto día de análisis. Sin embargo de acuerdo a la norma peruana MINSA/DIGESA.V.01 NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO en la sección de Frutas y hortalizas frescas semiprocadas refrigeradas y/o congeladas, su vida útil no ha terminado para las frutillas ya que no se ha alcanzado valores de aerobios mesófilos 1×10^6 UFC/g, por lo tanto estas frutas sensorialmente podrían ser rechazadas pero microbiológicamente aún pueden ser usadas en la preparación de mermeladas, compotas y otros productos.

Las dos muestras analizadas no tuvieron variación en cuanto a la tasa de respiración ya que la emulsión al no realizar el efecto protector y anti fúngico planteado en esta tesis, prácticamente los resultados fueron muy similares mostrando una tendencia ascendente de liberación de CO_2 en ambas muestras, lo que ocurre en cualquier proceso de respiración, estos resultados discrepan con los propuestos por Restrepo y Aristizábal, 2010. Sin embargo en los dos primeros días, el porcentaje de CO_2 es menor en muestra tratamiento que en muestra control, lo que se podría pensar que la protección dura unos pocos días luego de la aplicación pero no funciona a largo plazo.

En cuanto al porcentaje de O_2 presente en el ambiente analizado, se pudo observar que en los primeros días, el porcentaje fue menor para muestra control que para muestra tratamiento justamente se complementa con los resultados microbiológicos que indicaron mayor presencia de aerobios mesófilos en esta muestra, es decir al contener mayor carga microbiológica la fruta absorberá mayor oxígeno y dejará una menor proporción en el ambiente. Pero a partir del tercer día fue la muestra tratamiento la que reflejó un menor porcentaje de oxígeno, debido al mayor contenido microbiológico a partir de dicho día.

5. CONCLUSION

Se ha demostrado que la actividad anti fúngica del *Aloe vera in vitro* tuvo mejores resultados que las pruebas *in vivo*, entonces es importante analizar el entorno en donde se aplique, el mecanismo de acción específico del *Aloe vera* todavía se desconoce y se atribuye a la presencia de más de un compuesto activo.

Luego de las evaluaciones microbiológicas se puede indicar que la presencia de microorganismos es desfavorable para las dos muestras, ya que se observó mayor crecimiento en frutillas tratamiento que en frutillas control, sin embargo no se ha alcanzado la carga microbiana que exige la norma peruana MINSA MINSA/DIGESA.V.01 para considerarse no inocua para el consumo humano.

El proceso de respiración llevado a cabo en las fresas, confirman la liberación de CO₂ y la absorción de O₂, proceso normal que se desarrolla en cualquier escenario respiratorio en frutas y hortalizas, pero no se reflejó las diferencias esperadas en las dos muestras analizadas pero si se podría indicar que la acción estuvo presente en los dos primeros días de análisis desapareciendo en el transcurso del tiempo.

La combinación de factores como olor, color, sabor y textura, es decir sus características sensoriales aportaron aún más, que la emulsión de *Aloe vera* no tuvo el efecto esperado en esta investigación, ya que el consumidor no detecto diferencias en las dos muestras, y por lo tanto perdiendo sus cualidades simultáneamente hasta llegar a presenciar hongos en las muestras y su rechazo en los últimos días de análisis.

Un recubrimiento comestible no intenta sustituir a los empaques sintéticos diseñados para los alimentos para almacenamiento prolongado, sino más bien aportar con la capacidad de actuar como un agregado que mejore la calidad del alimento, aumentando su vida de anaquel y la eficiencia de los empaques. Sin embargo no se descarta la acción protectora que está generando el *Aloe vera*, actuando como recubrimiento comestible alternativo a las ya formas usuales actuales empleadas para este fin, se recomienda hacer un estudio exhaustivo del gel de *Aloe vera*, sus especies, así como su composición antes de ser aplicadas a frutas y hortalizas.

6. Referencias Bibliográficas

- Dell, J. (2006). *Handling Strawberries for Fresh Market. Agricultural Natural Resources*. Special Publication. (en línea),
<hppt://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/hort/news/hortmatt/2006/13hrt06a4.htm>.
Consulta: 7 de marzo de 2016.
- FAO. Manual para el mejoramiento del manejo postcosecha de frutas y hortalizas. Santiago, 1987.
- Hernández Sampieri, Fernández, Baptista Lucio, 2010. Metodología de la Investigación. México.
- I.P.F Ingredientes y Productos funcionales S.A, Estudio de la vida útil de los Alimentos y Bebidas. (en línea) http://www.ipf.com.co/es/?option=com_content&view=article&id=208:estudio-de-la-vida-util-de-alimentos-y-bebidas&catid=1:latest-news&Itemid=83&lang=es.
Consulta: 15 de abril de 2016.
- L Sánchez-González, M Vargas, C González-Martínez, M Cháfer, A Chiralt. (2008). *Incorporación De Productos Naturales en Recubrimientos Comestibles para la conservación de Alimentos*. Documento presentado en VIII Congreso SEAE Bullas Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera. España.
- Trejo-Márquez A, Ramos-López KA, Pérez-Guillén C. (2007) *Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa (Fragaria Vesca L.) almacenada en refrigeración*. Documento presentado en V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. Cartagena, España.
- M.C.Vazquez-Briones, Guerrero-Beltrán. (2013). *Recubrimientos de frutas con biopelículas*. Programa de doctorado en Ciencias de Alimentos. México.
- Martínez-Romero et al., 2006; Valverde et al., 2005. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe vera treatment: A new edible coating. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 93–100.
- Navarro, D. (2013). *Efecto de los tratamientos de gel de Aloe, aplicados en pre- o post recolección sobre la calidad de frutos de hueso y uva de mesa* (Tesis de doctorado). Universidad Miguel Hernández de Elche Escuela Politécnica Superior de Orihuela, España.
- Norma Técnica Ecuatoriana. NTE INEN 2337:2008. Jugos, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de frutas y vegetales. Requisitos.
- Norma Técnica Colombiana. NTC 4103. Frutas frescas. Fresa variedad *Chandler*. Especificaciones. Santafé de Bogotá, Colombia: ICONTEC; 1997.14 p.
- Norma Técnica Paraguaya. Frutillas. San Lorenzo. Paraguay, 2014

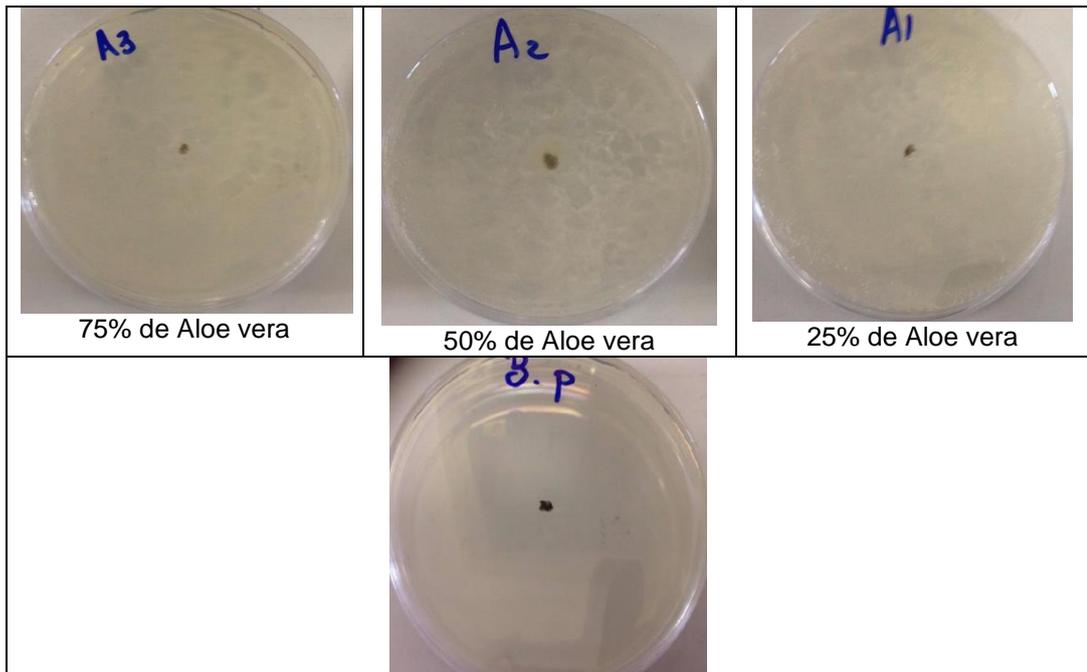
- Pérez B, Bringas E, Mercado J, Saucedo C, Cruz L, Báez-Sañudo R, Aplicación De Cera Comestible En Mango. Parte II: Estudios fisiológicos asociados a la maduración del fruto durante el almacenamiento comercial, *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 6(1), 24-33.
- Quisintuña, E. (2014). Estudio del efecto del gel de penca de sábila (*Aloe vera* Miller) sobre la vida útil del babaco (*Carica pentagona* L) producido por los agricultores de la parroquia San Miguelito. (Tesis de maestría). Universidad Técnica de Ambato, Ambato.
- Ramírez, J. (2012). *Conservación de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucílago de penca Sábila (*Aloe barbadensis* Miller)*. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Medellín.
- Restrepo, J. (2010). Conservación De Fresa (*Fragaria X Ananassa* Duch Cv. *Camarosa*) Mediante la Aplicación de Recubrimientos Comestibles de Gel Mucilaginoso de Penca Sábila (*Aloe Barbadensis* Miller) y cera de carnaúba. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* (Colombia), 17(3), 252-263.
- Torres, Iván (2012). *Conservación de Mora de Castilla (*Rubus Glaucus* Benth) mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucílago de Penca de Sábila (*Aloe Barbadensis* Miller)*. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Colombia.
- Uquiche E, Villarroel M, Cisneros-Cevallos (2002). L. Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad sensorial de pimentones verdes (*Capsicum annum* L.) durante el almacenamiento. *Revista ALAN* (Caracas), 52 (1), 84-90.
- Vega A, Ampuero N, Díaz Lemus R. (2005). El Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. *Revista Chilena de Nutrición* (Chile), 32 (3), 208-214.
- Wilberth B, Balbín A, Corrales J, Rodríguez A, Saucedo C. (2006). Caracteristic principals in quality fruits of pitahaya (*hylocereus undatus* haworth), cold storage in atmospheric controlled, *Revista Ciencias Técnicas Agropecuaria*, 15(2), 52-57.

7. ANEXOS

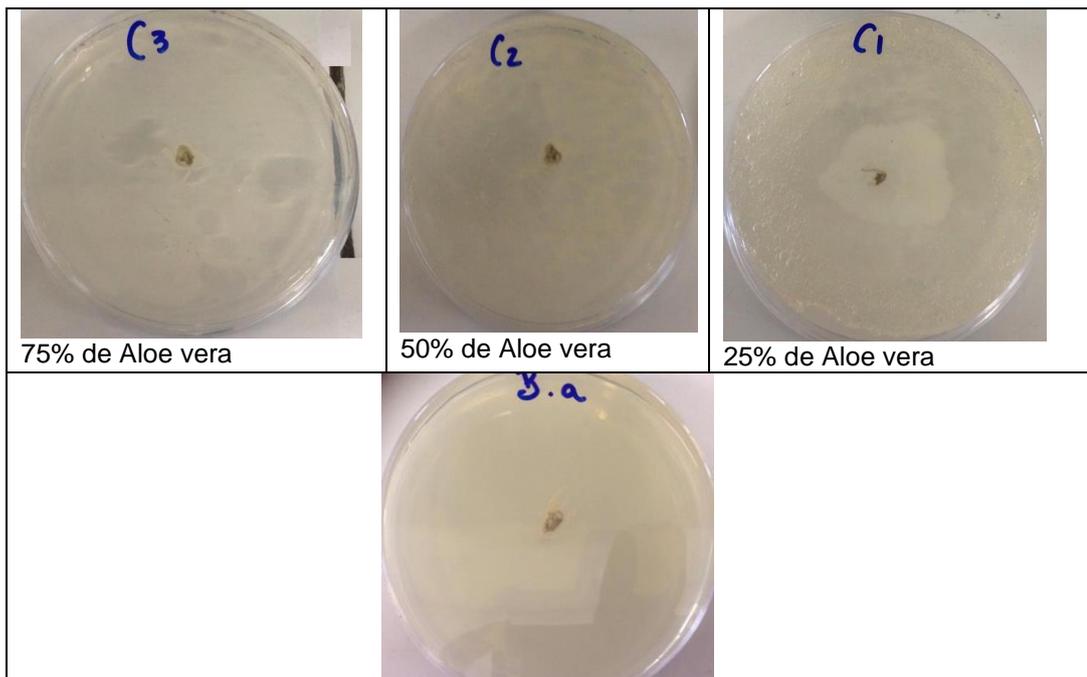
ANEXO 1

Resultados In vitro de los análisis anti fúngicos

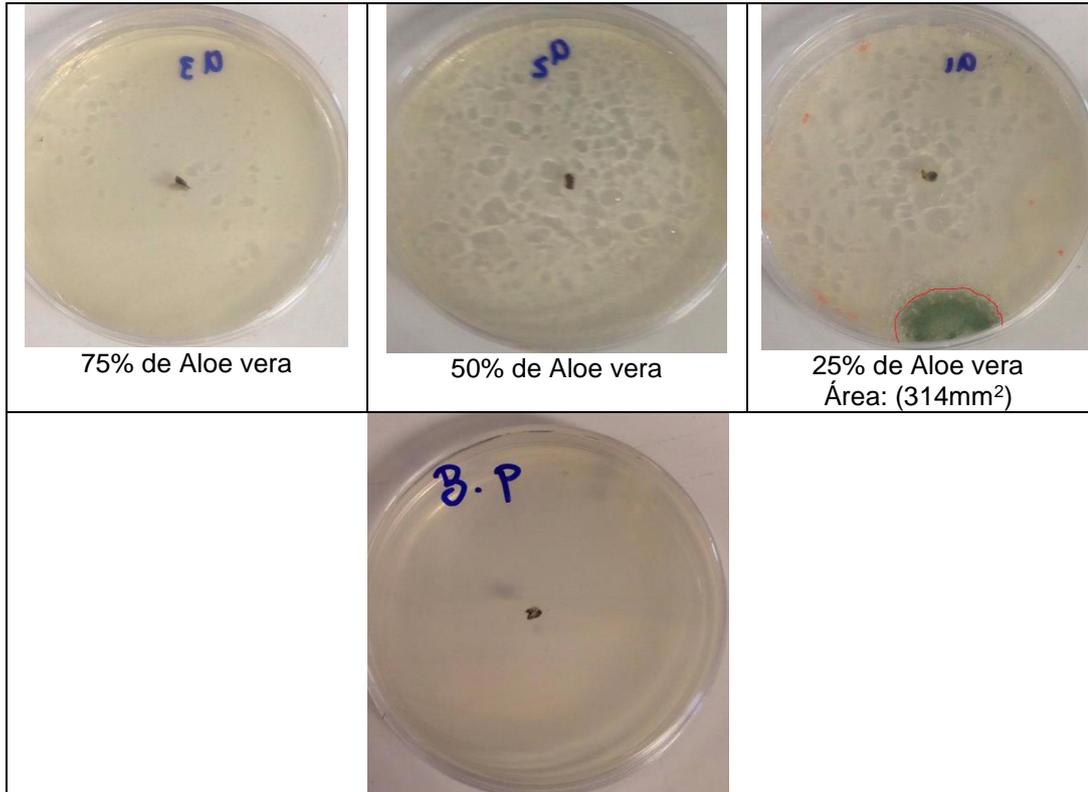
Microorganismo: *Penicillium digitatum*, luego de 48 horas



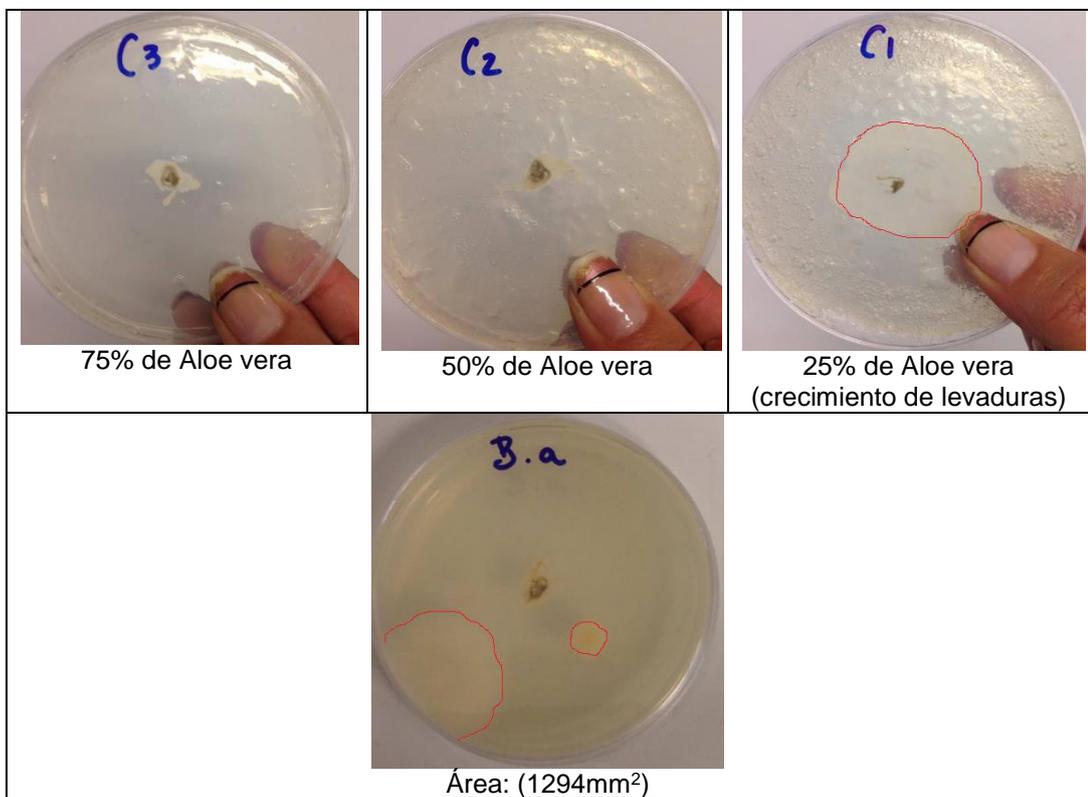
Microorganismo: *Mucor* luego de 48 horas



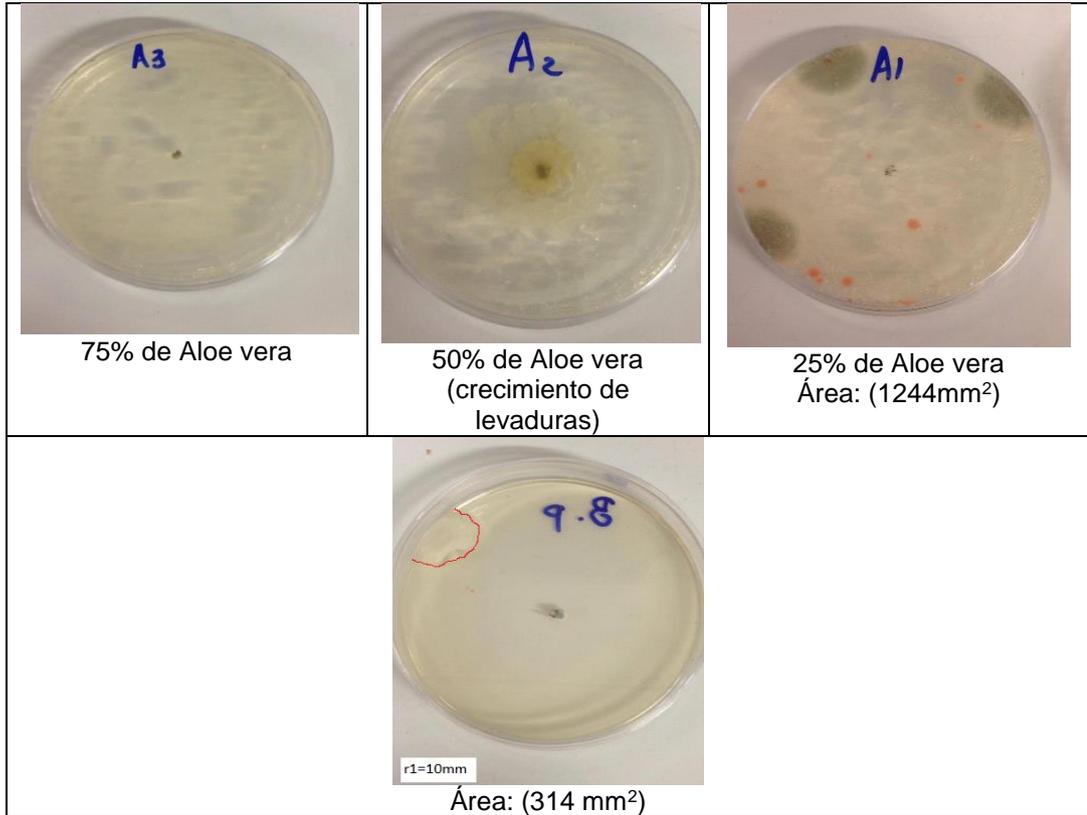
Microorganismo: *Penicillium digitatum*, luego de 96 horas



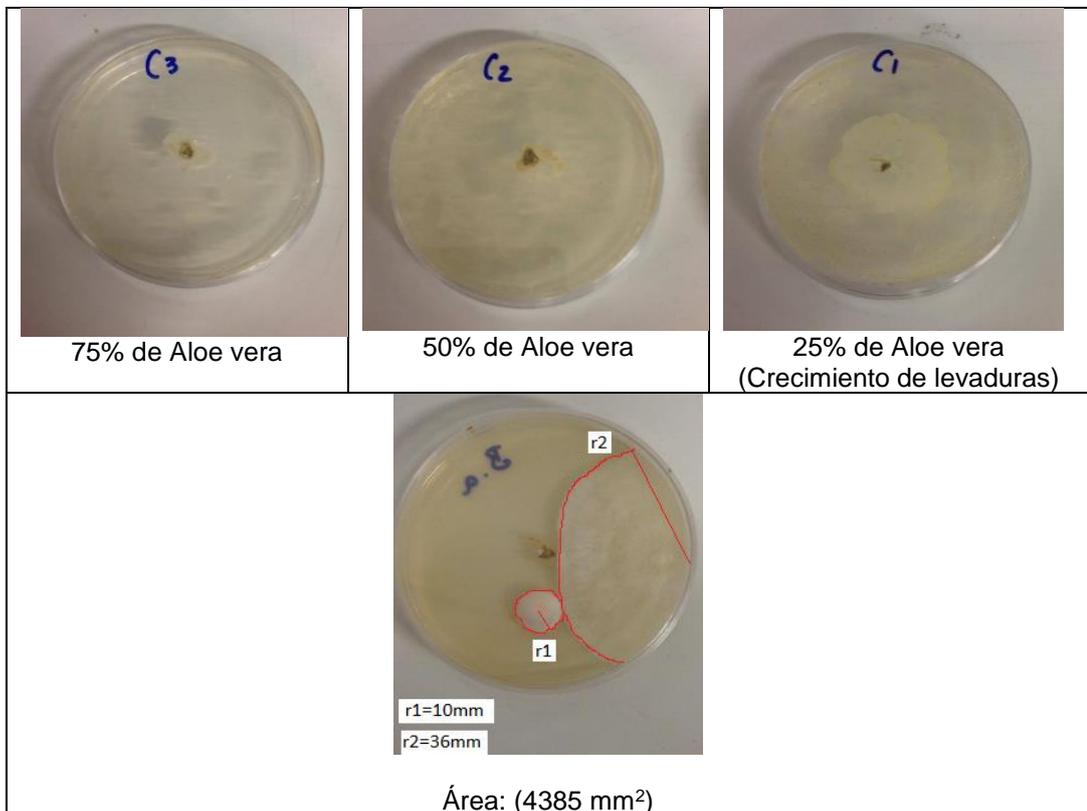
Microorganismo: *Mucor*, luego de 96 horas



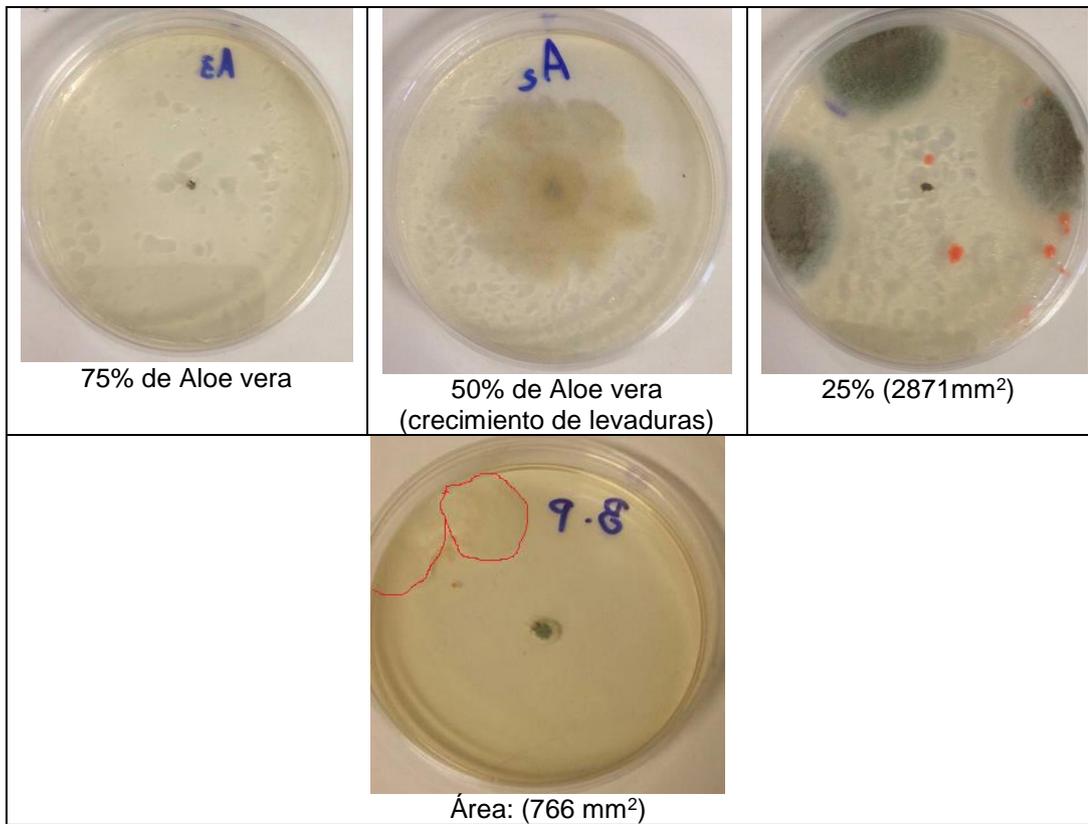
Microorganismo: *Penicillium digitatum*, luego de 168 horas



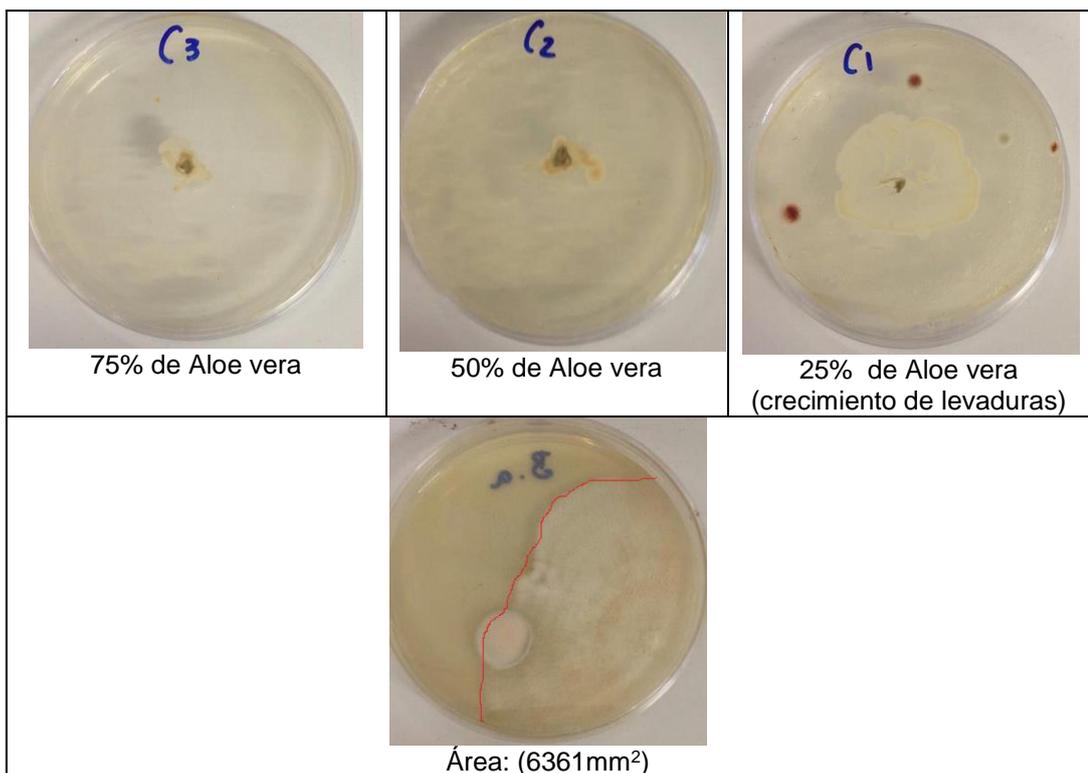
Microorganismo: *Mucor*, luego de 168 horas



Microorganismo: *Penicillium digitatum*, luego de 216 horas



Microorganismo: *Mucor*, luego de 216 horas



ANEXO 2

Resultados microbiológicos del laboratorio UDALAB, en frutillas con tratamiento y sin tratar, almacenadas a $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa del $80\% \pm 0,5\%$.


**REPORTE DE RESULTADOS
MICROBIOLÓGICOS**

 Código: SGCUDAL-F-019
 Versión: 2
 Fecha: 2014/06/10

ORDEN No.: DZ	FECHA RECEPCIÓN: 13/06/2016	FECHA DE ENTREGA: 19/07/2016
CODIGO LAB: DZ	CLIENTE: Daniela Zuñiga	DIRECCIÓN: Arzobispo Ordoñez 3-51 y Polit Lasso
RUC/CEDULA: 0105275226	MUESTRA: fresas	CANTIDAD:8
CONDICION DE LA MUESTRA: Refrigeradas	MUESTREADO POR: Cliente	ANALISIS SOLICITADO: Mesofilos Totales y mohos y levaduras

IDENTIFICACION DE LA (S) MUESTRA(S):

IDENTIFICACION UDA LABORATORIOS	IDENTIFICACION CLIENTE
DZ001	Lunes 13 de junio, Muestra tratamiento
DZ002	Lunes 13 de junio, Muestra Control
DZ003	Martes 14 de junio, Muestra tratamiento
DZ004	Martes 14 de junio, Muestra Control
DZ005	Miércoles 15 de junio, Muestra tratamiento
DZ006	Miércoles 15 de junio, Muestra Control
DZ007	Jueves 16 de junio, muestra tratamiento
DZ008	Jueves 16 de junio, muestra control
DZ009	Viernes 17 de junio, muestra tratamiento
DZ0010	Viernes 17 de junio, muestra control
DZ0011	Lunes 20 de junio, muestra tratamiento
DZ0012	Lunes 20 de junio, muestra control
DZ0013	Martes 21 de junio, muestra tratamiento
DZ0014	Martes 21 de junio, muestra control
DZ0015	Miércoles 22 de junio, muestra tratamiento
DZ0016	Miércoles 22 de junio, muestra control

RESULTADOS:

ANALISIS	UNIDADES	Método	DZ001	DZ002	DZ003	DZ004
Mesofilos totales	UFC/gramos	Detección en compact Dry	$6 \cdot 10^1$ $5 \cdot 10^1$	$8 \cdot 10^1$ $6 \cdot 10^1$	$7 \cdot 10^1$ $6 \cdot 10^1$	$7 \cdot 10^1$ $9 \cdot 10^1$
Mohos y levaduras	UP/gramos	Detección en compact Dry	0	0	N/A	N/A

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de UDA LABORATORIOS. El laboratorio mantendrá la confidencialidad de los resultados.




**REPORTE DE RESULTADOS
MICROBIOLÓGICOS**

 Código: SGCUDAL-F-019
 Versión: 2
 Fecha: 2014/06/10

ANALISIS	UNIDADES	Método	DZ005	DZ006	DZ007	DZ008
Mesofilos totales	UFC/gramos	Detección en compact Dry	53*10 ¹	23*10 ¹	17*10 ¹	4*10 ²
			44*10 ¹	31*10 ¹	11*10 ¹	5*10 ²
Mohos y levaduras	UP/gramos	Detección en compact Dry	3*10 ¹	0	N/A	N/A

ANALISIS	UNIDADES	Método	DZ009	DZ0010	DZ0011	DZ0012
Mesofilos totales	UFC/gramos	Detección en compact Dry	6*10 ³	21*10 ²	8*10 ³	45*10 ²
			6*10 ³	32*10 ²	7*10 ³	41*10 ²
Mohos y levaduras	UP/gramos	Detección en compact Dry	20*10 ²	0	5*10 ³	4*10 ²

ANALISIS	UNIDADES	Método	DZ013	DZ014	DZ015	DZ016
Mesofilos totales	UFC/gramos	Detección en compact Dry	9*10 ³	8*10 ³	14*10 ³	15*10 ³
			7*10 ³	6*10 ³	13*10 ³	11*10 ³
Mohos y levaduras	UP/gramos	Detección en compact Dry	N/A	N/A	9*10 ³	11*10 ²

Observaciones: N/A

Abreviaturas: N/A No aplica.


Técnico Responsable
Director de Calidad
Director Técnico

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de UDA LABORATORIOS.
 El laboratorio mantendrá la confidencialidad de los resultados.



ANEXO 3

Resultados microbiológicos del laboratorio UDALAB.

Muestra: emulsión de *Aloe vera*
**REPORTE DE RESULTADOS
MICROBIOLÓGICOS**

 Código: SGCUDAL-F-019
 Versión: 2
 Fecha: 2014/06/10

ORDEN No.: DZE	FECHA RECEPCIÓN: 13/06/2016	FECHA DE ENTREGA: 19/07/2016
CODIGO LAB: DZE	CLIENTE: Daniela Zuñiga	DIRECCIÓN: Arzobispo Ordoñez 3-51 y Polit Lasso
RUC/CEDULA: 0105275226	MUESTRA: emulsión	CANTIDAD: 1
CONDICION DE LA MUESTRA: Refrigerada	MUESTREADO POR: Cliente	ANALISIS SOLICITADO: Mesófilos Totales y mohos y levaduras, Coliformes

IDENTIFICACION DE LA (S) MUESTRA(S):

IDENTIFICACION UDA LABORATORIOS	IDENTIFICACION CLIENTE
DZE001	Lunes 13 de junio, Muestra tratamiento

RESULTADOS:

ANALISIS	UNIDADES	Método	DZE001
Mesófilos totales	UFC/gramos	Detección en compact Dry	1*10 ¹
Mohos y levaduras	UP/gramos	Detección en compact Dry	<1
Coliformes	UFC/gramos	Deteccion en Compact Dry	<1

Observaciones: N/A

Abreviaturas: N/A No aplica.

Técnico Responsable

Director de Calidad

Director Técnico

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de UDA LABORATORIOS.
El laboratorio mantendrá la confidencialidad de los resultados.



ANEXO 4

Formato de la evaluación sensorial

UNIVERSIDAD DEL AZUAY			
MAESTRIA EN GESTION DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA			
Nombre del evaluado: _____		FECHA: _____	
Codigo del evaluado: _____		HORA: _____	
DIA: _____			
<p>Frente a usted hay dos muestras codificadas de frutillas, las cuales debe probar una a la vez y marcar con una sola X en cada atributo de acuerdo a su juicio en cada muestra.</p> <p>Evalúe cuidadosamente los atributos indicados.</p>			
		MUESTRAS	
CODIGO:		A	B
COLOR	4 MUY BUENO	X	X
	3 BUENO		
	2 DEBIL		
	1 MALA		
	0 INACEPTABLE		
OLOR	4 MUY BUENO		
	3 BUENO		
	2 DEBIL		
	1 MALO		
	0 INACEPTABLE		
SABOR	4 MUY BUENO		
	3 BUENO		
	2 DEBIL		
	1 MALO		
	0 INACEPTABLE		
TEXTURA	4 MUY BUENO		
	3 BUENO		
	2 DEBIL		
	1 MALO		
	0 INACEPTABLE		
ASPECTO GENERAL	4 MUY BUENO		
	3 BUENO		
	2 DEBIL		
	1 MALO		
	0 INACEPTABLE		
COMENTARIOS: _____			

Acerca de A _____			
Acerca de B _____			
MUCHAS GRACIAS!			

Panel de catadores

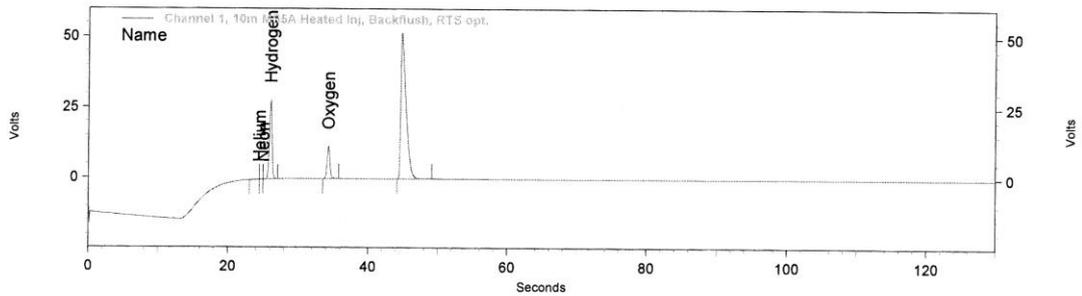


ANEXO 5

Porcentajes de O₂ y CO₂

External Standard Report

Method Name: D:\Capacitacion\Method\BIOGAS.met
 Data: D:\Capacitacion\Result\DAN290616T.rsl\DAN290616T-Rep2.dat
 User: SYSTEM (SYSTEM)
 Acquired: 6/29/2016 3:19:52 PM (GMT -05:00)
 Printed: 7/12/2016 9:03:19 AM (GMT -05:00)



**Channel 1, 10m
 MS5A Heated Inj,
 Backflush, RTS opt.
 Results**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	Helium	24.430	7503	0.001
2	Neon	24.930	4219	0.009
3	Hydrogen	26.050	1193011	0.602
4	Oxygen	34.310	517508	1.531
	Nitrogen			0.000 BDL
	Methane			0.000 BDL
	Carbon Monoxide			0.000 BDL

Totals			1722241	2.143
--------	--	--	---------	-------

**Channel 2, 10m
 PPU Heated Inj,
 Backflush, U.M.
 Results**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	Carbon Dioxide	21.150	24818964	42.226
	Ethylene			0.000 BDL
	Ethane			0.000 BDL
	Acetylene			0.000 BDL
	n-Propane			0.000 BDL

Totals			24818964	42.226
--------	--	--	----------	--------